

Les teneurs en acides gras, en eau et en acide abscissique des feuilles de vigne (*Vitis vinifera* L. var. Cabernet Sauvignon) infectées par *Eutypa lata*

T. KOUSSA¹⁾, B. DUBOS²⁾ et M. CHERRAD³⁾

¹⁾ Laboratoire de physiologie et pathologie végétales, Faculté des Sciences, Université Chouaib Doukkali, El Jadida, Maroc

²⁾ INRA, Unité de recherches en santé végétale, Villenave d'Ornon, France

³⁾ Laboratoire des Sciences de la Vigne, Université Bordeaux I, Talence, France

Résumé

L'Eutypiose de la vigne provoque une réduction de la teneur en eau et un enrichissement en acide abscissique (ABA) dans les feuilles de Cabernet Sauvignon, cépage sensible à cette maladie. L'accumulation de l'ABA dans les feuilles portées par les pieds malades semble être la cause de la perturbation de la composition des acides gras (AG), notamment par réduction à la fois de leur degré d'insaturation et de l'allongement de leur chaîne aliphatique. Ces perturbations réduisent la perméabilité membranaire et par suite les échanges avec le milieu extérieur, ce qui accentuerait la déshydratation des feuilles malades avec leur développement.

Water, fatty acids and abscisic acid contents of grapevine leaves (*Vitis vinifera*, cv. Cabernet Sauvignon) infected by *Eutypa lata*

Eutypiose of grapevines led to a lowering of the water content and to an accumulation of abscisic acid (ABA) in the leaves of Cabernet Sauvignon known to be susceptible to Eutypiose. The accumulation of ABA in the leaves of infected plants possibly causes changes in the composition of fatty acids, in particular by reducing their degree of insaturation and by elongating their aliphatic chains. These changes may lower the permeability of membranes and, as a consequence, exchanges with the environment, which possibly intensifies dehydration of infected leaves during their development.

Key words: *Vitis vinifera*, *Eutypa lata*, ABA, water content, fatty acids.

Abbreviations: Acides gras (AG), acides gras totaux (AGT), acides gras insaturés (AGI), acides gras saturés (AGS). Acides palmitique (C16 :0), stéarique (C18 :0), oléique (C18 :1), linoléique (C18 :2), linoléique (C18 :3) et arachidique (C20 :0). Acide abscissique (ABA). C18 = C18 :0+C18 :1+C18 :2+C18 :3.

Abbreviations: Fatty acids (AG), total fatty acids (AGT), unsaturated fatty acids (AGI), saturated fatty acids (AGS). Palmitic (C16 :0), stearic (C18 :0), oleic (C18 :1), linoleic (C18 :2), linolenic (C18 :3) and arachidic (C20 :0) acids. Abscisic acid (ABA). C18 = C18 :0+C18 :1+C18 :2+C18 :3.

Introduction

L'acide abscissique (ABA) semble favoriser la synthèse des acides gras (AG) (HOLBROOK *et al.* 1992) et augmenter la rigidité de la membrane plasmique (LESHEM *et al.* 1990). La déshydratation de différents organes de la plante induit un effet similaire sur la perméabilité membranaire en agissant principalement au niveau de l'acide linoléique (C18 :3) (PHAM THI *et al.* 1990).

Dans le cas d'infections parasitaires, l'induction de quelques réactions hypersensibles nécessite la présence de certains acides gras insaturés (AGI) à 18 carbones (THINES *et al.* 1998) et une diminution des teneurs en ABA (MCDONALD et CAHILL 1999).

Chez la vigne, l'Eutypiose, maladie fongique provoquée par *Eutypa lata*, induit une augmentation de la teneur en C18 :2 des feuilles (KOUSSA et CHERRAD 2000). La faible croissance de ces organes, ainsi que le dessèchement qui lui fait suite, suggèrent un dérèglement à la fois de leur état hydrique et de leur balance hormonale et plus particulièrement de celle de l'ABA.

Le but de cette étude était alors de voir si une relation pouvait exister entre l'ABA, les AG et la teneur en eau dans les feuilles atteintes d'Eutypiose, comme c'est le cas pour les bourgeons latents de vigne au cours de leur développement normal (KOUSSA et CHERRAD 2000).

Matériel et Méthodes

L'étude a porté sur les feuilles de Cabernet Sauvignon, cépage sensible à l'Eutypiose. Les prélèvements ont été effectués dans la région bordelaise au cours de deux années, aux stades boutons floraux séparés, floraison et fermeture de la grappe. Pour chaque prélèvement, nous avons récolté des organes sains (portés par des pieds sains), apparemment sains (portés par un bras ne présentant pas de symptômes, l'autre bras étant malade) et malades (présentant des symptômes). Ces feuilles ont été immédiatement fixées à l'azote liquide puis lyophilisées.

L'extraction de l'ABA et des AG, ainsi que leur dosage, respectivement par chromatographie en phase liquide à haute pression et par chromatographie en phase gazeuse, ont été effectués selon les méthodes précédemment décrites par KOUSSA et CHERRAD (2000).

Résultats et Discussion

Teneur en eau et ABA : Quel que soit l'état sanitaire considéré, la teneur en eau des feuilles reste stable du stade boutons floraux séparés au stade floraison (Tableau), puis diminue jusqu'au stade fermeture de la grappe. L'Eutypiose entraîne, cependant, une déshydratation qui s'intensifie à la fois avec la gravité de la maladie et avec le développement des feuilles. Ce résultat est en accord avec la réduction de la teneur en eau qui a été signalée auparavant chez d'autres plantes sous l'influence de certaines infections parasitaires (GARRY *et al.* 1996). Dans le cas de l'Eutypiose, une partie du bois constituant le tronc ou les bras du cep est déshydratée (DUBOS et BONIFACE 1980), ce qui suggère que la diminution de la teneur en eau des feuilles pourrait avoir comme cause une alimentation hydrique déficiente.

L'Eutypiose induit aussi un enrichissement des feuilles en ABA qui s'accroît avec la gravité de la maladie. Ce résultat semble rejoindre les travaux qui laissent apparaître une accumulation de ce régulateur de croissance dans le cas de plusieurs réactions compatibles (SALT *et al.* 1986).

L'augmentation de la teneur en ABA dans les feuilles malades est concomitante de la déshydratation de ces organes. Cela nous amène à penser qu'il existe une relation entre ces deux phénomènes. En effet, l'Eutypiose serait à l'origine d'un stress hydrique au niveau des feuilles, phénomène qui,

on le sait, induit chez la vigne comme chez d'autres plantes, une forte accumulation d'ABA (DÜRING et BROQUEDIS 1980). Cette hypothèse laisse donc supposer que l'ABA accumulé dans les feuilles portées par les pieds atteints d'Eutypiose serait d'origine végétale. Toutefois, la possibilité d'une synthèse de l'ABA par *E. lata* et sa capacité à le libérer dans le milieu extérieur (KOUSSA *et al.* 1997) laissent également envisager l'hypothèse d'une origine fongique.

Acides gras totaux et ABA : Au stade boutons floraux séparés, l'Eutypiose provoque un enrichissement des feuilles en acides gras totaux (AGT) qui semble fortement liée à leur déshydratation (Tableau). Ce type de relation entre les AGT et les teneurs en eau est tout à fait envisageable puisqu'il a été signalé auparavant (KOUSSA et CHERRAD 2000). Comme l'a suggéré PUCKACKA (1989) chez *Acer saccharinum* L., cette synthèse d'AG serait une réponse de la plante destinée à réparer les dommages subis par les membranes dans le cas d'un stress hydrique. A ce stade, les feuilles malades contiennent plus d'ABA que les feuilles saines, ce qui suggère, comme cela a été signalé par HOLBROOK *et al.* (1992), un effet stimulant de ce régulateur de croissance sur la synthèse des AG.

Lorsque le stress hydrique dû à la maladie s'accroît, à partir du stade floraison, les teneurs en AG des feuilles atteintes d'Eutypiose deviennent moins élevées que celles des feuilles saines, malgré des teneurs en ABA plus élevées. Ce fait, nous amène à penser que les feuilles ont atteint un

Tableau

Influence de l'Eutypiose sur les teneurs en eau, en ABA et en acides gras des feuilles de *Vitis vinifera* L. var. Cabernet Sauvignon aux stades boutons floraux (BF), floraison (Fl) et fermeture de la grappe (FG) (S: saines; Ap. S: apparemment saines; M: malades; MS: Matière sèche; C18= C18 :0+C18 :1+C18 :2+C18 :3)
Effect of Eutypa on water content, ABA and fatty acids in leaves of cv. Cabernet Sauvignon at three stages: buds (BF), flowering (Fl) and closed clusters (FG) (S: healthy; Ap. S: appearing healthy; M: diseased; MS: dry weight; C18= C18 :0+C18 :1+C18 :2+C18 :3)

Stades (stages) Etat (State)	BF			Fl			FG		
	S	Ap. S	M	S	Ap. S	M	S	Ap. S	M
Eau (Water) %	77.0	76.0	75.3	77.8	77.0	75.3	69.0	68.0	65.0
ABA (mg 100 g ⁻¹ MS)	22.4	28.2	28.0	12.4	18.3	24.5	15.6	28.9	45.3
Teneurs (Contents):									
AGS (mg g ⁻¹)	6.4	7.3	7.7	5.6	4.8	6.4	4.2	4.2	4.6
AGI (mg g ⁻¹)	19.1	21.4	22.5	23.1	18.4	17.9	15.0	13.2	11.6
AGT (mg g ⁻¹)	25.4	28.7	30.2	28.7	23.3	24.3	19.2	17.5	16.1
Proportions (%):									
C16 :0	20.5	22.1	22.4	17.0	17.6	22.0	19.0	20.4	21.8
C18 :0	2.6	2.4	2.3	1.9	2.4	3.7	2.2	3.0	5.2
C20 :0	2.0	0.9	0.8	0.6	0.8	0.7	0.5	0.9	1.3
C18 :1	4.1	3.6	2.7	3.5	2.9	3.3	4.0	3.0	3.5
C18 :2	21.3	23.4	24.8	15.7	19.8	22.1	8.4	12.0	14.7
C18 :3	49.5	47.6	47.0	61.4	56.5	48.2	65.8	60.7	53.4
Rapports (Ratios):									
AGS/AGI	0.3	0.3	0.3	0.2	0.3	0.4	0.3	0.3	0.4
C16 :0/C18	0.3	0.3	0.3	0.2	0.2	0.3	0.2	0.3	0.3
C18 :0/C18 :1	0.6	0.7	0.9	0.6	0.8	1.1	0.6	1.0	1.5
C18 :1/C18 :2	0.2	0.2	0.1	0.2	0.2	0.2	0.5	0.3	0.2
C18 :2/C18 :3	0.4	0.5	0.5	0.3	0.4	0.5	0.2	0.2	0.3

degré de déshydratation au delà duquel la restauration des dommages causés par la perte en eau ne peut plus avoir lieu. Un phénomène similaire a d'ailleurs été observé dans le cas des entre-nœuds de la Vigne (KOUSSA et CHERRAD 2000) ainsi que chez d'autres plantes (HOLBROOK *et al.* 1992). L'augmentation concomitante des teneurs en ABA et de l'activité peroxydase notée dans le cas d'infection de la vigne par la maladie de Pierce (GOODWIN *et al.* 1988) suggère que dans le cas de l'Eutypiose, les fortes concentrations en ce régulateur de croissance stimuleraient la peroxydation des lipides.

Composition en AG et ABA : L'enrichissement des feuilles malades en ABA est concomitant d'une augmentation du rapport AGS/AGI qui paraît être la conséquence d'une accumulation des AGS et surtout d'une diminution de la teneur en AGI. Ce résultat est en accord avec les travaux de AID *et al.* (1995) qui signalent une augmentation des teneurs en AGS, sous l'influence d'un choc thermique s'accompagnant le plus souvent d'une forte accumulation de l'ABA. Ce régulateur de croissance semble alors agir en réduisant la transformation des AGS en AGI, action qui se ferait essentiellement au niveau du C18 :0. L'augmentation du rapport C18 :0/C18 :1 avec la gravité de la maladie est en faveur de cette hypothèse. De plus, l'Eutypiose provoque une augmentation du rapport C18 :2/C18 :3, ce qui suggère une atténuation de la transformation de C18 :2 en C18 :3. L'Eutypiose provoque donc une diminution du degré d'insaturation des AG qui paraît être la conséquence de l'accumulation de l'ABA.

Le rapport C16 :0/C18, quant à lui, subit une augmentation dans les feuilles malades ce qui indique que la transformation du C16 :0 en C18 est atténuée. Il semblerait donc que l'ABA, en s'accumulant sous l'influence de la maladie, agirait aussi sur la composition des AG en inhibant l'allongement de leur chaîne aliphatique au niveau de C16 :0.

Par ailleurs, on sait que dans les feuilles à développement normal, le C18 :0 est synthétisé dans les mitochondries à partir de C16 :0. Par la suite, l'insaturation progressive du C18 :0 en C18 :1, puis en C18 :2 et enfin en C18 :3, a lieu respectivement dans les chloroplastes, dans le réticulum endoplasmique puis de nouveau dans les chloroplastes (DOUCE et JOYARD 1980). Dans le cas des feuilles portées par des pieds malades, l'inhibition des différentes transformations des AG paraît avoir lieu à la fois au niveau de C16 :0, de C18 :0 et de C18 :2. Le mécanisme qui pourrait expliquer les dérèglements notés serait que l'ABA accumulé sous l'influence de la maladie agirait au niveau membranaire, en inhibant la pénétration des AG dans leur site d'insaturation. Une telle hypothèse supposerait donc l'inhibition, par l'ABA, de la pénétration de C16 :0 dans le réticulum endoplasmique et de C18 :0 ainsi que de C18 :2 dans les chloroplastes. Cette hypothèse est très probable, puisqu'elle a été signalée pour le C18 :2 dans le cas d'infections par *Phytophthora* sp. (SOULIE *et al.* 1989). L'inhibition des désaturases ainsi que des élongases des AG est une hypothèse qui reste aussi valable.

AG, perméabilité membranaire et ABA : Les perturbations de la composition des AG des feuilles provoquées par l'Eutypiose fournissent plusieurs arguments qui tendent à montrer que cette maladie entraîne une diminution des échanges avec le milieu extérieur.

En accord avec les travaux de PHAM THI *et al.* (1990), l'augmentation du rapport AGS/AGI ainsi que l'inhibition de la transformation de C18 :0 en C18 :1, observées dans les feuilles atteintes par l'Eutypiose, induiraient une diminution de la fluidité membranaire. De même, des perturbations de la composition en C16 :0 et en C18 :0 similaires à celles détectées dans les feuilles atteintes d'Eutypiose provoqueraient, selon RHIM *et al.* (1999), une diminution de la perméabilité de la membrane à l'eau et aux solutés. Enfin, l'augmentation de la proportion de C18 :2 dans les feuilles portées par des pieds malades induirait un encombrement stérique qui serait responsable de la réduction des échanges entre les cellules et leur environnement extérieur (AID *et al.* 1995).

En outre, la diminution de la perméabilité membranaire concomitante de l'enrichissement en ABA des feuilles malades laisse penser que c'est ce régulateur de croissance qui en serait l'un des principaux facteurs responsables. Les travaux de LESHEM *et al.* (1990) qui font apparaître une nette diminution de la fluidité membranaire après un traitement à l'ABA, sont en faveur de cette hypothèse. La limitation des échanges en eau et en solutés des cellules foliaires avec le milieu extérieur imposée par les fortes teneurs en ABA, ainsi que la destruction du système vasculaire des pieds de vigne par le champignon, pourraient alors induire un déséquilibre hydrique qui serait responsable de la déshydratation des feuilles. En l'absence d'une réaction de la plante pour réduire les teneurs en ABA des feuilles malades qui rétablirait à la fois une composition en AG similaire à celle des feuilles saines et une alimentation hydrique normale, on assiste à une accentuation de la déshydratation.

Conclusion

Cette étude apporte des éléments de réponse pour la compréhension du mode d'action d'*E. lata* sur le dérèglement du développement des feuilles de vigne. Elle montre que l'Eutypiose induit une accumulation de l'ABA dans les feuilles malades. Ce dérèglement semble être l'un des principaux facteurs régulant la composition en AG des feuilles accentuant ainsi leur déshydratation.

L'ABA semble donc un élément clé pour la compréhension de la relation *Vitis vinifera*-*Eutypa lata*. Son accumulation dans les feuilles pourrait constituer un facteur de sensibilité à l'Eutypiose, hypothèse qu'il conviendrait de confirmer sur d'autres cépages de sensibilités différentes. Le contrôle de la biosynthèse de l'ABA pourrait alors constituer une approche pour l'élaboration d'une stratégie de lutte.

Références bibliographiques

- AID, F.; DEMANDRE, C.; KESRI-BENHSSAINE, G.; MAZLIAK, P.; 1995: Effects of heat shock on foliar lipid composition of grape: Main molecular species modifications. *Plant Physiol. Biochem.* **33**, 235-240.
- DOUCE, R.; JOYARD J.; 1980: Plant galactolipids. In: P. K. STUMPF (Ed.): *The Biochemistry of Plants, Structure and Function* **4**, 321-362. Acad. Press, New York-London-Toronto-Sydney-San Francisco.
- DUBOS, B.; BONIFACE, J. C.; 1980: L'Eutypiose de la vigne (*Eutypa armeniaca* Hansf. et Carter). *Défense Végét.* **202**, 55-62.

- DURING, H.; BROQUEDIS, M.; 1980: Effects of abscisic acid and benzyladenine on irrigated and non-irrigated grapevines. *Scientia Hort.* **13**, 253-260.
- GOODWIN, P. H.; DEVAY, J. E.; 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.
- GARRY, G.; TIVOLI, B.; JEUFFROY, M. H.; CITHAREL, J.; 1996: Effects of Ascochyta blight caused by *Mycosphaerella pinodes* on translocation of carbohydrates and nitrogenous compounds from the leaf and hull to the seed of dried pea. *Plant Pathol.* **45**, 769-777.
- HOLBROOK, L. A.; MAGUS, J. R.; TAYLOR, D. C.; 1992: Abscisic acid induction of elongase activity, biosynthesis and accumulation of very long chain monounsaturated fatty acids and oil body proteins in microspore-derived embryos of *Brassica napus* L. cv. Reston. *Plant Sci.* **84**, 99-115.
- KOUSSA, T.; BROQUEDIS, M.; DUBOS, B.; 1997: Relation possible entre l'agressivité de deux souches d'*Eutypa lata* et leur contenu en polyamines et en acide abscissique. *J. Int. Sci. Vigne Vin* **31**, 11-16.
- KOUSSA, T.; CHERRAD, M.; 2000: Relation entre les variations du contenu en acides gras des bourgeons latents et des entre-nœuds de la vigne (*Vitis vinifera* L. var. Merlot) et leur teneurs en eau et en acide abscissique. *Vitis* **39**, 93-98.
- LESEM, Y. Y.; COJOCARU, M.; MARGEL, S.; EL-ANI, D.; LANDAU, E. M.; 1990: A biophysical study of abscisic acid interaction with membrane phospholipid components. *New Phytol.* **116**, 487-498.
- MACDONALD, K. L.; CAHILL, D. M.; 1999: Influence of abscisic acid biosynthesis inhibitor, norflurazon, on interactions between *Phytophthora sojae* and soybean (*Glycine max*). *Eur. J. Plant Pathol.* **105**, 651-658.
- PHAM THI, A. T.; VIEIRA DA SILVA, J.; MAZLIAK, P.; 1990: The role of membrane lipids in drought resistance of plants. *Bull. Soc. Bot. Fr.* **137**, 99-114.
- PUCKACKA, S.; 1989: The effect of desiccation on viability and phospholipid composition of *Acer sacharinum* L. seeds. *Trees* **3**, 144-148.
- RHIM, J. W.; WU, Y.; WEILLER, C. L.; SCHNEPT, M.; 1999: Physical characteristics of emulsified soy protein-fatty acid composite films. *Sci. Alim.* **19**, 57-71.
- SALT, S. D.; TUZUN, S.; KUC, J.; 1986: Effects of β -ionone and abscisic acid on the growth of tobacco and resistance to blue mold. Mimicry of effects of stem infection by *Peronospora tabacina*. *Adm. Physiol. Mol. Plant Pathol.* **28**, 287-297.
- SOULIE, M. C.; TRONTON, D.; MALFATTI, P.; BOMPEIX, G.; LAVAL, M.; 1989: Postinfectious changes of lipids and photosynthesis in *Lycopersicon esculentum* susceptible to *Phytophthora capsici*. *Plant Sci.* **61**, 169-179.
- THINES, E.; EILBERT, F.; STERNER, O.; ANKER, H.; 1998: Inhibition of appressorium formation in *Magnaporthe grisea*: A new approach to control rice blast disease. *Pestic. Sci.* **54**, 314-316.

Received January 7, 2002