



➤ Identification de facteurs de sensibilité liés aux développements des nécroses associées à l'Esca

Guillaume ARNOLD

guillaume.arnold@inrae.fr

Ingénieur en innovation variétale pour la vigne
UMR 1131 Santé de la Vigne et Qualité du Vin
Centre Grand Est-Colmar

Proconseil :

Intervention formations canton de Vaud, le 11 mars 2025

INRAE Grand-Est Colmar



Localisation : Biopôle de Colmar

Structures de **recherche** (INRAE, UHA), d'**enseignement** (UHA-faculté de marketing et d'agrosociétés, UHA-IUT département de Biologie, Agronomie, Biotechnologie), d'**innovation** (CRT RITTMO dans le domaine des intrants en agriculture), de **développement** (dont IFV, CIVA, chambre d'agriculture), toutes centrées autour de deux thématiques stratégiques régionales Vignes & Vins et Agronomie & Environnement



Le Centre INRAE Grand-Est Colmar :

- 16 000 m² dont 4 000 m² de laboratoires, bureaux, salles de réunion
- 66 ha de terres dont 11 ha en culture viticole (**UEAV**)
- ~150 personnes dont 75% de titulaires (ESR) et 25% de contractuels (doctorants, post-doctorants, ingénieurs, techniciens, apprentis)

L'unité mixte de recherche : Santé de la Vigne et Qualité du Vin (SVQV) :

- **Génétique et Amélioration de la Vigne (GAV)**
- Génomique et Métabolisme de la Vigne (GMV)
- Virologie et Vection (ViVe)

L'équipe : Génétique et Amélioration de la Vigne



Thématiques de l'équipe :

- Mise en œuvre de résistances chez la vigne
- Méthodologie de sélection variétale et matériel végétal afférent (**Collaborations avec Agroscope**)
- Déterminants de la typicité des vins
- Métabolisme et résistance
- Déterminants de la recombinaison et conséquences

Une partie de nos recherches visent à identifier des régions clés du génome qui gouvernent des caractères d'intérêt agronomique (résistance à maladies, caractères de qualité, productivité et capacité d'adaptation)

=> Etude du déterminisme génétique de caractères

Etude du déterminisme génétique de caractères

1. Générer de la diversité génétique
2. Caractériser cette diversité : Phénotypique et Génétique
3. Rechercher des relations entre la diversité génétique et la diversité phénotypique : Génétique d'association

Générer de la diversité génétique

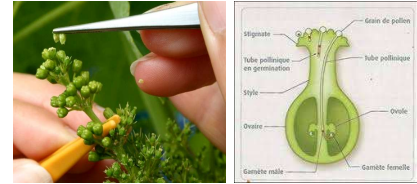
Reproduction sexuée :

Gamète femelle X Gamète male => Fécondations => pépins



Étamines :
Organe mâle : Gamète = Pollen

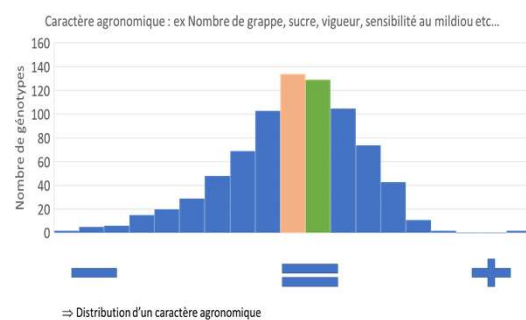
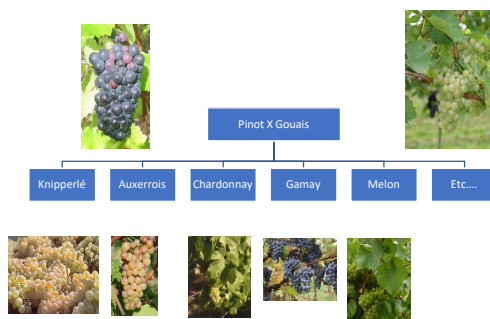
Pistil :
Organe femelle : Gamète = Ovule



=> Chaque plante issue d'un semis présente une combinaison génétique unique issue de la recombinaison des génomes parentaux

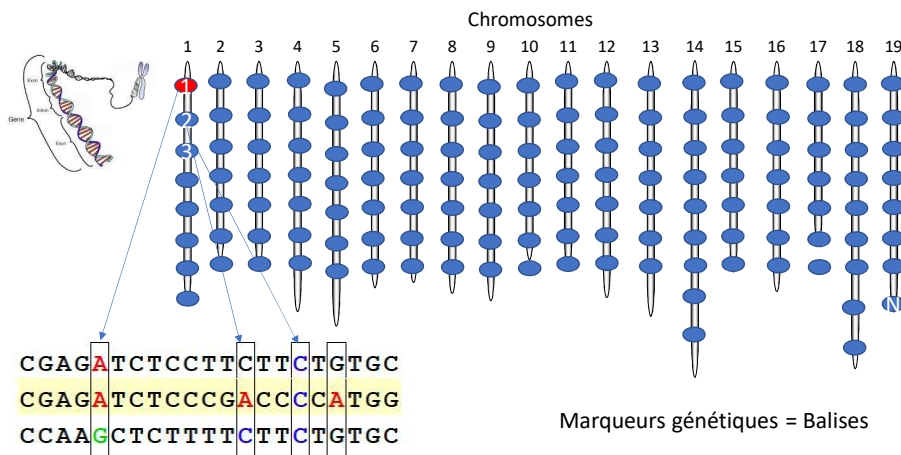
Caractériser la diversité phénotypique

=> Chaque combinaison génétique unique sera à l'origine d'un phénotype différent avec des caractères agronomiques variables.



Caractère	+	+	-	+	-
Descendants	Génotype 1	Génotype 2	Génotype 3	Génotype 4	Génotype 5

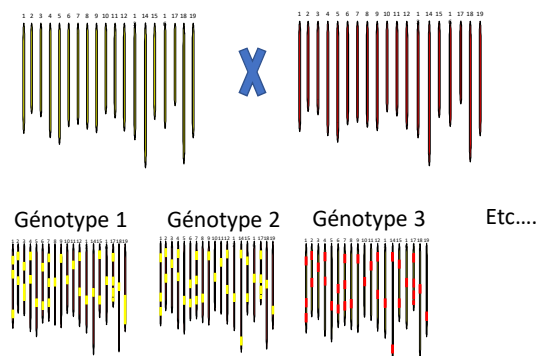
Caractériser la diversité génétique



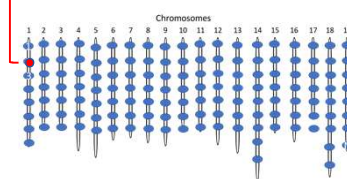
Chaque balise détermine une forme génétique, dépendante de la redistribution du génome des parents lors de la fécondation

Génétique d'association

Une population bi-parentale

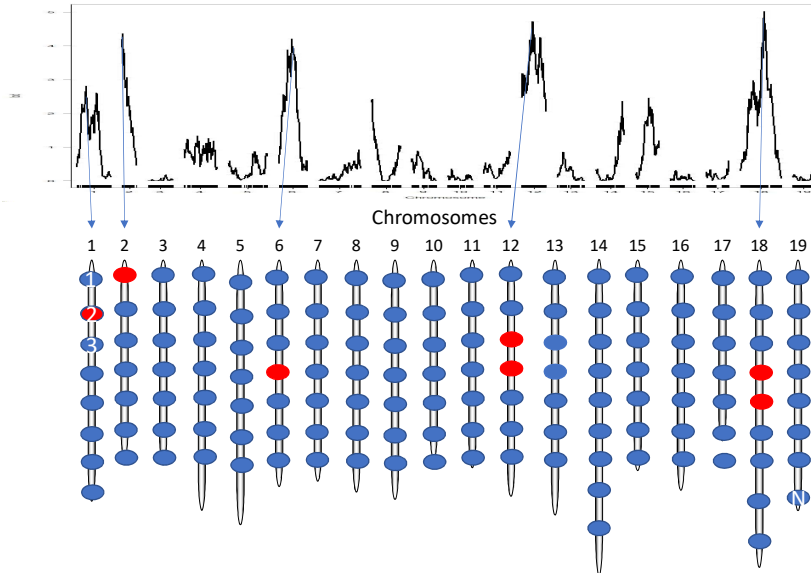


Caractère	+	+	-	+	=
Descendants	Genotype 1	Genotype 2	Genotype 3	Genotype 4	Genotype 5
1	A	B	A	D	E
2	B	B	A	B	A
3	A	B	B	C	D
4	B	A	A	C	D
5	A	A	A	A	A
.....



Génétique d'association

Utilisations de logiciels informatiques dédiés



Les maladies du bois

Maladies du bois

- 1,5 milliards de dollars/an (2012, *Hofstetter et al*)
- Eutypiose, Dépérissements à *Botryosphaeriaceae* (BDA), *Esca*

Nécroses



Symptômes foliaires



Apoplexie



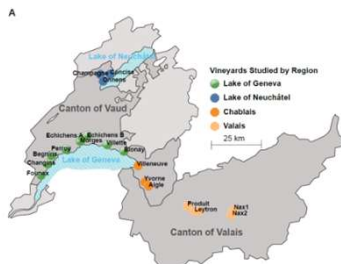
<http://ephytia.inra.fr/>

Les maladies du bois

Maladies du bois

Facteurs abiotiques

- Régime hydrique, gestion de l'azote, alternance de stress, demande évapo-transpirative.....



ORIGINAL RESEARCH ARTICLE

Identifying the pedoclimatic conditions most critical in the susceptibility of a grapevine cultivar to esca disease

Vinciane Monod^{1,2}, Vivian Zufferey³, Matthieu Wilhelm³, Olivier Viret⁴, Katia Gindro², Daniel Croll¹, Valérie Holsinger²

¹ Laboratory of Evolutionary Genetics, Institute of Biology, University of Neuchâtel, CH2000 Neuchâtel, Switzerland.

² Agroscope, Plant Protection, Mycology, 1260 Nyon, Switzerland.

³ Agroscope, Viticulture, Avenue de Rochetaz 21, 1009ully, Switzerland.

⁴ General Direction of Agriculture, Viticulture and Veterinary Affairs (DGAV), Department of Finance and Agriculture (DOFA), CH-1110 Morges, Switzerland.

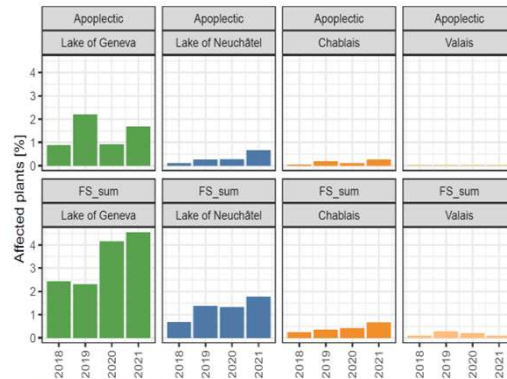


FIGURE 2. Sum of plants [%] affected by apopleptic symptoms and by the sum of foliar symptoms (FS_sum) for the four monitored vintages (2018–2021) by wine-growing region.

Les maladies du bois

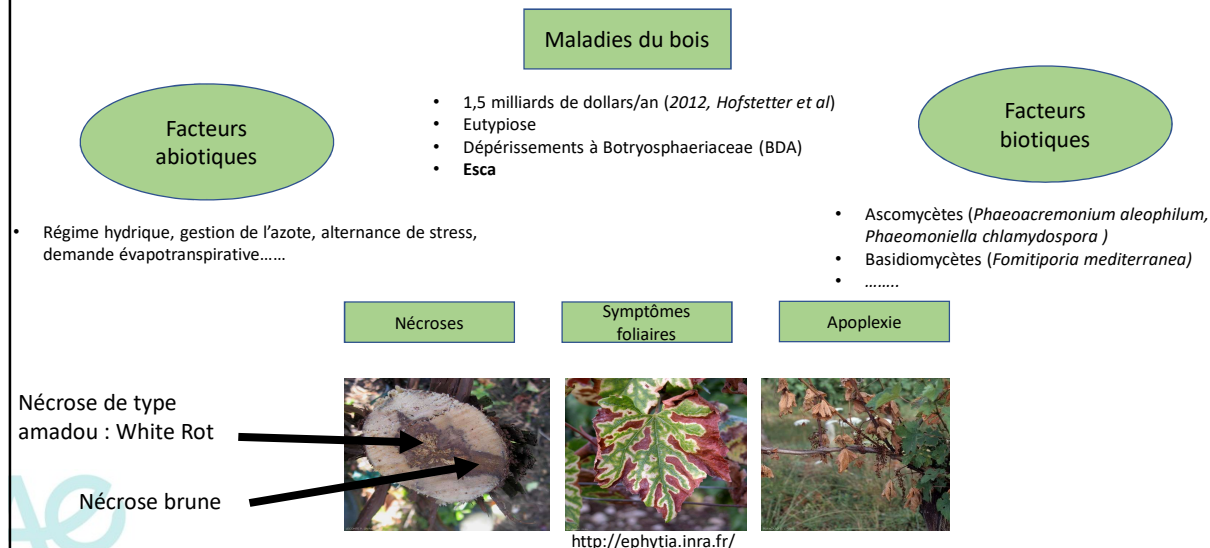
Maladies du bois

Facteurs biotiques



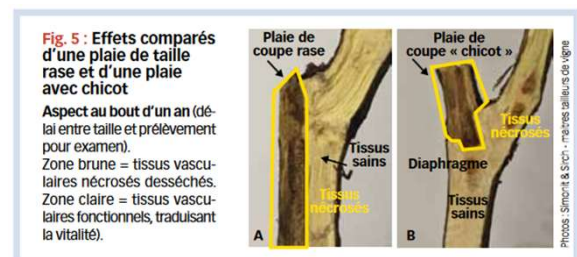
- Ascomycètes : *Phaeoacremonium minimum* (Pmi), *Phaeomoniella chlamydospora* (Pch),
- Basidiomycètes : *Fomitiporia mediterranea* (Fmed), *Stereum hirsutum* (Sh)

Les maladies du bois

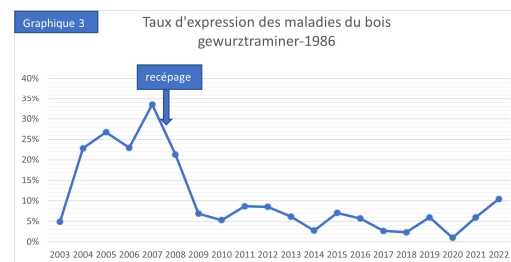


Esca : Méthodes de lutte

- Interdiction de l'arsénite de sodium en 2001
- Trichoderma : lutte biologique (résultats mitigés)
- Tessior® System : lutte chimique (résultats mitigés)
- En pratique :
 - Taille respectueuse
 - Recépage



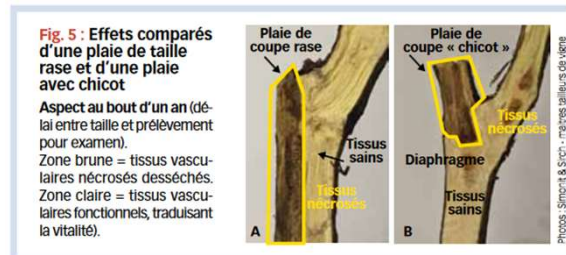
Cholet et al. - 2017



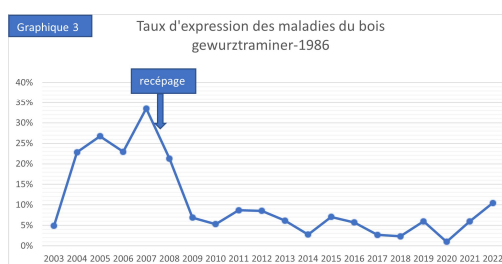
Abidon et al. 2022

Esca : Méthodes de lutte

- Interdiction de l'arsénite de sodium en 2001
- Trichoderma : lutte biologique (résultats mitigés)
- Tessior® System : lutte chimique (résultats mitigés)
- En pratique :
 - Taille respectueuse
 - Recépage
 - Curetage



Cholet et al. - 2017

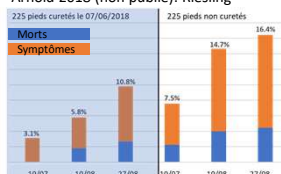


Abidon et al. 2022

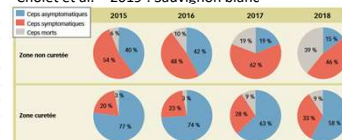
Focus sur le curetage :



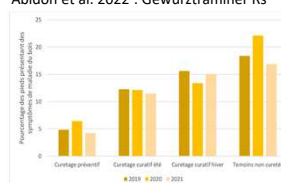
Arnold 2018 (non publié): Riesling



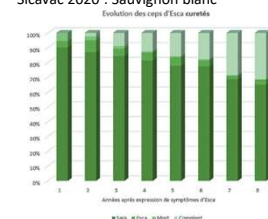
Cholet et al. - 2019 : Sauvignon blanc



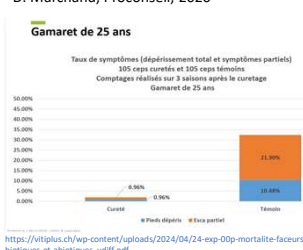
Abidon et al. 2022 : Gewurztraminer Rs



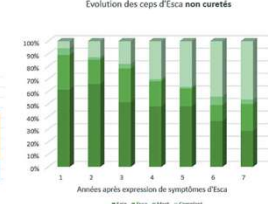
Sicavac 2020 : Sauvignon blanc



D. Marchand, Proconseil, 2020



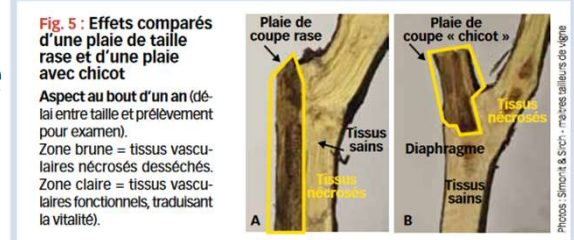
Evolution des ceps d'Esca non curetés



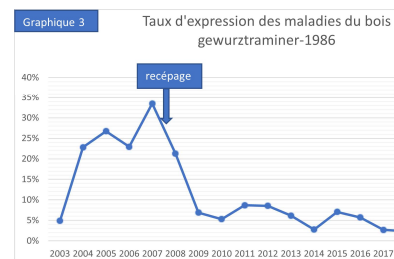
Esca : Méthodes de lutte

- Interdiction de l'arsénite de sodium en 2001
- Trichoderma : lutte biologique (résultats mitigés)
- Tessior® System : lutte chimique (résultats mitigés)
- En pratique :
 - Taille respectueuse
 - Recépage
 - Curetage

=> Limitation et élimination des nécroses



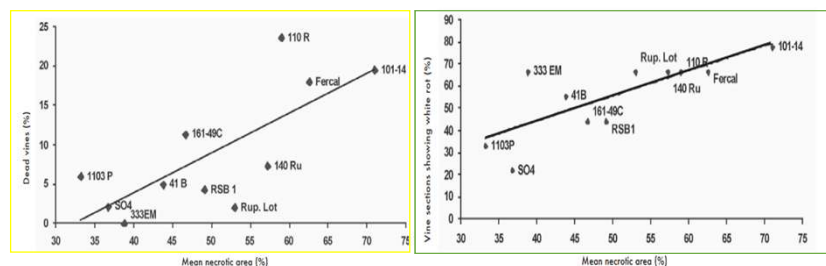
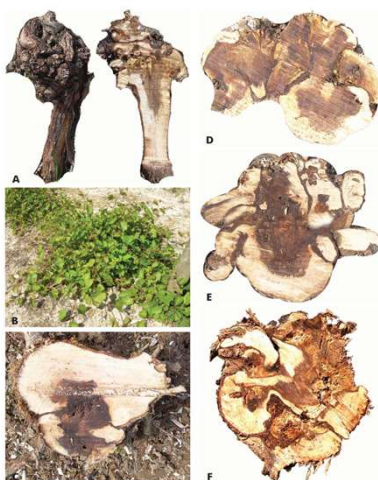
Cholet et al. - 2017



Abidon et al. 2022



Esca : Nécroses associées



Liminana J-M, Pacreau G, Boureau F *et al.* Inner necrosis in grapevine rootstock mother plants in the Cognac area (Charentes, France). 2009; **48**: 92-100.

- Plus l'étendue de la nécrose est importante, plus le risque de mortalité est élevé,

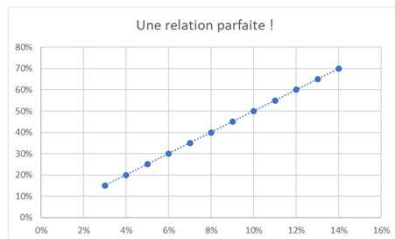
-La proportion d'amadou est proportionnelle à la proportion de la surface nécrotique

=> Absence de symptômes foliaires

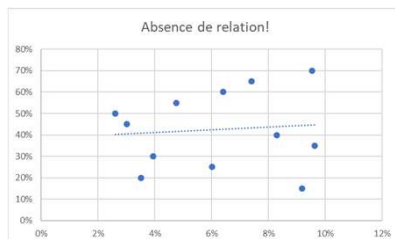


Absence de relation : Liminana et al. 2009, Calzarano et al. 2007,
Relation : Maher et al. 2012, Ouadi et al. 2019, Fernandez et al. 2024

Esca : Relations entre nécroses (Amadou (WR) et nécroses totales (TN)) et symptômes foliaires



R=1,00



R=0,09

Variables	R : %_WR	R : %_TN
Symptômes foliaires_2013	0,68	0,41
Symptômes foliaires_2014	0,31	0,35
Symptômes foliaires_2015	0,27	0,41
Symptômes foliaires_2016	0,19	0,39
Symptômes foliaires_2017	0,62	0,68
Symptômes foliaires_2018	0,49	0,44
Symptômes foliaires_2019	0,19	0,25
Cumul Symptômes foliaires	0,84	0,87

Fernandez et al. 2024

Mise en évidence du lien entre les nécroses et les symptômes foliaires.

Exploration de la variabilité génétique associé à l'expression des nécroses ?

- Différence de sensibilité entre les cépages, des clones, des porte-greffes => Facteurs génétiques

Variabilité entre les variétés

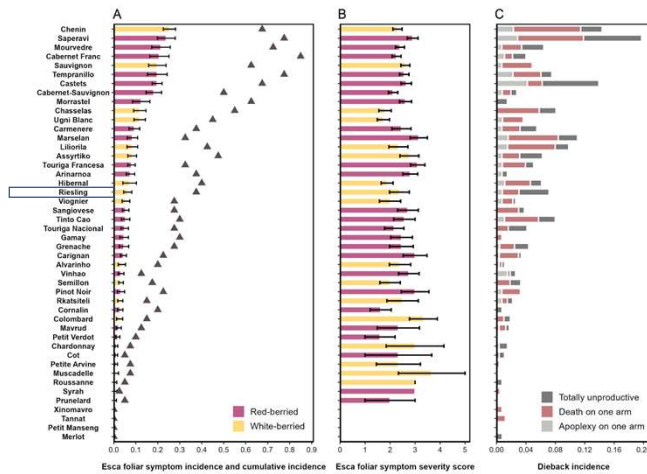


FIGURE 3. Variability of susceptibility to esca foliar symptoms and dieback among grapevine cultivars for the period 2017 to 2023.

Large gradient of susceptibility to esca disease revealed by long- term monitoring of 46 grapevine cultivars in a **common garden vineyard**.
Pierre Gastou et al., 2024

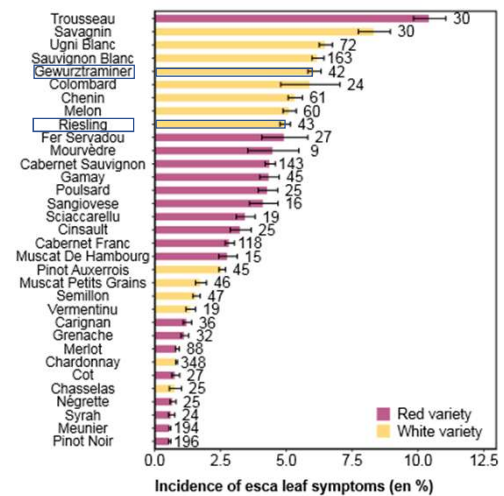


FIGURE 3. Mean annual incidence (\pm standard error) of esca leaf symptoms on all national observatory plots (2003–2023). The figures refer to the number of plots.

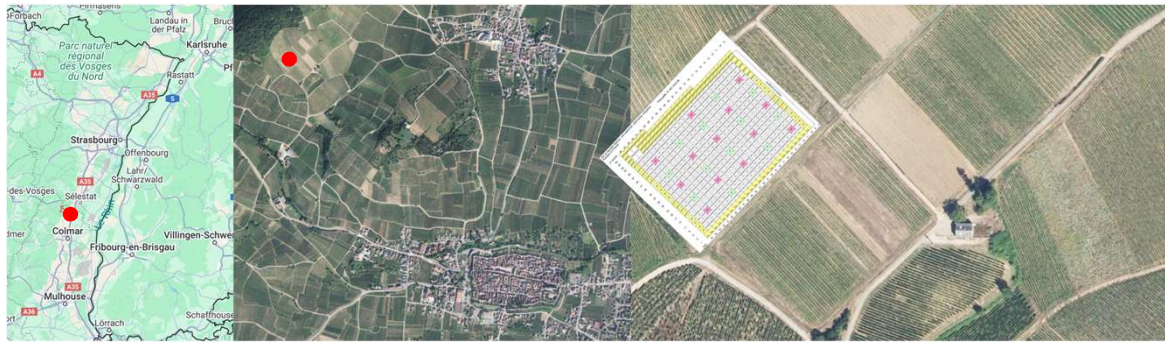
Gradient of grapevine varietal susceptibility to esca
Pierre Gastou et al., 2024

Exploration de la variabilité génétique associé à l'expression des nécroses ?

- Différence de sensibilité entre les cépages, des clones, des porte-greffes => Facteurs génétiques
- Les nécroses sont de bons indicateurs, mais c'est une mesure destructive
- Disponibilité d'une population de croisement bi-parentale pour permettre de faire de la génétique d'association



Dispositif : Population Riesling X Gewurztraminer Domaine de Bergheim



Dispositif : Population Riesling X Gewurztraminer

Plan du dispositif "Riesling x Gewurztraminer" 2006 section 3 Bergheim
Plantation le 07/06/06

Porte greffe 161-49C clone198

N° souche	35	34	33	32	31	30	29	28	27	26	25	24	23	22	21	20	19	18	17	16	15	14	13	12	11	10	9
56	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43
55	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43
54	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43
53	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43
50	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43
47	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43
44	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43
41	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43
38	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43
35	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43
32	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43
29	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43
26	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43
23	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43
20	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43
17	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43
14	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43
11	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43
8	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43
5	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43
2	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43
1	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43	pe43

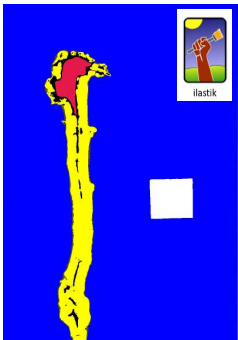
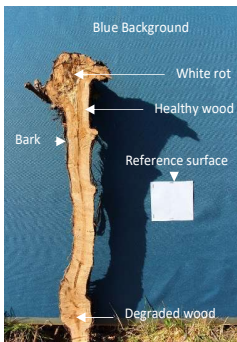
- ⇒ Plantation le 07/06/06
- ⇒ 385 génotypes dont 249 génotypés (10 000 SNP par GBS)
- ⇒ 25 parcelles témoins (75 souches) : (13 Gw et 12 Ri)
- ⇒ Porte greffe 161-49C clone198
- ⇒ Parcelles élémentaires de 3 souches
- ⇒ 1300 pieds de vignes

Réalisation de coupes longitudinales



Riesling X Gewurztraminer

Notations par imagerie

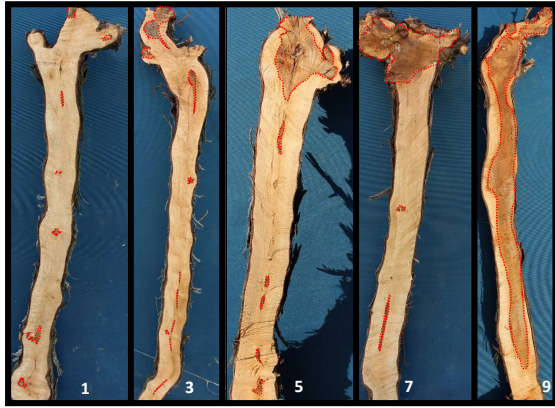


$$I_TA = (C3 + C4 + C5) \times 100 / C2$$
$$I_WR = C3 \times 100 / (C3 + C4 + C5)$$
$$I_TN = (C3 + C5) \times 100 / (C3 + C4 + C5)$$

I_TA : Traduit la vigueur de la souche

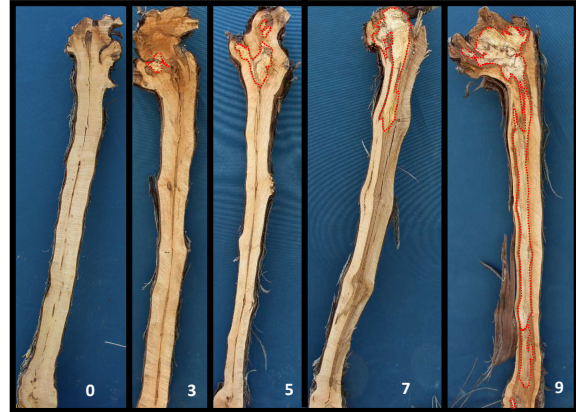
Ilastik colour	Blue Background	White Reference surface	Red White rot	Yellow Healthy wood	Black Degraded wood	Green Bark
Channel (C)	1	2	3	4	5	6
Number of pixel	3 662 093	87 957	44 715	301 636	42 211	28 888

Notations visuelles



V_TN (1 à 10)

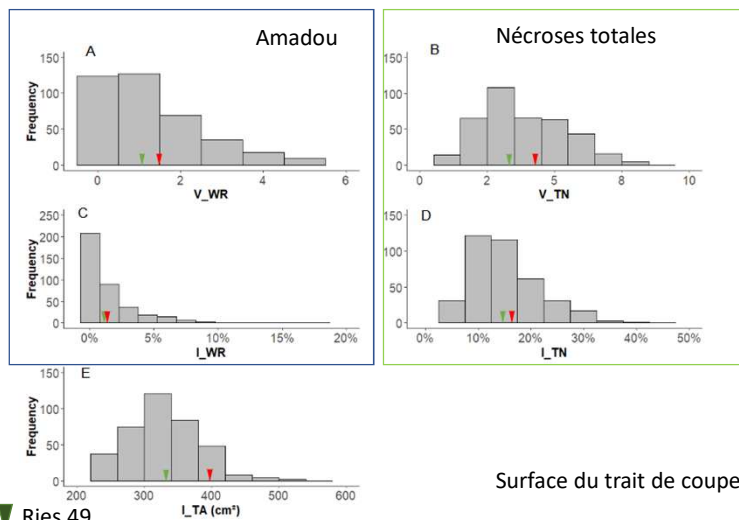
Importance des nécroses totales



V_WR (0 à 10)

Importance de l'amadou

Observations :



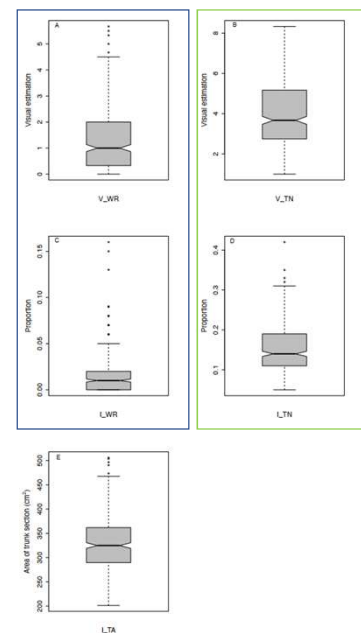
▼ Ries 49

▼ Gew 643

Surface du trait de coupe

Amadou

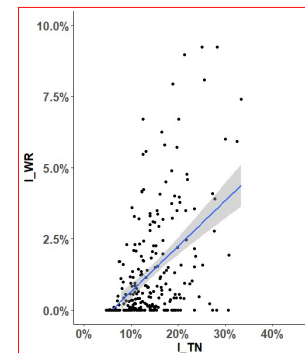
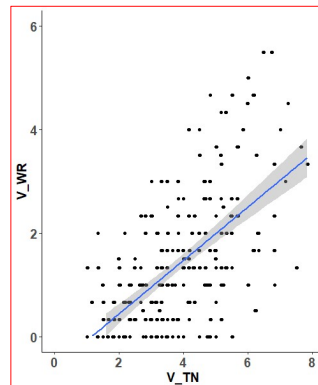
Nécroses totales



Observations :

Variables	V_TN	I_TA	I_WR	I_TN	
V_WR	0,57	0,43	0,83	0,52	PCC
V_TN		0,43	0,50	0,78	
I_TA			0,34	0,36	
I_WR				0,48	

Test de Pearson : P values < 0,001 pour toutes les relations



- Très forte corrélation entre les mesures visuelles et l'imagerie
- Forte corrélation entre le taux d'amadou et les nécroses totales
- Corrélation entre la vigueur et les proportions de nécroses

Analyse QTL pour l'ensemble des variables à partir des cartes parentales

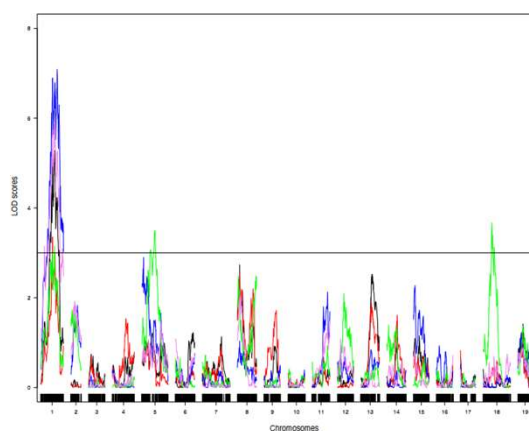
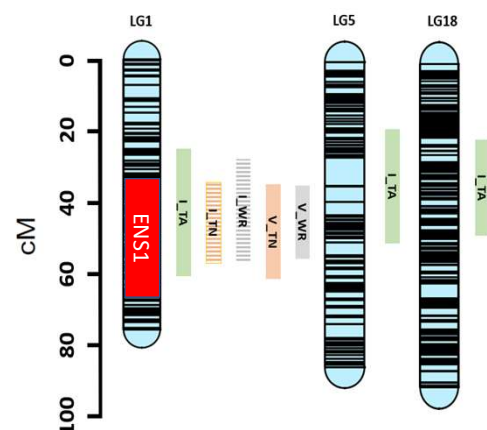


Figure S5: QTL LOD profiles in the Gewurztraminer map. Colors represent the different traits (V_WR=black, I_WR=red, V_TN=blue, I_TA=green and I_TN=violet). Horizontal line = significance threshold LOD=3.

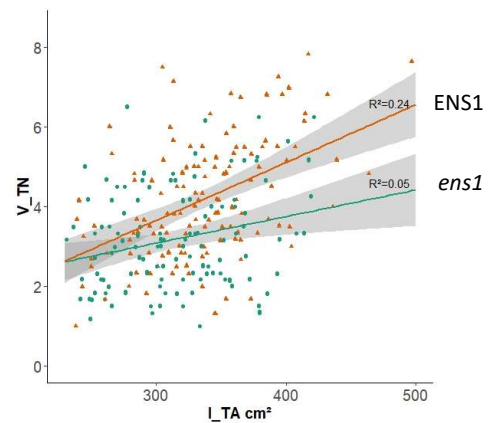
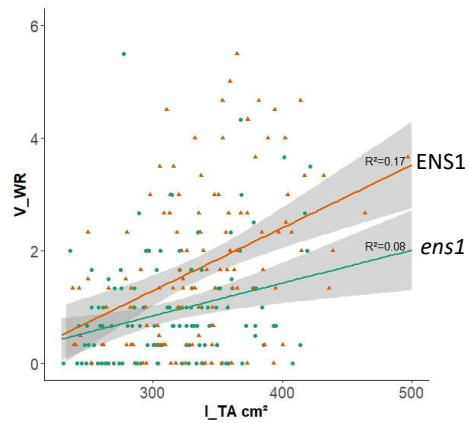


La proportion de nécroses totales, ainsi que celle de l'amadou sont toutes 2 gouvernées par un facteur issu du Gewurztraminer : **ENS1** pour 'Esca Necrosis Susceptibility 1'

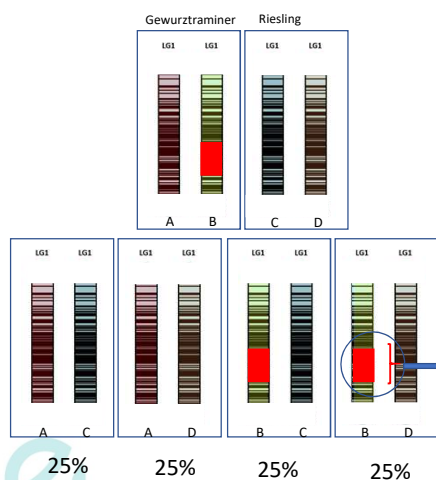
Lien vigueur, nécroses et ENS1

ANOVA à 2 facteurs avec interaction :
 $Y = \beta_0 + \beta_1 X_1 + \beta_2 X_2 + \beta_3 (X_1 * X_2) + \epsilon$
 $X_1 = ENS1$; $X_2 = I_TA \text{ (cm}^2\text{)}$

Variables	P Value		
	ENS1	I_TA (cm ²)	ENS1: I_TA (cm ²)
V_WR	0.0001041 ***	4.22e-09 ***	0.0541846 .
V_TN	1.429e-05 ***	6.004e-10 ***	0.004821 **



Origine de ENS1



Variables (mean)	RlxGW reference population (GW parental map) n= 249		
	ENS1	ens1	pValue*
V_WR	1,68	0,93	2.164e-06 ***
V_TN	4,16	3,20	2.071e-07 ***
I_TA (cm ²)	335,18	313,11	0.0007603 ***
I_WR (%)	1,87	0,89	0.0004223 **
I_TN (%)	16,05	12,53	5.636e-06 ***

GATTACGTTCTTCTACATGTCACCA

Création d'un Marqueur KASP spécifique de ENS1
 -> plateforme Gentyane d'INRAE

Validation du marqueur KASP à partir d'une sous population de RXG

Variables (mean)	RixGW reference population (GW parental map) n= 249		
	ENS1	ens1	pValue*
V_WR	1,68	0,93	2.164e-06 ***
V_TN	4,16	3,20	2.071e-07 ***



Analyse QTL : 249 individus génotypés d'origine

Variables (mean)	New RixGW sub-population KASP n= 54		
	XY	YY	pValue*
V_WR	2,02	0,61	0.001649 ***
V_TN	5,13	3,53	0.001058 ***



Analyse marqueur KASP : 54 génotypes non génotypés d'origine



Confirmation de ENS1

- Parcelle de S1 de Gewurztraminer :

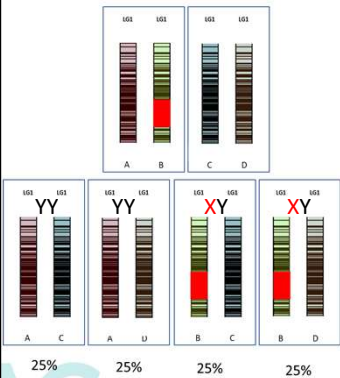
- ⇒ Plantation en 2002
- ⇒ 90 génotypes (86 ADN conservés au congélateur)
- ⇒ 11 parcelles témoins
- ⇒ Porte greffe 161-49C clone 198
- ⇒ Parcelles élémentaires de 3 souches
- ⇒ Réalisation de coupes longitudinales



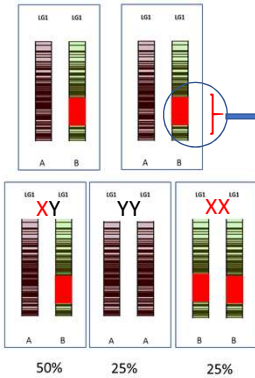
Confirmation de ENS1

- Parcelle de S1 de Gewurztraminer :

Marqueur KASP -> plateforme Gentyane d'INRAE
Le marqueur KASP permet de distinguer 3 génotypes : (XX:XY:YY)



F1 : Riesling X Gewurztraminer

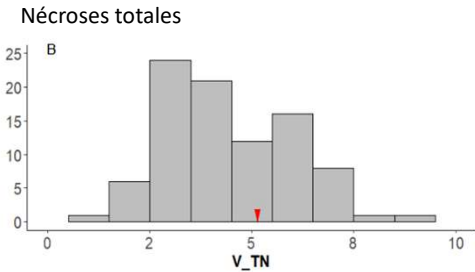
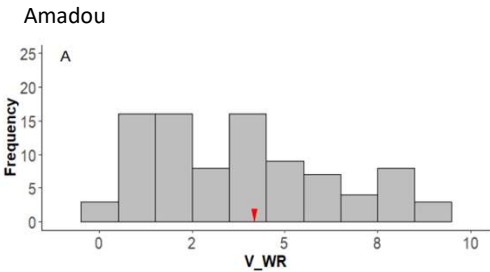


S1 : Gewurztraminer X Gewurztraminer

Genotypes	XX	XY	YY	Chi-square
Number of genotypes	16	50	20	0.2656 ns

Confirmation de ENS1

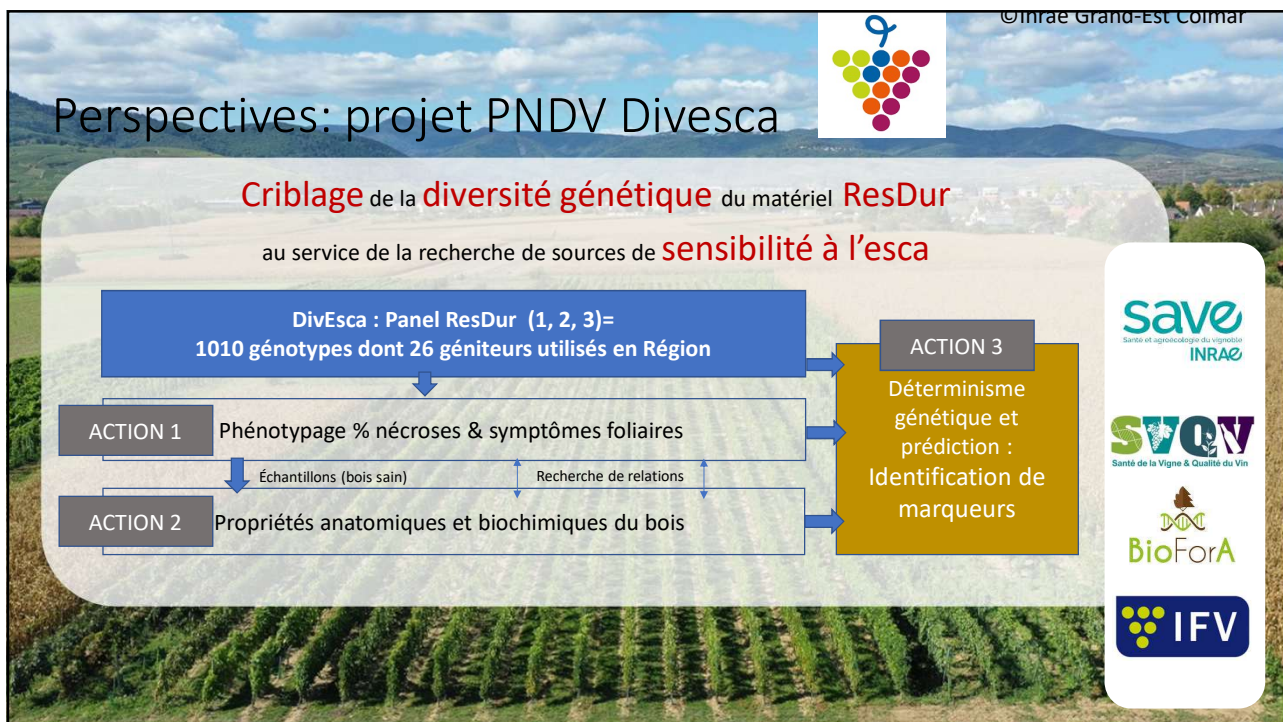
Génotypage à l'aide du marqueur KASP sur la S1 de GW



Genotypes	XX	XY	YY	P-value
V_WR mean	4,16	4,19	2,43	0.0107*
V_TN mean	5,24	4,54	3,75	0.0218*

Conclusions

- 1^{er} facteur génétique de sensibilité à une composante majeure l'Esca
- Mise en évidence d'une relation entre les nécroses totales et l'amadou (génétique et phénotypique).
 - => développement séquentiel de la dégradation des tissus ligneux
 - => Ces observations sont à la base des pratiques viticoles recommandées
- Interaction ENS1 et vigueur : effet cumulatif
- Matériel végétal pour un test biologique rapide (phénotypage, rôle des différents pathogènes....)
- Existence potentielle d'une source de résistance ou de tolérance à l'esca dans la diversité des Vitis qui reste à identifier et, ainsi, ouvre la voie et encourage de futures études génétiques de plus grande ampleur.



Remerciements

GAV : Didier Merdinoglu, Eric Duchêne, Komlan Avia, Emilce Prado, Gisèle Butterlin, Vincent Dumas, Raymond Masson, Felicia Maviane-Macia.....

UEAV : L'ensemble de l'équipe

Association Vignes Vivantes

Stagiaires : Juliette Bexon, Aurore Hild, Michael McCallum

Marqueurs Kasp : plateforme Gentyane d'INRAE

