RECHERCHE DE GÈNES MARQUEURS POTENTIELS DE LA TOLÉRANCE DE LA VIGNE À *EUTYPA LATA*

GOMES Eric

UMR1287 INRA/Université de Bordeaux/ENITAB Ecophysiologie et Génomique Fonctionnelle de la Vigne, Institut des Sciences de la Vigne et du Vin, 210 Chemin de Leysotte - 33140 Villenave d'Ornon eric.gomes@bordeaux.inra.fr

Actuellement, l'impact des maladies du bois en France est considéré comme suffisamment dommageable pour menacer la pérennité du patrimoine viticole. Toutes les régions ne sont pas touchées avec la même intensité, mais le nombre de ceps improductifs atteint 10 % dans les vignobles suivis au sein de l'observatoire National des maladies du bois. L'eutypiose, due au champignon *Eutypa lata*, contribue de façon significative aux dégâts dus aux maladies du bois, pour lesquelles il n'existe actuellement aucune solution curative phytosanitaire. Une des stratégies possible de lutte passe par la sélection de cépages ou de clones plus tolérants aux agents responsables de ces pathologies. Une telle sélection nécessite de déterminer des critères simples et pertinents, liés aux réponses physiologiques et moléculaires de la plante à l'infection, et reliés à la tolérance aux champignons impliqués dans le dépérissement du bois de la vigne. Pour cela, il est nécessaire de mieux comprendre les réponses physiologiques et moléculaires de la vigne à l'infection par *E. lata*.

En effet, lors de la rencontre entre une plante et un agent pathogène, l'interaction peut conduire au développement d'une maladie (apparition de symptôme et de dégâts) ou au contraire à de la tolérance (absence de symptômes visibles malgré le développement du pathogène), voire à une résistance (absence de développement du pathogène). L'issue de l'interaction dépend pour une part importante des génotypes respectifs des deux protagonistes, autrement dit de l'information portée par l'ensemble de leurs gènes. Elle repose chez la plante sur une réponse moléculaire globale, qui affecte le niveau d'expression de nombreux gènes, qui se traduiront par la mise en place ou non, de réponses de défense adaptées. Le séquençage complet du génome de la vigne par Jaillon et collaborateurs en 2007 permet maintenant d'effectuer chez la vigne des analyses transcriptomiques globales, c'est-à-dire d'étudier les variations d'expression de l'ensemble des 30 000 gènes présents chez la vigne, sans aucun à priori, et de comparer la réponse de différents génotypes (cépages) réputés sensibles ou tolérants à l'eutypiose. Deux projets basés sur ce type d'approche et visant à mieux comprendre l'interaction *E. lata*/vigne sont actuellement en cours.

Le premier projet (2010-2012), cofinancé par le programme CASDAR du ministère de l'Agriculture et la Fondation Jean Poupelain, a pour but de comparer les réponses transcriptomiques globales au niveau du bois chez trois cépages, en réponse à *E. lata*; ainsi que les réponses physiologiques au niveau des feuilles (contenus en pigments, activités photosynthétiques), là ou se manifeste l'effet des toxines produite par le champignon. Les cépages choisis sont le Merlot, tolérant à l'eutypiose, et deux cépages sensibles : le Cabernet-Sauvignon et l'Ugni blanc. Le projet est découpé en 4 actions : (1) l'optimisation d'un système de production de boutures végétatives homogènes, saines ou inoculées par *E. lata*; (2) l'étude des réponses physiologiques des feuilles à l'inoculation des boutures au niveau du bois ; (3) l'étude comparée des réponses moléculaires globales au niveau du bois de boutures saines et inoculées et (4) l'étude de l'expression d'un nombre réduit de gènes identifiés lors de l'action 3 dans le bois de boutures inoculées par des *Botryospaeriaceae* impliqués dans le syndrome de l'ESCA.

A mi-parcours du projet, les résultats obtenus sont les suivants. L'optimisation du protocole de production et d'inoculation des boutures en année 1 du projet à permis de générer un nombre important de boutures (900 par cépage) dont la moitié a été inoculée par *E. lata*. L'analyse de la progression des nécroses du bois a permis de valider l'homogénéité des inoculations et de

confirmer les différences de sensibilité des 3 cépages à E. lata, un préalable nécessaire pour pouvoir effectuer les analyses prévues dans les actions 2 et 3. La mesure du contenu en pigment des feuilles (chlorophylle et flavonoïdes, ces derniers étant un indicateur de stress), ainsi que les mesures de photosynthèse n'ont pas permis pour l'instant de distinguer les cépages sensibles du Merlot, cépage tolérant. Ce résultat doit être confirmé par une troisième campagne de mesures, prévue 2012. Parallèlement à ces mesures physiologiques, une première analyse exploratoire de la réponse moléculaire globale de chacun des trois cépages a été effectuée fin 2010/début 2011, à l'aide de « puce à ADN » représentant l'ensemble des 30 000 gènes de la vigne. Les résultats de cette première campagne, prometteurs, ont permis (1) de montrer que les cépages choisis pour l'étude ont bien des réponses moléculaires globales différenciées (celle du Merlot se distinguant de celles du Cabernet-Sauvignon et de l'Ugni blanc) et (ii) de fixer le choix des temps post-inoculation qui seront analysés en détail lors de la campagne 2011 (ces analyses sont en cours actuellement). Les perspectives de ce travail sont pour la dernière année du projet de valider une dizaine de gènes marqueurs potentiel de tolérance à E. lata, issus des analyses en cours. A plus long terme, ces gènes pourront éventuellement servir de margueurs potentiels pour guider les choix de sélection dans des collections de clones existantes, ou bien parmi des populations issues de croisements pour l'obtention de nouveaux cépages.

Le second projet, complémentaire du premier et financé par la CNIV, vise à étudier les réponses moléculaires globales de deux cépages (le Cabernet-Sauvignon et le Merlot) au niveau des feuilles de boutures cultivées en serre, et inoculées ou non par *E. lata*. L'objectif ici est de comprendre l'effet des toxines émises par le champignon depuis le bois et qui vont conduire à l'apparition de symptômes foliaires. Les résultats obtenus, en cours d'analyse, indiquent que les réponses d'expression géniques détectées dans les feuilles de Merlot et de Cabernet-Sauvignon diffèrent. En particulier, le nombre de transcrits induits par la présence d'*E. lata* et liés aux réponses de stress ou aux réactions de défense de la plante vis-à-vis des agents pathogènes, est plus important chez le Merlot que chez le Cabernet-Sauvignon.

Partenaires techniques impliqués

- (1)UMR INRA/Université de Bordeaux/ENITAB 1287 Ecophysiologie et Génomique Fonctionnelle de la Vigne Bordeaux A. Destrac, E. Gomès, JP. Goutouly, C. Leon, I. Merlin, T. Robert.
- ⁽²⁾UMR INRA/ENITAB 1065 Santé et Agroécologie du Vignoble Bordeaux G. Caumont, MF. Corio-Costé, MC. Dufour, S. Gambier, P. Lecomte, JM. Liminana
- ⁽³⁾FRE CNRS/Université de Poitiers 3091 PhyMoTS Poitiers P. Coutos-Thévenot, S. Lacaméra, A. Legras
- ⁽⁴⁾Bureau National Interprofessionnel du Cognac (BNIC) Cognac V. Dumot, G. Ferrari