Relation entre la phyllotaxie de la tige feuillée de la vigne et la synthèse du resvératrol: Composé antifongique naturel vis à vis de Botrytis cinerea et Plasmopara viticola.

Sbaghi M.¹, Ismaili M.², Zaid A.³, Gaboun F.⁴, Jeandet P.⁵ et Benyahia H.¹

1-Institut National de la Rechrche Agrounomique. Centre Régional de la Recherche Agronomique de Kenitra. BP 257; 14, Rue Abou Temman; 14000 Kenitra, Maroc.

- 2- Université Moulay Ismaïl, Laboratoire de Physiologie et Microbiologie Appliquées, Meknès, Maroc.
- 3-Faculté des Sciences et Techniques d'Errachidia, Maroc.
- 4-INRA Maroc, Division Scientifique.
- 5-Faculté des Sciences de Reims-France; Laboratoire d'Oenologie & Chimie Appliquée.

Correspondance: msbaghi@yahoo.fr



Résumé

Le trans-resvératrol (3, 5, 4'-trihydroxystilbène) est un des métabolites de stress produit par la vigne en réponse à une infection parasitaire ou à la suite d'une irradiation par les UV. L'estimation de l'aptitude à la synthèse de cette molécule antifongique naturelle, en faisant référence au critère de repérage du bourgeon anticipé de la vigne qui permet de localiser le côté ventral et dorsal d'une feuille de vigne a été évaluée. Des différences significatives dans la production du resvératrol entre les deux côtés (ventral et dorsal) d'une même feuille de vigne ont été obtenues. Le fait que le potentiel de production de cette molécule chez la vigne semble être associé à un système morphogénétique très précis, représente un élément important dans un schéma d'amélioration et de sélection de vignes résistantes à Botrytis cinerea.

Mots-clés: Botrytis cinerea, dorsiventralité, marqueurs biochimiques de résistance, phytoalexines, resvératrol, sélection, vigne.

العلاقة ما بين الفيلوطاكسي Phyllotaxie للغصن المورق للكرمة وإفراز مادة ريز فراطرول resvératrol العفاض لبوتريتيس سينيريا B.cinerea وبلا سمو برا فينيكولا Plasmopara viticola

السباغي م. ، إسماعلي ح. ، زايد ع. ، كابون ف. ، جاندي ب. ، بن يحيى ح.

ملخص

ترانس - ريزفراطرول (3,5,4 Trans-resvératrol)، طريهيدروكسي ستلبين هو أحد المواد الناشئة عن الأيض المترتبة عن اضطراب شجرة العنب الناتج عن إصابتها بمرض طفيلي أو التعرض لإشعاعات ما فوق النفسجية.

إن تحليل القدرة على إفراز هذه الجزئية (ترانس - ريزفراطرول) التي تعتبر مضاد طبيعي للفطريات بالاعتماد على معيار التموضع للبرعم المسبق (bourgeon anticipé) لشجرة الكروم الذي يمكننا من عملية تحديد الوجه الظهري من البطني لنفس الورقة عند هذه الشجرة.

بفضل هذا المعيار الفيلوطاكسي (Phyllotaxie) تم التوصل إلى اختلافات نوعية في إنتاج جزئية (ترانس - ريزفراطرول) بين الوجه الظهري و البطني(dorsiventralité) بالنسبة لنفس الورقة من شجرة العنب.

تشكل إمكانية إنتاج هذه الجزئية عند الكروم، المرتبطة بنظام مورفوجيني محدد بشكل جيد، عنصرا مهما لاستخدامه في برنامج التحسين الوراثي والانتقائي لمقاومة شجرة العنب لفطر التعفن الرمادى.

الكلمات المفتاح: بوتريتيس سينريا (Botritys cinerea)، ريزفراطرول، مؤشر بيوكيميائي للمقاومة الطبيعية، ريزفراطرول، الكروم، انتقاء، فيتو ألكسين Phytoalexine، الكروم، دورسقنطرلتي.

Relation ship between phyllotaxy of grape tree leaves and synthesis of resveratrol: natural antifungal compound against *Botrytis cinerea* and *Plasmopara viticola*.

Abstract

Trans-resveratrol (3, 5, 4'-trihydroxystilbene) is one of the stress metabolites produced by grapevine as a response to fungal infection or to UV-irradiation. Investigations on the potential of grapevine to synthesize this natural antifungal molecule with reference to the position of leaves versus the anticipated buds on the vine tree, allowing us to distinguish the ventral face of a leaf (from the dorsal face), were carried out in this study. Significant differences in the resveratrol production between both faces of the same leaf (ventral and dorsal) of grapevine were obtained. The fact that the production potential of resveratrol seems to be associated to a very precise morphogenesis system thus represents an important way for the breeding and selection of resistant grapevine varieties to Botrytis cinerea.

Key words: *Botrytis cinerea*, dorsiventrality, biochemical markers, phytoalexins, resveratrol, sélection, grapevine

Introduction

La vigne est confrontée à divers microorganismes pathogènes, dont *Botrytis cinerea*, l'agent responsable de la pourriture grise, contre lesquels elle doit se défendre. La lutte contre ces parasites et, en particulier, contre *B. cinerea*, un champignon redouté par les viticulteurs, est très problématique pour deux raisons essentielles : la complexité des interactions entre la vigne et *B. cinerea* et l'existence de phénomènes de résistance de ce champignon à de nombreux produits fongiques des familles des benzimidazoles, des imides cycliques (Leroux, 1985).

A l'heure actuelle, les exigences du consommateur et la protection de l'environnement sont de plus en plus pris en considération; d'où l'intérêt de se tourner vers des moyens autres que l'utilisation des fongicides dans la lutte contre le pathogène responsable de la pourriture grise. L'idée de renforcer la résistance de la vigne par la stimulation de ses défenses naturelles pourrait être prometteuse.

La résistance naturelle de la vigne à *B. cinerea* est la résultante complexe de plusieurs phénomènes tant morphologiques que biochimiques incluant, d'une part, des aspects concernant la résistance des feuilles à la pourriture grise et, d'autre part, en relation avec les réactions de défense des baies. Parmi les nombreux mécanismes possibles de résistance naturelle des feuilles de la vigne aux maladies fongiques, la synthèse de composés de type phytoalexines est un système de défense actif capable de bloquer la progression du pathogène.

Les phytoalexines de la vigne sont des composés antimicrobiens de faible masse moléculaire produits et accumulés par les feuilles et les fruits (resvératrol, ptérostilbène et viniférines; Fig.1). Ils interviennent en réponse à une agression de nature biotique par les champignons, *B. cinerea* et *Plasmopara viticola*, l'agent responsable du mildiou; ou abiotique suite à une irradiation par les ultraviolets (UV.), un stress hydrique ou l'utilisation de sels métalliques (Langcake et Pryce, 1976; Paxton, 1980; Langcake, 1981; Bailey et Mansfield, 1982; Deverall, 1982; Mansfield, 1982; Dercks et Creasy, 1989; Ricci, 1989; Rouxel, 1989). Les phytoaalexines ont été très étudiées ces dernières années (Langcake et Pryce, 1976; Langcake, 1981; Dercks et Creasy, 1989; Jeandet et Bessis, 1989; Sbaghi, 1994; Jeandet *et al.*, 2002; Adrian et Jeandet, 2006). Le resvératrol est la molécule majeure de la réponse phytoalexine de la vigne à une attaque par un micro-organisme phytopathogène (Langcake, 1981; Langcake et Mc Carthy, 1979; Pool *et al.*, 1981; Stein et Blaich, 1985; Jeandet *et al.*, 1990; Sbaghi, 1990).

Figure 1. Structure chimique des principales phytoalexines de la vigne.

Des travaux précédents visant une amélioration variétale de la vigne et la recherche de marqueurs biochimiques précoces de la sensibilité de la vigne à B. cinerea ont montré que le niveau de concentration du resvératrol dans les extraits de feuilles de vigne de variétés de cuve est corrélé positivement au niveau de résistance de la vigne à ce champignon (Sbaghi, 1990 ; Jeandet, 1991). Cependant, les travaux de sélection variétale se heurtent à une grande variabilité des résultats. En effet, Barlass et al., (1987) et Pool et al., (1981) ont trouvé des variations quantitatives dans la production de resvératrol par des feuilles de même âge, provenant de la même variété et cultivées dans les mêmes conditions. De ces observations, Barlass et al., (1987) avaient conclu que l'estimation quantitative de la production de resvératrol par la vigne ne pouvait pas être considérée comme un test fiable de mesure de la résistance de la vigne et qu'une variabilité d'origine inconnue atteignait un tel niveau qu'elle masquait d'éventuelles différences entre cépages ou clones. Cependant, Sbaghi, (1990), Jeandet et al., (1992a, 1992b); Sbaghi et al., (1995 et 1995a) ont mis aux points différents modèles d'étude de l'aptitude à la synthèse de resvératrol et, notamment, par des feuilles de vignes (variétés de cuve) cultivées in vitro et ils ont confirmé la difficulté signalée ci-dessus. L'objectif du présent travail est d'essayer d'affiner la méthode de prélèvement des échantillons en prenant en compte la dorsiventralité de la tige feuillée de vigne. Il a aussi pour but de préciser le mécanisme de synthèse des phytoalexines de la vigne, chez des variétés de table, en se basant sur une référence à un système de morphogenèse très précis : la phyllotaxie de la tige feuillée de la vigne.

Matériel et Méthodes

Notion de dorsiventralité

La tige de vigne porte deux rangées de feuilles opposées définissant le plan phyllotaxique. Merjaniam, (1930) a montré que la tige feuillée de vigne n'avait pas de plan de symétrie.

D'un coté du plan phyllotaxique, la tige vue en coupe transversale paraît large, elle reste généralement verte et, de ce même côté, se trouvent tous les bourgeons latents principaux. Par définition, ce coté est appelé face ventrale ou coté ventral de la tige feuillée.

De l'autre coté du plan phyllotaxique, bien que le fonctionnement cambial soit intense, la tige est moins large, elle se colore souvent en rouge par des anthocyanes et tous les bourgeons anticipés se trouvent de ce coté du plan phyllotaxique.

La nervure médiane de la feuille divise longitudinalement celle-ci en deux moitiés appelées côté ventral et côté dorsal. Ces deux moitiés de feuilles sont assez nettement différents sur le plan morphologique (surface, forme, nervation) et, pour certains cépages ou à certaines époques de l'année, ces moitiés se distinguent par leur couleur (pigments anthocyaniques).

Au cours de ce travail, le critère de repérage du bourgeon anticipé a été utilisé afin de différencier le côté ventral et dorsal d'une même feuille. En effet, le côté dorsal est toujours orienté vers le bourgeon anticipé tandis que le côté ventral est situé vers le bourgeon latent (Figure. 2).

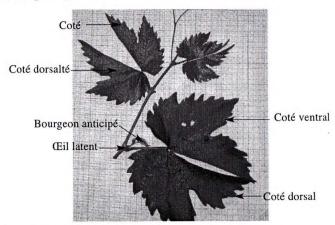


Figure 2. Aspect de la dorsiventralité de la tige feuillée de la vigne

Prélèvements et préparation du matériel végétal

Ce travail a été réalisé sur trois variétés de vigne de table avec des niveaux de sensibilité à *B. cinerea* bien connus : Cardinal, Muscat d'Italie, Sultanine musquée. En effet, les variétés Sultanine musquée et Muscat d'Italie sont considérées toutes deux comme sensibles à *B. cinerea* alors que le Cardinal apparaît comme l'un des cépages vinifera les plus résistants à la pourriture grise (Gallet, 1977).

Quatre lots de 20 boutures avec un bourgeon (par variété), ont été plantés dans des pots remplis de terre et placés en salle de culture. Trois mois après le débourrement, vingt feuilles par variété ont été prélevées. Seule, la feuille insérée sur le deuxième nœud partant de la base sur des rameaux portant cinq à sept feuilles a été excisée. Les feuilles de vigne ont été ensuite découpées en deux moitiés suivant la nervure principale puis traitées par les UV.

Induction de la synthèse du trans-resvératrol

L'irradiation par les UV des deux côtés des feuilles a été utilisée comme mode d'induction de la production du trans-resvératrol (Langcake et Pryce, 1976). Cette méthode conduit à une élicitation homogène et permet une très bonne reproductibilité par l'application de doses constantes (Pool et al., 1981; Barlass et al., 1987). Elle induit, en outre, la synthèse des mêmes quantités de resvératrol qu'une contamination par des conidies de B. cinerea (Luczka, 1982).

L'irradiation par les UV. a été effectuée à l'aide d'une lampe Wilmer-Lourmat de 4 W (254 nm; 400 m.w / cm² à 15 cm de distance des filtres) avec une énergie incidente de 0,36 J/cm² de surface foliaire. Quinze lobes ventraux et quinze lobes dorsaux par variété ont été irradiés séparément par leur face abaxiale (Langcake et Pryce, 1977b; Jeandet et al., 1992b; Sbaghi et al., 1995; Sbaghi, 2001) puis placés en survie sur de l'eau à l'obscurité pendant 24 heures. Cinq côtés ventraux et cinq côtés dorsaux de feuilles par variété ont été également maintenus à l'obscurité et ont servi de témoins.

Extraction et dosage du trans-resvératrol

Le resvératrol a été extrait selon un protocole adapté de celui de Langcake et Pryce (1976). Les côtés ventraux et dorsaux irradiés par les UV et les témoins sont séparément broyés dans le méthanol à 95%. L'homogénat a été clarifié par centrifugation, puis le solvant éliminé par évaporation. Une fois à sec, une partition de l'extrait a été réalisée dans le mélange acétate d'éthyle / bicarbonate à 3% (V/V). La phase organique a été lavée par de l'eau distillée et les extraits concentrés de feuilles sont repris par l'acétate d'éthyle pour les analyses en chromatographie liquide hautes performances (CPLH).

L'identification du trans-resvératrol a été réalisée par chromatographie sur colonne ODS (C18-100-10sp, 4.6 x 250 mm, Shimadzu). La détection des stilbènes a été conduite à 307 nm. L'élution a été réalisée dans le méthanol 95%.

L'analyse statistique des données obtenues a été réalisée par le test des cas de séries appariées pour chaque variété. Ainsi, une analyse de la variance afin de tester l'effet

«variété » pour chaque position a été effectuée. Par ailleurs, le test de la plus petite différence significative (LSD) pour le classement des moyennes en cas de présence de différences significatives dans la synthèse du resvératrol a été appliqué.

Standard de resvératrol

Le trans-3,5,4'-trihydroxystilbène (C14H12O3, Approx. 99%) a été acheté chez Sigma Chemical Co. P.O. Box 14508 St. Louis, Mo63178 USA 314-771-5750.

Résultats et Discussion

La présence de resvératrol dans les extraits de vigne a été démontrée par Chromatographie Liquide Hautes Performances (CLHP), par comparaison des temps de rétention entre le pic du resvératrol de synthèse et celui des extraits foliaires induits par les UV. Dans tous les cas (Figure 3 : 3A et 3C), il y a une correspondance parfaite des temps de rétention enregistrés (2,47min).

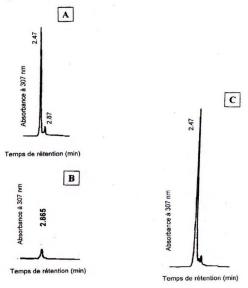


Figure 3. Analyse par Chromatographie liquide hautes performances d'extraits de feuille de vigne (variétés de table) et d'un standard de resvératrol.

A : Extrait de feuilles irradiées par les uv. (var. Cardinal)

B: Extrait de feuilles non irradiées par les uv. (témoin)

C : Standard de synthèse (forme trans)

Le temps de rétention de 2,47 minutes correspond au pic de trans-resvératrol.

L'identification du resvératrol dans les échantillons irradiés a été confirmée également, par co-élution de l'extrait avec le standard de resvératrol. Lorsque les échantillons irradiés ou leurs extraits correspondants sont maintenus à l'obscurité, la forme *cis*-resvératrol n'apparaît pas, confirmant ainsi que, la forme *trans*-resvératrol s'isomérise à la lumière et, que seul l'isomère *trans* du resvératrol est induit chez la vigne (Langcake et Pryce, 1976; Sbaghi, 1990). La forme *trans* n'est en revanche pas détectée dans les côtés témoins; côtés ventraux et dorsaux non irradiés (Figure 3 : 3B).

Les résultats (Tableaux 1, 2 et 3) montrent de grandes variations dans la production du resvératrol dans les deux côtés (dorsaux et ventraux) d'une même feuille pour chaque variété. En effet, pour chaque cépage, la valeur (t) calculée est toujours supérieure à la valeur théorique $t_{1-\alpha/2}$ pour le nombre de degrés de liberté (n-1) et le risque 1% et 1%0. Il y a donc, entre les deux moitiés d'une même feuille, une différence très hautement significative dans la production du resvératrol.

Tableau 1. Estimation de la production du resvératrol dans les moitiés de feuilles de vigne de table de *Vitis vinifera* (var. Muscat d'Italie).

Sujet	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	Total
a_{cd}	^c 75	58	63	35	43	41	15	17	60	20	49	27	39	56	25	
b _{cv}	^C 87	80	83	73	75	82	77	74	67	79	85	69	87	90	70	
acv -bcd=d	^c 12	22	20	38	32	41	62	57	7	59	36	42	48	34	45	555
$(^{a}cv - d)^{2} = d^{2}$																

Pour 14 d.d.1., au risque 1 %, t = 2,977 et au risque 1%, t = 4,140.

La valeur de (t) calculée (8,7) est > à (t) théorique au risque 1 % et au risque 1%.

La différence de moyenne est significative au niveau de 1% et à 1%.

Intervalle de confiance : 37 ±9.136

Les limites de confiance sont donc, pour un degré de confiance de 95% : 27.864 et 46.136.

Ceci signifie que le côté ventral donne des résultats systématiquement élevés, l'erreur moyenne étant comprise vraisemblablement entre 27.864 et $46.136 \,\mu\text{g}$ / g de matière fraîche.

 a_{cd} = Côté dorsal, b_{cv} = Côté ventral, ^CResvératrol en μ g / g de matière fraîche (MF).

Tableau 2. Estimation de la production du resvératrol dans les moitiés de feuilles de vigne de table de *Vitis vinifera* (var.Sultanine musquée).

Sujet	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	Total
a _{cd}	c69	80	55	100	111	73	102	80	45	90	77	45	86	66	103	
b _{cv}	c109	117	99	120	130	126	115	107	118	129	102	140	114	100	123	
acv - bcd=d	^c 40	37	44	20	19	53	13	27	73	39	25	95	28	34	20	567
$(^{a}cv - d)^{2} = d^{2}$	^c 1600	1369	1936	400	361	2809	169	729	5329	1521	625	9025	784	1156	400	28213

Pour 14 d.d.1., au risque 1 %, t = 2.977 et au risque 1%, t = 4.140.

La valeur de (t) calculée (6,6) est > à (t) théorique au risque 1 % et au risque 1 %.

La différence de moyenne est significative au niveau de 1% et à 1‰.

Intervalle de confiance : 37.8 ±12.188

Les limites de confiance sont donc, pour un degré de confiance de 95% : 25.612 et 49.988.

Ceci signifie que le côté ventral donne des résultats systématiquement élevés, l'erreur moyenne étant comprise vraisemblablement entre 25.612 et 49.988 μ g / g de matière fraîche.

 a_{cd} = Côté dorsal, b_{cv} = Côté ventral, ^cResvératrol en $\mu g / g$ de matière fraîche (MF).

Tableau 3. Estimation de la production du resvératrol dans les moitiés de feuilles de vigne de table de *Vitis vinifera* (var.Cardinal).

Sujet	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	Total
a _{cd}	^c 175	129	136	225	95	190	137	235	107	198	89	111	170	207	89	
bcv	c 243	259	220	280	240	260	233	247	250	223	232	253	245	262	273	
acy - bcd=d	^c 68	40	84	55	145	70	96	12	143	25	143	142	75	55	128	1281
$(a_{cv} - d)^2 = d^2$	^c 4624	1600	7054	3025	21025	4900	9216	144	20449	625	20449	20164	5625	3025	16384	158758

Pour 14 d.d.l., au risque 1 %, t = 2,977 et au risque 1‰, t = 4,140.

La valeur de (t) calculée (5,6) est > à (t) théorique au risque 1 % et au risque 1 %.

La différence de moyenne est significative au niveau de 1% et à 1‰.

Intervalle de confiance: 85.4 ±32.88

Les limites de confiance sont donc, pour un degré de confiance de 95%: 52.5 et 118.28. Ceci signifie que le côté ventral donne des résultats systématiquement élevé, l'erreur moyenne étant comprise vraisemblablement entre 52.52 et $118.28 \, \mu g / g$ de matière fraîche.

 a_{cd} = Côté dorsal, b_{cv} = Côté ventral, c Resvératrol en μg / g de matière fraîche (MF).

Le côté ventral d'une même feuille synthétise plus de resvératrol que le côté dorsal (Figure 4). Ainsi, cette différence dans la production de resvératrol d'un côté à l'autre de la feuille peut être interprétée en se basant sur des observations agronomiques, réalisées au vignoble sur la synthèse des anthocyanes, qui apparaissent en premier lieu sur le coté dorsal de la tige. Ceci suggère des différences remarquables au niveau du métabolisme secondaire entre les cotés dorsaux et ventraux du rameau de vigne.

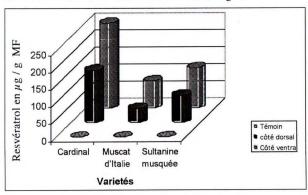


Figure 4. La synthèse moyenne de resvératrol en μ g / g de matière fraîche.

Enfin, les résultats exposés dans ce travail sur la production du resvératrol par les deux côtés de la même feuille montrent, en outre, que les données quantitatives obtenues, en particulier au niveau du côté ventral, expriment des différences très significatives entre des variétés de niveaux de résistances inégales à *B. cinerea* connues sur le terrain (Tableau 4).

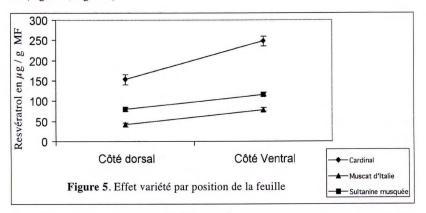
Tableau 4. Production de resvératrol	$(\mu g/g$ de matière fraîche).
--------------------------------------	---------------------------------

Position acd	Position bcv
152.87 a	248 a
78.8 b	116.6 b
41.53 c	78.53 c
36.44	8.63
***	***
24.453	9.3925
	152.87 a 78.8 b 41.53 c 36.44 ***

D.S. = niveau de signification

L'analyse de dispositif en mesures répétées (pour les deux positions) a montré un effet très hautement significatif de la position, de la variété et de l'interaction position* variétés.

D'après ces résultats on peut conclure que le coté ventral (b_{cv}) produit plus de résveratrol que le coté dorsal (a_{cd}) et que la capacité à la production du resvératrol est très élevée pour la variété Cardinal par rapport aux variétés Sultanine musquée et Muscat d'Italie (Figure 4, Figure 5).



Il apparaît encore une fois que le resvératrol peut servir en association avec un système de morphogenèse très précis de moyen de criblage précoce et rapide des variétés sensibles ou résistantes dans une stratégie de sélection et d'amélioration de vignes tolérantes à la pourriture grise et au mildiou.

Conclusion

Nous avons montré dans ce travail que l'association de l'évaluation des biodéfenses naturelles de la vigne, basée sur le dosage du resvératrol et d'un système morphogénétique précis (phyllotaxie de la tige feuillée de la vigne), il est possible de réduire la variabilité apparaissant lors de la quantification de la synthèse de cette molécule pour les mêmes feuilles d'un cépage donné. En effet, les résultats obtenus dans cette étude suggèrent que, pour une estimation moyenne de la capacité à la synthèse du resvératrol par une variété donnée, l'analyse devrait porter uniquement sur le côté ventral d'une feuille, qui exprime de la façon la plus intense, l'aptitude à la production de molécules de défense naturelle de la vigne au lieu de prendre la feuille toute entière. Ces données pourraient également s'appliquer à la variabilité de mesure observée au sein d'un même clone. L'aptitude à la synthèse du resvératrol par la vigne pourrait donc être retenue comme un bon moyen de criblage rapide entre des niveaux de sensibilité ou de résistance dans un schéma de sélection.

Références bibliographiques

Adrian M. et Jeandet P. Resveratrol as an antifungal agent. In: Resveratrol in Health and Disease, B.B. Aggarwal et S. Shishodia (eds.), CRC Press, Taylor and Francis, Boca Raton, New York, 2006, pp 475-497.

Bailey J.A. et Mansfield J.W. (1982). Phytoalexins. (Blackie Publishers, Glasgow and London) 334 pp.

Barlass M., Miller R.M. et Douglas T.J. (1987). Development of methods for screening grapevines for resistance to downy mildew. II.Resveratrol production. American Journal of Enology and Viticulture 37: 61-66.

Bessis R., Vannel D. et Barbier M. (1992). *in vitro* bioassays to evaluate the relationship between grapevines an *Botrytis cinerea*. In:Recent Advances in Botrytis Research. (Verhoeff, K., Malathrakis, N.E. et Williamson, B. eds.), pp. 104-108. (Wageningen: Pudoc Scientific Publishers).

Bugnon F. (1953). Recherche sur la ramification des Ampélidacées. (Presses Univ. de France).

Dercks W. et Creasy L.L. (1989). The signification of stilbene phytoalexins in the *Plasmopara viticola*-grapevine interaction. Physiological and Molecular Plant Pathology 34: 189-202.

Deverall B.J. (1982). Introduction. In: 'Phytoalexins. (Bailey, J.A. et Mansfield, J.W. eds), pp.1-20. (Blackie:Glasgow et London).

Gallet P. (1977). Les maladies et les parasites de la vigne. Tome 1 : 871pp.

Jeandet P. (1991). Interaction plante-pathogène : recherches sur la production de resvératrol (3,5,4'-trihydroxystilbène), une phytoalexine de la vigne. Thèse de Doctorat, Université de Bourgogne, France. 135 pp.

Jeandet P., Douillet A.C., Debord S., Sbaghi M., Bessis R. et 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, 2731-2741.

Jeandet P., Sbaghi M. et Bessis R. (1992a). The production of resveratrol (3,5,4'-trihydroxystilbene) by grapevine *in vitro* cultures, and its application to screening for grey mould resistance. Journal of Wine Research: 47-57.

Jeandet P., Sbaghi M et Bessis R. (1992b). The use of phytoalexin induction and of *in vitro* methods as a tool for screening grapevines for resistance to *Botrytis cinerea*. In: Recent Advances in Botrytis Research. (Verhoef, K., Malathrakis, N.E et Williamson, B.eds.), pp. 109-112. (Wageningen: Pudoc Scientific Publishers).

Langcake P. (1981). Disease resistance of Vitis spp and the production of the stress me-

tabolites resveratrol, e-viniferin, a-viniferin and pterostilbene. Physiological Plant Pathology 18:213-226.

Langcake P. et Pryce R.J. (1976). The production of resveratrol by *Vitis vinifera* and other members of the Vitaceae as a response to infection or injury. Physiology Plant Pathology 9:77-86.

Langcake P. et Pryce R.J. (1977b). The production of resveratrol and the viniferins by grapevines in response to ultraviolet irradiations. Phytochemistry 16:1193-1196.

Leroux P. (1985). Les phénomènes de résistance des champignons phytopathogènes aux fongicides. Premières journées d'études sur les maladies des plantes. p. 19-45. Versailles, 27 février 1985. (Paris, France).

Luczka C.J. (1982). Stilbene phytoalexins and succeptibility to *Botrytis cinerea* in *Vitis*. Diss. Fac. Grad. Sch. Cornell University.

Mansfield J.W. (1982). The role of phytoalexins in disease resistance. In: "Phytoalexins". (Bailey, J.A. et Mansfield, J.W. eds), pp. 319-323. (Blackie: Glasgow et London).

Merjaniam A.S. (1930). ber die Dorsiventralität der Weinrebe. Thèse de Doctorat Science, Université de Karasnodar.

Paxton J.D. (1980). A new working definition of the term ''phytoalexin''. Plant Disease 67: 734.

Pool, R.M., J.L. Creasy et Frackelton, A.S. (1981). Resveratrol and the viniferins, their application to screening for disease resistance in grape breeding programs Vitis 20:136-145.

Ricci P. (1989). L'induction des réactions de défense chez les plantes. C. R. Acad. Agric. France 75: 65-72.

Rouxel T. (1989). Les phytoalexines et leur intervention dans la résistance hypersensible aux champignons phytopathogènes. Agronomie 9:529-545.

Sbaghi M. (1990). Acquisitions récentes sur la production du resvératrol, une phytoalexine de la vigne. Diplôme d'Etudes Approfondies, Université de Bourgogne et de Bordeaux II, France. 30 p.

Sbaghi M. (1994). Aspects physiologiques et biochimiques de l'interaction vigne-Botrytis cinerea : Synthèse et dégradation du resvératrol. Thèse de Doctorat, Université de Bourgogne, France. 156 p.

Sbaghi M., Jeandet P. et Bessis R. (1995). La relation entre l'aptitude à la synthèse du resvératrol et l'évolution de la teneur totale en anthocyanes de la pellicule des raisins. Rabat, Maroc, 6-7/12/ 1995. 2nd.Congrès de l'Association Marocaine de Protection des Plantes.4 pp.

Sbaghi M., Jeandet P., Faivre B., Bessis R. et Fournioux J.C. (1995a). Development of methods using phytoalexin (resveratrol) assessment as a selection criterion to screen

grapevine *in vitro* ciltures for resistance to grey mould (*Botrytis cinerea*), Euphytica, Int. J. Plant Breed., 86, 41-47.

Vannel D. (1991). Etude *in vitro* de la relation vigne-*Botrytis cinerea* : mise au point de biotests. Thèse de Doctorat, Uviversité de Bourgogne, France. 107 pp.

Vannel, D., Barbier, M. et Bessis, R. (1991a). Etude de la toxicité du filtrat de culture de *Botrytis cinerea* sur des vitroplants de vigne: I. Effet du filtrat brut. Vitis 30 : 167-175.

Vannel, D., Barbier, M. et Bessis, R. (1991b). Etude de la toxicité du filtrat de culture de *Botrytis cinerea* sur des vitroplants de vigne : II. Effet des différentes fractions isolées à partir du filtrat brut. Vitis 30 : 213-218.