



## Outils pour la sélection précoce de cépages résistants à l'oïdium

S. SCHNEE, J.-L. SPRING, O. VIRET, P.-H. DUBUIS, S. GODARD et K. GINDRO, Agroscope Changins-Wädenswil ACW, CP 1012, 1260 Nyon

 E-mail: [katia.gindro@acw.admin.ch](mailto:katia.gindro@acw.admin.ch)  
Tél. (+41) 22 36 34 374.

### Résumé

La synthèse de phytoalexines stilbéniques est un des mécanismes de défense de la vigne contre les pathogènes fongiques. Actuellement, il n'existe que peu d'informations sur le rôle de ces molécules dans la défense de la vigne contre l'oïdium (*Erysiphe necator*). L'analyse et la quantification des stilbènes dans des disques foliaires infectés, provenant de cépages sensibles (*Vitis vinifera* cv. Chasselas) à très résistants (IRAC 2292, *Vitis candicans*), ont été confrontées au développement du pathogène. Les résultats montrent que les quantités mesurées de stilbènes, notamment de viniférines, reportées aux sites d'infection, permettent de discriminer les cépages sensibles des résistants. En effet, les plus hautes concentrations en viniférines ont été mesurées chez les cépages résistants deux jours déjà après l'inoculation et correspondent à une inhibition du développement d'*E. necator*. L'analyse des stilbènes aux sites d'infection et l'accumulation de viniférines en tant que mécanisme de défense de la vigne sont discutées dans l'optique de développer des marqueurs fiables de résistance contre l'oïdium, pour la sélection précoce des semis issus des programmes de sélection d'ACW.

### Introduction

L'oïdium (*Erysiphe necator* Schwein.), une maladie fongique ubiquiste de la vigne (*Vitis vinifera* L.), déprécie la récolte (Gadoury *et al.*, 2001; Calonnec *et al.*, 2004) et altère la physiologie de la plante (Lasko *et al.*, 1982; Brem *et al.*, 1986). Ce pathogène biotrophe obligatoire est ectophyte: cela signifie que sa croissance mycélienne a lieu uniquement à la surface de l'hôte et qu'il ne développe des structures infectieuses spécialisées (haustoria) que dans les cellules épidermiques, afin de se nourrir et de se reproduire. Le caractère biotrophe d'un pathogène se définit par la nécessité de dériver les ressources carbonées d'une cellule végétale vivante pour satisfaire ses besoins énergétiques (Mendgen et Hahn, 2002). Ce champignon a besoin de conditions de croissance spécifiques: des températures chaudes (optimum 25 °C) mais également une hy-

grométrie élevée, sans eau libre qui altère son développement, ainsi qu'une luminosité modérée. Une exposition solaire importante ralentit sa croissance (Willcoquet *et al.*, 1996) (fig.1). Actuellement, la lutte contre l'oïdium nécessite l'application régulière de fongicides. L'amélioration variétale par la sélection de cépages résistants aux maladies fongiques assistée par marqueurs représente une alternative à la protection chimique. Cette voie de recherche constitue une stratégie à long terme pour la maîtrise des intrants au vignoble. Les programmes de sélection ont cependant besoin de marqueurs pertinents pour l'évaluation de la résistance. Un marqueur peut se définir comme un indicateur d'un processus biologique à un instant précis, qui permet de faire la distinction entre un état normal et pathologique. Dans le cas de l'infection d'une plante par un pathogène, un marqueur fiable de résistance, lié à une

réaction de défense constitutive ou induite de la plante, permet de faire la distinction entre les individus sensibles (poursuite de l'infection et progression de l'épidémie) et les individus résistants (arrêt du développement du pathogène et de l'épidémie). De tels outils sont d'un grand intérêt dans l'amélioration des schémas de sélection, où d'importants effectifs de populations nécessitent un tri robuste, rapide et peu coûteux des individus prometteurs. Les marqueurs utilisables en sélection peuvent être choisis en observant la symptomatologie (évaluation de l'expression des symptômes après inoculation artificielle des individus) ou en mesurant des composés synthétisés par la plante en réponse au pathogène.

Les phytoalexines, synthétisées par la plante à la suite d'une infection fongique, sont très étudiées pour leurs propriétés antifongiques (Hain *et al.*, 1993; Pezet *et al.*, 2004b). La vigne a la capa-

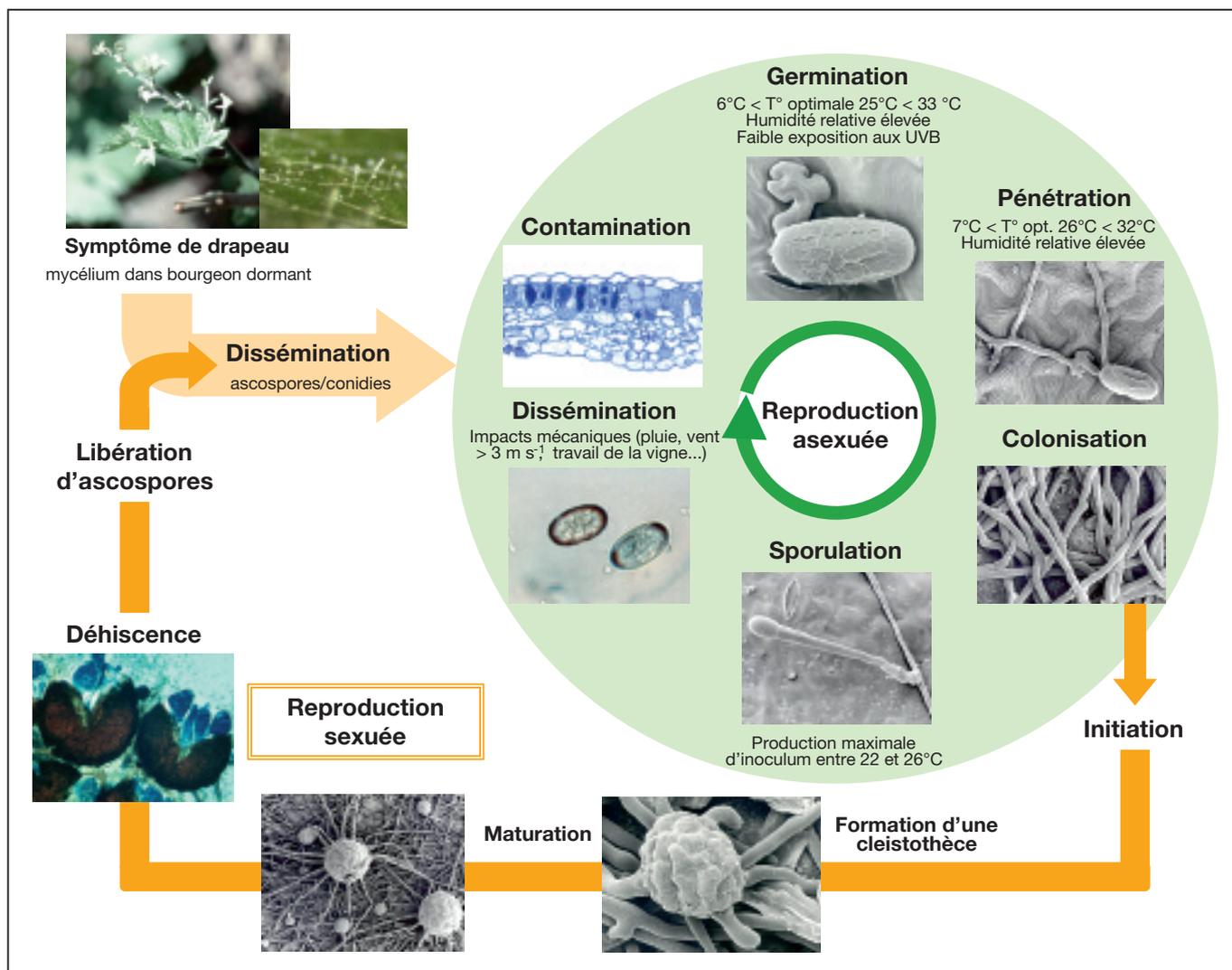


Fig. 1. Cycle de développement d'*Erysiphe necator*, agent de l'oïdium.

cité de produire des composés phénoliques de faible poids moléculaire, s'articulant autour d'un précurseur: le resvératrol (3,5,4'-trihydroxystilbène) (Langcake, 1981). Cette faculté est un élément crucial dans les mécanismes de défense globale de la vigne (Langcake et Pryce, 1976; Hain *et al.*, 1993; Jeandet *et al.*, 2002; Pezet *et al.*, 2004a). Les propriétés antifongiques de ces composés ont été évaluées *in vitro* sur *Botrytis cinerea* (Hoos et Blaich, 1990; Pezet et Pont, 1990, Adrian *et al.*, 1997) et *Plasmopara viticola* (Pezet *et al.*, 2004a). Certaines études ont mis en évidence une corrélation entre la synthèse de ces molécules et le niveau de sensibilité à certains pathogènes chez différents cultivars de vigne (Derck et Creasy, 1989; Pezet *et al.*, 2004b; Gindro *et al.*, 2007). Cependant, peu d'informations existent actuellement sur le rôle des stilbènes dans les mécanismes de défense contre l'oïdium. La station de recherche Agroscope Changins-Wädenswil (ACW) a com-

mencé en 1996 un programme de création de variétés de vigne résistantes aux maladies fongiques par hybridation (Spring, 2005). Les cépages recherchés dans le cadre de ce programme doivent présenter une résistance élevée au mildiou, une très faible sensibilité à l'oïdium et à la pourriture grise, de bonnes caractéristiques agronomiques et un potentiel œnologique identique aux références actuelles. Un procédé de sélection basé sur des critères histologiques et biochimiques a déjà été développé et est utilisé en routine depuis plus de six ans afin de définir le potentiel de résistance au mildiou (*Plasmopara viticola*) des semis issus du programme de sélection d'ACW (Gindro *et al.*, 2006; Gindro *et al.*, 2007). Cet article présente les marqueurs de résistance à l'oïdium développés à ACW, qui permettent de déterminer le potentiel de résistance de variétés existantes ou de nouvelles obtentions au stade de semis de pépins de raisin obtenus après hybridation.

## Matériel et méthodes

### Matériel végétal et conditions de culture

Des boutures de *Vitis vinifera* L. cv. Chasselas et Pinot noir, ainsi que de cépages résistants issus des sélections d'Agroscope (IRAC 1999, IRAC 2292) (Gindro *et al.*, 2006), et de *Vitis candicans* ont été obtenues à partir de sarments aoûtés prélevés dans les vignobles expérimentaux d'ACW. Les plants racinés ont été cultivés sous serre selon les conditions décrites par Pezet *et al.* (2004a). Au stade dix feuilles étalées, les plantes ont été placées dans une chambre climatisée et soumises à une photopériode de 16 h de jour (22 °C), 8 h d'obscurité (18 °C) et 60% HR. L'ensemble des expérimentations a été réalisé au stade 15 feuilles, sur les feuilles de niveau d'insertion 4 et 5 depuis l'apex.

### *Erysiphe necator*

L'oïdium utilisé pour les inoculations a été prélevé dans une parcelle non traitée du domaine expérimental d'ACW à Changins

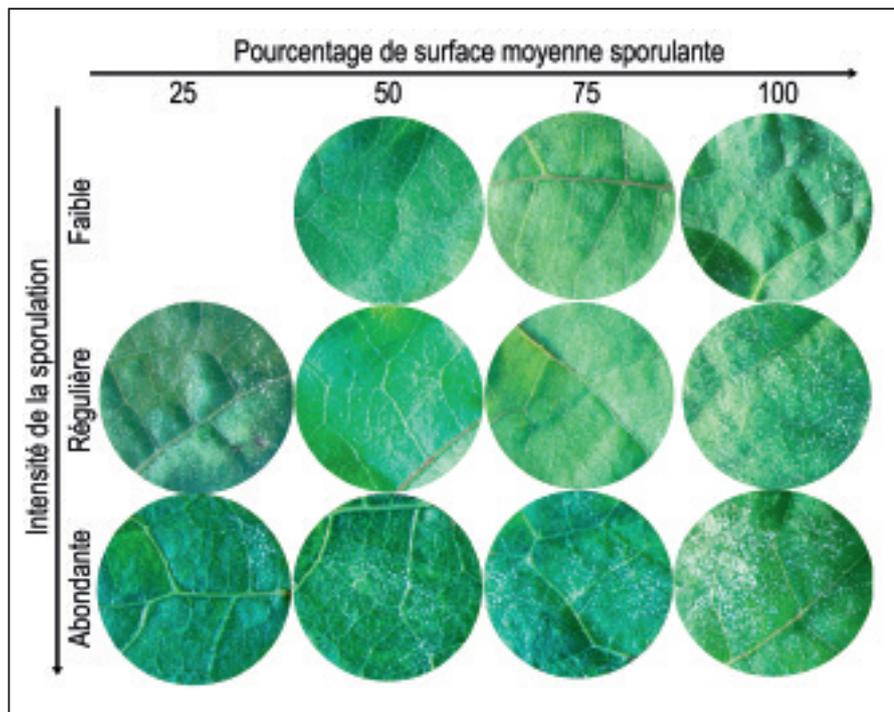


Fig. 2. Références pour la notation des critères de sensibilité à l'oïdium selon la surface moyenne et l'intensité de sporulation.

(VD) sur des cépages sensibles (*Vitis vinifera* cv. Chasselas et Pinot noir). L'inoculum a été multiplié sur des plants de Chasselas (12-15 feuilles développées) tous les 14 jours, maintenus en cellule climatisée (24 °C, 70% HR, 12 h de lumière).

## Infections artificielles et suivi

Les infections ont été réalisées sur feuilles détachées, après désinfection dans une solution aqueuse d'hypochlorite de sodium (Javel) à 2,5% durant 5 min, puis rincées dans trois bains successifs d'eau stérile. Dix disques foliaires par cultivar (Ø 0,8 cm) sont prélevés à l'emporte-pièce et placés sur milieu gélosé (10 g/l agar technique) contenant 30 mg/l de benzimidazole selon Cartolaro *et al.* (1990). La surface adaxiale des disques foliaires a été inoculée en balayant les spores présentes sur des feuilles infectées. Les disques sont ensuite placés en chambre climatisée dans les mêmes conditions que pour la multiplication de l'inoculum (24 °C, 70% HR, 12 h de lumière).

La résistance à l'oïdium a été évaluée par la description séquentielle des stades infectieux selon Leinhos *et al.* (1997). L'enregistrement du stade de développement atteint par chaque conidie permet de qualifier la relation pathogène/cultivar testé selon les critères suivants:

- Taux de germination = nombre de conidies ayant germé (longueur du tube germinatif > 1/3 longueur de la conidie) par rapport au nombre total de conidies observées.
- Taux de formation d'appressoria = nombre de conidies ayant formé un appres-

sorium par rapport au nombre total de conidies observées.

- Taux de formation d'haustoria fonctionnels = nombre de conidies dont l'appressorium a généré une première hyphes par rapport au nombre total de conidies observées (mesure indirecte supposant que l'observation d'une hyphes primaire résulte de l'établissement préalable d'un haustorium fonctionnel dans la cellule infectée).

Une évaluation de l'infection est faite dix jours post-inoculation (jpi), en tenant compte de la densité de mycélium observable à la loupe binoculaire (gross. 25 ×) ainsi que de l'importance de la sporulation selon l'intensité et la surface de la sporulation (fig. 2). L'expérience a chaque fois été effectuée en trois répétitions.

## Microscopie optique

Les disques foliaires infectés sont observés de 1 à 10 jpi, après coloration au diéthanol selon la méthode de Leinhos *et al.* (1997). Pour cela, la face infectée des échantillons est appliquée contre une solution de 0,2% (v/v) de diéthanol (Uvitex 2B, Polysciences) dans un tampon de 0,1 M Tris/HCl pH 6,5 à l'obscurité, durant 10 à 30 min en fonction du stade fongique à observer (le temps d'incubation est proportionnel à la quantité de masse fongique présente sur le disque foliaire). La visualisation s'effectue au microscope à fluorescence Leica DLMB (filtre A (UV) Leitz, excitation à 340 nm, émission à 380 nm, filtre stop LP 430 nm) et avec une caméra digitale (Leica DC100). L'acquisition et le traitement des images sont réalisés à l'aide du logiciel Leica IM500.

## Microscopie électronique à balayage

Les disques foliaires infectés (Ø 0,8 cm) sont fixés par les vapeurs du tétraoxyde d'osmium (solution aqueuse de 2% d'OsO<sub>4</sub> (p/v) et de 3% de K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub> (p/v)) durant 4 h dans une enceinte close saturée en humidité, puis déshydratés par des bains d'acétone (20 min sur glace) à concentrations croissantes (10, 30, 50, 70, 90, 100, 100% (v/v)), séchés avec du CO<sub>2</sub> selon la technique du point critique (Critical Point Dryer, Baltech), puis métallisés à l'or ou au platine (couche: 150 Å, gaz: argon, pression de travail: 6.10<sup>-2</sup> mbar, temps d'évaporation: 150 s, distance de travail: 50 mm, sur MED 010 de Bal-Tec). Les échantillons ont été observés avec un microscope à balayage Jeol JSM-6300F à 5 KV à une distance de travail de 15 mm.

## Analyse des stilbènes

Pour chaque cultivar testé, trois disques foliaires infectés (Ø 1 cm) sont récoltés chaque jour pendant la période de suivi de l'infection (1 à 5 jpi), pesés, placés individuellement dans un tube (1,5 ml) contenant 70 µl de méthanol et incubés dans un bloc chauffant (VORTEMP 56 EVC) à 60 °C durant 10 min sous agitation (80 rpm). Le contenu en stilbènes est analysé qualitativement et quantitativement par HPLC sur 30 µl de l'extrait méthanolique selon la méthode de Pezet *et al.* (2003). Les résultats sont exprimés en ng par appressorium (ng/appr.). Le nombre d'appressoria est comptabilisé par observation microscopique avant extraction méthanolique. Des disques non infectés sont employés comme témoin.

## Résultats et discussion

### Développement d'*Erysiphe necator* sur cépage sensible

Le processus infectieux d'*E. necator* a été suivi sur des disques foliaires de *Vitis vinifera* cv. Chasselas, afin d'établir la séquence chronologique du développement du pathogène en conditions optimales de croissance. Les conidies matures sont de forme ovoïde à cylindrique et se caractérisent par une surface rugueuse (fig. 3A). Dans les deux heures post-inoculation (hpi), le processus de germination est amorcé par l'émergence d'un tube germinatif à l'une des extrémités de la conidie (fig. 3A). Après une élongation variable, l'apex du tube germinatif se différencie en appressorium bi- à quadrilobé (fig. 3B). L'apparition d'une hyphes primaire (fig. 3C) indique l'établissement d'un haustorium fonctionnel dans la cellule épidermique infectée. Cet événement est suivi par l'apparition d'une

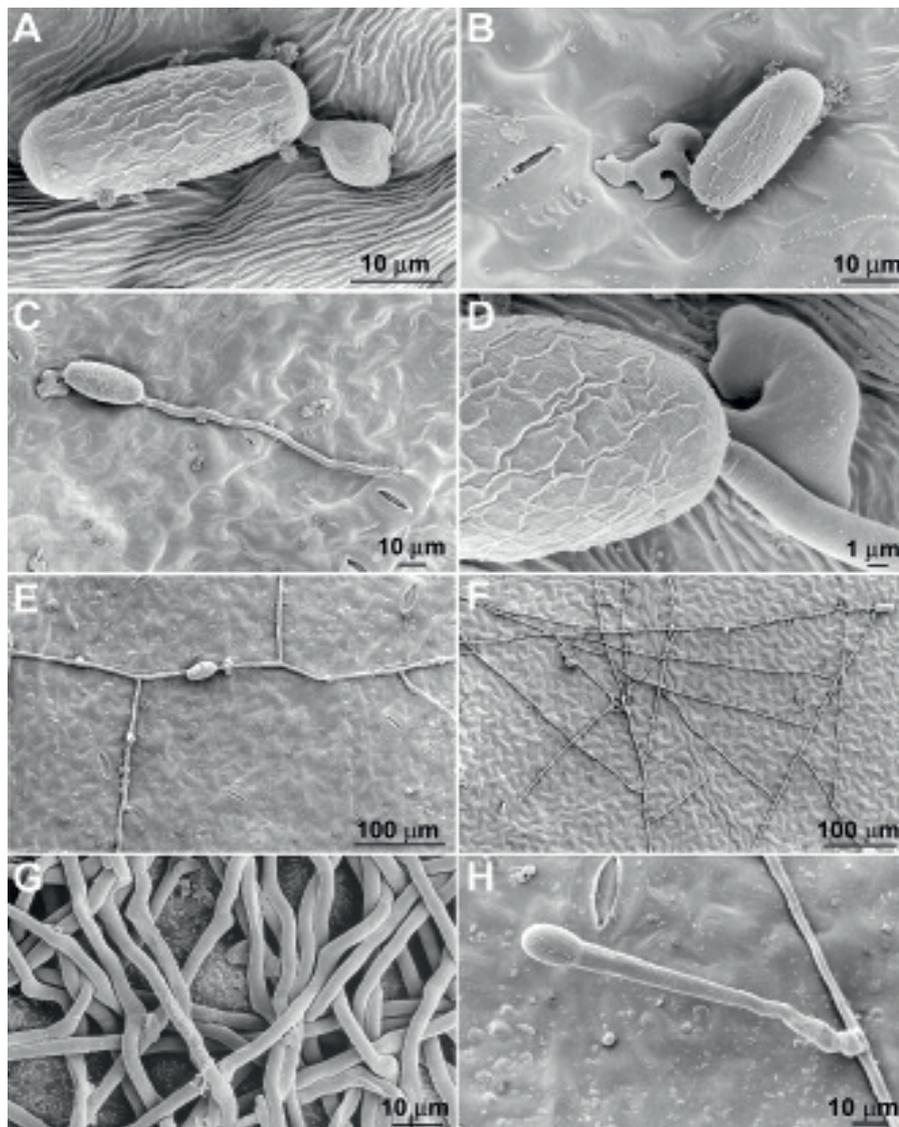


Fig. 3. Cycle de développement asexué d'*Erysiphe necator* sur *Vitis vinifera* cv. Chasselas, observé au microscope électronique à balayage. **A.** Germination de la conidie et début de différenciation de l'appressorium par gonflement de l'apex du tube germinatif (1 à 4 hpi); **B.** Différenciation d'un appressorium trilobé (1 à 8 hpi); **C.** Développement de la première hyphe du côté opposé au premier appressorium. **D.** Initiation de l'hyphe secondaire (1 jpi); **E.** Formation d'appressoria hyphaux et embranchement des hyphes (2-3 jpi); **F.** Développement du réseau mycélien (3-4 jpi); **G.** Mycélium capable de recouvrir toute la surface foliaire à des stades avancés d'infection; **H.** Formation d'un conidiophore dressé et différenciation d'une conidie isolée à l'apex (6 jpi).

hyphe secondaire à partir de l'appressorium primaire (fig. 3D et 3E). À 20 hpi, 60% des conidies germées ont atteint le stade «appressorium primaire» et 30% d'entre elles présentent une hyphe primaire. La formation d'appressoria secondaires débute le long des hyphes en croissance (fig. 3E). Parallèlement, une hyphe tertiaire peut émerger de la conidie à proximité du tube germinatif. Ce stade est atteint par 35% des conidies germées dans les premières 48 hpi. Sur les hyphes, les appressoria apparaissent régulièrement sur chaque deuxième cellule. À partir de 2 jpi, des embranchements d'hyphes apparaissent (fig. 3F et 3G) et le réseau mycélien à proprement parler se développe, matérialisé par la

production régulière d'appressoria. Les premiers conidiophores multi-septés apparaissent 5 jpi et la conidiogénèse a lieu 6 jpi (fig. 3H).

### Développement d'*E. necator* sur cultivars de sensibilités différentes

Dès 4 h après inoculation, deux tiers des conidies présentes sur la surface adaxiale des disques foliaires de cultivars sensibles (*V. vinifera* cv. Chasselas et IRAC 1999) ont germé. La moitié d'entre elles ont déjà élaboré un appressorium. Les différences de développement d'*E. necator* selon la sensibilité des cultivars ap-

paraissent entre 24 et 48 hpi. Le taux de germination des conidies est significativement inférieur chez un cépage très résistant comme *V. candicans* (fig. 4A) par rapport aux autres variétés étudiées. Le nombre d'hyphes émergeant du premier appressorium est très faible chez cette espèce et tout développement ultérieur est inhibé dès 2 jpi (fig. 4B). L'interruption précoce du cycle fongique suggère que, vraisemblablement, l'haustorium ne peut se développer dans les cellules épidermiques.

Les conidies émises sur *V. vinifera* cv. Chasselas, IRAC 1999 et IRAC 2292 produisent des hyphes secondaires. Cependant, le taux de pénétration sur IRAC 2292 est inférieur à celui des cultivars sensibles (fig. 4B) et le développement du pathogène n'atteint pas le stade de réseau mycélien (fig. 5). Le réseau mycélien épars et l'absence de sporulation définissent ce cépage comme résistant à l'oïdium. La présence d'espèces américaines (en particulier *V. rupestris* et *V. lincecumii*) dans le fonds génétique des cépages résistants obtenus à ACW leur confère un certain niveau de résistance à la plupart des pathogènes de la vigne (Fung *et al.*, 2008). Le développement ultérieur du pathogène est observé uniquement sur *V. vinifera* cv. Chasselas et IRAC 1999. Chez ce dernier, le cycle asexué complet est accompli en sept jours. La densité du réseau mycélien et l'intensité de la sporulation sont inférieures à celles qui se manifestent chez *V. vinifera* cv. Chasselas, traduisant une plus faible sensibilité à l'oïdium.

### Phytoalexines stilbéniques et résistance à l'oïdium

Afin d'évaluer le rôle des phytoalexines stilbéniques dans la résistance globale de la vigne contre l'oïdium, une analyse qualitative et quantitative des stilbènes (resvératrol, picéide, pterostilbène,  $\epsilon$ - et  $\delta$ -viniférine) de *V. vinifera* cv. Chasselas, IRAC 1999, IRAC 2292 et de *V. candicans*, espèce présentant une résistance totale à l'oïdium, a été réalisée de 1 à 5 jpi. Aucun stilbène n'a été mis en évidence dans les échantillons de contrôle non infectés, indépendamment du cultivar testé.

Du fait du caractère spécifique de l'infection d'*E. necator*, restreint à la première assise cellulaire du limbe foliaire, la quantification des stilbènes a été corrélée au site d'infection, correspondant aux cellules réellement pénétrées par une hyphe infectieuse, ceci étant matérialisé par la présence d'un appressorium fonc-

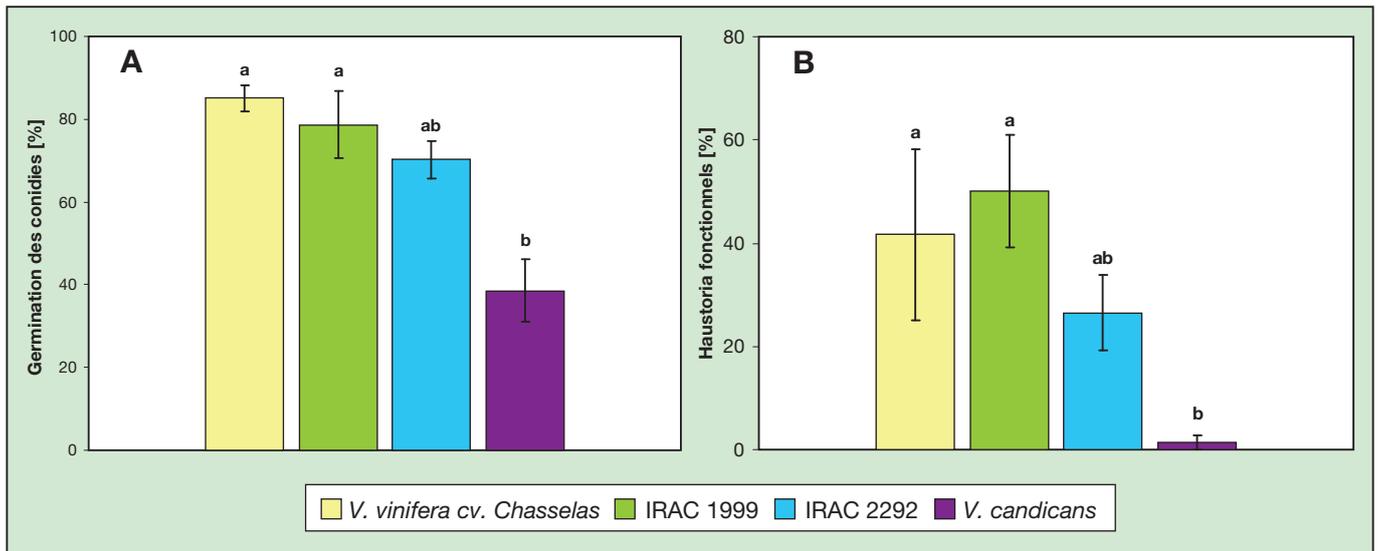


Fig. 4. Comportement d'*Erysiphe necator* sur des disques foliaires de vigne 2 jpi. **A.** Pourcentage de germination des conidies. **B.** Taux d'établissement d'haustoria fonctionnels dans les cellules infectées (déterminé par le pourcentage d'appressoria primaires générant une hyphe primaire). Les valeurs représentent la moyenne et l'erreur standard de trois répétitions. Les histogrammes ayant une même lettre ne sont pas significativement différents ( $P < 0,05$ ).

tionnel. Les travaux de Schnee *et al.* (2008) ont permis de montrer que la synthèse des stilbènes était toujours étroitement liée aux sites d'infection, les cellules épidermiques avoisinantes n'en produisant pas. De ce fait, il est crucial de restreindre la quantification des stilbènes aux sites d'infection, afin d'éviter une dilution du signal.

Les résultats montrent que les viniférines sont synthétisées à des concentrations beaucoup plus grandes par nombre d'appressoria chez *V. candicans* 2 jpi, ce temps correspondant à l'arrêt total de la croissance fongique (fig. 5). Une concentration graduelle de viniférines est observée chez IRAC 2292 entre le troisième et le quatrième jour après inoculation, en étroite corrélation avec l'inhibition du développement du pathogène (fig. 5).

Les viniférines, dimères oxydés du resvératrol (Pezet *et al.*, 2004b), sont employées comme marqueurs pour l'évaluation du niveau de résistance des vignes au mildiou (Gindro *et al.*, 2006). Dans le cas d'une infection d'oïdium, la synthèse de  $\delta$ - et d' $\epsilon$ -viniférine au site d'infection semble étroitement liée à l'inhibition du développement de la maladie. *V. candicans* est capable de produire rapidement une grande quantité de viniférines, tandis qu'IRAC 2292 les accumule de manière plus lente aux sites d'infection. L'accumulation des deux isomères de viniférines coïncide avec l'interruption du développement du pathogène, à savoir 2 jpi chez *V. candicans* et 4 jpi chez IRAC 2292.

Chez les cultivars sensibles, le resvératrol est principalement glycosylé en picéide non toxique et la concentration

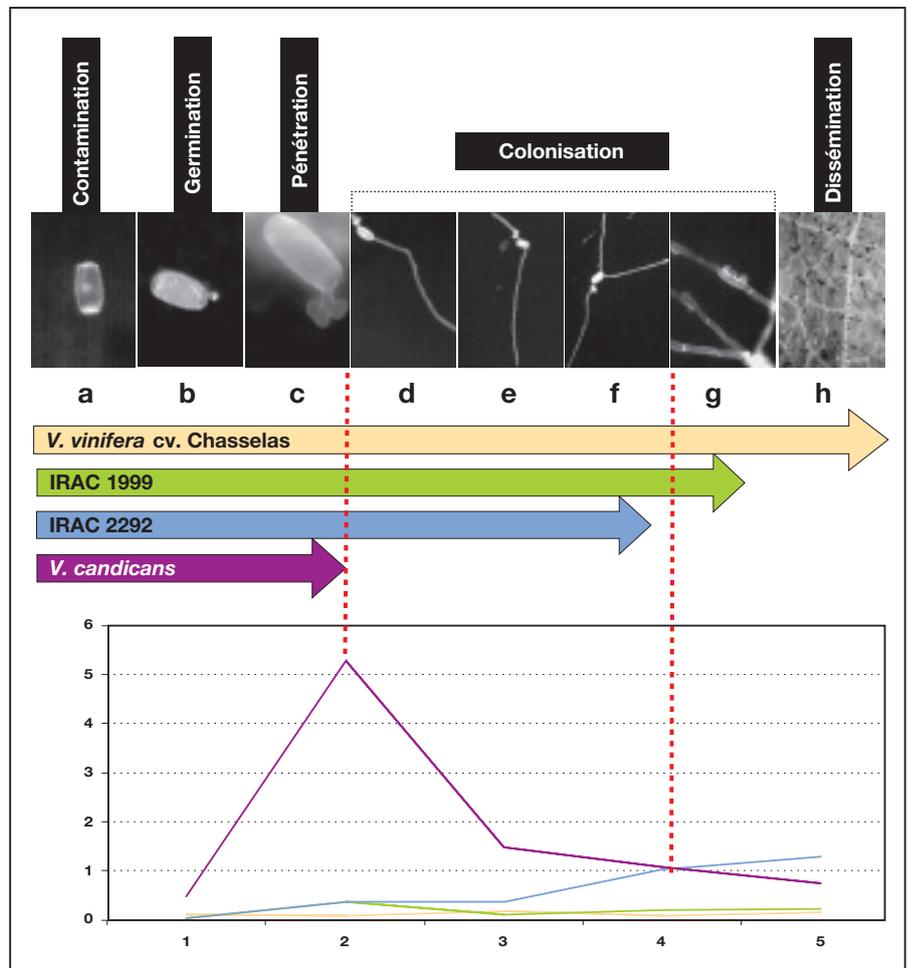


Fig. 5. Réalisation du cycle infectieux d'*Erysiphe necator* sur différentes espèces du genre *Vitis*. Les flèches indiquent le stade ultime atteint par le pathogène, associées à la concentration en viniférines ( $\epsilon$ - et  $\delta$ -) et rapportées par site infectieux (appressorium fonctionnel). **a:** conidie non germée; **b:** conidie avec tube germinatif; **c:** appressorium primaire; **d:** hyphe primaire; **e:** hyphe secondaire; **f:** hyphe tertiaire; **g:** appressoria secondaires hyphaux; **h:** mycélium et conidiogénèse. L'axe des ordonnées représente la concentration en viniférines en ng par nombre d'appressoria, l'axe des abscisses représente le nombre de jours post-infection.

en viniférines est insuffisante pour inhiber la croissance du pathogène. Ce phénomène a d'ailleurs déjà été décrit à propos de la résistance au mildiou (Gindro *et al.*, 2007).

## Conclusions

- ❑ La croissance d'*Erysiphe necator* sur des espèces de vigne sensibles est caractérisée par une différenciation chronologique des structures infectieuses, jusqu'à la sporulation du champignon, soit six jours après l'infection en conditions de croissance optimales pour le pathogène.
- ❑ La quantification de la germination des conidies et celle de la formation des appressoria primaires, voire secondaires, sont des moyens efficaces pour déterminer le niveau de sensibilité des cépages étudiés.
- ❑ L'implantation d'un haustorium fonctionnel est le stade de développement déterminant pour la poursuite du développement fongique.
- ❑ L'identification des stades de développement auxquels la croissance fongique est inhibée constitue une information importante afin de situer l'induction des mécanismes de résistance de la vigne.
- ❑ Les quantités de viniférines synthétisées en relation avec le nombre d'appressoria formés constituent un marqueur de résistance contre *E. necator*.
- ❑ Ces différents critères (taux de germination, développement des structures fongiques, taux de sporulation, quantification des viniférines) seront utilisés dans l'appréciation du potentiel de défense de nouveaux cultivars de vigne au sein du programme de sélection d'ACW.
- ❑ Ces critères de sélection vont être testés sur tous les cépages sélectionnés et multipliés depuis dix ans afin de valider leur pertinence. De plus, ils seront appliqués aux semis issus du programme de sélection 2009, en plus des critères de résistance au mildiou.

## Remerciements

Nous tenons à remercier M. Jean Tailens pour le soin particulier apporté aux plantes. De même, nous tenons à remercier le «National Centre of Competence in Research (NCCR) Plant Survival» pour son soutien financier.

## Bibliographie

- Adrian M., Jeandet P., Veneau J., Weston L. A. & Bessis R., 1997. Biological activity of resveratrol, a stilbenic compound from grapevines, against *Botrytis cinerea*, the causal agent for gray mould. *Journal of chemical Ecology* **23** (7), 1689-1702.
- Brem S., Rast D. M. & Ruffner H. P., 1986. Partitioning of photosynthetate in leaves of *Vitis vinifera* infected with *Uncinula necator* and *Plasmopara viticola*. *Physiological and molecular Plant Pathology* **29**, 285-291.
- Calonnet A., Cartolaro P., Poupot C., Dubourdieu D. & Darriet P., 2004. Effects of *Uncinula necator* on the yield and quality of grapes (*Vitis vinifera*) and wine. *Plant Pathology* **53**, 434-445.
- Cartolaro P. & Steva H., 1990. Maîtrise de l'oïdium au laboratoire. *Phytoma* **419**, 37-40.
- Dercks W. & Creasy L. L., 1989. The significance of stilbene phytoalexins in the *Plasmopara viticola* – grapevine interaction. *Physiological and molecular Plant Pathology* **34**, 189-202.
- Fung R.W., Gonzalo M., Fekete C., Kovacs L.G., He Y., Marsh E. *et al.*, 2008. Powdery mildew induces defense-oriented reprogramming of the transcriptome in a susceptible but not in a resistant grapevine. *Plant Physiology* **146** (1), 236-249.
- Gadoury D. M., Seem R. C., Pearson R. C. & Wicow W. F., 2001. Effects of powdery mildew on vine growth, yield, and quality of Concord Grapes. *Plant Disease* **85** (2), 137-140.
- Gindro K., Spring J.-L., Pezet R., Richter H. & Viret O., 2006. Histological and biochemical criteria for objective and early selection of grapevine cultivars resistant to *Plasmopara viticola*. *Vitis* **45** (4), 191-196.
- Gindro K., Spring J.-L. & Viret O., 2007. Développement d'outils pour la sélection précoce de cépages résistants au mildiou. *Revue suisse Vitic., Arboric., Hortic.* **38**, 133-139.
- Hain R., Reif H. J., Krause E., Langebartels R., Kindl H., Vornam B., Wiese W., Schmelzer E., Schreier P. H., Stöcker R. H. & Stenzel K., 1993. Disease resistance results from foreign phytoalexin expression in a novel plant. *Nature* **361**, 153-156.
- Hoos G. & Blaich R., 1990. Influence of resveratrol on germination of conidia and mycelial growth of *Botrytis cinerea* and *Phomopsis viticola*. *Journal of Phytopathology* **129** (2), 102-110.
- Jeandet P., Douillt-Breuil A. C., Bessis R., Debord S., Sbaghi M. & Adrian M., 2002. Phytoalexins from the *Vitaceae*: biosynthesis, phytoalexin gene expression in transgenic plants, antifungal activity and metabolism. *Journal of agricultural and Food Chemistry* **50** (10), 2731-2741.
- Langcake P. & Pryce R. J., 1976. Production of resveratrol by *Vitis vinifera* and other members of *Vitaceae* as a response to infection or injury. *Physiological Plant Pathology* **9** (1), 77-86.
- Langcake P., 1981. Disease resistance of *Vitis* spp and the production of the stress metabolites resveratrol, epsilon-viniferin, alpha-viniferin and pterostilbene. *Physiological Plant Pathology* **18** (2), 213-226.
- Lakso A. N., Pratt C., Pearson R. C., Pool R. M., Seem R. C. & Welser M. J., 1982. Photosynthesis, transpiration and water use efficiency of mature grape leaves infected with *Uncinula necator* (powdery mildew). *Phytopathology* **72**, 232-236.
- Leinhos G. M. E., Gold R. E., Düggelin M. & Guggenheim R., 1997. Development and morphology of *Uncinula necator* following treatment with the fungicides kresoxim-methyl and penconazole. *Mycological Research* **101**, 1033-1046.
- Mendgen K. & Hahn M., 2002. Plant infection and the establishment of fungal biotrophy. *Trends in Plant Science* **7** (8), 352-356.
- Pezet R., Gindro K., Viret O. & Richter H., 2004a. Effects of resveratrol, viniferins and pterostilbene on *Plasmopara viticola* zoospore mobility and disease development. *Vitis* **43** (3), 145-148.
- Pezet R., Gindro K., Viret O. & Spring J.-L., 2004b. Glycosylation and oxidative dimerization of resveratrol are respectively associated to sensitivity and resistance of grapevine cultivars to downy mildew. *Physiological and molecular Plant Pathology* **65** (6), 297-303.
- Pezet R., Perret C., Jean-Denis J. B., Tabacchi R., Gindro K. & Viret O., 2003. Delta-viniferin, a resveratrol dehydrodimer: One of the major stilbenes synthesized by stressed grapevine leaves. *Journal of agricultural and Food Chemistry* **51** (18), 5488-5492.
- Pezet R. & Pont V., 1990. Ultrastructural observations of pterostilbene fungitoxicity in dormant conidia of *Botrytis cinerea* Pers. *Journal of Phytopathology* **129** (1), 19-30.
- Schnee S., Viret O. & Gindro K., 2008. Role of stilbenes in the resistance of grapevine to powdery mildew. *Physiological and molecular Plant Pathology* **72**, 128-133.
- Spring J.-L., 2005. Expérimentation en Suisse romande de nouveaux cépages rouges résistants aux maladies. *Revue suisse Vitic., Arboric., Hortic.* **37** (5), 255-261.
- Willocquet L., Colombet D., Rougier M., Fargues J. & Clerjeau M., 1996. Effects of radiation, especially ultraviolet B, on conidial germination and mycelial growth of grape powdery mildew. *European Journal of Plant Pathology* **102**, 441-449.

## Summary

### Developing tools for early selection of *Erysiphe necator* resistant grapevine cultivars

Stilbene phytoalexins are identified as defence response in pathogen-grapevine interactions, but little information is available on the role of stilbenes against *Erysiphe necator*, causal agent of grapevine powdery mildew. Analysis and quantification of stilbenes in artificially infected leaf discs from susceptible (*Vitis vinifera* cv. Chasselas) to highly resistant cultivars (IRAC 2292, *Vitis candicans*) were performed and compared to the development of the pathogen. Results indicate that stilbene amounts, especially viniferins, expressed by infection site, allow discriminating susceptible and resistant cultivars. Highest viniferins concentrations are measured already two days after inoculation in resistant cultivars, corresponding with the observed inhibition of the pathogen growth. The analysis of stilbenes at the infection site and viniferins accumulation in grapevine defence reaction are discussed in relation to the development of resistance markers for powdery mildew resistance and early selection of grape seedlings.

**Key words:** powdery mildew, *Erysiphe necator*, grape, defence mechanisms, stilbens, appressorium, breeding, resistant cultivars.

## Zusammenfassung

### Entwicklung von Methoden für die Züchtung echter mehltioresistenter Traubensorten

Die Bildung von Stilbenphytoalexinen ist einer der Abwehrmechanismus der Rebe gegen Pilzkrankheiten. Es gibt jedoch nur wenige Informationen über die Rolle dieser Abwehrmoleküle gegen den echten Rebenmehltau (*Erysiphe necator*). Die Analyse und die Quantifizierung der Stilbene in infizierten Blattscheiben bei empfindlichen (*Vitis vinifera* cv. Chasselas) und resistenten Sorten (IRAC 2292, *Vitis candicans*) wurde mit der Entwicklung der Krankheit korreliert. Die Ergebnisse zeigen, dass die Gesamtmenge an Phytoalexinen, besonders die Viniferine bei den resistenten Sorten signifikant höher liegen als bei empfindlichen Sorten. Dieses Resultat ist vor allem ersichtlich, wenn diese Menge in Bezug auf den Infektionspunkt des Mehltaus berechnet wird. Die höchsten Viniferin-Konzentrationen wurden in den ersten zwei Tagen nach der Inokulation gemessen und sind mit der Entwicklungshemmung des Pilzes verbunden. Diese Kriterien werden als Marker im Rahmen der Selektion von Sämlingen aus dem Züchtungsprogramm von ACW vorgeschlagen.

## Riassunto

### Metodi per la selezione precoce di cultivar di vite resistenti all'oidio

Le fitolessine sono composti stilbenici prodotti dalla vite durante l'interazione fra i patogeni e la pianta. Poche informazioni sono al momento disponibili sul ruolo degli stilbeni contro il patogeno *Erysiphe necator*, agente dell'oidio o mal bianco della vite.

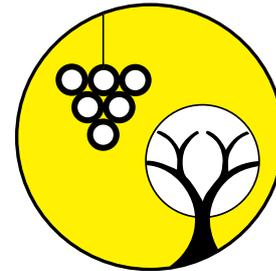
In questo lavoro sono riportate le analisi qualitative e quantitative degli stilbeni prodotti, inoculando il patogeno su dischi fogliari di *Vitis vinifera* cv. Chasselas (cultivar suscettibile) e di IRAC 2292 (incrocio *V. vinifera* × *V. candicans*, cultivar resistente); gli stilbeni prodotti sono stati comparati allo sviluppo del patogeno. La quantità di stilbeni prodotti, in particolare delle viniferine, permette una chiara discriminazione fra cultivar suscettibile e resistente al patogeno. Di fatto, la maggior quantità di stilbeni prodotti dalla cultivar resistente è associata ad una forte inibizione del patogeno già due giorni dopo l'inoculo. L'analisi degli stilbeni nel sito di infezione (in corrispondenza degli appressori) e l'accumulo di viniferine durante le reazioni di difesa della pianta sono criteri presi in considerazione per facilitare la selezione precoce di nuove cultivar resistenti all'oidio.

# LES PROFESSIONNELS

des secteurs viticoles,  
arboricoles et horticoles romands  
verront

## VOTRE PUBLICITÉ

dans la



Revue suisse de viticulture  
arboriculture et horticulture

Régie des annonces: PRAGMATIC SA Tél. 022 736 69 13  
Avenue Saint-Paul 9 CH-1223 Cologny Fax 022 786 04 23

# Alphatec



Turbo, Atomiseurs, Paralflo, en tracté ou porté

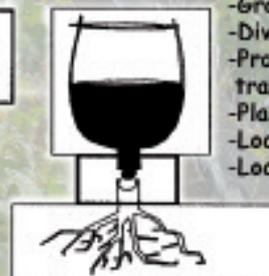
1350 Orbe

Tél: 024 442 85 40

## Pépinières

## viticoles

Pierre Richard  
Le Closelet  
Route de l'Etraz 4  
1185 Mont-sur-Rolle  
Tél. 021 825 40 33  
Fax 021 826 05 06  
Natel 079 632 51 69



- Grand choix de cépages.
- Divers clones et portes-greffe.
- Production de plants en pots et traditionnels.
- Plantation machine.
- Location tarrière.
- Location arrache souches.

E-mail: pepiniere.richard@hispeed.ch

## Votre spécialiste pour vos installations viticoles

Distributeur officiel des marques:

<b>ARMBRUSTER</b>	matériel de réception
<b>VAUCHER BEGUET</b>	tables de tri et convoyeur
<b>DELLA TOFFOLA</b>	pressoirs et filtres
<b>MÖSCHLE</b>	cuves en inox
<b>KIESEL</b>	pompes et flottation
<b>ROMFIL</b>	filtres tangentiels et flottation
<b>FIMER</b>	soutireuse / monoblock tireuse



Pressoir **DELLA TOFFOLA**

**DREIER OENOTECH SA** Machines viticoles - Kellereimaschinen **Consultez notre site Internet de même que nos occasions!**

Champ de la Vigne 4 1470 Estavayer-le-Lac

Tél. 026 664 00 70 - Fax 026 664 00 71 - E-mail: dreier@dreieroenotech.ch - www.dreieroenotech.ch

## Pépinières Ph. Borioli

*Partenaire de votre réussite*

### Planter c'est prévoir!

Réservez l'assemblage idéal cépage - clone / porte-greffe  
Pieds de 30 à 90 cm



### Nouvel encépagement?

Vinifera ou Interspécifique, demandez nos conseils et services



### Raisins de table: votre nouvelle culture fruitière!

Choix de variétés adaptées à vos labels



CH-2022 BEVAIX

Tél. 032 846 40 10 Fax 032 846 40 11  
E-mail: info@multivitis.ch www.multivitis.ch

## DUVOISIN Puidoux

L'effeuilleuse BINGER



**Binger Seilzug**



EFFEUILLEUSES, ROGNEUSES, PALISSEUSES  
adaptations sur tracteurs ou chenillettes

TRACTEURS viticoles **HOLDER** articulés 4 RM

Importateur - Vente - Réparation - Pièces détachées

**DUVOISIN & Fils SA** - 1070 Puidoux-Gare  
Machines viticoles et agricoles

Tél. 021 946 22 21 - Fax 021 946 30 59