



*Université de Poitiers
Institut de Chimie des Milieux et Matériaux de Poitiers (IC2MP)*

*Université de Reims Champagne-Ardenne
Laboratoire de Stress, Défenses et Reproduction des Plantes*

**MISE AU POINT D'UN MODÈLE SIMPLIFIÉ EN VUE DE TESTER DES
MOYENS DE LUTTE CONTRE LES MALADIS DU BOIS**

**Florence Fontaine, Alessandro Spagnolo, Sophie Marhadour, Hanxiang Wu,
Cécile Marivingt-Mounir et Jean-François Chollet**

Contexte

Utiliser la complémentarité de nos savoir-faire respectifs



- **Poitiers** : Expertise en matière de mobilité (= systémie) des molécules synthétiques ou naturelles chez les plantes, fongicides ou stimulateurs des réactions de défense



- **Reims** : Expertise en matière de la connaissance des maladies du bois chez la vigne, connaissance des interactions hôte-pathogène et mise au point d'un modèle de contamination simplifié

Stratégie

Tester de nouveaux moyens de lutte originaux (chimiques et/ou biologiques) grâce au développement du modèle de contamination simplifié



- **Poitiers** : Synthèse de nouveaux profongicides systémiques et étude de leur mobilité dans la plante



- **Reims** : Test de l'efficacité de traitements chimiques (profongicides) et/ou biologiques (bactérie) en utilisant le modèle simplifié ; regarder les gènes impliqués lorsqu'un effet positif est noté

Modèle simplifié

- Boutures enracinées en pot, Chardonnay et Sauvignon
- Inoculation artificielle sur tige herbacée avec *Neofusicoccum parvum*

Bouture
de 10 semaines

T0



Modèle simplifié

- Taille de la lésion (surface) au bout de 60 jours
- Lésions plus petites chez le Sauvignon
- Permet l'évaluation de l'efficacité d'un traitement

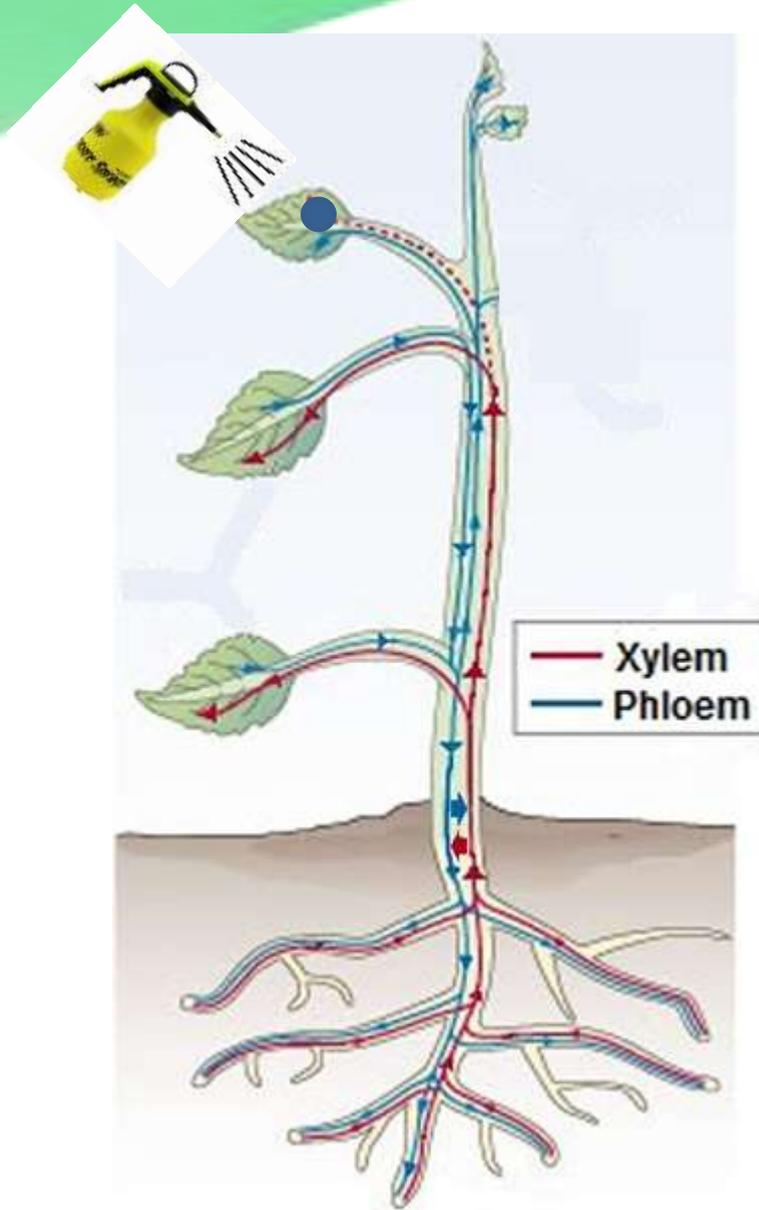
Témoin



N. parvum



Profongicides



Notre objectif : avoir des fongicides mobiles dans la plante qui, après application foliaire, soient capables d'aller au contact des champignons parasites

- Phloem mobility
- Xylem mobility

Profongicides

Utilisation de la stratégie de prodrogue



Synthèse



Modification



1. Mécanisme de piégeage d'acide

- Fenpiclonil + COOH
- Ajouter un groupement porteur d'une fonction acide carboxylique ou ester*

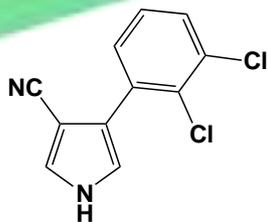
Profongicides

2. Transport actif

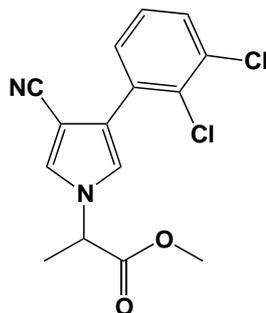
- Fenpiclonil + nutriment
- Greffer un aminoacide ou un sucre*

Profongicides

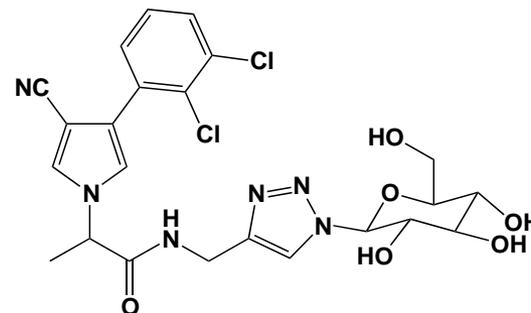
Nouvelles molécules synthétisées



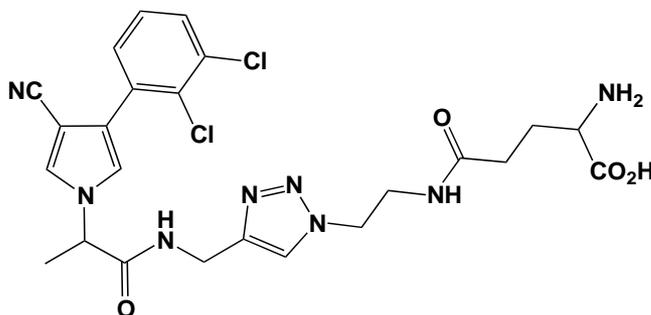
Fenpiclonil



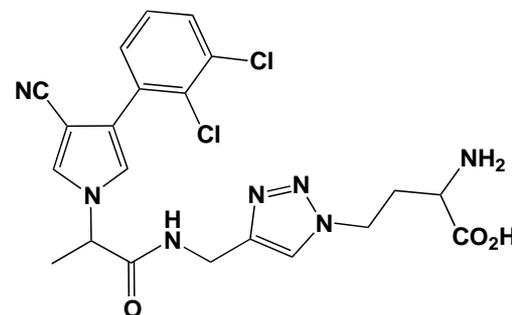
SM 26



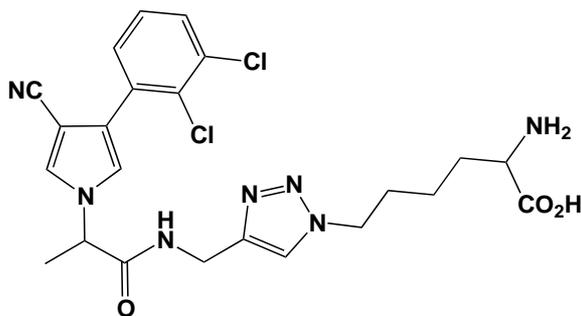
12



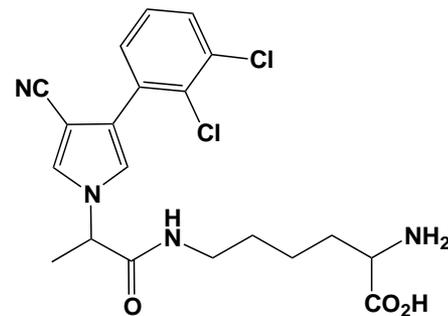
L-13 / D-13



L-14



L-15



L-16

Étude de la mobilité des conjugués : principaux enseignements

- **Les α -aminoacides sont des vecteurs plus efficaces que le glucose.** Le conjugué avec le glucose que nous avons testé est retrouvé dans la sève phloémienne à une concentration 20 à 45 fois inférieure à un conjugué comportant un aminoacide dans sa structure > fixation réversible du conjugué avec le glucose sur un transporteur de saccharose, sans manipulation par la suite
- **Les conjugués avec les α -aminoacides sont bien pris en charge par un système de transport actif.** Après 5 heures d'absorption, le même conjugué est retrouvé dans la sève phloémienne à une concentration 9 fois supérieure lorsqu'il est sous sa forme L plutôt que sous sa forme D
- **La nature de l'espaceur entre le fongicide et la fonction α -aminoacide influe sur la systémie.** En particulier, lorsqu'un cycle triazole est présent dans la structure, la réduction de la longueur de la chaîne du L-aminoacide augmente notablement la mobilité phloémienne
- **Ce mécanisme de transport actif s'avère plus efficace que le mécanisme de piégeage d'acide** car, contrairement à ce dernier, il est efficace sur toute l'échelle des pH biologiques.

Étude de la mobilité des conjugués : publications

- **Wu H, Marhadour S, Lei ZW, Yang W, Marivingt-Mounir C, Bonnemain JL, Chollet JF (2017)** Vectorization of agrochemicals: amino acid carriers are more efficient than sugar carriers to translocate phenylpyrrole conjugates in the *Ricinus* system. Environmental Science and Pollution Research: Sous presse
- **Marhadour S, Wu H, Yang W, Marivingt-Mounir C, Bonnemain JL, Chollet JF (2017)** Vectorisation of agrochemicals via amino acid carriers: influence of the spacer arm structure on the phloem mobility of phenylpyrrole conjugates in the *Ricinus* system. Pest Manage. Sci. 73: 1972-1982
- **Wu H, Marhadour S, Lei ZW, Dugaro E, Gaillard C, Porcheron B, Marivingt-Mounir C, Lemoine R, Chollet JF, Bonnemain JL (2017)** Use of D-glucose-fenpiclonil conjugate as a potent and specific inhibitor of sucrose carriers. J. Exp. Bot. 68: 5599-5613

Bactérie

Burkholderia phytofirmans souche PsJN

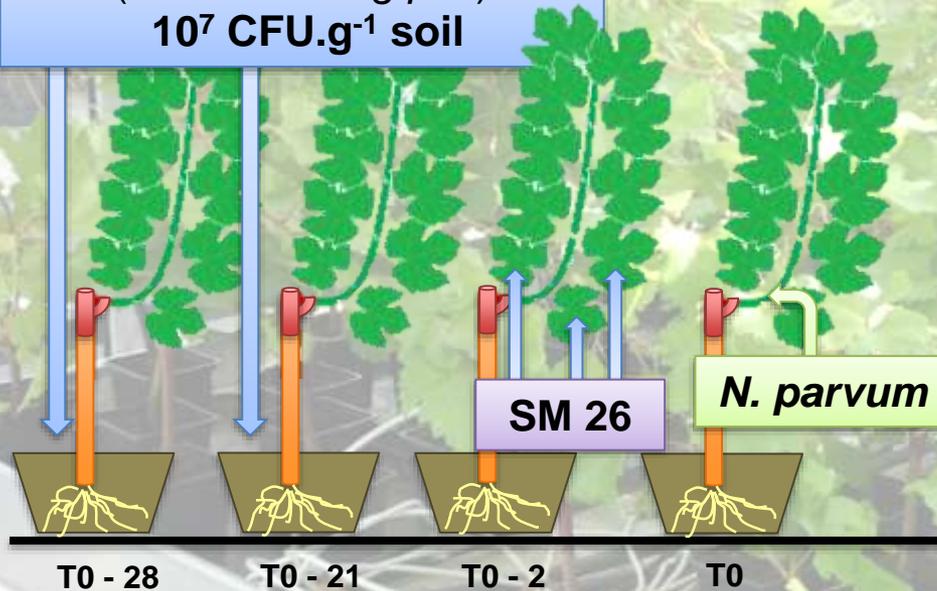
- Bactérie endophyte favorisant la croissance des plantes (Sessitsch et al., 2005, Compant et al., 2005) qui a d'abord été isolée de la racine de l'oignon (Nowak et al., 1995)
- Il a été démontré qu'elle permet un contrôle de *B. cinerea* sur la vigne (Ait Barka et al., 2000, 2002)
- Elle confère une résistance des végétaux aux stress biotiques et abiotiques par l'induction de protéines ISR, de protéines PR, de composés phénoliques et d'autres composés (Gauthier et al., 2014, Chavez et al., 2015)
- *Burkholderia phytofirmans* est naturellement présente au vignoble (Lo Piccolo et al. 2010, Pinto et al. 2014)

Traitements

Évaluation de l'efficacité des traitements à l'aide du modèle simplifié

Burkholderia phytofirmans
(strain PsJN::*gfp2x*)
 10^7 CFU.g⁻¹ soil

2 cépages étudiés :
Sauvignon et Chardonnay



Prélèvement de feuilles pour RTqPCR

T0 + 4 T0 + 8

Prélèvement de feuilles pour la
détection de SM26

T0 + 16

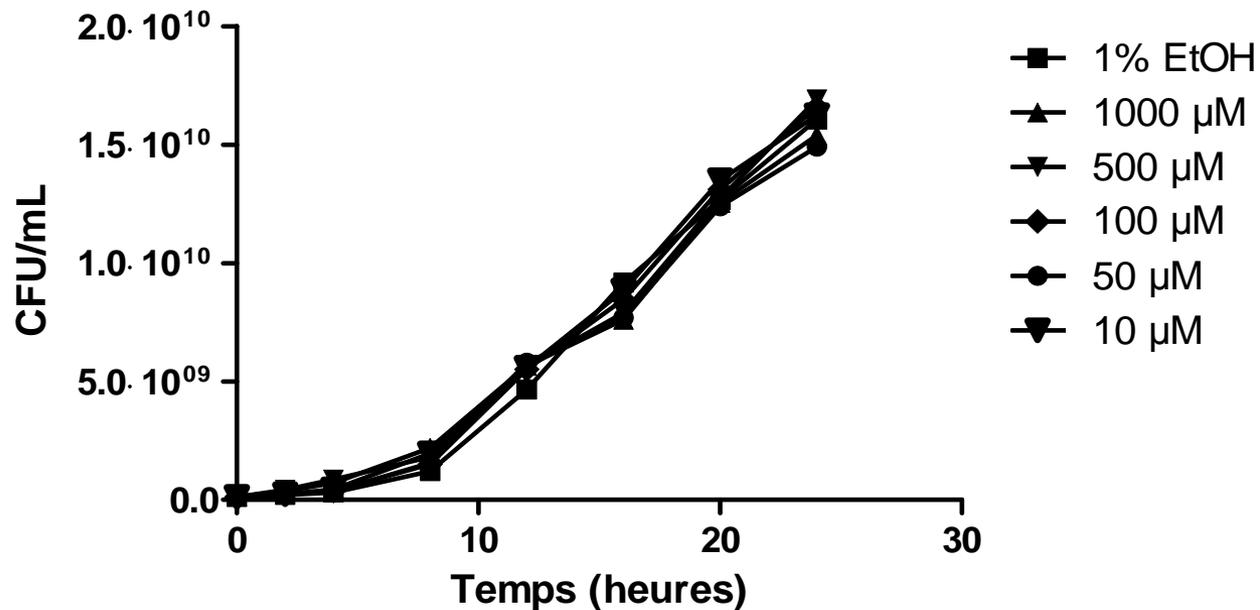
Mesure de la taille des lésions

T0 + 60

Résultats : SM 26 + *B. Phytofirmans* ?

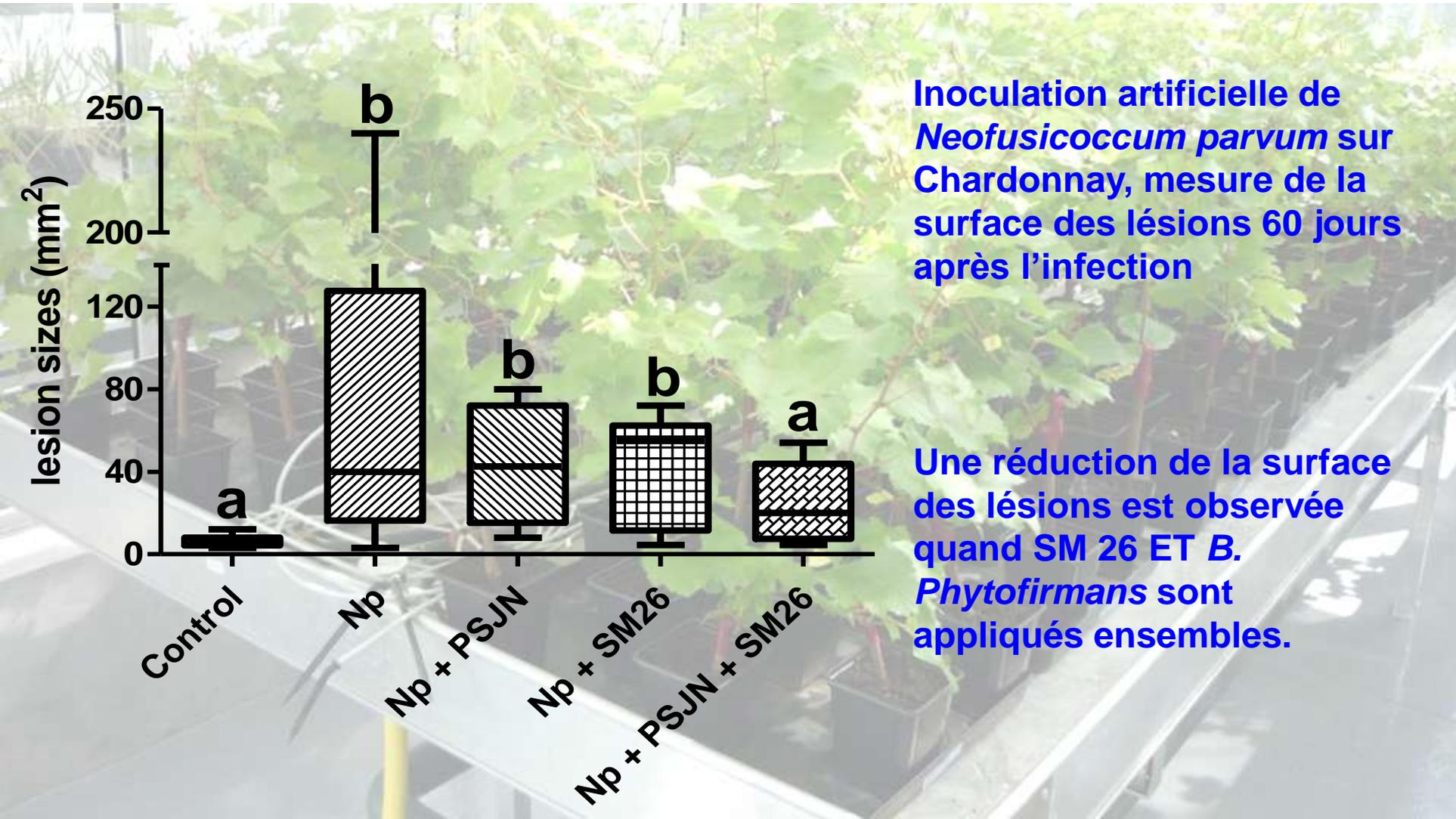
SM 26 et *B. Phytofirmans* : Comment se comporte la bactérie si elle est en présence du profongicide ?

Figure 1. Effet de SM26 à diverses concentrations sur la croissance de *B. phytofirmans*



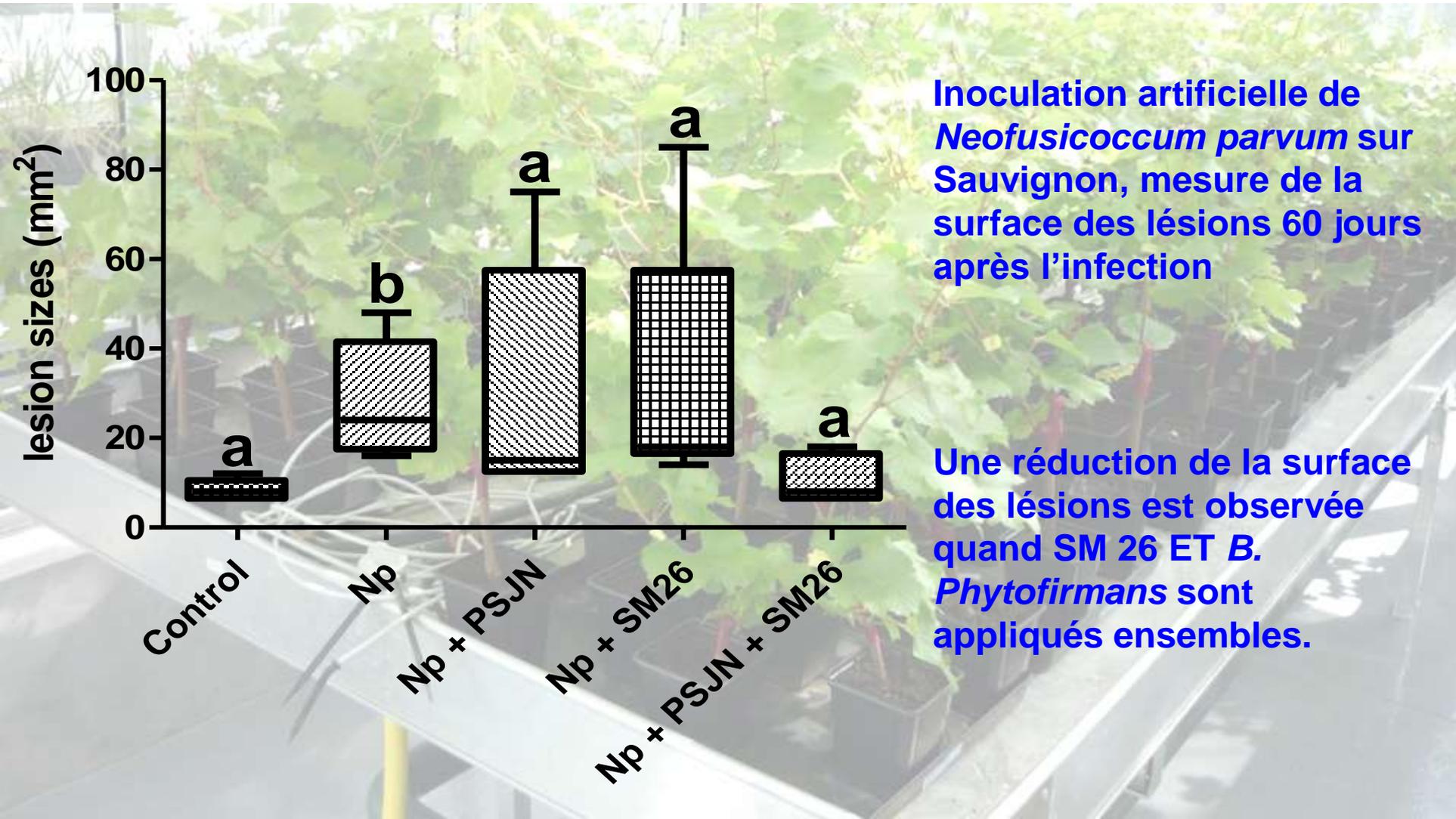
Résultats Chardonnay

Évaluation de la taille des nécroses après traitement



Résultats Sauvignon

Évaluation de la taille des nécroses après traitement



Résultats

Analyse transcriptomique (RTqPCR)

Genes induced in trunk disease-affected grapevines

*Letousey et al., 2010; Magnin-Robert et al., 2011, 2016;
Lambert et al., 2013*

Genes induced by *Burkholderia phytofirmans* PsJN in grapevine

Bordiec et al., 2011; Theocharis et al., 2012

Genes induced by elicitors in grapevine

Dufour et al., 2013.....

SA or JA (+ ethylene) pathways?

*Kortekamp, 2006, Chong et al., 2007; Bordiec et al., 2011;
Gauthier et al., 2014; Chavez et al., 2015*

PAL

GST

STS

PR1

CHI

GLU

ANR

CHI4c

ANTS

CHI1b

LOX

PR6

AOS

PR10

ACC ox

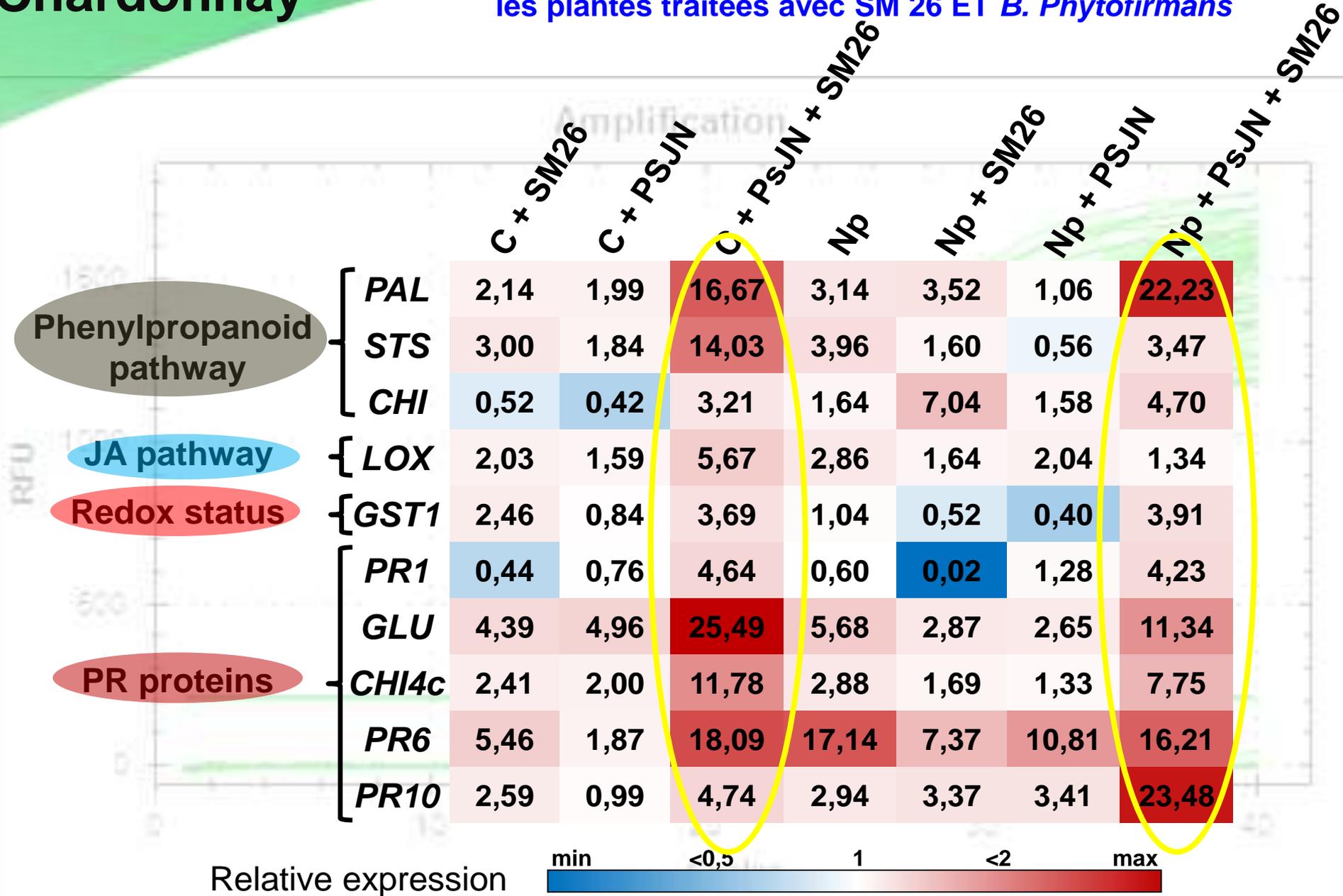
PGIP

SucS2

Vv17.3

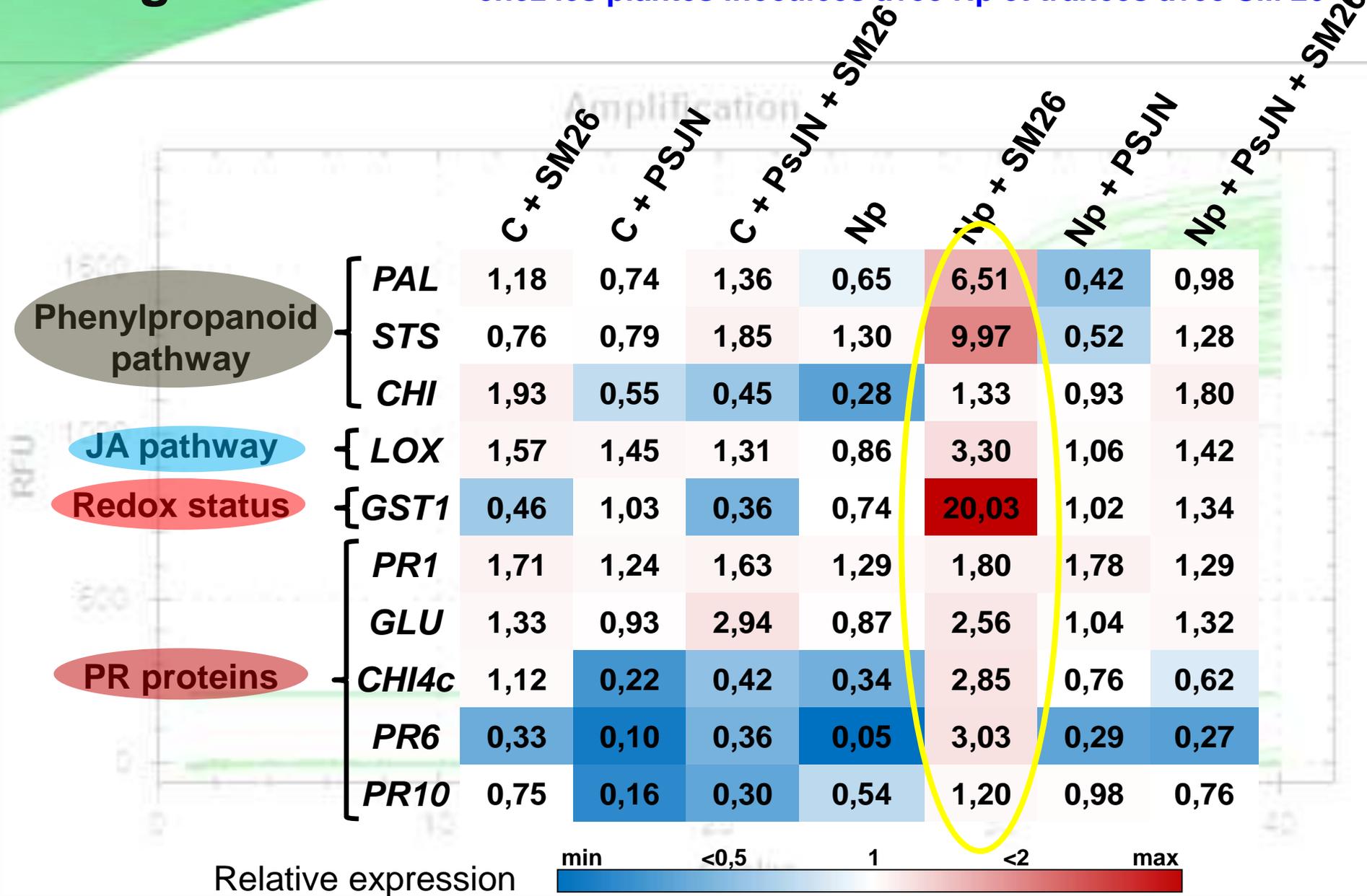
Résultats Chardonnay

4 jours après l'inoculation, on observe une forte induction de gènes impliqués dans les défenses, en particulier chez les plantes traitées avec SM 26 ET *B. Phytofirmans*



Résultats Sauvignon

4 jours après l'inoculation, on observe une induction marquée de gènes impliqués dans les défenses simplement chez les plantes inoculées avec Np et traitées avec SM 26



Conclusion

Chardonnay

- Induction légère des gènes impliqués dans la défense chez les plantes traitées avec *B. Phytofirmans* OU SM 26
 - > Effet “priming” de *B. Phytofirmans* et éliciteur possible de SM 26
- Forte induction des gènes impliqués dans la défense chez les plantes traitées avec *B. Phytofirmans* ET SM 26
 - > Effet synergique comme ce qui a été observé avec l'évaluation de l'importance des nécroses sur le modèle simplifié. On peut imaginer que les plantes “amorçées” par la bactérie activent ensuite des réactions de défense lors de l'application de SM 26. On peut aussi penser que SM 26 est métabolisé *in planta* en acide F 30 par la bactérie.

Résultats : Métabolisme SM 26

Synergie SM 26 et *B. Phytofirmans* : Comment se comporte la bactérie en présence du profongicide ?

Tableau 3. Devenir du composé **SM 26** dans une culture en milieu liquide de la bactérie *B. Phytofirmans*. Les résultats sont exprimés en % de la quantité de **SM 26** initialement présente.

	Concentration initiale en SM 26 [nombre essais]	SM 26 retrouvé (en % de la quantité initiale)	F 30 retrouvé (en % de la quantité de SM 26 initiale)
Cellules bactériennes	50 µM [3]	26,5	0
	100 µM [3]	33,0	0
	500 µM [2]	34,7	0
Milieu de culture	50 µM [3]	3,7	18,7
	100 µM [3]	2,1	9,0
	500 µM [2]	3,3	3,2

Conclusion

Sauvignon

- Induction des gènes impliqués dans la défense simplement chez les plantes inoculées avec *N. Parvum* et traitées avec SM 26 > Plantes moins sensibles à *B. Phytofirmans*, pas d'effet éliciteur de SM 26, activation des réactions de défense par SM 26 seulement chez les plantes infectées par Np
- Pourquoi n'observe-t-on pas d'effet synergique comme ce qui a été observé avec l'évaluation de l'importance des nécroses sur le modèle simplifié ? On peut imaginer que les réactions de défense sont activées plus tardivement que chez le Chardonnay (l'étude a été faite 4 jours après l'infection et les nécroses ont été mesurées au bout de 60 jours)
- Lambert et al., 2013 ; Spagnolo et al., 2014 ont indiqué que les cépages les moins sensibles aux maladies du bois répondaient plus vite et fortement que les cépages sensibles. Dans notre cas, le Chardonnay, considéré comme moins sensible, tend à répondre plus fortement que le Sauvignon pour les gènes ciblés dans cette étude.

Perspectives

- Ces travaux confirment des résultats antérieurs, à savoir qu'une activation des mécanismes de défense chez la plante peut permettre de contrôler – tout au moins de contenir - le développement des maladies du bois chez la vigne
- Poursuivre la compréhension du mode d'action de la combinaison « SM 26 + *B. Phytofirmans* » afin d'optimiser son application
- Tester les nouveaux conjugués avec des aminoacides afin de voir s'ils peuvent améliorer l'effet biologique observé avec SM 26 associé à *B. Phytofirmans*
- Continuer les recherches dans ce sens en développant de nouvelles molécules mobiles susceptibles d'activer les réactions de défense de la plante
- Faire des essais de plein champ pour confirmer les travaux de laboratoire

Remerciements



TOUS LES VINS SONT DANS SA NATURE



FranceAgriMer



Hennessy
COGNAC





Institut de Chimie
des Milieux et Matériaux de Poitiers

IC₂mp

UMR CNRS 7285



Merci pour votre attention !

**THANK
YOU**

