

Variabilité génétique du champignon responsable de l'eutypiose dans un vignoble suisse

Valérie HOFSTETTER¹, Bart BUYCK², Pierre-Henri DUBUIS¹, Olivier VIRET¹ et Katia GINDRO¹

¹Agroscope, 1260 Nyon

²Département systématique et évolution CP39, UMR 7205, Muséum national d'histoire naturelle, 75005 Paris, France

Renseignements: Valérie Hofstetter, e-mail valerie.hofstetter@agroscope.admin.ch, tél. 058 460 43 53, www.agroscope.ch



Figure 1 | Symptômes d'eutypiose dans les parties herbacées de la vigne. A. Réduction de la croissance d'un rameau. B. Nécroses et chlorose des feuilles. C. Millerandage d'une grappe.

Introduction

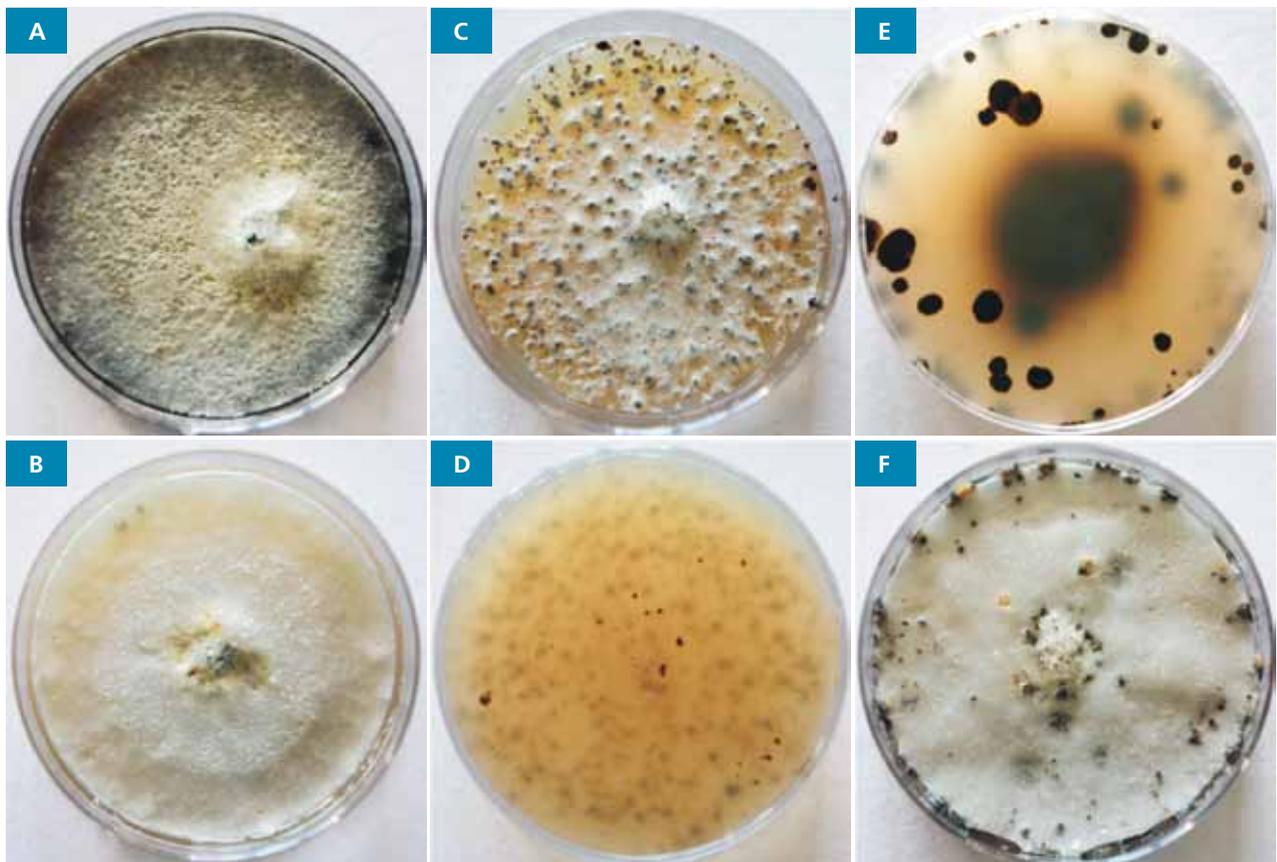
L'eutypiose ou '*Eutypa dieback*' est une maladie causée par des champignons du genre *Eutypa* (famille des *Diatrypaceae*), et principalement l'espèce *E. lata* (Péros et Berger 2003; Trouillas et Gubler 2010). Cette maladie s'attaque à de nombreuses plantes ligneuses cultivées, dont la vigne (Bolay et Moller 1997; Carter 1991; Munkvold et Marois 1994; Moller et Kasimatis 1978). Chez la vigne, les symptômes se manifestent dans le bois, par

la formation de nécroses sectorielles (menant à la mort des éperons, des cordons, voire de la plante entière), et dans les parties herbacées, avec l'apparition de nécroses et/ou de chlorose des feuilles, la croissance réduite des rameaux et le millerandage des grappes (fig.1). *E. lata* vit exclusivement dans le bois, où les nécroses produites sont dues à des enzymes qui dégradent la paroi cellulaire végétale. Les symptômes des parties herbacées résultent de la translocation de métabolites fongiques phytotoxiques dans les jeunes ra-

meaux, les feuilles et les fruits (Rolshausen *et al.* 2008; Mahoney *et al.* 2005). La production et la longévité des vignobles en sont affectées, entraînant des pertes économiques (Siebert 2001).

L'eutypiose a été longtemps attribuée exclusivement à *E. lata*, mais des études récentes ont montré que cette espèce présentait une grande variabilité intraspécifique (Rolshausen *et al.* 2006), en désaccord avec la classification proposée par Rappaz (1987), et que seize autres espèces de *Diatrypaceae* étaient associées à la vigne (Trouillas *et al.* 2011). Parmi celles-ci, une nouvelle espèce d'*Eutypa* pourrait être la principale responsable de l'eutypiose en Amérique du Nord (Rolshausen *et al.* 2014). Cependant, les connaissances fragmentaires sur la distribution géographique et la pathogénicité des espèces de *Diatrypaceae* ainsi que sur la signification biologique et épidémiologique de la variabilité intraspécifique d'*E. lata* ne permettent pas d'attribuer l'eutypiose de la vigne à l'une ou l'autre espèce de *Diatrypaceae* ou variante d'*E. lata*.

Figure 2 | Exemples de la variabilité phénotypique des isolats fongiques du genre *Eutypa* sur une parcelle de Chasselas (Perroy).
A. *E. lata* 3: agsVHT85.7 recto – B. *E. lata* 9: agsVHE120.15 recto. –
C. *E. lata* 8: agsVHT44.11 recto – D. *E. lata* 8: agsVHT44.11 verso. –
E. *E. lata* 13: agsVHE135.13 verso. F. *E. lata* 13: agsVHE135.13 recto.



Résumé ■ La variabilité génétique du champignon responsable de l'eutypiose, *Eutypa lata*, s'est révélée très élevée sur la base du séquençage du marqueur moléculaire spécifique ITS de 89 isolats fongiques, provenant d'une parcelle de Chasselas à Perroy (VD). Treize génotypes ITS ont été obtenus, dont trois ne sont pas affiliés à *E. lata* au sens strict d'après leur emplacement dans une analyse phylogénétique ITS représentative des *Diatrypaceae*. Cette analyse indique aussi que certains de ces génotypes sont exclusivement associés à des plantes saines ou à des plantes malades alors que d'autres s'associent indifféremment à tous les types de plantes étudiés. Ces résultats suggèrent que seules les souches d'*E. lata* dont le génotype ne s'associe qu'à des plantes malades sont responsables de l'eutypiose. Une caractérisation moléculaire plus poussée des isolats, par séquençage et analyse combinée de plusieurs gènes, ainsi que des tests de virulence sont nécessaires pour mieux comprendre la signification épidémiologique de la variabilité génétique d'*E. lata*. ➤

Lors d'une étude d'Agroscope, une septantaine de souches d'*E. lata* ont été isolées d'une parcelle de Chasselas. Les isolats présentaient une variabilité morphologique en culture pure (fig. 2) ainsi qu'une importante variabilité génétique (Hofstetter *et al.* 2012). D'autres souches de cette espèce ont été isolées de plantes atteintes d'eutypiose sur cette même parcelle. La présente étude vise à mieux caractériser la variabilité génétique d'*Eutypa lata* dans cette parcelle et à déterminer si certains génotypes de cette espèce sont préférentiellement voire exclusivement associés à des plantes malades ou à des plantes saines.

Matériel et méthodes

Echantillonnage et identification moléculaire des souches fongiques

La majorité des souches étudiées proviennent d'une étude de la communauté fongique associée aux bois des plantes d'une parcelle de Chasselas greffé sur 3309 (Perroy, Vaud) atteinte d'esca (Hofstetter *et al.* 2012). La méthodologie décrite dans cette étude pour le prélèvement du bois de vigne et l'isolation en culture pure des champignons associés à ce bois a aussi été appliquée à 21 plantes atteintes d'eutypiose sur cette même parcelle (tabl.1).

Tableau 1 | Liste des isolats et de leurs numéros d'accès dans la GenBank. La séquence ITS des isolats indiqués en caractères gras a été déposée dans la GenBank (voir la colonne Numéro d'accès GenBank)

Taxon	Isolat	Génotype ITS	Numéro d'accès GenBank	BLAST top score sequence' dans la GenBank/Nom du taxon (référence si 100% de similarité)
<i>Eutypa lata</i>	agsVHE135.2 – agsVHE135.4 – agsVHS102.8 – agsVHS113.9 – agsVHS77.2 – agsVHT1.1 – agsVHT104.3 – agsVHT104.8 – agsVHT104.9 – agsVHT115.13 – agsVHT45.10 – agsVHT45.11 – agsVHT45.7 – agsVHT45.8 – agsVHT45.9 – agsVHT82.5 – agsVHT82.6	1	JQ070490	GU071113 / <i>Eutypa lata</i> 100 % (Weneker <i>et al.</i> 2011)
<i>Eutypa lata</i>	agsVHT11.10 – agsVHT112.5	2	JQ070489	Unique dans GenBank / <i>Eutypa lata</i> 99 %
<i>Eutypa lata</i>	agsVHB60.4 – agsVHE73.2 – agsVHE73.1 – agsVHS102.7 – agsVHS102.7 – agsVHT55.11 – agsVHT58.15 – agsVHT65.11 – agsVHT65.12 – agsVHT65.13 – agsVHT65.15 – agsVHT72.10 – agsVHT85.7 – agsVHT99.12 – acwVig M11.5 – acwVig M16.3 – acwVig M28.1 – acwVig M29.4	3	JQ070488	JN975350 / <i>Eutypa lata</i> 100 % (séquence non publiée)
<i>Eutypa lata</i>	agsVHS63 12	4	JQ070487	DQ006937 / <i>Eutypa lata</i> 100 % (Rolshausen <i>et al.</i> 2006)
<i>Eutypa lata</i>	agsVHS100.11 – agsVHS100.12 – agsVHS100.13 – agsVHS133.16 – agsVHS9.4 – agsVHS9.5 – agsVHT79.8 – agsVHT79.9 – agsVHT99.10 – agsVHT99.11 – agsVHT99.8 – agsVHT99.9	5	JQ070486	GQ293948 / <i>Eutypa lata</i> 100 % (Trouillas, Urbez-Torres et Gubler 2010)
<i>Eutypa lata</i>	agsVHE135.1 – agsVHE135.5 – agsVHS43.7 – agsVHS96.9	6	JQ070482	JX515714 / <i>Eutypa lata</i> 100 % (Urbez-Torres <i>et al.</i> 2013)
<i>Eutypa lata</i>	agsVHS43.6 – agsVHS43.8	7	JQ070484	Unique dans GenBank / <i>Eutypa lata</i> 99 %
<i>Eutypa lata</i>	agsVHE33.1 – agsVHE33.2 – agsVHS77.1 – agsVHS87.3 – agsVHT118.4 – agsVHT44.10 – agsVHT44.11 – agsVHT44.12 – agsVHT44.13 – agsVHT44.14 – agsVHT75.10 – agsVHT75.8 – agsVHT75.9 – acwVig M30.1	8	JQ070483	HQ288221 / <i>Eutypa lata</i> 100 % (Urbez-Torres <i>et al.</i> 2012)
<i>Eutypa lata</i> var. <i>aceri</i>	agsVHE120.10 – agsVHE120.11 – agsVHE120.12 – agsVHE120.13 – agsVHE120.14 – agsVHE120.15 – agsVHE56.8 – agsVHS113.11 – agsVHS113.12 – agsVHS96.7 – agsVHS96.8 – agsVHT66.11	9	JQ070488	Unique dans GenBank / DQ006925 <i>Eutypa lata</i> var. <i>aceri</i> 99 %
<i>Eutypa</i> sp.	agsVHT21.12 – agsVHT21.13	10	JQ070480	Unique dans GenBank; HM164735 / <i>Eutypa petrakii</i> var. <i>petrakii</i> 98 %
<i>Eutypa lata</i>	agsVHS113.10	11	Non déposée	HM164708 / <i>Eutypa lata</i> 100 % (Trouillas et Gubler 2010)
<i>Eutypa lata</i>	agsVHT82.10 – agsVHT82.4 – agsVHT82.7 – agsVHT82.8 – agsVHT82.9	12	JQ070485	«Unique dans GenBank; JN975359 / <i>Eutypa lata</i> 99 %»
<i>Eutypa lata</i>	agsVHE135.3	13	Non déposée	AY620998 / <i>Libertella blepharis</i> 100 % (Pilotti <i>et al.</i> 2005)

Cinq souches macro-morphologiquement identifiées comme *E. lata* et provenant d'autres vignobles suisses atteints d'eutypiose ont complété cet échantillonnage.

Un marqueur spécifique, la région d'ADN ribosomal ITS1-5.8S-ITS2 (ITS), a été obtenu pour toutes les souches fongiques isolées de cette parcelle ainsi que pour les cinq isolats provenant d'autres vignobles. Les souches ont été identifiées comme dans l'étude d'Hofstetter *et al.* (2012), en recherchant une similarité (BLAST) des séquences obtenues avec celles d'une banque mondiale de séquences nucléotidiques: la GenBank. Le seuil de similarité de séquence adopté ici pour délimiter les espèces est de $\geq 99\%$.

Analyses phylogénétiques

L'alignement des séquences a été effectué manuellement dans le programme d'édition MacClade 4.06 (Maddison et Maddison 2003). Des analyses de 'maximum parsimony' (MP) ont été conduites avec le programme PAUP v40b10 (Swofford 2002). La recherche de(s) l'arbre(s) le(s) plus parcimonieux a inclus 500 recherches heuristiques de 'random addition sequence' (RAS) avec les options suivantes: 'MAXTREE = 500', 'tree bisection and reconnection branch swapping', 'MULPARS option on', et les 'gaps' codés comme caractères manquants. La robustesse des branches a été estimée par analyse de 'bootstrap' sur la base de 500 rééchantillonnage des caractères, chacun incluant 500 RAS et avec les mêmes options que la recherche des arbres les plus parcimonieux. Seules les branches de l'arbre soutenues par des valeurs de 'bootstrap' (MPbs) $\geq 70\%$ sont considérées comme robustes (Mason-Gamer et Kellogg 1996).

Résultats et discussion

Diversité des *Diatrypaceae* associées à la vigne sur une parcelle unique

Les résultats des recherches de maximum de similarité de nos séquences avec celles de la GenBank (tabl.1) indiquent que 79 des champignons isolés de la parcelle de vigne étudiée ainsi que les cinq isolats provenant d'autres vignobles atteints d'eutypiose sont des *Eutypa lata* au sens large (groupe 3 dans Rolshausen *et al.* 2006). Des 89 isolats retenus pour cette étude, 84 sont identifiés comme *E. lata* (99–100 % de similarité), dont douze d'entre eux proches de la variété *aceri* (génotype ITS numéro 9). Cinq des isolats ne sont cependant pas identifiés par cette méthode (génotype ITS numéro 10, 98 % de similarité avec une séquence d'*E. lata* variété *petrakii*). Sur les treize génotypes obtenus, cinq d'entre eux sont uniques dans la GenBank.

Tous nos isolats étant affiliés à *E. lata* au sens large, la parcelle étudiée ne présente pas une grande diversité d'espèces de *Diatrypaceae*. Par contre, les marqueurs ITS des isolats de cette espèce présentent treize séquences différentes, indiquant qu'*E. lata* possède une grande variabilité génotypique au niveau intra-spécifique. De ces treize génotypes ITS, cinq n'ont jamais été isolés ailleurs que dans la parcelle étudiée (tabl.1). Ce résultat est surprenant dans la mesure où plusieurs études ont déjà caractérisé cette espèce dans la vigne sur la base du même marqueur moléculaire (Rolshausen *et al.* 2006; Rolshausen *et al.* 2014; Trouillas et Gubler 2010; Úrbez-Torres *et al.* 2012). Cependant, ces études ont principalement concerné *E. lata* aux USA et en Australie, où l'incidence et la sévérité de l'eutypiose sont plus importantes qu'en Europe. La présente étude suggère que certains isolats d'*E. lata* ont une répartition mondiale tandis que d'autres sont peut-être restreints à l'Europe. Ce travail laisse aussi supposer que la diversité génétique européenne d'*E. lata* est encore largement méconnue. Une caractérisation plus poussée d'*E. lata* au sens large en Europe permettrait de mettre en évidence d'éventuelles espèces cryptiques (soit des espèces génétiquement séparées mais indistinctes morphologiquement) et de mieux comprendre l'épidémiologie de l'eutypiose.

Phylogénie et pattern d'association des isolats avec les différents types de plantes échantillonnées

L'analyse phylogénétique des séquences ITS obtenues a été conduite afin d'affilier plus précisément le génotype ITS numéro 10 à une espèce dans le genre *Eutypa*, de déterminer quelle résolution offre ITS pour distinguer d'éventuelles sous-espèces au sein du complexe *E. lata* et de visualiser la manière dont s'associent les divers génotypes avec les différents types de plantes échantillonnées (plantes de pépinière, saines ou atteintes d'esca ou d'eutypiose). Cet échantillonnage a été complété par 34 séquences ITS représentatives de la diversité des espèces de *Diatrypaceae* (Trouillas *et al.* 2011). L'alignement final de ces 123 séquences ITS comprend 598 paires de bases (pb). Après exclusion des régions non alignables, l'alignement utilisé pour les analyses phylogénétiques inclut 416 pb, dont 294 sont constantes et 82 sont informatives pour l'analyse de MP.

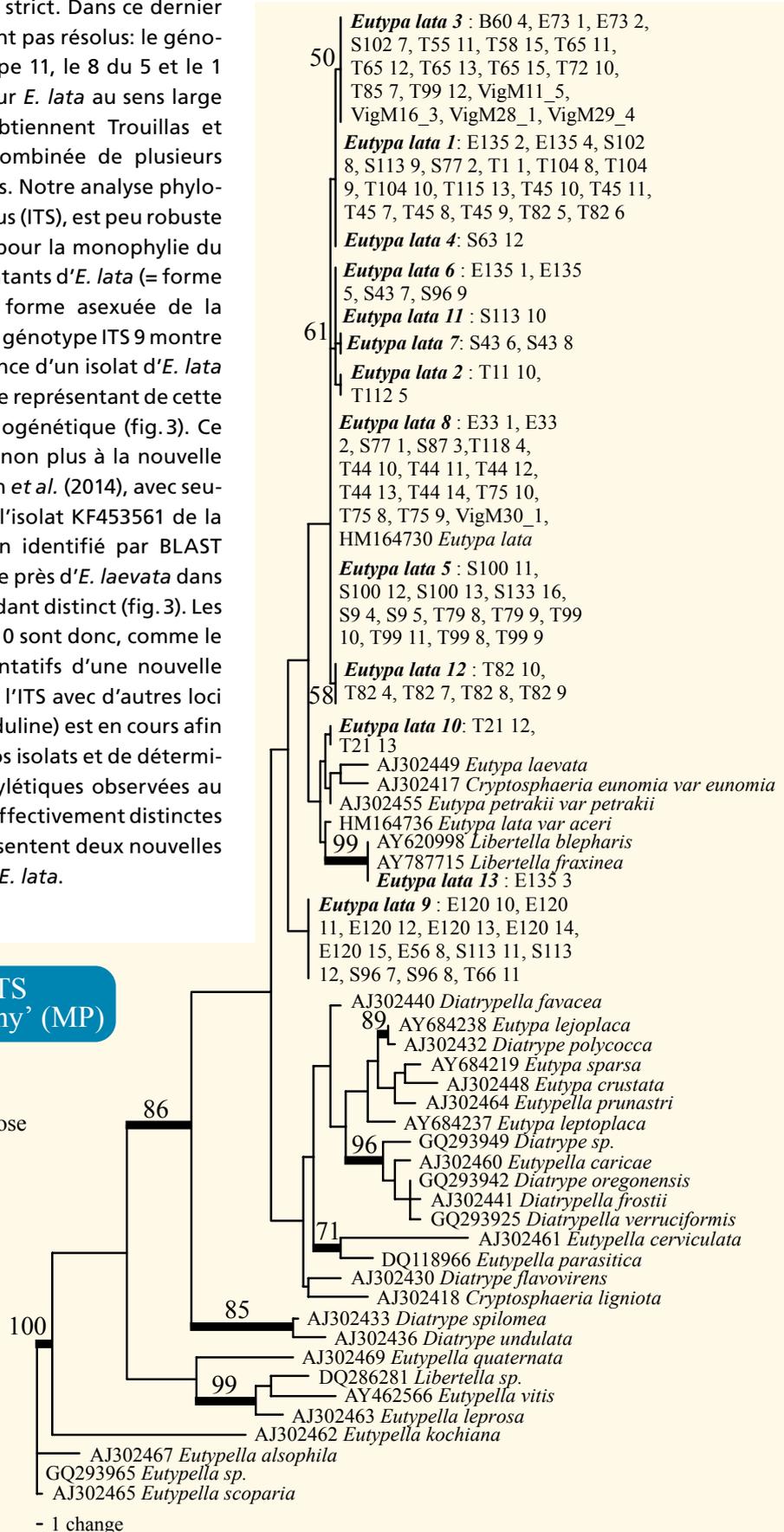
L'analyse phylogénétique des 123 séquences ITS (fig. 3) place nos isolats dans trois clades (groupes d'individus ou d'espèces issus de la même branche généalogique) distincts, le premier n'incluant que le génotype 9, le second incluant les génotypes 10 et 13 (respectivement affiliés à *E. lata* var. *petrakii* et à *E. lata* var. *aceri*) et le troisième incluant tous les autres génotypes et

correspondant à *E. lata* au sens strict. Dans ce dernier clade, certains génotypes ne sont pas résolus: le génotype 6 est indistinct du génotype 11, le 8 du 5 et le 1 du 4. La topologie obtenue pour *E. lata* au sens large est très proche de celle qu'obtiennent Trouillas et Gubler (2010) avec l'analyse combinée de plusieurs gènes sur des isolats californiens. Notre analyse phylogénétique, basée sur un seul locus (ITS), est peu robuste (valeurs de BS < 70 %) excepté pour la monophylie du génotype 13 avec deux représentants d'*E. lata* (= forme sexuée; *Libertella blepharis* = forme asexuée de la même espèce; fig. 3). Bien que le génotype ITS 9 montre 99 % de similarité avec la séquence d'un isolat d'*E. lata* var. *aceri*, il ne se place pas avec le représentant de cette variété dans notre analyse phylogénétique (fig. 3). Ce génotype 9 ne correspond pas non plus à la nouvelle espèce délimitée par Rolshausen *et al.* (2014), avec seulement 92 % de similarité avec l'isolat KF453561 de la GenBank. Le génotype 10, non identifié par BLAST dans la GenBank (tabl.1), se place près d'*E. laevata* dans notre analyse mais en est cependant distinct (fig. 3). Les isolats fongiques du génotype 10 sont donc, comme le génotype 9, peut-être représentatifs d'une nouvelle espèce. Une analyse combinant l'ITS avec d'autres loci (RPB2, la β -tubuline et la calmoduline) est en cours afin de résoudre la phylogénie de nos isolats et de déterminer si les trois entités monophylétiques observées au sein d'*E. lata* au sens large sont effectivement distinctes et si les génotypes 9 et 10 représentent deux nouvelles espèces ou nouvelles variétés d'*E. lata*.

Phylogramme ITS de 'maximum parsimony' (MP)

Types de plantes:
 S: symptomatiques de l'esca
 E: symptomatiques de l'eutypiose
 T: saines
 B: pépinière

Figure 3 | Un des arbres ITS les plus parcimonieux obtenus par analyse de "Maximum Parsimony" (longueur = 305; index de consistance (CI) = 0,5443; index de consistance 'rescaled' (RC) = 0,4328). Les valeurs de 'bootstrap' sont indiquées le long des branches (en gras quand le support est significatif ($\geq 70\%$)).



Notre phylogénie ITS (fig. 3) montre que le génotype 9 n'est associé qu'à des plantes symptomatiques de l'eutypiose ou de l'esca. Ceci est aussi valable pour les génotypes 4 (fig. 3), 6, 7, 11 et 13. Par contre, les génotypes 2, 10 et 12 n'ont été isolés que de plantes saines. Enfin, plusieurs des génotypes obtenus (1, 3, 5, 8) semblent s'associer indifféremment aux plantes saines et aux plantes malades. Il a été montré que tous les isolats d'*E. lata* au sens strict étaient infectieux mais que leur virulence présentait des différences significatives (Trouillas et Gubler 2010; Rolshausen *et al.* 2014). Des variations importantes dans l'agressivité de cette espèce ont été observées entre souches provenant du même pays, du même vignoble ou même entre souches produites par le même stroma (Peros et Berger 2003; Peros *et al.* 1997). La virulence de nos isolats sera testée

en mesurant leur capacité à dégrader le bois de vigne *in vitro* (bois mort) et *in vivo* (inoculation du champignon dans le bois vivant de plantes saines). Cela permettra de déterminer si les souches d'*E. lata* à génotype exclusivement associé à des plantes atteintes d'esca ou d'eutypiose sont plus infectieuses ou agressives que les souches à génotype exclusivement associé aux plantes saines. Si les souches préférentiellement associées aux plantes saines se révèlent avirulentes, il serait peut-être possible de les inoculer dans les plantes de pépinière ou dans les plaies de taille. Et si elles parviennent à s'installer dans le bois après inoculation, elles pourraient empêcher ou limiter l'infection du bois par des souches plus virulentes et potentiellement servir ainsi d'agents de biocontrôle. ■

Conclusions

- La variabilité génétique d'*Eutypa lata* au sens large dans une seule parcelle de vigne est élevée (treize génotypes ITS différents). Le pouvoir de résolution phylogénétique du marqueur ITS étant faible, d'autres gènes sont en cours de séquençage pour résoudre les relations intraspécifiques de ce complexe d'espèces.
- Cinq nouveaux génotypes d'*E. lata* ont été obtenus par le séquençage de souches isolées d'une seule parcelle de vigne, indiquant que la variabilité de cette espèce en Europe est probablement encore peu connue.
- Certains génotypes ITS sont exclusivement associés à des plantes saines et d'autres à des plantes malades. L'étude du pouvoir infectieux et de la virulence de ces divers génotypes pourrait permettre d'identifier des lignées potentiellement responsables de l'eutypiose.
- Des essais d'inoculation de souches avirulentes d'*E. lata* seront réalisés afin de déterminer leur potentiel en tant qu'agent de biocontrôle. ■

Remerciements

Nous tenons à remercier Daniel Dupuis, propriétaire du vignoble étudié, Bernard Bloesch et Anne-Lise Fabre pour le suivi de ce vignoble depuis 2002.

Bibliographie

- Bolay A. & Moller W. J., 1977. *Eutypa ameniacae* Hansf. & Carter, agent d'un grave dépérissement de vignes en production. *Revue suisse Vitic., Arboric., Hort.* **9**, 241–251.
- Carter M. V., 1991. The status of *Eutypa lata* as a pathogen. *Phytopathological Paper* **32**. CAB International, Wallingford, England.

- Hofstetter V., Buyck B., Croll D., Viret O., Couloux A. & Gindro K., 2012. What if esca disease of grapevine were not a fungal disease? *Fungal Diversity* **54**, 51–67.
- Maddison W. P. & Maddison D. R., 2003. MacClade: analysis of phylogeny and character evolution, version 4.06. Sinauer Associates, Sunderland, MA.
- Mahoney N., Molyneux R. J., Smith L. R., Schoch T. K., Rolshausen P. E. & Gubler W. D., 2005. Dying-arm disease in grapevines: diagnosis of infection with *Eutypa lata* by metabolite analysis. *Journal of Agriculture and Food Chemistry* **53**, 8148–8155.
- Mason-Gamer R. J. & Kellogg E. A., 1996. Testing for phylogenetic conflict among molecular data sets in the tribe *Triticeae* (Gramineae). *Systematic Biology* **45**, 524–545.
- Moller W. J. & Kasimatis A. N., 1978. Dieback of grapevine caused by *Eutypa ameniacae*. *Plant Disease Rep* **62**, 254–258.
- Munkvold G. P. & Marois J. J., 1994. *Eutypa* dieback of sweet cherry and occurrence of *Eutypa lata* perithecia in the central valley of California. *Plant Disease* **78**, 200–207.
- Péros J. P. & Berger G., 2003. Genetic structure and variation in aggressiveness in European and Australian populations of the grapevine dieback fungus *Eutypa lata*. *European Journal of Plant Pathology* **109**, 909–919.
- Péros J. P., Berger G. & Lahogue F., 1997. Variation in pathogenicity and genetic structure in the *Eutypa lata* population of a single vineyard. *Phytopathology* **87**, 799–806.
- Pilotti M., Gervasi F. & Brunetti A., 2005. Molecular identification of *Fomitiporia mediterranea* and *Eutypa lata/Libertella blepharis* in *Platanus acerifolia*. *Journal of Phytopathology* **153** (4), 193–202.
- Rappaz F., 1987. Taxonomie et nomenclature des Diatrypacées à asques octosporées. *Mycologia Helvetica* **2**, 285–648.
- Rolshausen P. E., Mahoney N. E., Molyneux R. J. & Gubler W. D., 2006. Reassessment of the species concept in *Eutypa lata*, the causal agent of *Eutypa* dieback of grapevine. *Phytopathology* **96**, 369–377.
- Rolshausen P. E., Greve L. C., Labavitch J. M., Mahoney N. E., Molyneux R. J. & Gubler W. D., 2008. Pathogenesis of *Eutypa lata* in grapevine: identification of virulence factors and biochemical characterization of cordon dieback. *Phytopathology* **98**, 222–229.
- Rolshausen P. E., Baumgartner K., Travadon R., Fujiyoshi P., Pouzoulet J. & Wilcox W. F., 2014. Identification of *Eutypa* spp. causing *Eutypa* dieback of grapevine in eastern North America. *Plant Disease* **98**, 483–491. ▶

Summary
Genetic variability of the fungal species responsible for *Eutypa* dieback in a Swiss vineyard

The genetic variability of *Eutypa lata*, the fungus responsible for *Eutypa* dieback of grapevine, in a single vineyard plot (Chasselas, Perroy) appeared very high based on ITS sequences obtained from 89 fungal isolates of this species. Thirteen different ITS genotypes were retrieved with three out of them not affiliated to *E. lata sensu stricto* after their placement in an ITS phylogenetic analysis that is representative of the *Diatrypaceae* family. This analysis also indicates that some of these genotypes are either exclusively associated with healthy plants or with diseased plants, while other genotypes are found associated indifferently with all studied plant types. These results suggest the possibility that only some *E. lata* strains with a particular genotype might be responsible for *Eutypa* dieback. A more thorough molecular characterization through sequencing and phylogenetic analyses of multiple genes for these isolates, as well as virulence tests, are needed to better understand the epidemiological significance of the genetic variability of *E. lata* observed.

Key words: wood disease of grapevine, phylogeny, internal transcribed spacers (ITS), cryptic species.

- Siebert J. B., 2001. *Eutypa*: The economic toll on vineyards. *Wines Vines April*, 50–56.
- Swofford D. L., 2002. PAUP*: phylogenetic analysis using parsimony (* and other methods), version 4. Sinauer Associates, Sunderland, MA.
- Trouillas F. P., Úrbez-Torres J. R. & Gubler W. D., 2010. Diversity of diatrypaceous fungi associated with grapevine canker diseases in California. *Mycologia* **102** (2), 319–336.
- Trouillas F. P. & Gubler W. D., 2010. Host range, biological variation, and phylogenetic diversity of *Eutypa lata* in California. *Phytopathology* **100**, 1048–1056.
- Trouillas F. P., Pitt W. M., Sosnowski M. R., Huang R. J., Peduto F., Loschiavo A., Savocchia S., Scott E. S. & Gubler W. D., 2011. Taxonomy and DNA phylogeny

Zusammenfassung
Genetische Variabilität des Pilzes *Eutypa lata* in einem Schweizer Rebberg

Aufgrund der Sequenzierung des spezifischen molekularen ITS-Marker von 89 Isolate einer Gutedel-Parzelle in Perroy (VD) ist die genetische Variabilität von *Eutypa lata*, Erreger der Reben-Eutypiose, sehr unterschiedlich. Dreizehn verschiedene ITS-Genotypen, von denen drei nicht im strikten Sinne mit *E. lata* verwandt sind, wurden nach einer repräsentativen phylogenetischen Analyse der Familie der *Diatrypaceae* erhalten. Diese Analyse zeigt auch, dass gewisse Genotypen exklusiv mit gesunden oder erkrankten Pflanzen verbunden sind, und dass andere Genotypen gleichgültig in allen untersuchten Pflanzen auftreten. Diese Ergebnisse erläutern, dass nur einige Stämme von *E. lata* mit einem besonderen Genotyp verantwortlich für die Eutypiose sein könnten. Eine vertiefte molekulare Charakterisierung der Isolate durch Sequenzierung und kombinierte Analyse von mehreren Genen, sowohl wie Virulenz-Tests sind notwendig, um die epidemiologische Bedeutung der Variabilität von *E. lata* besser zu verstehen.

Riassunto
Variabilità genetica del fungo *Eutypa lata* in un vitigno svizzero

In una parcella di vite di Chasselas a Perroy (VD), la variabilità genetica del fungo responsabile del eutipiosi della vite, *Eutypa lata*, si è rivelata molto alta, basato sul sequenziamento del marcatore molecolare specifico ITS di 89 isolati del fungo. In un'analisi filogenetica ITS rappresentativa della famiglia dei *Diatrypaceae*, tredici genotipi ITS differenti sono stati ottenuti dei quali tre non sono affiliati nel senso stretto ad *E. lata*. Questa analisi indica anche che una parte dei genotipi sono esclusivamente associati con delle piante sane o malate, mentre altri genotipi sono indifferentemente associati con tutti tipi di piante analizzate. Questi risultati suggeriranno che solo gli isolati di *E. lata* con un genotipo specifico associato con delle piante malate siano responsabile dell'eutipiosi. Una caratterizzazione molecolare più avanzata degli isolati con sequenziamento e analisi combinata di diversi geni, anzi che test di virulenza sono necessari per capire meglio il significato epidemiologico della variabilità di *E. lata*.

of *Diatrypaceae* associated with *Vitis vinifera* and other woody plants in Australia. *Fungal Diversity* **49**, 203–223.

- Úrbez-Torres J. R., Peduto F., Striegler R. K., Urrea-Romero K. E., Rupe J. C., Cartwright R. D. & Gubler W. D., 2012. Characterization of fungal pathogens associated with grapevine. *Fungal Diversity* **52** (1), 169–189.
- Úrbez-Torres J. R., Peduto F., Vossen P. M., Krueger W. H. & Gubler W. D., 2013. Olive twig and branch dieback: Etiology, incidence, and distribution in California. *Plant Disease* **97**, 231–244.
- Weneker M., van Raak M. M. P. J., van Brouwershaven I. R., Martin W. & Kox L. F. F., 2011. *Eutypa lata*, the causal agent of dieback in red currant (*Ribes rubrum*) and gooseberry (*R. uvacrispa*) in the Netherlands. *European Journal of Plant Pathology* **131** (3), 441–449.