

## Proposition de stage de Master 2ème année / Ingénieur 3ème année

### Etude de l'impact de la chaleur sur le raisin : validation fonctionnelle de gènes candidats à la tolérance au stress et décryptage de la résistance induite vis-à-vis de *Botrytis cinerea*.

#### CONTEXTE:

A cause du réchauffement climatique, les régions viticoles font face à une fréquence accrue de vagues de chaleur qui impactent la phénologie et le métabolisme de la vigne. En effet, la chaleur est connue pour augmenter le ratio sucres/acides des baies et entraîne la réduction de certains métabolites phénoliques liés à la qualité du vin. De surcroît, l'exposition directe des grappes aux rayonnements les assujettit davantage à ces élévations de température, qui peuvent de plus être exacerbées par des pratiques d'effeuillage. La plupart des travaux sur le stress thermique mesure son impact sur l'entièreté de la plante et ne prend pas en compte les différentiels de température que l'on retrouve au vignoble, notamment entre le feuillage et les fruits. Nos travaux se portent sur l'impact de l'élévation de la température (HS) au niveau des grappes afin de mieux anticiper les conséquences du réhaussement des températures sur leur qualité et sur leur tolérance aux maladies pouvant survenir *a posteriori* durant la saison, telle que la pourriture grise. Cette maladie est causée par *Botrytis cinerea*, un nécrotrophe qui peut causer d'importants dégâts sur le rendement en contaminant les baies entre leur véraison et la récolte. Nos essais préliminaires sur les grappes herbacées de boutures fructifères ont pu mettre en lumière un effet de retard de maturité causée par la chaleur ainsi qu'une meilleure tolérance vis-à-vis de *B. cinerea*. Une analyse transcriptomique réalisée sur baies collectées durant le stress thermique a révélé la modulation de certains gènes candidats supposés être impliqués dans le métabolisme lipidique, l'accumulation de lipide de surface et la synthèse de triterpénoïdes et par extension, potentiellement dans la tolérance vis-à-vis de la chaleur et de *B. cinerea*. Ce projet s'inscrit au sein du GPR Bordeaux Plant Sciences et du workpackage « PROMISE : Plant tolerance to multistress: from phenotypes to genes » qui vise à explorer le compromis entre les réponses des plantes à des stress multiples et leur fitness, et ce en caractérisant les bases moléculaires et génétiques de ce celui-ci.

#### OBJECTIFS:

Ce projet combine un axe « validation fonctionnelle » et un axe « agronomie/phytopathologie » afin de déchiffrer les mécanismes de tolérance de la vigne vis-à-vis de la chaleur et de *Botrytis*.

#### Partie 1: Etape préliminaire de validation fonctionnelle de candidats à la tolérance au stress.

A partir de l'analyse transcriptomique par microarray de Lecourieux et al. (2017), nous avons mis en évidence la modulation de trois gènes potentiellement impliqués dans la tolérance au HS. Leur fonction prédite indique qu'il s'agit d'enzymes impliquées dans la synthèse de triterpénoïdes et de cires cuticulaires ou bien dans la désaturation d'acide gras. Il s'agira de réaliser les constructions moléculaires nécessaire à la production de microvignes transgéniques (sur-expression ou lignées CRISPR-Cas9) à l'aide de l'outil de clonage GoldenBraid.

#### Partie 2: Etude de l'effet de la chaleur sur la tolérance des baies de raisin vis-à-vis de *Botrytis*.

Nos essais préliminaires ont montré que la chaleur améliorait la tolérance des baies de Cabernet Sauvignon contre Botrytis, ce qui n'est pas le cas pour le Merlot. Nous souhaitons réitérer des essais de stress thermique à différents stades de maturité pour consolider les résultats déjà acquis sur ces deux cépages. Ce nouvel essai intègre la mise en place et le suivi du dispositif expérimental ainsi que le phénotypage de maturité, l'analyse des composés cuticulaires par GC-MS/FID, la quantification des tannins pelliculaires par spectrophotométrie et le suivi des symptômes de Botrytis lors de nos tests in vitro.

**METHODES:**

Biologie moléculaire, biochimie, microbiologie.

**PREREQUIS:**

Le candidat doit avoir de solides connaissances théoriques en biologie et un intérêt pour la biologie moléculaire et la phytopathologie.

**REFERENCES:**

**Deytieux-Belleau C, Geny L, Roudet J, Mayet V, Donèche B, Fermaud M** (2009) Grape berry skin features related to ontogenic resistance to Botrytis cinerea. *European Journal of Plant Pathology* **125**: 551-563

**Lecourieux F, Kappel C, Pieri P, Charon J, Pillet J, Hilbert G, Renaud C, Gomès E, Delrot S, Lecourieux D** (2017) Dissecting the biochemical and transcriptomic effects of a locally applied heat treatment on developing Cabernet Sauvignon grape berries. *Frontiers in Plant Science* **8**: 53

**Sarrion-Perdigones A, Vazquez-Vilar M, Palací J, Castelijns B, Forment J, Ziarsoolo P, Blanca J, Granell A, Orzaez D** (2013) GoldenBraid 2.0: a comprehensive DNA assembly framework for plant synthetic biology. *Plant physiology* **162**: 1618-31.

**MOTS CLES:**

Multi-stress, Chaleur, Botrytis, Vigne, Constructions moléculaires

**SURPERVISEURS:** Chavonet Erwan, Lecourieux David, Domergue Frédéric

**NOM et ADRESSE DE L'EQUIPE /LABORATOIRE :**

Laboratoire de Biogenèse Membranaire (LBM) - UMR 5200; Bâtiment A3 - INRA Bordeaux Aquitaine ; 71 avenue Edouard Bourlaux - 33140 Villenave d'Ornon

Institut de la vigne et du vin (ISVV) – UMR 1287 Ecophysiologie et Génomique Fonctionnelle de la Vigne (EGFV) : ISVV Bordeaux-Aquitaine ; 210 Chemin de Leysotte - 33140 Villenave-d'Ornon, France

**TEL :** +33 6 60 56 50 39

**E-MAIL :** erwan.chavonet@u-bordeaux.fr