

VARIATIONS DES TENEURS EN ACIDE ABSCISSIQUE DANS DIFFÉRENTS ORGANES DE VIGNE INFECTÉE PAR *EUTYPYA LATA*, L'AGENT CAUSAL DE L'EUTYPIOSE

VARIATIONS OF ABSCISIC ACID CONTENTS IN VARIOUS ORGANS OF GRAPEVINE INFECTED BY THE EUTYPYA DIEBACK FUNGUS, *EUTYPYA LATA*

T. KOUSSA^{1*}, L.A. RIFAI¹, Bernadette DUBOS² et M. BROQUEDIS²

1 : Laboratoire de biologie et biotechnologie végétales, Faculté des sciences,
Université Chouaib Doukkali, 24000 El Jadida, Maroc

2 : Institut des sciences de la vigne et du vin (ISVV), Institut fédératif de recherche (IFR),
Unité mixte de recherche (UMR) santé végétale, Institut national de la recherche agronomique
(INRA), Centre de recherches de Bordeaux. B.P. 81, 33883 Villenave d'Ornon cedex, France

3 : Laboratoire des Sciences de la vigne, Université Bordeaux I, avenue des Facultés,
33405 Talence cedex, France

Résumé: Des dosages d'acide abscissique libre (ABA) et conjugué (absorbate de β -D-glucopyranose : ABA-GE) ont été réalisés dans les feuilles, entre-nœuds, boutons floraux, fleurs et jeunes baies de vigne (*Vitis vinifera* L. cv. Cabernet-Sauvignon) issus de vignes saine et infectée par *Eutypa lata*, l'agent causal de l'eutypiose de la vigne. En général, la croissance, le développement et les teneurs en eau et en ABA des organes ne présentant pas de symptômes d'eutypiose, mais portés par des pieds de vigne infectés par *E. lata* ne sont pas ou peu différents de ceux des organes portés par des pieds sains. Les organes présentant des symptômes de la maladie (réduction de la croissance) sont déshydratés par rapport aux organes sains. Pendant toute la période étudiée pour les feuilles et à partir du stade fécondation pour les entre-nœuds, les teneurs en ABA et en ABA-GE sont augmentées par l'eutypiose. Cette maladie retarde aussi l'apparition du maximum d'ABA caractérisant les fleurs et réduit sa valeur. De même, elle provoque un appauvrissement en ABA-GE dans les boutons floraux, les fleurs et les jeunes baies. Ces différents dérèglements sont d'autant plus intenses que les symptômes sont plus marqués. L'étude du contenu en ABA dans le mycélium et le filtrat de culture du champignon montre qu'*E. lata* est capable de synthétiser ce régulateur de croissance et qu'il est capable d'en libérer dans le milieu extérieur. L'origine de l'ABA accumulé dans les organes malades et l'implication de cet enrichissement dans l'apparition des symptômes sont discutées.

Abstract: In grapevine, eutypa dieback is a disease induced by ascomyceta fungus, *Eutypa lata*. At present, eutypa dieback is considered as the most serious deterioration disease of grapevine. The external symptoms of this disease are most conspicuous during the first months of the annual growth cycle and include dwarfed shoots with smaller and necrotic leaves and unfavourable development of grapes. All these symptoms were still suggested an hormonal perturbation in grapevine organs. The aim of this work was to determine the effects of eutypa dieback on abscisic acid contents in flower buds, flowers, young berries, leaves and internodes of grapevine. This study was also performed to determine the relationship between this growth regulator and disease development. The study was performed using organs (1) from healthy vines, (2) healthy appearing organs from vines with one symptomless arm and one diseased arm, and (3) moderately and (4) strongly diseased organs. From flowers buds separated to bunch of grapes closed stages, free abscisic acid (ABA) and the glucose esters of this acid (ABA-GE) were analysed in *Vitis vinifera* L. cv. Cabernet Sauvignon which is sensitive to *E. lata*.

In the healthy appearing organs, growth and development as well as water and ABA contents were not changed by eutypa dieback fungi. Whereas eutypa dieback induced a decrease of water content and the rate of growth increase in diseased organs. During all the period studied in leaves and since fruit set stage in the internodes, the ABA and ABA-GE contents were increased by eutypa dieback proportionally to symptoms. The ABA levels increase in leaves and internodes were not seem to be produced by ABA-GE hydrolysis since increase in ABA-GE levels were also observed in response to eutypa dieback. The maximum of ABA characterising grapevine flowers was delayed by eutypa dieback and their level was reduced with increasing symptoms severity. In flower buds, flowers and young berries, this disease induced a decrease of ABA-GE contents during all period studied proportionally to symptoms severity. The mycelium of two *E. lata* isolates cultured in Errikson and Petersson medium culture can synthesize ABA. A part of this growth regulator was diffused in medium culture. It was suggested that increase of ABA levels in diseased organs must have many origins: perturbation of (1) ABA-GE translation, (2) synthesis of ABA by grapevine caused by water stress and (3) synthesis of ABA by the fungi. The possible relationship between increased ABA content in the diseased organs and expression of eutypa dieback symptoms is discussed.

Key words: *Vitis vinifera*, *Eutypa lata*, abscisic acid, growth, flowering

Mots clés : *Vitis vinifera*, *Eutypa lata*, acide abscissique, croissance, floraison

Abbreviations: ABA: Free abscisic acid; ABA-GE: Glucose ester of abscisic acid; H: Flower buds separated; I: Flowering; J: Fruit set; K: 13 Days after fruit set; L: bunch of grapes closed; S: healthy organs; Ap. S: healthy appearing organs; M. mal: moderately diseased organs; F. mal.: Strongly diseased organs; DW: Dry weight

Abréviations: ABA: Acide abscissique ; ABA-GE: Abscissate de β -D-glucopyranose ; H: Boutons floraux séparés ; I: Floraison; J: Nouaison ; K: 13 jours après nouaison ; L: Fermeture de la grappe ; S: Organes sains ; Ap. S: Organes apparemment sains ; M. mal: Organes modérément malades ; F. mal.: Organes fortement malades ; MS: matière sèche.

INTRODUCTION

Depuis quelques années, les recherches sur les interactions hôte - parasite ont été dirigées vers la compréhension des processus de résistance des plantes aux infections par des agents pathogènes. Bien que le rôle de l'acide abscissique libre (ABA) reste encore à préciser dans ce type de phénomène, certaines études tendent à montrer qu'il interviendrait dans la réaction des plantes aux stress biotiques. Ainsi une diminution des teneurs en ABA a pu être observée lors d'une réaction incompatible (CAHILL et WARD, 1989; BERTRAND, 1991) et une faible variation ou une augmentation lors d'une réaction compatible (SALT *et al.*, 1986; WHENHAM *et al.*, 1986; BERTRAND, 1991). En accord avec ces résultats, d'autres travaux ont montré qu'un traitement avec de l'ABA rendait les plants de *Nicotiana tabacum* sensibles à la moisissure bleue du tabac causée par *Peronospora tabacina* (SALT *et al.*, 1986). Plus récemment, AUDENAERT *et al.* (2002) ont montré que la variété Moneymaker de *Lycopersicon esculentum* Mill., mutant à teneur réduite en ABA, est beaucoup plus résistante à *Botrytis cinerea* que la variété sauvage. Toujours d'après ces auteurs, une application exogène de l'ABA rétablit la sensibilité à *B. cinerea* chez ce mutant et augmente celle de la variété sauvage.

L'eutypiose de la vigne, due au champignon ascomycète « *Eutypa lata* », est actuellement considérée comme l'une des plus graves maladies de dégénérescence de cette plante. La contamination se réalise par les ascospores qui pénètrent dans les vaisseaux du bois et colonisent la partie pérenne de la plante (LE GALL et LE GAT, 1994). Les vignes atteintes montrent des entrenœuds courts portant des feuilles de petite taille, parfois chlorotiques, avec de petites nécroses marginales. Les feuilles sont souvent déformées et recroquevillées en coupelle et les grappes se développent très mal. L'eutypiose aboutit à un dépérissement partiel ou total des pieds de vigne. Les symptômes de cette maladie peuvent apparaître sur un seul bras d'un pied de vigne infecté ou sur les deux bras à la fois. Actuellement, il n'existe aucun traitement efficace et dépourvu d'effet secondaire dans la panoplie agropharmaceutique pour lutter contre l'euty-

piose. La nature des symptômes observés suggère que le champignon pourrait agir en provoquant un dérèglement hormonal au niveau de la plante.

Dans le présent travail, nous avons suivi les variations de la teneur en ABA et de son ester de glucose l'abscissate de β -D-glucopyranose (ABA-GE) dans différents organes de vigne atteinte d'eutypiose ainsi que dans le champignon cultivé en milieu liquide. Le but était de préciser l'action d'*E. lata* sur le contenu en acide abscissique de ces organes. L'implication éventuelle de ce régulateur de croissance dans l'apparition des symptômes de la maladie est discutée.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Cette étude a été réalisée sur *Vitis vinifera* L. « Cabernet Sauvignon », variété sensible à l'eutypiose, pendant deux années consécutives dans un vignoble du Bordelais (France). Sur ce cépage, des prélèvements de boutons floraux, de fleurs et de jeunes baies des deux premières inflorescences (rangs 1 et 2) à partir de la base des rameaux principaux et des feuilles situées en face, ainsi que l'entrenœud de type N1-N2 les séparant (BOUARD, 1967) ont été effectués. Ces prélèvements, réalisés toujours à la même heure (10 h 00 du matin), ont été effectués aux stades boutons floraux séparés (H), floraison (I), fécondation (nouaison : J), 13 jours après la nouaison (K) et fermeture de la grappe (L). Pendant la période étudiée, les symptômes de la maladie sont facilement reconnaissables, ce qui permet d'éviter à la fois toute confusion avec un autre dérèglement pathologique et de prélever des feuilles trop desséchées. Quatre états sanitaires ont été distingués pour chaque prélèvement : organes sains (portés par des pieds sains) ; organes apparemment sains (portés par un bras ne présentant pas de symptômes, alors que l'autre bras est malade) et organes malades (présentant des symptômes de la maladie). Dans ce dernier cas, nous avons considéré séparément les organes modérément malades et les organes fortement malades. Cette distinction a été faite arbitrairement en se basant sur la gravité observée des symptômes. Les différents échantillons récoltés ont été immédiatement fixés à l'azote liquide, lyophilisés puis conservés à -20 °C, jusqu'au dosage de l'ABA libre et de l'ABA-GE.

Pour chaque stade, la surface des feuilles et la longueur des entrenœuds ont été notées, ce qui a permis d'en déduire l'accroissement de la surface foliaire et l'allongement des entrenœuds entre deux prélèvements consécutifs. La détermination de la surface des feuilles a été réalisée par la méthode de pesée. Pour cela, les contours des feuilles ont été dessinés sur papier calque. L'empreinte de la feuille sur le papier calque a ensuite été pesée ce qui a permis d'en déduire la surface grâce à une courbe d'étalement de référence. L'évolution du poids moyen des

baies a été suivie du stade J au stade L. Le contenu en eau des différents organes a été déterminé par différence de leur poids, avant et après lyophilisation, ce qui a permis d'en déduire la proportion d'eau (en pourcentage).

Par ailleurs, deux souches d'*E. lata* isolées de vigne cultivées dans la région de Bordeaux ont été utilisées pour déterminer la capacité de ce champignon à produire de l'ABA. Ces deux souches : BX1-10 (très agressive) et BX1-5 (moins agressive) ont été cultivées à une température de 23 °C dans le milieu liquide d'ERIKSSON et PETERSSON (1975), à l'obscurité et sans agitation. Après 7 et 14 jours de culture, le milieu de culture est filtré et des analyses d'acide abscissique ont été effectuées dans

les mycéliums préalablement lyophilisés et dans les filtrats (milieu de culture).

L'extraction de l'ABA et de l'ABA-GE ainsi que leur dosage par chromatographie liquide à haute pression (HPLC) ont été effectués selon la méthode et les conditions décrites par KOUSSA *et al.* (2004). Après broyage dans du méthanol à 80 %, l'extrait est filtré avec des filtres en fibre de verre. Le méthanol est évaporé et le pH de la phase aqueuse restante est ajusté à 3,5, avant de subir une purification avec du polyvinyl polypyrrolidone. Une extraction à l'éther permet de récupérer l'ABA libre dans la phase organique. L'éther est réduit à sec sous flux d'azote puis conservé jusqu'au dosage. La phase aqueuse, débarrassée de son ABA libre et dont le pH a été préalablement ajusté à 12, subit un traitement à 60 °C pendant 30 min ce qui permet l'hydrolyse de l'ABA-GE (BARTHE, 1983). Après avoir ajusté le pH à 3,5, cette phase subit une extraction à l'éther pour récupérer l'ABA libéré par hydrolyse de l'ABA-GE. Le dosage de l'acide abscissique est effectué par HPLC avec comme phase stationnaire : Pecos sphère C18 et comme phase mobile un mélange eau-méthanol-acide acétique (67 %-28 %-5 %).

RÉSULTATS

I - CROISSANCE DES ORGANES DE LA VIGNE

La présence d'*E. lata* dans les pieds de vigne s'accompagne d'une réduction de l'augmentation de la surface des feuilles, de la longueur des entre-nœuds et du poids des baies, inhibition qui ne concerne pas les organes apparemment sains (figures 1a et 1b). Dans le cas des feuilles et des entre-nœuds, cette action inhibitrice devient maximale entre les stades I et J et presque nulle entre les stades K et L. Le poids des baies, noté à partir du stade K, augmente plus ou moins fortement selon l'état sanitaire considéré (figure 1c). Dans le cas des bras modérément malades, l'eutypiose induit la formation de grappes constituées de petites baies apyrènes, accident connu sous le nom de millerandage. En revanche, dans le cas des bras fortement atteints, les baies ne se développent que très peu et finissent, dans certains cas, par se dessécher et tomber.

II - TENEURS EN EAU DES ORGANES DE LA VIGNE

Quel que soit l'état sanitaire considéré, la teneur en eau des feuilles reste pratiquement stable entre les stades H et J avant de diminuer par la suite (figure 2a). Dans le cas des entre-nœuds, la diminution de la teneur en eau commence dès le stade I (figure 2b). L'eutypiose paraît induire une déshydratation des feuilles et des entre-nœuds qui ne concerne que les organes présentant des symptômes; les organes fortement malades étant les plus déshydratés.

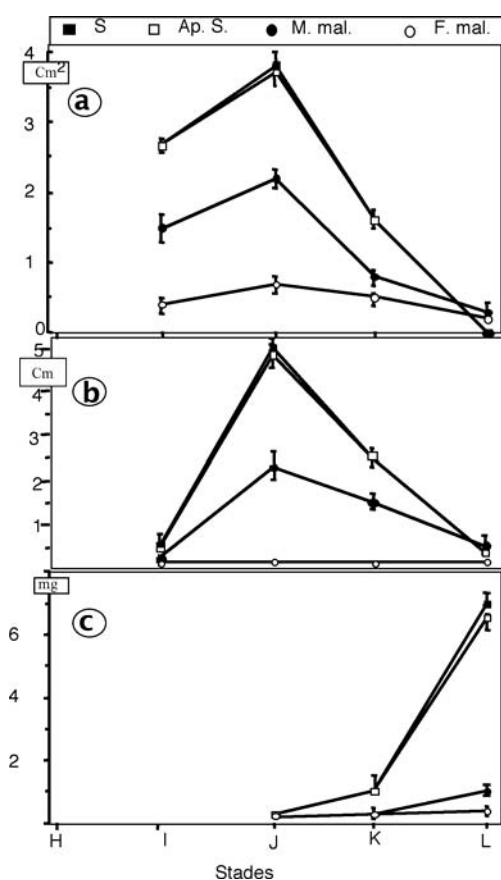


Figure 1 - Influence de l'eutypiose sur l'augmentation de la surface des feuilles (a), sur l'allongement des entre-nœuds (b) et sur l'augmentation du poids des jeunes baies (c) du Cabernet-Sauvignon.

Les valeurs correspondent à la moyenne de trois répétitions \pm déviation standard (DS). (Organes sains (S); apparemment sains (Ap. S); modérément malades (M. mal); fortement malades (F. mal)).

Effect of eutypa dieback on leaves area increase (a), internodes lengthening (b) and young berries weight increase (c) in Cabernet-Sauvignon cv.

Data presented are means of 3 replicates \pm standard deviation (SD). (S: healthy organs; Ap. S: healthy appearing organs; M. mal: moderately diseased organs; F. mal.: Strongly diseased organs).

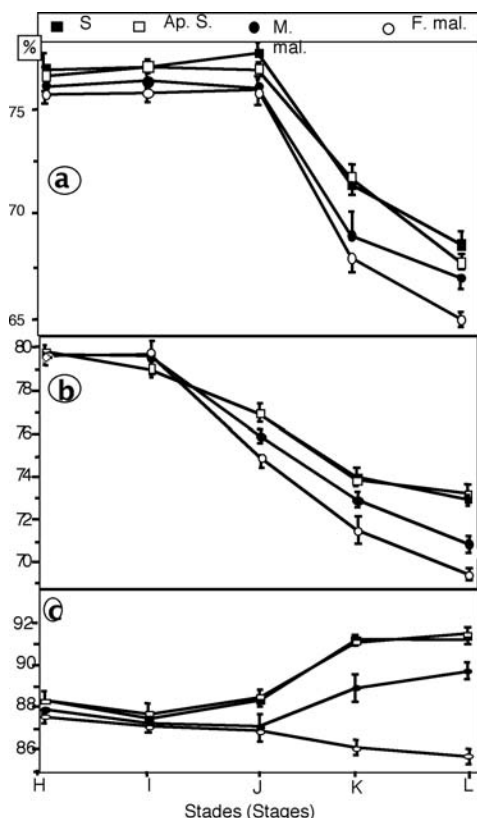


Figure 2 - Influence de l'eutypiose sur le contenu en eau des feuilles (a), des entre-nœuds (b), des boutons floraux, des fleurs et des jeunes baies (c) du Cabernet-Sauvignon.

Les valeurs correspondent à la moyenne de trois répétitions \pm déviation standard (DS) (S; Ap. S; M. mal; F. mal. : voir fig. 1).

Effect of eutypa dieback on water content in Cabernet-Sauvignon leaves (a), internodes (b), flower buds, flowers and young berries (c).

Data presented are means of 3 replicates \pm standard deviation (SD) (S; Ap. S; M. mal; F. mal.: see fig. 1).

Comme pour les feuilles et les entre-nœuds, l'eutypiose ne perturbe pas l'état hydrique des boutons floraux, fleurs et jeunes baies apparemment sains. Ces derniers présentent des teneurs en eau qui subissent une très légère diminution du stade H au stade I (figure 2c), suivie d'une augmentation jusqu'au stade K qui s'atténue par la suite. Dans les organes modérément malades, la diminution de la teneur en eau qui commence au stade H se maintient jusqu'au stade J, avant d'augmenter par la suite. Dans les organes fortement malades, la teneur en eau diminue régulièrement pendant toute la période étudiée.

L'eutypiose paraît donc provoquer une réduction de la teneur en eau des différents organes étudiés, déshydratation qui s'accroît à la fois avec l'approche du stade L et avec la gravité des symptômes.

III - TENEURS EN ACIDE ABCISSIQUE DES ORGANES DE LA VIGNE

Le profil d'évolution général des teneurs en ABA et en ABA-GE des feuilles semble peu modifié par l'eutypiose (figure 3a). En effet, quel que soit l'état sanitaire considéré, on observe une diminution de la teneur en ABA, du stade H au stade J, suivie d'une augmentation jusqu'au stade L. La teneur en ABA-GE augmente dans les différents types de feuilles jusqu'au stade J, à partir duquel on note un fort ralentissement de cette accumulation, voire même une diminution. Cependant, la maladie provoque un enrichissement en ABA et en ABA-GE, faible dans les feuilles apparemment saines, fort dans les feuilles modérément malades et plus intense dans les feuilles fortement malades.

Dans les entre-nœuds, le profil d'évolution de la teneur en ABA est similaire à celle notée dans les feuilles quel que soit l'état sanitaire considéré (figure 3b). Pendant toute la période étudiée, l'eutypiose ne perturbe pas le contenu en ABA des entre-nœuds apparemment sains alors qu'elle induit un fort dérèglement des teneurs de ce régulateur de croissance dans les entre-nœuds malades. Ces derniers présentent un appauvrissement en ABA avant le stade J et un enrichissement par la suite, dérèglement moins intense dans les organes modérément malades que dans les organes fortement malades. De même, sous l'influence de l'eutypiose, les entre-nœuds présentant des symptômes semblent accumuler plus d'ABA-GE après le stade J, enrichissement plus intense dans les entre-nœuds fortement malades que dans les entre-nœuds modérément malades.

Il convient de remarquer que, quel que soit l'état sanitaire considéré, les teneurs en ABA-GE des feuilles et des entre-nœuds restent plus élevées que celles en ABA pendant toute la période étudiée. De même, dans les feuilles, les deux formes d'acide abscissique semblent varier en sens inverse indépendamment de leur état sanitaire. Au contraire, dans les entre-nœuds, cette évolution inverse n'est observée que dans les organes sains et apparemment sains.

Les teneurs en ABA des boutons floraux, des fleurs et des jeunes baies apparemment sains ne sont pas modifiées significativement par la maladie (figure 3c). Elles augmentent du stade H au stade I puis diminuent jusqu'au stade L. Dans les organes présentant des symptômes, l'accumulation des teneurs en ABA, qui commence à partir du stade H, est d'autant plus lente et plus faible que les symptômes sont plus marqués. Il s'en suit que le maximum d'ABA n'est atteint que vers le stade J pour les organes modérément malades et vers le stade K pour les organes fortement malades avec des valeurs d'autant plus faibles que la maladie est grave. Pour les différents états sanitaires, les teneurs en ABA-GE, plus élevées que celles

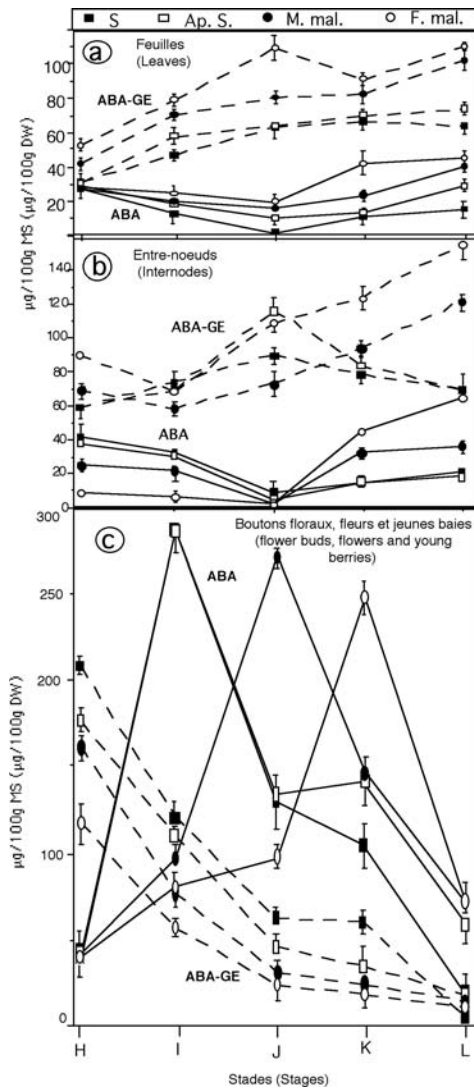


Figure 3 - Influence de l'eutypiose sur le contenu en ABA et en ABA-GE dans les feuilles (a), les entre-nœuds (b), les boutons floraux, les fleurs et les jeunes baies (c) du Cabernet-Sauvignon.

Les valeurs correspondent à la moyenne de trois répétitions \pm déviation standard (DS) (S; Ap. S; M. mal; F. mal. : voir fig. 1).

Effect of eutypa dieback on ABA and ABA-GE contents in leaves (a), internodes (b), flower buds, flowers and young berries (c) of Cabernet-Sauvignon.

Data presented are means of 3 replicates \pm standard deviation (SD) (S; Ap. S; M. mal; F. mal.: see fig. 1).

en ABA au stade H, subissent une diminution régulière pendant toute la période étudiée pour devenir la forme la moins représentée dès le stade I. Contrairement aux feuilles et aux entre-nœuds, cette maladie provoque, pendant toute la période étudiée, un appauvrissement en ABA-GE dans les boutons floraux, les fleurs et les jeunes baies. Ce dérèglement, qui concerne aussi les organes apparemment sains, s'accroît avec la gravité des symptômes.

IV - TENEURS EN ACIDE ABCISSIQUE DU CHAMPIGNON

Pour les deux durées de culture étudiées, 7 et 14 jours, la teneur en ABA du mycélium de la souche BX1-10 est nettement supérieure à celle du mycélium de la souche BX1-5, la moins agressive (figure 4). En revanche, dans les filtrats de culture, les teneurs en ABA des deux souches sont sensiblement égales pour les deux périodes de culture. Dans nos conditions d'extraction et de dosage, l'ABA-GE n'a été détecté ni dans les mycéliums, ni dans les milieux de cultures.

DISCUSSION

Chez la vigne, les résultats concernant les variations de la teneur en acide abscissique dans le cas d'infections parasites sont rares. On sait, néanmoins, que les feuilles de vigne atteintes de la maladie de Pierce présentent des teneurs en ABA plus élevées que celles des feuilles saines (GOODWIN *et al.*, 1988). Il en est de même pour les baies de vigne infectées par *Botrytis cinerea* (DARRIEUMERLOU, 2001). En revanche, dans le cas de *Vitis vinifera* présentant des galles phylloxériques, aucun dérèglement des teneurs en ABA n'est noté dans les feuilles (KISLIN *et al.*, 1990). La présente étude montre que l'effet de l'eutypiose sur les teneurs en acide abscissique dépend de l'organe et de la période considérée. Cette maladie provoque, en effet, un enrichissement en ABA qui concerne toute la période étudiée dans le cas des feuilles, mais uniquement la période succédant au stade J dans le cas des entre-nœuds. Avant le stade J, ces derniers organes présentent un appauvrissement en ABA. Au niveau des inflorescences, c'est le décalage induit par l'eutypiose sur la date d'apparition du maximum d'ABA qui est à l'origine d'un appauvrissement en ce régulateur de croissance dans les boutons floraux et dans les fleurs modérément et fortement malades et d'un enrichissement dans les jeunes baies. L'augmentation des teneurs en ABA des organes eutypiés, par rapport aux organes sains, n'est pas un phénomène propre au système *Vitis vinifera* - *Eutypa lata*, puisque des faits analogues ont été signalés dans le cas de plusieurs infections de type compatible (CAHILL et WARD, 1989; BERTRAND, 1991; LEON *et al.*, 1996). De même, l'appauvrissement en ABA induit par l'eutypiose dans les entre-nœuds avant le stade J et dans les boutons floraux et les fleurs semble en accord avec les travaux de RYERSON *et al.*, (1993) sur le couple *Phaseolus vulgaris* /rouille.

Le dérèglement des teneurs en ABA-GE provoqué par l'eutypiose dans les feuilles et de façon moins nette dans les entre-nœuds est un fait original puisque, à notre connaissance, aucun auteur n'a fait mention des variations de la teneur en ABA-GE chez les plantes supérieures

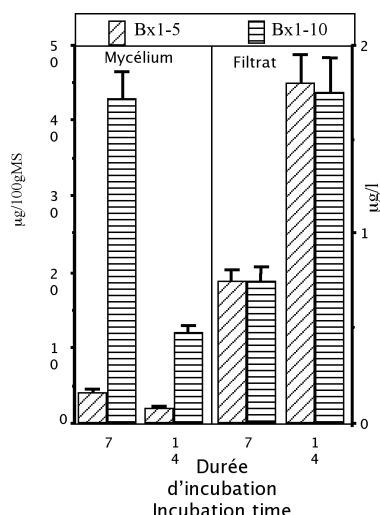


Figure 4 - Variations des teneurs en ABA dans les mycéliums et les filtrats de culture de deux souches d'*Eutypa lata* (Bx 1-5 and Bx 1-10) élevées dans le milieu Eriksson et Petersson après 7 et 14 jours de culture.

Les valeurs correspondent à la moyenne de trois répétitions ± déviation standard (DS).

Variations of ABA contents in mycelia and filtrates of two *Eutypa lata* isolates (Bx 1-5 and Bx 1-10) culture filtrates grown in Eriksson and Petersson medium after 7 and 14 days.

Data presented are means of 3 replicates + standard deviation (SD).

dans le cas d'infections par des champignons phytopathogènes. Seule une augmentation de la teneur en ABA-GE a été signalée dans les feuilles de *Nicotiana tabacum* dans le cas d'une infection par le virus de la mosaïque du tabac (WHENHAM *et al.*, 1986).

Certains auteurs ont signalé, qu'au cours du développement normal de la vigne, une évolution inverse entre l'ABA et l'ABA-GE reflétant un phénomène d'interconversion, intervenait pour réguler les teneurs de la forme active (BROQUEDIS *et al.*, 1988). Cette interconversion qui semble se retrouver aussi dans notre étude ne serait pas perturbée significativement dans les feuilles portées par des pieds atteints d'eutypiose. Dans les entrenœuds, au contraire, les variations dans le même sens des deux formes de l'acide abscissique suggèrent que ce phénomène est dérégulé, mais uniquement dans le cas où l'eutypiose provoque l'apparition des symptômes de rabougrissement.

L'enrichissement de la plupart des organes atteints d'eutypiose en ABA et en ABA-GE suggère une synthèse de novo de ce régulateur de croissance par la plante et / ou une libération par le champignon. Il est clair que cette perturbation hormonale se fait par une action à distance,

puisque *E. lata* est localisé dans les troncs de la vigne et non pas dans les organes en pleine croissance que nous avons analysés (TABACCHI, 1989).

La perturbation de la migration de l'acide abscissique paraît être l'une des possibilités pouvant expliquer son accumulation dans les organes malades. En effet, dans le cas des organes modérément et fortement malades, l'appauvrissement des boutons floraux, des fleurs et des jeunes baies en acide abscissique (entre les stades H et J) est concomitant d'un enrichissement des feuilles en cet acide. Ce fait suggère que l'exportation de l'acide abscissique des feuilles vers les inflorescences signalée chez la vigne à cette époque (KOUSSA *et al.*, 2004) serait fortement réduite par l'eutypiose. Le rôle de forme de transport à longue distance de l'acide abscissique (DIETZ *et al.*, 2000; SAUTER et HARTUNG, 2000) attribuée à l'ABA-GE serait en faveur de cette hypothèse.

La maladie provoque également une réduction de la teneur en eau des organes étudiés, déshydratation qui serait probablement la conséquence de la détérioration des systèmes vasculaires par le champignon au niveau du tronc notée par certains auteurs et notamment par CHAPUIS (1995). Une telle diminution de la teneur en eau des organes végétaux constitue un stress hydrique suffisant pour permettre une synthèse et une accumulation accrues de l'ABA particulièrement dans les feuilles, phénomène largement rapporté par plusieurs auteurs (DÜRING et BROQUEDIS, 1980; HARTUNG *et al.*, 1990). Dès lors, il paraît possible d'envisager que l'enrichissement en ABA des organes de la vigne malade soit le résultat de cette déshydratation provoquée par l'eutypiose. Une telle réduction de la teneur en eau a d'ailleurs été signalée dans plusieurs cas d'infections parasitaires (GOODWIN *et al.*, 1988; LEON *et al.*, 1996) et a aussi été proposée comme une cause de l'accumulation des teneurs en ABA dans certains organes malades (GOODWIN *et al.*, 1988).

Cultivé en milieu liquide, le mycélium de la souche BX1-10 présente des teneurs en ABA plus élevées que celles du mycélium de la souche BX1-5, différence qui semble pouvoir être reliée à leur agressivité. On pourrait, en effet, penser que les plus fortes teneurs en ABA dans les mycéliums de la souche BX1-10 favoriseraient la germination des spores et par conséquent une colonisation plus rapide du milieu, d'où son agressivité. Une telle action de l'ABA sur le développement des champignons est tout à fait envisageable, puisqu'elle a été signalée dans le cas de *Gloesporium album* et de *Botrytis cinerea* (BORECKA et PIENIAZEK, 1969). Une partie de l'ABA synthétisé par les deux souches d'*E. lata* semble pouvoir diffuser dans le milieu liquide. Cette libération suggère que l'augmentation des teneurs en acide abscissique, généralement observée dans les tissus malades, et plus particulièrement

dans les feuilles et les entre-nœuds, pourrait avoir, au moins en partie, une origine fongique. Une telle possibilité est envisageable puisqu'elle a été signalée dans d'autres cas d'infection comme chez *Lycopersicon esculentum* infecté par *Botrytis cinerea* (KETTNER et DÖRFFLING, 1995). Cependant, malgré la différence d'agressivité entre les deux souches d'*E. lata* induisant des symptômes plus ou moins sévères, les quantités d'ABA libérées dans le milieu extérieur sont de même ordre. Cela laisse supposer que dans les organes présentant des symptômes, l'ABA accumulé ne serait qu'en partie d'origine fongique et qu'il serait essentiellement d'origine végétale.

Par ailleurs, plusieurs travaux portant sur l'interaction hôte-parasite tendent à montrer que l'ABA serait impliqué dans la sensibilité des plantes aux infections et dans l'apparition de symptômes maladiques. C'est ainsi que BOUSQUET *et al.* (1990) notent que la concentration en ABA des épis du blé d'hiver est proportionnelle aux symptômes induits par la septoriose, ce qui paraît en accord avec nos résultats concernant le couple *Vitis vinifera* - *E. lata*. Les résultats connus jusqu'ici sur l'effet inhibiteur de l'ABA sur la croissance des organes végétaux (NOUGAREDE *et al.*, 1987; SERRANO *et al.*, 1995) nous laissent supposer que, chez *Vitis vinifera* L., la réduction de la croissance des feuilles, des entre-nœuds et des jeunes baies provoquée par *E. lata* pourrait être imputée, en partie, au dérèglement du métabolisme de cet acide. En effet, pendant toute la période étudiée pour les feuilles et à partir du stade J pour les entre-nœuds et les jeunes baies, l'enrichissement en ABA provoqué par la maladie s'accompagne d'une réduction de la croissance de ces organes. Ce résultat suggère, sans en donner la preuve, que cette hormone interviendrait dans le contrôle de l'augmentation de la surface des feuilles et du poids des baies et de l'allongement des entre-nœuds chez le Cabernet-Sauvignon. Cet effet inhibiteur de l'ABA est d'autant plus intense que le dérèglement de sa teneur est plus accentué. Une telle hypothèse serait en accord avec les travaux montrant qu'un stress hydrique qui provoque une diminution de la surface des feuilles s'accompagne d'une augmentation de la teneur en ABA (BACON *et al.*, 1998). La même relation ABA -croissance est révélée par LEE *et al.* (1996) qui arrivent à inhiber la croissance des rameaux de *Scirpus mucronatus* par un traitement avec de l'ABA. Dans le cas d'infections, un résultat similaire a été noté par STEADMAN et SEQUEIRA (1970) qui signalent que l'ABA serait responsable du rabougrissement des entre-nœuds de tabac infecté par *Pseudomonas solanacearum*. L'implication des autres hormones, et en particulier des auxines et des gibbérellines, est évidemment à envisager. Cela est d'autant plus vrai que ces deux groupes d'hormones sont fortement liés au processus de la croissance des feuilles, des entre-nœuds et des baies. La réduction de la croissance des organes de la vigne est aussi liée au dérèglement du métabolisme primaire comme par exemple

le métabolisme azoté et glucidique. En effet, plusieurs auteurs ont observé une réduction de la croissance et une diminution de la photosynthèse nette dans le cas de plusieurs maladies (ZULU *et al.*, 1991; HIBBERD *et al.*, 1996). D'autres ont signalé que certaines infections fongiques pourraient agir sur l'activité métabolique des tissus colonisés en causant l'altération de la relation source-puit (ENGSTROM et STROMBERG, 1996). Il est donc évident d'observer une perturbation de la croissance des différents organes malades. Mais même dans ces cas là, l'implication de l'ABA est envisageable, puisque ce régulateur de croissance intervient dans le contrôle du métabolisme primaire de plusieurs plantes, en régulant par exemple le métabolisme et la translocation des glucides (OPASKORNKUL, 1999).

D'autre part, l'implication de l'ABA dans la floraison sans toutefois en être le principal inducteur, a été rapportée pour certaines plantes (TAKENO et MAEDA 1996; BAYDAR et ULGER 1998; KOUSSA *et al.*, 2004). Là aussi, nous sommes amenés à penser que l'atténuation de l'accumulation de l'ABA dans les organes présentant des symptômes d'eutypiose pourrait constituer une des causes du mauvais développement des inflorescences. Les fortes teneurs en ABA nécessaires au bon déroulement de la floraison n'étant pas atteintes dans le cas des organes modérément et fortement malades, la floraison se retrouve dérégulée. Dans le cas des organes modérément malades, ce dérèglement aboutit à un fort pourcentage de millerandage. En revanche, dans le cas des organes fortement malades, les boutons floraux finissent par se dessécher pour tomber plus tard.

La forte teneur en ABA induite par la présence d'*E. lata* pourrait aussi avoir un effet indirect sur le métabolisme de la vigne. Des travaux sur l'eutypiose ont permis de montrer qu'*E. lata* produit des métabolites secondaires phytotoxiques présentes dans tous les organes de la vigne (TABACCHI, 1989 ; TEJA *et al.*, 2006). Parmi ces substances, l'eutypine a été reconnue comme un composé toxique capable de jouer un rôle important dans l'expression des symptômes de la maladie (TABACCHI, 1989; FALLOT *et al.*, 1997). Toutefois, la vigne semble posséder un système de détoxification capable d'inactiver cette toxine par l'eutypine réductase qui serait sous le contrôle inhibiteur de l'ABA (MARTIN, 1995). On peut donc supposer que les possibilités de détoxification de l'eutypine vont être réduites lorsque les teneurs en ABA augmentent sous l'effet de la maladie. Cela participerait, par conséquent, à l'accumulation excessive de cette toxine provoquant ainsi un dérèglement de la physiologie des organes de la vigne et l'apparition des symptômes maladiques. Une telle possibilité est tout à fait envisageable puisque l'enrichissement en ABA que nous avons mis en évidence dans les organes malades est d'au-

tant plus intense que les symptômes sont plus graves, suggérant la présence d'un phénomène de toxicité.

CONCLUSION

L'eutypiose est associé à un dérèglement des teneurs en ABA et en ABA-GE dans les feuilles, les entre-nœuds, les boutons floraux, les fleurs et les jeunes baies. Cette perturbation hormonale, d'autant plus forte que la maladie est grave, paraît dépendre de l'organe et du stade considérés et ne concerne généralement que les organes présentant des symptômes. L'essentiel de l'ABA accumulé dans les tissus malades semble être d'origine végétale, probablement suite à une perturbation de la migration de l'ABA-GE entre organes et/ou à une synthèse par la plante. Ce dérèglement hormonal semble pouvoir être relié à l'apparition des symptômes malades et donc impliqué dans la sensibilité de la vigne à l'eutypiose. Toutefois, l'ABA accumulé pourrait être en partie le résultat d'une synthèse, puis d'une libération de ce régulateur de croissance par *E. lata*.

BIBLIOGRAPHIE

- AUDENAERT K., DE MEYER G.B. et HOFTE M.M., 2002. Abscisic acid determines basal susceptibility of tomato to *Botrytis cinerea* and suppresses salicylic acid-dependent signalling mechanisms. *Plant Physiol.*, **128** (2), 491-501.
- BACON M.A., WILKINSON S. et DAVIES W.J., 1998. pH-regulated leaf cell expansion in droughted plants is abscisic acid dependant. *Plant Physiol.*, **118**, 1507-1515.
- BARTHE Ph. 1983. Acide abscissique et dormance embryonnaire chez *Pyrus malus* L. *Thèse Doct d'Etat*, Nice (France), 107 pages.
- BAYDAR H. et ULGER S., 1998. Correlations between changes in the amount of endogenous phytohormones and flowering in safflower (*Carthamus tinctorius* L.). *Turk. J. Biol.*, **22** (4), 421-425.
- BERTRAND S., 1991. Variations dans les niveaux d'acide abscissique et de polyamines dans des plantules lors d'une infection par un champignon : étude de la relation tomate-*Fusarium oxysporum* f. sp. *Radicis-lycopersici*. *Thèse Université Laval*, Québec-Canada.
- BORECKA H. et PIENIAZEK T., 1969. Stimulatory effect of abscisic acid on spore germination of *Gleospodium album* Ostrew. and *Botrytis cinerea* Pers. *Bull Acad. Pol. Sci.*, XVI, 657-661.
- BOUARD J., 1967. Relation entre certains phénomènes rythmiques de croissance et la localisation des doubles nœuds sur les sarments de *Vitis vinifera* L. var. Ugni blanc. *C. R. Acad. Sc. Serie III*, **264**, 307-310.
- BOUSQUET J. F., TOURAUD G., PIOLLAT M. T., BOSCH U. et TROTTET M., 1990. ABA accumulation in wheat heads inoculated with *Septoria nodorum* in the field conditions. *J. Agr. Crop Sci.*, **165** (5), 297-300.
- BROQUEDIS M., KOUSSA T. et BOUARD J., 1988. Mise en évidence de l'interconversion de l'acide abscissique et de l'abscissate de β -D-glucopyranose dans des feuilles de *Vitis vinifera* L. au cours de leur développement. *Connaissance Vigne Vin*, **22** (4), 295-298.
- CAHILL D.M. et WARDE W.D.B., 1989. An indirect enzyme-linked immunosorbent assay for measurement of abscisic acid in soybean inoculated with *Phytophthora megasperma* f. sp. *glycinea*. *Phytopath.*, **79**, 1238-1242.
- CHAPUIS L., 1995. L'eutypiose de la vigne : contribution à l'étude des relations hôte-parasite. *Thèse Univers. Bordeaux II*, France.
- DARRIEUMERLOU A., 2001. Implication des polyamines et de l'acide abscissique dans la relation hôte-parasite entre le raisin et le champignon *Botrytis cinerea*. *Thèse Univers. Bordeaux II*, France. 180p.
- DIETZ K.J., SAUTER A., WICHERT K., MESSAGHI D. et HARTUNG W., 2000. Extracellular β -glucosidase activity in barley involved in the hydrolysis of ABA glucose conjugate in leaves. *J. Exp. Bot.*, **51**, 937-944.
- DÜRING H. et BROQUEDIS M., 1980. Effects of abscisic acid and benzyladenine on irrigated and non-irrigated grapevines. *Scientia Hort.*, **13**, 253-260.
- ENGSTROM K. et STROMBERGA., 1996. Change in sugar content during introduction of systemic Acquired resistance to late blight caused by *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary in potato. *J. Phytopathol.*, **144**, 33-36.
- ERIKSSON K.E. et PETERSSON B., 1975. Extracellular enzyme system utilised by the fungus *Sporotrichum puerulentum* (*Chrysosporium lignorum*) for the break-down of cellulose. *Europ. Journal Biochem.*, **51**, 193-206.
- FALLOT J., DESWARTE C., DALMAYRAC S., COLRAT S. et ROUSTAN J.P., 1997. Eutypa dieback of grapevine : isolation of molecule synthesized by *Eutypa lata* and toxic for grapevine. *C.R. Acad. Sci. Serie III*, **320**, 149-158.
- GOODWIN P.H., DEVAY J.E. et MEREDITH C.P., 1988. Physiological responses of *Vitis vinifera* cv. « Chardonnay » to infection by Pierce's disease bacterium. *Physiol. Mol. Plant Pathol.* **32**, 17-32.
- HARTUNG W., SLOVIK S. et BAIER M., 1990. pH changes and distribution of abscisic acid within the leaf under stress. *Plant Growth Regul. Group Monograph.*, **21**, 211-219.
- HIBBERD J.M., WHITBREAD R. et FARRAR J.F., 1996. Effect of 700 $\mu\text{mol}\cdot\text{mol}^{-1}$ CO₂ and infection with powdery mildew on the growth and carbon partitioning of berley. *New Phytol.*, **134**, 309-315.
- KETTNER J. et DÖRFFLING K., 1995. Biosynthesis and metabolism of abscisic acid in tomato leaves infected with *Botrytis cinerea*. *Planta*, **196**, 627-634.
- KISLIN E.N., NEDOV P.N. et VILKOVA N.A., 1990. Change in the endogenous levels of abscisic acid in leaves of phylloxera-damaged grapevines. *Sel'skokhozyaistvennaya Biologiya*, **5**, 188-91.
- KOUSSA T., COLIN L. et BROQUEDIS M., 2004. Teneurs en acide abscissique de différents organes de *Vitis vinifera* L. (cv. Cabernet Sauvignon) du début de leur développement au stade fermeture de la grappe. *J. Int. Sci. Vigne Vin*, **38** (2), 141-146.

- LEON R., SANTAMARIA J.M., ALPIZAR L., ESCAMILLA J.A. et OROPEZA C., 1996. Physiological and biochemical changes in shoots of coconut palms affected by lethal yellowing. *New Phytol.* **134**, 227-234.
- LEE T. M., SHIEH Y. J. et CHOU C. H., 1996. Abscisic acid inhibits shoot elongation of *Scirpus mucronatus*. *Physiol. Plant.*, **97**, 1-4.
- LE GALL D. et LE GAT Y., 1994. Évaluations de la nuisibilité de l'eutypiose au vignoble. Annales A.N.P.P. (Association nationale de protection des plantes). 4^e conférence Internationale sur les maladies des plantes. 6 au 8 décembre 1994, Bordeaux, France. A.N.P.P., Paris, tome III. p. 1271-1284.
- MARTIN G., 1995. L'eutypiose de la vigne. Détoxification de l'eutypiose, toxine produite par *Eutypa lata*. Rapport DEA, INP, ENSA de Toulouse (France), 30 pages.
- NOUGAREDE A., RONDET P., LANDRE P. et REMBOUR J., 1987. Effet d'un traitement par l'acide abscissique sur la division cellulaire, les teneurs en ADN et l'élongation du bourgeon cotylédonaire de plants de pois décapités. *Can. J. Bot.*, **65**, 907- 915.
- OPASKORNKUL C., LINDBERG S. et TILLBERG J.E., 1999. Effects of ABA on the distribution of sucrose and protons across the plasmalemma of pea mesophyll protoplasts. Suggesting a sucrose/proton symport. *J. Plant Physiol.*, **154**, (4), 447-453.
- RYERSON E., LI A., YOUNG J. P. et HEATH M. C., 1993. Changes in abscisic acid levels in bean leaves during the initial stages of host and non host reactions to rust fungi. *Physiol. Mol. Plant Pathol.*, **43**(4), 265-73.
- SALT S.D., TUZUN S. et KUC J., 1986. Effects of β -ionone and abscisic acid on the growth of tobacco and resistance to blue mould. Mimicry of effects of stem infection by *Perenospora tabacina* Adm. *Physiol. Mol. Plant Pathol.*, **28**, 287-297.
- STEADMAN J.R. et SEQUEIRA L., 1970. Abscisic acid in Tobacco plants: tentative identification and its relation to stunting induced by *Pseudomonas solanacearum*. *Plant Physiol.*, **45**, 691-697.
- SAUTER A. et HARTUNG W., 2000. Radial transport of abscisic acid conjugates in maize roots: its implication for long distance stress signals. *J. Exp. Bot.*, **51**, 929-935.
- SERRANO M., MARTINEZ-MADRID M.C., RIQUELME, F. et ROMOJARO F., 1995. Endogenous levels of polyamines and abscisic acid in pepper fruits during growth and ripening. *Physiol. Plant.*, **95**, 73-76.
- TABACCHI R., 1989. Identification de métabolites secondaires phytotoxiques responsables de l'eutypiose, une maladie de la vigne. *Trav. Chim. Aliment. Hyg.*, **80**, 12-21.
- TAKENO K. et MAEDA T., 1996. Abscisic acid both promotes and inhibits photoperiodic flowering of *Pharbitis nil*. *Physiol. Plant.*, **98**, 467-470.
- TEJA D.J., GALAN R.H. et COLLADO I.G., 2006. Metabolites from *Eutypa* species that are pathogens on grapes. *Nat. Prod. Rep.*, **23**, 106-116.
- WHENHAM R.J., FRASER R.S.S., BROWN L.P. et PAYNE J.A., 1986. Tobacco-mosaic-virus induced increase in abscisic acid concentration in tobacco leaves: intracellular location in light and dark-green areas, and relationship to development. *Planta*, **168**, 592-598.
- ZULU J.N., FARRAR J.F. et WHITBREAD R., 1991. Effects of phosphaste supply on wheat seedlings infected with powdery mildew: carbohydrate metabolism of first leaves. *New Phytol.*, **118**, 553-558.

Manuscrit reçu le 31 mai 2006 ; accepté pour publication, après modifications le 20 octobre 2006