

Indices sanitaires et marqueurs chimiques pour évaluer l'état sanitaire du raisin

2. Marqueurs chimiques de la pourriture grise

Ágnes DIENES-NAGY, Sandrine BELCHER, Katia GINDRO et Pierre-Henri DUBUIS,

Station de recherche Agroscope Changins-Wädenswil ACW, 1260 Nyon

Renseignements: Ágnes Dienes-Nagy, e-mail: agnes.dienes-nagy@acw.admin.ch, tél. +41 22 363 43 34.



Vendange atteinte de pourriture grise (*Botrytis cinerea*).

Introduction

La pourriture grise est une maladie fongique causée par *Botrytis cinerea*. Ce champignon a une capacité d'adaptation importante qui lui permet de survivre sur divers substrats et plantes hôtes dans des conditions climatiques peu favorables et de développer d'importantes résistances contre les produits phytosanitaires. La première phase d'infection a lieu durant la floraison; le champignon reste ensuite latent dans les baies jusqu'à la véraison (Keller *et al.* 2003; Viret *et al.* 2004). Le développement de la maladie est lié aux conditions

climatiques durant la maturation et, même en l'absence de symptômes visibles marqués, la qualité de la récolte peut être altérée. Dans le cas de la pourriture noble, ces changements peuvent avoir des effets positifs, mais la plupart du temps ils entraînent une altération des arômes et des difficultés techniques pendant la vinification (fermentation, filtration).

La littérature fait part d'un grand nombre de composés liés à la présence de *B. cinerea* (Dietrich 1976; Pezet *et al.* 1991; Cilindre *et al.* 2007; Wang *et al.* 2008), mais peu sont spécifiques à ce champignon. Parmi eux se trouve la famille des botrydials, isolés d'une culture

Résumé

de *B. cinerea*, mais à une si faible concentration que leur utilisation en tant que marqueur n'est pas envisageable (Collado 1995). Pour le praticien, il est plus important de trouver des marqueurs directement liés à la qualité et facilement détectables.

L'évaluation de l'état sanitaire du raisin pendant la maturation par un indice reflétant la composition du moût a un intérêt pour les viticulteurs et les œnologues. Les techniques non destructives comme la spectrométrie infrarouge (Winescan®) permettent des analyses globales, rapides et peu coûteuses. Les études menées par Agroscope Changins-Wädenswil ACW ont montré que les modèles actuellement proposés pour les indices sanitaires ne sont pas tout à fait adaptés aux cépages et aux conditions suisses (Belcher et Dienes-Nagy 2011). L'objectif de ce travail est d'identifier les métabolites mis en jeu lors d'une infection et de mettre en évidence des marqueurs de *B. cinerea* pour les principaux cépages cultivés en Suisse.

Matériel et méthodes

L'étude *in vitro* (2009-2010) a été mise en place sur des grappes matures de douze cépages de *Vitis vinifera* représentatifs blancs et rouges venant du domaine de Changins (Solaris, Doral, Pinot gris, Pinot blanc, Chasselas, Aligoté, Mara, Pinot noir, Gamaret, Garanoir, Gamay et Galotta). Environ 50 % des baies de chaque grappe ont été contaminées avec une suspension aqueuse de conidies de *B. cinerea* au moyen d'une seringue Hamilton, à raison de 10 µl/baie (conc. $1,6 \times 10^6$ spores/ml). Les grappes ont ensuite été déposées sur une grille dans des bacs plastiques contenant de l'eau, mais sans contact avec elle, et incubées durant deux à trois semaines (humidité relative >90 %) à 21 °C sous lumière alternée (12 h de lumière/12 h d'obscurité). En parallèle, des grappes saines ont été mises dans les mêmes conditions en tant que témoins.

L'étude au champ (2009-2010) a été conduite à Changins sur une parcelle de Gamay, Gamaret et Pinot noir. Les grappes ont été infectées à la floraison en vaporisant sur les fleurs (stade BBCH 65) une suspension aqueuse de conidies de *B. cinerea* (10^6 spores/ml). Les échantillons (trois grappes contaminées et trois témoins) ont été collectés une fois par semaine de la véraison aux vendanges.

Les analyses PCR ont été effectuées selon la méthode établie par Gindro et al. (2005) sur les baies au stade petit pois (BBCH 75). Pour chacune des 20 baies choisies au hasard par variante, un morceau de la base de la baie et du pédoncule a été détaché à l'aide d'un scalpel, broyé puis utilisé séparément pour une amplification par PCR directe.

La Station de recherche Agroscope Changins-Wädenswil ACW a mis en place des essais pour identifier plus précisément les composés chimiques en jeu lors d'une infection par *Botrytis cinerea*. Ces composés ont été corrélés aux indices génériques donnés par des spectromètres indirects de type Winescan®. Des études *in vitro* sur douze cépages représentatifs du vignoble suisse ont permis de déterminer les principaux changements chimiques dans la composition du raisin. Les acides galacturonique et mucique ont notamment été identifiés comme nouveaux marqueurs de *Botrytis*. Des études à la vigne pendant la maturation sur une sélection de cépages sensibles et résistants ont confirmé la pertinence de ces marqueurs ainsi que leur participation à la mesure globale des indices sanitaires. Ces paramètres vont permettre à terme d'optimiser pour la pratique les modèles génériques reflétant l'état sanitaire du raisin.

Mesure de la qualité

Pour chaque échantillon (au champ et *in vitro*), une partie des baies a été lyophilisée. Le reste a été pressé et le moût a été utilisé directement ou stocké à 20 °C en vue d'effectuer des analyses complémentaires (tabl.1). Les paramètres mesurés indirectement par spectrométrie infrarouge (WineScan®) sont basés sur des calibrages développés et validés par ACW sur la matrice moût, sauf les indices sanitaires qui font appel à des réseaux de neurones et sont fournis directement par le logiciel de l'appareil. Les analyses statistiques (ACP et AFD) ont été effectuées par le logiciel XLStat (Version 2010.2.03).

Résultats et discussion

Essais *in vitro*

Les grappes inoculées *in vitro* ont toutes montré des symptômes de pourriture grise après une semaine dans une atmosphère humide et chaude (21 °C). Le champignon a commencé à se développer autour du point d'injection. Dans les cépages Solaris, Pinot blanc, Pinot gris et Pinot noir, l'infection s'est rapidement propagée à l'intérieur de la baie et une coloration brunâtre est

apparue. Dans d'autres cépages, comme Gamaret, Galotta, Garanoir ou Mara, l'infection est restée plus longtemps localisée. Le champignon s'est développé, formant des spores, mais sans coloniser l'intégralité de la baie ni les baies voisines durant la première semaine suivant l'infection. Cela confirme que ces cépages ont un système de défense naturel qui est activé au moment de l'infection et qui peut retarder le développement de la pourriture grise. Ce système de défense s'épuise cependant avec le temps et, si les conditions sont très favorables au champignon, l'infection gagne toutes les baies (Pezet *et al.* 2003). L'expérience a été menée jusqu'à ce que 80 à 100 % des grappes soient atteintes – ce qui a nécessité deux à trois semaines – afin de permettre l'accumulation des métabolites dans une concentration facilement mesurable.

L'évaluation visuelle des échantillons *in vitro* a montré que, à l'exception de cinq cépages (Mara, Gamaret, Gamay, Galotta et Chasselas), les grappes-témoins ont

aussi été atteintes de pourriture grise ou/et acide, mais en général moins sévèrement. Il faut en conclure que *Botrytis* était déjà latent au champ et que la seule inspection visuelle n'est pas suffisante pour servir de marqueur et discriminer les grappes atteintes.

Marqueurs de l'infection

Un groupe de métabolites se distingue par des concentrations systématiquement assez élevées dans tous les cépages infectés *in vitro*, alors que leur concentration est nulle ou faible dans les témoins non infectés. Ce sont donc des candidats de choix à exploiter en priorité dans l'optique d'un calibrage des indices sanitaires au Winescan®. Certains ont d'ailleurs déjà été mis en évidence dans les tests préliminaires (Belcher et Dienes-Nagy 2011).

Glycérol et acide gluconique: dans les grappes contaminées et fortement moisies, la concentration de glycérol se situe entre 0,7 et 8 g/l et celle d'acide gluconique entre 0,1 et 8 g/l, alors qu'elle ne dépasse pas

Tableau 1 | Méthodes analytiques utilisées pour l'étude

Paramètres	Méthodes analytiques	Références
Acide gluconique	Méthode enzymatique	MSDA ¹
Glycérol	Méthode enzymatique	MSDA
Ammoniaque	Méthode enzymatique	Boehringer 1997 ²
Glucose/fructose	Spectrométrie infrarouge	Winescan®
Acides organiques, anions	Chromatographie ionique	DIONEX Application Note 143 ³
Acidité volatile	Distillation et titrimétrie	MSDA
Acidité totale	Spectrométrie infrarouge	Winescan®
Acide tartrique/acide malique	Spectrométrie infrarouge	Winescan®
Indices sanitaires	Spectrométrie infrarouge	Winescan®

¹Manuel suisse des denrées alimentaires.

²Méthodes d'analyse enzymatique en chimie alimentaire, Boehringer Mannheim GmbH, 1997.

³DIONEX Corporation, www.dionex.com.

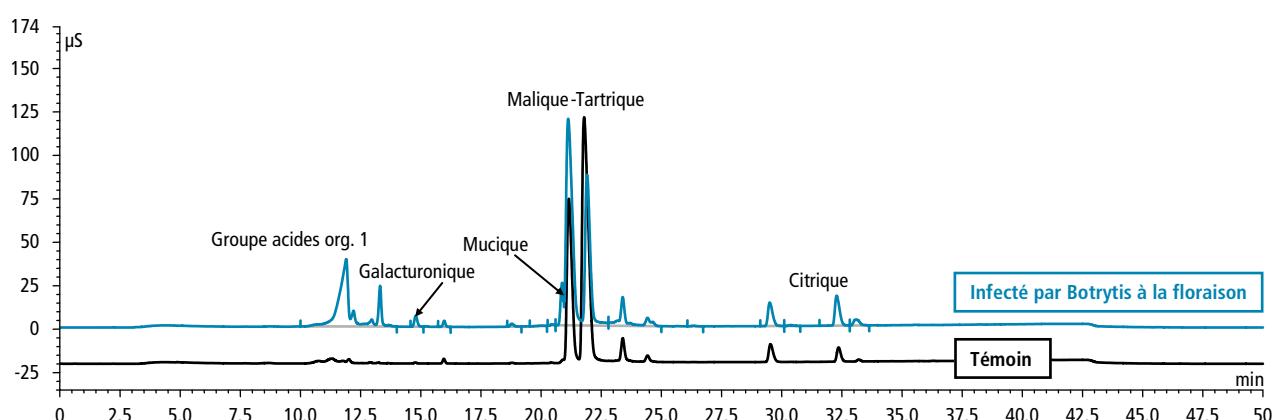


Figure 1 | Chromatogramme des acides organiques d'un échantillon infecté (en bleu) et du témoin correspondant (en noir). Les analyses ont été effectuées sur une colonne IonPac AS11-HC (2 x 250 mm; Dionex) avec un gradient de NaOH de 0,5 mM à 60 mM, débit de solvant 0,38 ml/min. Détection par conductimètre équipé d'un suppresseur automatique.

0,02 g/l dans les baies saines. Ces substances sont utilisées depuis longtemps déjà comme marqueurs de la pourriture grise. Elles sont produites à partir du glucose par *Botrytis*, mais ne sont pas des métabolites spécifiques de ce champignon. Le glycérol est aussi formé pendant la fermentation des sucres par les levures. L'acide gluconique est produit aussi par les bactéries, comme *Gluconobacter oxydans* (Gupta et al. 2001). Celle-ci produit également de l'acide acétique et de l'acéate d'éthyle. Elle a été répertoriée par Renouf et al. (2005) à la surface des baies matures et est probablement liée à la pourriture acide.

Acides organiques spécifiques: l'analyse des acides organiques dans les échantillons par chromatographie (fig.1) révèle deux autres substances qui semblent cette fois spécifiques à l'infection par *Botrytis*, car elles atteignent des concentrations allant jusqu'à 700 mg/l uniquement dans les échantillons montrant des signes visibles d'attaque. Elles ont été identifiées par spectro-métrie de masse comme étant de l'acide galacturonique et de l'acide mucique. L'acide galacturonique est produit par les enzymes de *Botrytis* qui sont capables de dégrader les pectines de la baie. L'acide galacturonique peut ensuite être oxydé en acide mucique (Richard et Hilditch 2009).

Autres acides organiques: l'acide citrique, l'acide acétique et l'acide formique se trouvent aussi dans les baies infectées de certains cépages. L'acide citrique est naturellement présent dans les baies, car il est également un produit du cycle de Krebs. Sa concentration peut atteindre 60 à 500 mg/l.

L'acide acétique et l'acide formique, identifiés par chromatographie dans le «Groupe acide org.1» (fig.1), sont des acides volatils, qui n'apparaissent que dans les échantillons très fortement pourris et sont liés à la pourriture acide.

Substances consommées par *Botrytis*: l'altération de la qualité du moût issu de baies infectées par *Botrytis* n'est pas due aux seuls nouveaux métabolites produits par le champignon, mais résulte aussi d'une diminution de concentration des composés présents avant l'infection. Les essais *in vitro* ont mis en évidence deux changements significatifs indépendants du cépage: la concentration de l'ammoniaque, et par conséquence de l'azote fermentaire, diminue dans toutes les grappes infectées. La perte est d'environ 10–80 mg/l NH₃, soit 40–60 % selon les cépages. Cela peut expliquer une partie des difficultés qui peuvent survenir pendant la fermentation des moûts issus d'une récolte atteinte de pourriture grise. La concentration en acide tartrique diminue aussi dans la plupart des cépages après contamination avec *Botrytis* d'environ 10 % par rapport aux

témoins non infectés. Cette diminution est néanmoins cinq fois plus faible que celle observée par Nigam (1999) dans les grappes surmaturées de Sauvignon et de Sémillon. La diminution de l'acidité est liée à la surmaturation et pas uniquement à la présence du champignon. D'ailleurs, l'acidité totale et le pH n'ont que très peu ou pas changé pendant l'expérience, sur les témoins comme dans les grappes infectées.

Analyse statistique

Les résultats des différentes études ont été modélisés statistiquement afin de mesurer et de cartographier les différences et les corrélations entre degré de pourriture, indices sanitaires et métabolites mesurés.

Une analyse de fonction discriminante (AFD) a permis de comparer l'impact de la pourriture grise sur différents composants des baies. Trois groupes se distinguent dans l'expérience *in vitro* indépendamment du cépage: les échantillons témoins (non contaminés artificiellement) en début d'expérience, les échantillons témoins en fin d'expérience et les échantillons contaminés en fin d'expérience. L'AFD permet de discriminer ces groupes selon le critère de contamination avec les facteurs F (tabl.2) élevés pour l'acide mucique, le glycérol et l'acide galacturonique. L'acide citrique, l'acide gluconique, l'acidité volatile et l'azote fermentaire ont aussi un effet significatif mais moins marqué. Ces résultats confirment la conclusion des essais préliminaires de Belcher et Dienes-Nagy (2011), selon laquelle la concentration de l'acide gluconique n'est pas un marqueur suffisamment spécifique.



Tableau 2 | Résultats de l'analyse de fonction discriminante (F) dans l'étude *in vitro*

Variable	Consommé par <i>Botrytis</i>	Produit par <i>Botrytis</i>	F
Glycérol		x	21,066
Acide gluconique		x	4,199
Acide galacturonique		x	20,097
Acide mucique		x	38,154
Acide citrique		x	5,272
pH			1,228
Acidité totale			1,229
Acidité volatile			4,348
Acide tartrique/malique	x		2,862
Glucose	x		2,941
Fructose	x		1,335
Glucose/fructose	x		1,340
NH ₃	x		2,387
Azote assimilable			4,139

Corrélation entre marqueurs et indices sanitaires

L'indice de pourriture grise calculé par le Winescan®, utilisant un modèle basé sur les métabolites, est fortement corrélé avec les marqueurs principaux (glycérol $r^2 = 0,90$, acide galacturonique $r^2 = 0,86$ et acide mucique $r^2 = 0,80$) et faiblement avec l'acide citrique et l'acide gluconique.

L'indice de pourriture acide est, comme attendu, fortement corrélé avec l'acidité volatile, mais aussi légèrement avec le rapport glucose/fructose et l'acide gluconique.

Les deux indices (pourriture grise et acide) évoluent parallèlement, en accord avec l'observation: lors des essais, la pourriture acide apparaît souvent sur les raisins fortement atteints et fragilisés par la pourriture grise.

Une étude supplémentaire a été réalisée pour mieux comprendre l'implication des différents métabolites dans les deux indices. Les moûts de grappes saines et 100% atteintes par la pourriture acide ont été mélangés dans différentes proportions (100, 75, 50 et 25 %). Ces échantillons ont ensuite été analysés

avec le Winescan® et avec les méthodes classiques. La même expérience a été réalisée avec des baies atteintes de pourriture grise uniquement. L'analyse en composants principaux des résultats (ACP, fig. 2) révèle une discrimination évidente entre les deux types de pourriture. Les métabolites spécifiques à *Botrytis* et à la pourriture acide apparaissent selon deux axes perpendiculaires. Selon les algorithmes et les sous-groupes d'échantillons introduits, l'acide gluconique participe tantôt à l'un tantôt à l'autre indice (position variable entre milieu des deux axes de pourriture), ce qui a déjà été constaté lors de l'analyse simple des marqueurs.

Pour les processus fermentaires également, il est intéressant de constater que l'ACP répartit correctement les diverses voies métaboliques telles qu'elles peuvent se produire. Par exemple, l'éthanol et le butanediol sont inversement liés (voies fermentaires alternatives).

La latence de *Botrytis* dans le Gamaret est également bien mise en évidence dans cette cartographie ACP. L'échantillon visuellement sain (mais infecté) apparaît avec un taux de pourriture d'environ 30 %.

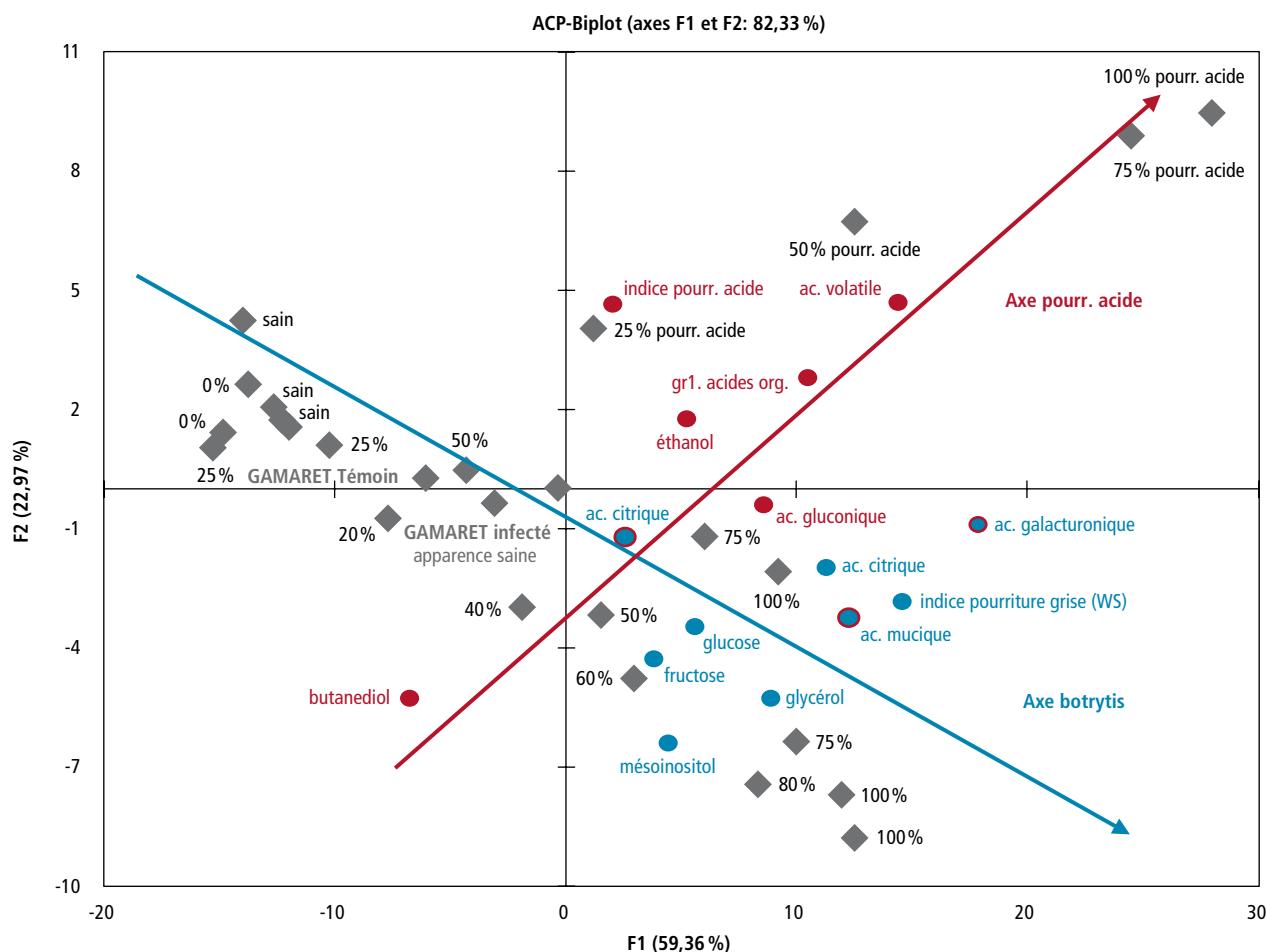


Figure 2 | Analyse en composantes principales (ACP) des résultats de tous les essais confondus pour les millésimes 2007-2010.

Expériences au champ et résistance

La pression de la pourriture grise a été très faible à Changins en 2009 et 2010, car les conditions météorologiques n'ont pas été favorables au développement du champignon.

L'analyse PCR des baies au stade petit pois (BBCH 75) a confirmé la présence de *Botrytis* sur les grappes infectées artificiellement en pleine fleur (tabl.3) dans 10 à 25 % des baies. Ces résultats montrent le succès de l'infection artificielle et sont en accord avec ceux obtenus précédemment par Gindro (comm. pers.). Malgré cela, le Gamay et le Gamaret infectés sont restés sans pourriture apparente jusqu'aux vendanges. Les symptômes de pourriture grise ne se sont manifestés que sur les grappes infectées de Pinot noir, à partir du prélèvement du 24 août pour les essais 2009 et du 22 septembre pour les essais 2010. Les relevés d'Agrometeo montrent effectivement que les conditions météorologiques ont changé le 24 août 2009: le taux d'humidité moyen a augmenté et il y a eu quelques jours de pluie. Cela a suffi pour que les infections latentes se développent dans les baies et que la pourriture grise se ma-

nifeste. Dans les deux autres cépages, plus résistants, le système de défense semble encore assez fort pour maintenir les conidies en latence. Par contre, les indices Winescan® de pourriture grise et de pourriture acide ont légèrement augmenté, mais dans une plus faible mesure que lors des tests préliminaires sur le Gamaret. Un effet du millésime sur les calibrages Winescan® n'est pas à exclure. ➤

Tableau 3 | Résultats de l'analyse PCR des baies au stade petit pois (BBCH 75). Les inoculations artificielles avec *B. cinerea* ont eu lieu à la floraison (BBCH 65). Pour chaque variante, 20 baies ont été amplifiées par PCR séparément

Cépage	Inoculation	Nombre de baies infectées/analysées	Pourcentage infectées
Gamay	Non	0 / 20	0
Gamay	Oui	2 / 20	10
Gamaret	Non	0 / 20	0
Gamaret	Oui	4 / 20	20
Pinot noir	Non	0 / 20	0
Pinot noir	Oui	5 / 20	25

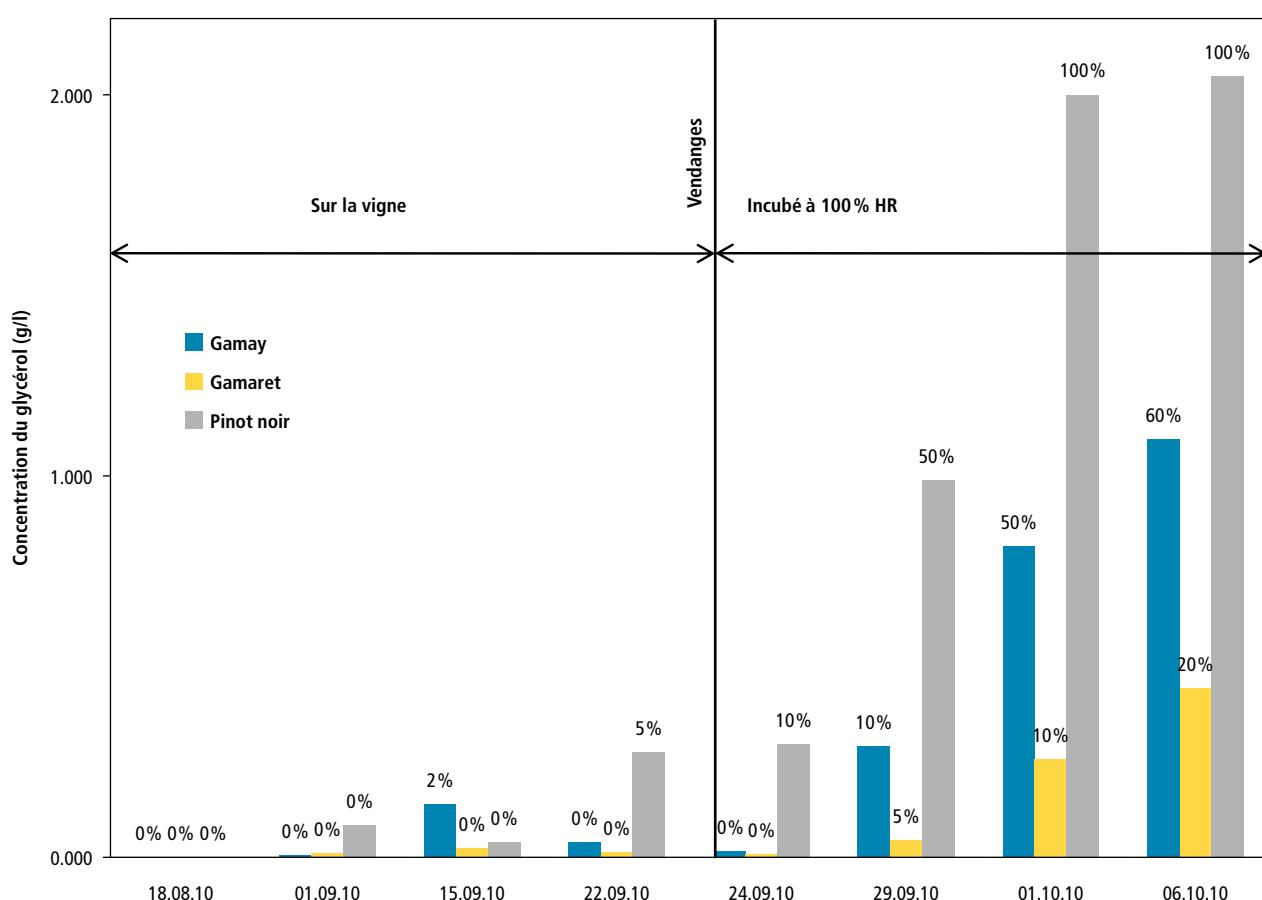


Figure 3 | Evolution à la vigne de la concentration de glycérol durant la maturation dans les grappes infectées à la floraison (essais au champ 2010). Les pourcentages de baies atteintes de pourriture grise (évaluation visuelle) sont indiqués au-dessus des colonnes.

En 2010, l'état sanitaire du raisin a été très bon sur tout le domaine de Changins. Pour simuler des conditions météorologiques favorables au développement de *Botrytis* en 2010, l'expérience a été poursuivie après les vendanges avec les grappes infectées et saines dans les bacs fermés (voir le chapitre *Essais in vitro*). Dans ces conditions extrêmes, l'infection s'est propagée rapidement, même dans les échantillons de Gamay et Gamaret. La concentration des marqueurs en fonction du temps montre l'évolution de la pourriture: la figure 3 donne l'exemple du suivi du glycérol.

Sur les baies infectées par pulvérisation de conidies de *Botrytis*, on voit que le champignon commence à se développer d'abord sur les rafles et les pédicelles, en accord avec Viret et al. (2004) qui indiquaient que l'infection à la floraison reste latente dans la baie, dans le pédicelle et dans quelques cellules situées sous les baies.

La figure 4 illustre clairement les différences entre cépages plus ou moins résistants en comparant les principaux analytes qui peuvent varier en présence (infecté) ou absence (témoin) de *Botrytis*.

Le suivi de l'évolution des métabolites dans le Pinot noir ne montre pas de différence significative entre les échantillons infectés et les témoins jusqu'au 24 août 2009

(fig. 5), *Botrytis* restant sous forme latente jusqu'à ce moment. Au niveau visuel, c'est à ce moment qu'apparaissent les premières baies flétries sur les grappes infectées.

Dans les deux semaines suivantes, l'infection s'est développée très rapidement sur les grappes infectées (>50 % de pourriture), parallèlement à une importante augmentation de la concentration des quatre marqueurs principaux (glycérol, acide gluconique, acide galacturonique et acide mucique). Ces concentrations restent beaucoup plus faibles dans les grappes non infectées. L'indice de pourriture grise fourni par le Winescan® reflète à ce stade l'évolution des quatre marqueurs choisis.

Conclusions

- L'acide galacturonique et l'acide mucique ont été identifiés comme de nouveaux marqueurs spécifiques de la charge en *Botrytis cinerea*. Ils se trouvent en concentration importante dans tous les cépages étudiés atteints de pourriture grise.
- L'indice de pourriture grise donné par le spectromètre Winescan® est fortement corrélé avec ces deux nouveaux métabolites. La suite de l'étude va permettre de mettre au point un calibrage générique plus adapté pour cet indice.
- La méthode des marqueurs sanitaires peut servir aussi à évaluer la présence de *Botrytis* latent dans les baies durant la maturation.

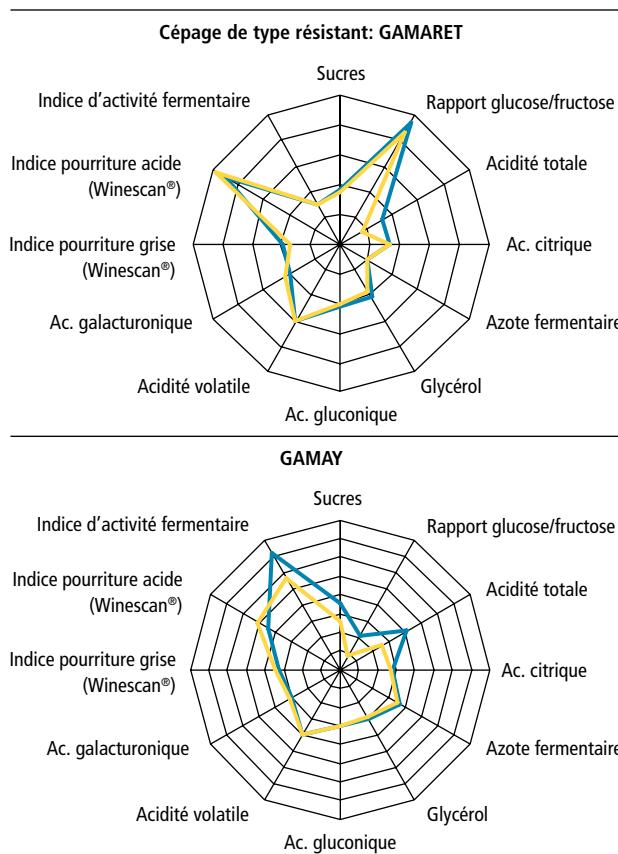


Figure 4 | Effet de l'infection par *Botrytis cinerea* sur la composition chimique des baies mûres de différents cépages au champ.

■ témoin ■ infecté à la vigne (floraison)

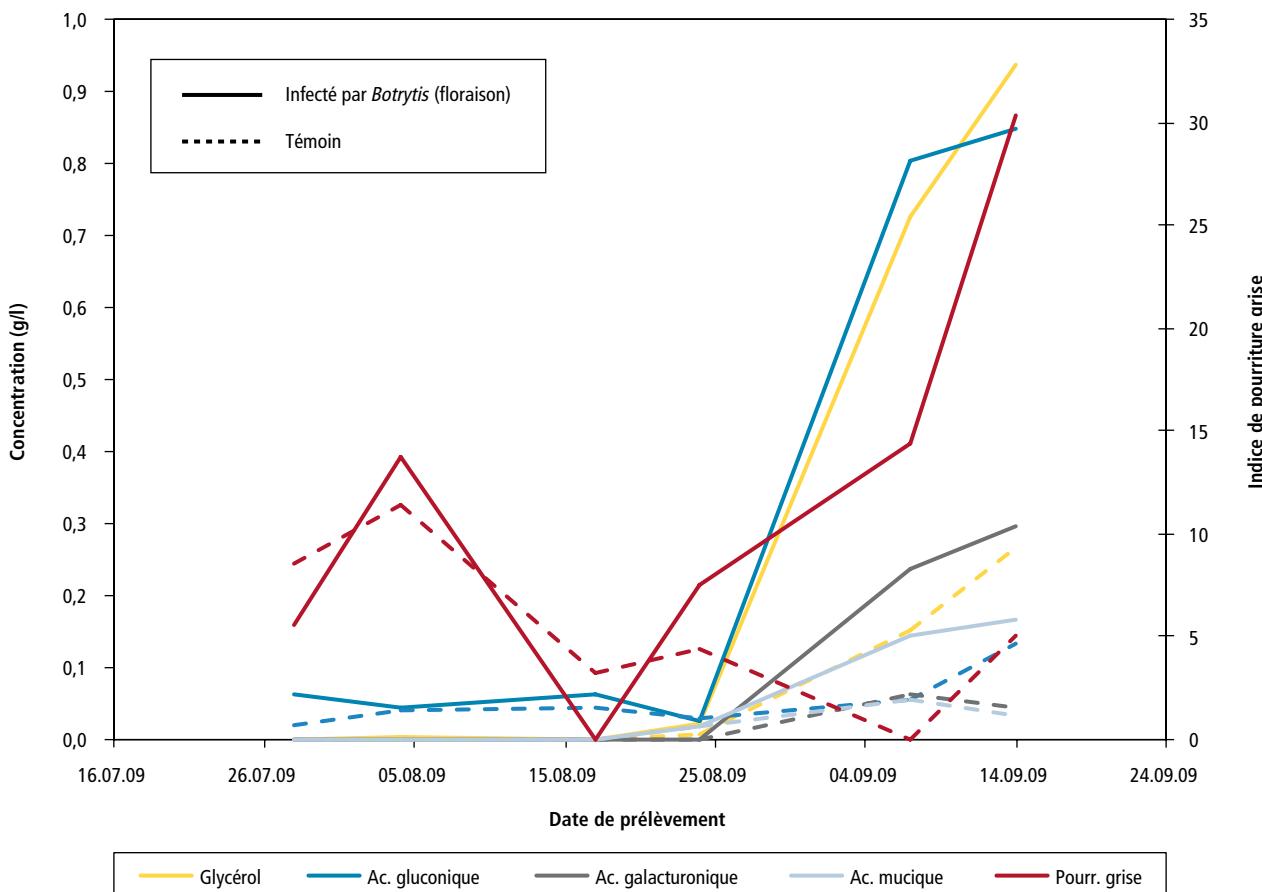


Figure 5 | Suivi des métabolites à la vigne pendant la maturation du Pinot noir dans les essais *in vivo* 2009.

Remerciements

Nous remercions le Dionex European Customer Support Center pour l'identification des acides organiques par IC-MS.

Nous remercions également l'équipe de l'AVFP: S. Kuyumcuyan, C. Monnard, D. Nardone et F. Vuichard pour les analyses au laboratoire, Ph. Duruz pour les prélèvements et la coordination à la vigne et D. Thomas pour la mise à disposition du matériel des expériences *in vitro*.

Bibliographie

- Belcher S. & Dienes-Nagy A., 2011. Indices sanitaires et marqueurs chimiques pour évaluer l'état sanitaire du raisin. I. Définitions, principes et tests préliminaires avec *Botrytis cinerea*. *Revue suisse Viticulture, Arboriculture, Horticulture* **43** (2), 134–137.
- Dietrich H. H., 1976. Comparative examination of sweet musts and wines made from sound and from *Botrytis*-infected berries. *Food Science and Technologie Abstract* **8** (12H2198), 415–425.
- Cilindre C., Castro A. C., Clement C., Jeandet P. H. & Marchal R., 2007. Influence of *Botrytis cinerea* infection on Champagne wine proteins and wine foaming properties. *Food Chemistry* **103**, 139–149.
- Collado I. G., Hernandez-Galan R., Duran-Patron R. & Cantoral J. M., 1995. Metabolites from a shake culture of *Botrytis cinerea*. *Phytochemistry* **38** (3), 647–650.
- Gindro K., Pezet R., Viret O. & Richter H., 2005. Development of a rapid and highly sensitive direct-PCR assay to detect a single conidium of *Botrytis cinerea* Pers.: Fr *in vitro* and quiescent forms in planta. *Vitis* **44** (3), 139–142.
- Gupta A., Singh V. K., Qazi G. N. & Kumar A., 2001. *Gluconobacter Oxydans*: Its Biotechnological Applications. *J. Mol. Microbiol. Biotechnology* **3** (3), 445–456.
- Keller M., Viret O. & Cole F. M., 2003. *Botrytis cinerea* infection in grape flowers: Defense reaction, latency, and disease expression. *Phytopathology* **93** (3), 316–322.
- Pezet R., Pont V. & Hoangvank K., 1991. Evidence for Oxydative Detoxification of Perostilbene and Resveratrol by A Laccase-Like Stilbene Oxidase Produced by *Botrytis cinerea*. *Physiological and Molecular Plant Pathology* **39** (6), 441–450.
- Pezet R., Viret O., Perret C. & Tabacchi R., 2003. Latency of *Botrytis cinerea* Pers.: Fr. and biochemical studies during growth and ripening of two grape berry cultivars, respectively susceptible and resistant to grey mould. *Journal of Phytopathology* **151** (4), 208–214.
- Richard P., Hilditch S., 2009. D-Galacturonic acid catabolism in microorganisms and its biotechnological relevance. *Applied Microbiology and Biotechnology* **82** (4), 597–604.
- Robinson R. K., 1999. Encyclopedia of Food Microbiology. Elsevier, 2316–2322.
- Viret O., Keller M., Jaudzems V. G. & Cole F. M., 2004. *Botrytis cinerea* infection of grape flowers: Light and electron microscopical studies of infection sites. *Phytopathology* **94** (8), 850–857.
- Wang T. S., Zhou J. Y. & Tan H., 2008. Three new metabolites from *Botrytis cinerea*. *Journal of Asian Natural Products Research* **10** (10), 919–924.

Summary**Sanitary indexes and chemical markers to evaluate health status of grapes. 2. Chemical markers of grey mould**

The research station Agroscope Changins-Wädenswil ACW performed a series of studies to identify more precisely the chemical compounds involved in an infection caused by *Botrytis cinerea*.

These compounds were correlated to generic indexes given by indirect spectrometers (like Winescan®). *In vitro* studies using twelve grape varieties representative of Swiss vineyards led to the determination of major chemical changes in the composition of the berries. Galacturonic and mucic acids were identified as new markers of *Botrytis*. Field studies along the ripening period on selected varieties of grapes both sensitive and resistant confirmed the relevance of these markers and their contribution in the measurement of global sanitary indexes. These parameters will further enable the optimization of generic models in order to reflect relevant sanitary information for practical use.

Key words: sanitary indexes, *Botrytis cinerea*, grey mould, galacturonic acid, mucic acid.

Zusammenfassung**Gesundheitsindexen und chemische Marker zur Bestimmung des Gesundheitszustands der Traube. 2. Chemische Marker der Graufäule**

Zur genaueren Bestimmung der chemischen Verbindungen, die bei der Infektion von *Botrytis cinerea* eine Rolle spielen hat die Forschungsanstalt Agroscope Changins-Wädenswil ACW verschiedene Versuche durchgeführt. Die chemischen Verbindungen wurden mit generischen Gesundheitsindexen, die mittels einem indirekten Spektrometer vom Typ Winescan® gemessen wurden, korreliert. *In vitro* Untersuchungen mit zwölf typischen Rebsorten für die Schweiz erlaubten die Bestimmung der wichtigsten Veränderungen in der chemischen Zusammensetzung der Trauben. Insbesondere wurden Galakturonsäure und Schleimsäure als neue Marker für *Botrytis* identifiziert. Feldversuche während der Traubenreifung mit einer Auswahl an anfälligen und resistenten Rebsorten haben die Bedeutung dieser zwei Marker und ihren Einfluss auf die globale Messung des Gesundheitsindexes bestätigt. Diese Messgrößen helfen schlussendlich der Verbesserung der generischen Modelle der Praxis, welche den Gesundheitszustand der Traube wiederspiegeln.

Riassunto**Indici sanitari e marcatori chimici per valutare lo stato sanitario dell'uva. 2. Marcatori chimici del marciume grigio**

La Stazione di ricerca Agroscope Changins-Wädenswil ACW ha condotto delle prove per identificare in modo più preciso i composti chimici coinvolti durante un'infezione da *Botrytis cinerea*. Questi composti sono stati correlati agli indici generici dati dagli spettrometri indiretti del tipo Winescan®. Gli studi *in vitro* su dodici vitigni rappresentativi del vigneto svizzero hanno permesso d'identificare i cambiamenti chimici più importanti nella composizione dell'uva. In particolare gli acidi galatturonico e mucico sono stati identificati come nuovi marcatori della *botrytis*. Degli studi eseguiti in vigneto durante la maturazione su una selezione di vitigni sensibili e resistenti hanno confermato la pertinenza di questi marcatori e la loro partecipazione alla misura globale degli indici sanitari. Questi parametri permetteranno di ottimizzare i modelli generici che riflettono lo stato sanitario dell'uva.