



Peut-on stimuler les mécanismes de défense de la vigne?

Une nouvelle méthode pour évaluer le potentiel des éliciteurs

K. GINDRO, S. GODARD, I. DE GROOTE et O. VIRET, Station de recherche Agroscope Changins-Wädenswil ACW, CP 1012, 1260 Nyon

H.-R. FORRER et B. DORNART, Station de recherche Agroscope Reckenholz-Tänikon ART, 8046 Zurich

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

Résumé

L'efficacité et le mode d'action de divers fongicides ou éliciteurs (des activateurs des mécanismes de défense) ont été évalués sur la base des marqueurs de résistance de la vigne au mildiou (*Plasmopara viticola*) développés à Agroscope Changins-Wädenswil ACW. Ces marqueurs (taux d'infection, quantification de la sporulation, quantification des phytoalexines stilbéniques et de la callose stomatique) sont utilisés sur des feuilles détachées ou sur des plantes entières de Chasselas. Les résultats montrent que seuls deux produits (la racine de rhubarbe et l'écorce de bourdaine) sur les vingt-et-un testés permettent à la fois d'éliciter les mécanismes de défense de la vigne de façon prolongée, notamment par la stimulation de la synthèse de la δ -viniférine (le stilbène le plus toxique), et d'inhiber le développement du mildiou de façon significative. L'acide gallique induit une production massive de stilbènes sur une courte durée, insuffisante pour inhiber le développement du mildiou, mais permet une protection intéressante de par son effet biocide. Enfin, les produits cupriques, l'acide tannique et l'extrait de galles (*Galla chinensis*) montrent un effet fongitoxique important mais sans induction des mécanismes de défense. La méthode décrite permet une évaluation fiable, basée sur des critères analytiques objectifs, de l'efficacité des éliciteurs ou des produits phytosanitaires examinés contre le mildiou de la vigne.

Introduction

Le mildiou [*Plasmopara viticola* (Berk. et M.A. Curtis, de Bary)] est une des principales maladies de la vigne. Présent au niveau mondial, ce pathogène a provoqué en Suisse, sur trente des cinquante-six dernières années d'observations, des dégâts économiques importants. En fonction des conditions climatiques, la lutte nécessite l'application préventive de huit à dix traitements fongicides (Viret *et al.*, 2001). La grande majorité des cépages cultivés

est très sensible au mildiou. La seule manière de réduire le nombre d'interventions est de disposer d'un système de prévision des risques basé sur la mesure des paramètres climatiques (Viret *et al.*, 2001). Le programme développé par ACW pour la sélection de cépages résistants au mildiou (Spring, 2005) a permis de mettre au point des marqueurs biochimiques et histologiques. Ces derniers permettent de sélectionner des semis de pépins de raisin et d'évaluer de manière fiable leur potentiel naturel à activer des mécanismes de dé-

fense face au pathogène (Gindro *et al.*, 2006; 2007). Sachant que plusieurs cépages sont capables de se défendre naturellement contre le mildiou, divers produits de synthèse, cocktails de levures, micro-organismes antagonistes, de même que des extraits, tisanes et infusions de plantes élaborés dans différents secteurs de la pratique viticole ont été examinés quant à leur aptitude à induire ces mêmes mécanismes de protection chez les cépages sensibles. La stimulation des mécanismes de défense peut se faire par l'application d'éliciteurs, c'est-à-dire de molécules capables d'induire des réactions de défense des plantes. Ceux-ci peuvent soit simuler un stress, ce qui force la plante à activer ses défenses avant même qu'il y ait eu une infection, soit la préparer à réagir uniquement en présence du pathogène, en accumulant des précurseurs de défense (ce phénomène est appelé «*priming*»). Aux sites d'infection, la défense de la vigne se traduit par la production de protéines spécifiques, de métabolites nouvellement synthétisés (phytoalexines), de substances constitutives complexes (callose) capables de limiter ou d'inhiber le développement du mildiou. En effet, il a été montré que la formation de callose dans les stomates est un mécanisme de défense possible chez des cépages résistants (Gindro *et al.*, 2003). De même, les phytoalexines stilbéniques, qui ont un effet biocide sur le mildiou (essentiellement l' ϵ - et la δ -viniférine; Pezet *et al.*, 2004b), sont des marqueurs de résistance étudiés dans le cadre de notre programme de sélection

(Gindro *et al.*, 2006; 2007). Cet article décrit une méthode rapide d'évaluation de l'efficacité de divers éliciteurs, fongicides ou préparations complexes issues de la production biologique et biodynamique.

Matériel et méthodes

Matériel végétal, conditions de culture et application des produits phytosanitaires

Des boutures de *Vitis vinifera* L. var. Chaselas ont été obtenues à partir de sarments aoûtés prélevés dans les vignobles expérimentaux d'Agroscope ACW. Les plants racinés ont été cultivés sous serre dans 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 seize heures de jour (22 °C), huit heures d'obscurité (18 °C) et 60% HR. Au stade quinze

feuilles, les préparations ou produits phytosanitaires à tester (aux concentrations préconisées par la pratique) ont été appliqués au moyen d'un pulvérisateur à main (100 ml/plante; cinq plantes par produit) selon la méthode de Krebs *et al.* (2006). Les plantes ainsi traitées ont été utilisées vingt-quatre heures après traitement.

Plasmopara viticola

Le mildiou utilisé pour les inoculations a été prélevé dans une parcelle non traitée de Perroy (VD). Les sporanges ont été aspirés à la surface des feuilles infectées selon la méthode décrite par Gindro *et al.* (2003) et stockés dans des cryo-tubes à -80 °C.

Production de callose

Vingt-quatre heures après infection (hpi), la production de callose dans les stomates a été observée et quantifiée selon la méthode décrite par Gindro *et al.* (2003). Des feuilles ont été infectées à l'aide de gouttelettes de 10 µl d'une suspension de spo-

ranges, contenant 2 × 10⁴ sporanges/ml. Des échantillons de feuille, correspondant à la surface des gouttes d'infection, ont été prélevés avec une lame de rasoir, placés durant une minute dans une solution aqueuse de bleu d'aniline (0,2% dans 5% de NaHCO₃) et observés au microscope à fluorescence selon la méthode de Kortekamp *et al.* (1997). Les résultats obtenus sont exprimés en pourcentages et écarts-type de stomates contenant de la callose comptés sur 3 × 100 stomates infectés. Des échantillons témoins ont été traités de la même manière en l'absence du pathogène.

Taux d'infection

Des feuilles ont été infectées selon la méthode décrite ci-dessus. Des observations ont été faites au microscope optique après coloration au bleu de toluidine ou au bleu d'aniline (microscope à fluorescence). Le taux d'infection a été quantifié 48 hpi. Les résultats sont exprimés en pourcentage moyen de spores pénétrant les stomates/50 spores comptées. Les expériences ont été faites en triplicats.

Tableau 1. Liste des produits et préparations testés.

Produits	Origine	Distributeur
Extraits de plantes et micro-organismes		
Algifol	Extrait d'algues	Neomed, Obersulm (D)
EM5	Cocktail de micro-organismes	Bionova Hygiene GmbH (CH)
<i>Equisetum arvense</i>	Décoction de prêle à 100 g/ha	–
<i>Frangula alnus</i>	Poudre d'écorces de bourdaine	Hänseler AG (CH)
<i>Galla chinensis</i>	Extrait de galles causées par <i>Aphis sinensis</i>	Berg-Apotheke Zurich (CH)
Kendal	Extrait de plantes 8%/K ₂ O 15,5%	Gerlach Natürliche Düngemittel (D)
<i>Rheum palmatum</i>	Poudre de racines de rhubarbe séchées	Hänseler AG (CH)
<i>Salix viminalis</i>	Tisane d'osier à 100 g de tiges fraîches/ha	–
<i>Salvia officinalis</i>	Tisane de sauge à 1 kg de sauge fraîche/ha	–
<i>Trigonella foenum-graecum</i>	Poudres de fenugrec 100%	–
<i>Urtica dioica</i>	Tisane d'ortie à 1 kg d'ortie fraîche/ha	–
Acides organiques		
Acide gallique	Synthèse	Fluka Chemie GmbH (CH)
Acide tannique	Synthèse	Fluka Chemie GmbH (CH)
Eliciteurs		
BABA	Acide β-aminobutyrique	Sigma Aldrich (CH)
Bion	50% acibenzolar-S-méthyle	Syngenta Agro AG (CH)
Messenger	Harpine, protéine issue de <i>Erwinia amylovora</i>	Eden Bioscience, USA
Fongicides		
Kocide Opti (30% Cu)	Synthèse	Bayer (Suisse) AG (CH)
Kocide DF (40% Cu)	Synthèse	Burri Agricide (CH)
Myco-Sin	Acide sulfurique sur terre argileuse, extraits de prêle	Andermatt Biocontrol AG (CH)
Additifs		
Nu-Film 17	Résine de pin américain	Intrachem Bio (International) SA (CH)
Siapton	Acides aminés/peptides 70%, azote organique 9%	Bionova Hygiene GmbH (CH)

Analyse des stilbènes

Quarante-huit heures après l'inoculation, des échantillons de feuilles, aux lieux mêmes de l'inoculation, ont été prélevés à l'aide d'un scalpel à raison de trois répétitions par feuille et de trois feuilles par produit analysé. Les fragments de feuilles ont été pesés et placés dans des tubes de 1,5 ml contenant 50 μ l de méthanol. Les tubes ont ensuite été agités à 60 °C durant dix minutes et refroidis cinq minutes dans la glace. Les stilbènes (*trans*-picéide, *trans*-resvératrol, *trans* ϵ - et δ -viniférine) ont été analysés par chromatographie (HPLC) sur 30 μ l de l'extrait méthanolique obtenu selon Pezet *et al.* (2003). Les résultats sont exprimés en μ mol/mg de poids frais (PF). Des échantillons témoins ont été traités de la même manière en l'absence du pathogène.

Densité des sporanges

Cinq rondelles (diamètre: 1 cm) ont été prélevées sur des feuilles entières traitées (voir ci-dessus). Trois d'entre elles ont été inoculées par spray de 1 ml de suspension de sporanges et incubées en chambre humide. Les deux restantes ont été utilisées comme échantillon témoin et traitées avec de l'eau distillée stérile. Six jours après l'inoculation, la densité de sporanges a été mesurée par turbidimétrie à l'aide d'un spectrophotomètre (400 nm), selon Gindro et Pezet (2001), en agitant durant une minute chaque rondelle de feuille dans 1 ml d'eau distillée. La suspension de sporanges ainsi obtenue est analysée par rapport aux valeurs de référence d'un témoin du même cépage traité à l'eau. Les résultats obtenus sont exprimés en nombre moyen de sporanges par mm².

Afin d'évaluer la protection conférée par les différentes matières actives utilisées en conditions de serre, des infections artificielles ont été réalisées sur plantes entières vingt-quatre heures après pulvérisation au spray d'une suspension aqueuse de sporanges. Ces plantes ont été maintenues sous serre dans les conditions décrites par Pezet *et al.* (2004a). La quantification de la sporulation a été opérée par turbidimétrie huit jours après l'infection.

Résultats et discussion

Effets éliciteurs des produits testés

Les produits utilisés (tabl.1) ont été appliqués sur des feuilles de vigne afin d'évaluer leur potentiel d'induction des stilbènes en l'absence du mildiou (tabl. 2). Selon les résultats, seuls l'acide gallique à 2,5 et 5%, ainsi que l'extrait de rhubarbe à 0,5, 1 et 5% + Nu-film 17 0,5%, ont induit une accumulation significative de stilbènes avant l'infection (le Nu-Film 17 à lui seul n'a pas d'effet). De ces deux substances, l'extrait de rhubarbe induit la formation de stilbènes à des concentrations large-

Tableau 2. Effets éliciteurs des produits testés.

Produit	Stilbènes [μ moles/mg PF]			
	Picéide ED ₅₀ >1000	Resvératrol ED ₅₀ = 200	ϵ -viniférine ED ₅₀ = 70	δ -viniférine ED ₅₀ = 12
Témoin non traité (eau)	25	28	0	0
Acide gallique 2,5%	0	297	21	5
Acide gallique 5%	0	222	238	8
Acide gallique 7,5%	22	44	0	0
Acide tannique 2,5%	21	12	0	0
Acide tannique 5%	24	11	0	0
Acide tannique 7,5%	20	16	0	50
Algifol 0,1%	16	14	0	0
BABA 1%	24	25	1	1
Bion 0,15%	31	22	0	0
Bourdaïne 0,5%/Nu-Film 0,5%	67	31	11	8
Bourdaïne 1%/Nu-Film 0,5%	85	24	14	12
Bourdaïne 5%/Nu-Film 0,5%	85	31	21	17
EM5	18	19	0	0
Fenugrec 3,75%	32	24	0	0
<i>G. chinensis</i> 5%/Nu-Film 0,5%	31	15	0	0
Kendal 0,75%	14	26	0	0
Kocide DF (40% Cu) 0,2%	17	21	0	0
Kocide Opti (30% Cu) 0,1%	21	24	0	0
Messenger 0,13%	17	21	0	0
Myco-Sin 0,5%	5	2	0	0
Nu-Film 17 0,5%	79	31	0	0
Ortie 0,6%	34	28	4	2
Ortie/Osier/Kocide DF (20%) 0,1%	21	25	3	1
Osier 0,1%	24	17	2	1
Prêle 0,1%	21	9	0	0
Rhubarbe 0,5%/Nu-Film 0,5%	45	77	37	25
Rhubarbe 1%/Nu-Film 0,5%	153	111	97	60
Rhubarbe 5%/ Nu-Film 0,5%	369	362	161	104
Sauge 0,5%	24	11	0	0
Siapton 0,3%	25	21	0	0

PF = poids frais. ED₅₀ = inhibition de 50% du développement de la maladie.

ment supérieures aux valeurs d'ED₅₀ définies autant sur l'effet biocide direct contre le mildiou (inhibition de 50% de la libération des zoospores) que sur le développement ultérieur de la maladie (Pezet *et al.*, 2004b). En effet, la concentration en δ -viniférine (stilbène le plus toxique pour le mildiou) de l'extrait de rhubarbe atteint 104 μ mol/mg PF, soit dix fois plus que la valeur d'ED₅₀ calculée pour ce produit. Les prélèvements d'échantillons effectués jusqu'à dix jours après les traitements ont montré le maintien de l'élicitation des stilbènes, avec une chute drastique de cet

effet dès le onzième jour. Une induction importante de resvératrol est mesurée après le traitement à l'acide gallique à 2,5%, sans induction significative toutefois des deux isomères de viniférine. A 5% par contre, l' δ -viniférine atteint des concentrations (238 μ mol/mg PF) vingt fois plus importantes que la valeur d'ED₅₀ mesurée pour ce produit, tandis que la concentration en δ -viniférine reste faible (5 μ mol/mg PF). La concentration des produits joue un rôle déterminant, pouvant induire une importante phytotoxicité. L'acide gallique à 7,5% ou l'extrait de rhubarbe à 5%

provoque des dessèchements et des nécroses rapides des feuilles, mais sans systémie.

Induction des mécanismes de défense en présence du mildiou

Des infections ont été réalisées sur feuilles détachées ou plantes entières après un traitement préventif au moyen des produits du tableau 1. L'ensemble

des résultats montre que sept produits (tabl. 3) seulement permettent d'obtenir un taux de sporulation inférieur à 15 sporanges/mm² (efficacité 90 à 100%), parmi lesquels seuls les extraits de rhubarbe à 0,5, 1 et 5% et de bourdaine à 0,5, 1 et 5% induisent la synthèse de stilbène de manière significative. Les cinq autres produits ont un effet fongitoxique direct sur le mildiou, exprimé par l'absence d'infection et de sporulation.

L'extrait de bourdaine a un effet de

«*priming*» des mécanismes de défense de la vigne, ce qui signifie que l'activation de ces mécanismes ne se produit qu'en cas d'infection par le mildiou. En effet, le témoin traité non infecté (tabl. 2) ne montre pas d'augmentation significative de la quantité en stilbènes. Après infection (tabl. 3) par contre, les concentrations en resvératrol, ϵ - et δ -viniférines dépassent largement les valeurs d'ED₅₀ définies pour chacun de ces produits et permettent une protection totale contre le développement du

Tableau 3. Induction des mécanismes de défense en présence du mildiou.

Produit	Infection [%]	Callose [%]	Stilbènes [μ moles/mg PF]				Sporulation	
			Picéide ED ₅₀ >1000	Resvératrol ED ₅₀ = 200	ϵ -viniférine ED ₅₀ = 70	δ -viniférine ED ₅₀ = 12	[sp/mm ²]	Efficacité (%)
Témoin non traité (eau)	100	0	126	87	2	1	115	–
Acide gallique 2,5%	40	0	65	32	4	1	34	70
Acide gallique 5%	15	0	73	27	11	7	11	90
Acide gallique 7,5%	0	0	21	62	2	1	0	100
Acide tannique 2,5%	0	0	2	5	0	0	0	100
Acide tannique 5%	0	0	11	8	0	0	0	100
Acide tannique 7,5%	0	0	15	13	1	0	0	100
Algifol 0,1%	82	0	132	54	3	1	79	31
BABA 1%	47	19	53	94	31	28	39	66
Bion 0,15%	100	0	89	67	14	7	79	31
Bourdaine 0,5%/Nu-Film 0,5%	77	0	0	81	59	78	11	90
Bourdaine 1%/Nu-Film 0,5%	72	0	0	295	195	149	0	100
Bourdaine 5%/Nu-Film 0,5%	70	0	0	395	383	234	0	100
EM5	100	0	94	19	1	0	72	37
Fenugrec 3,75%	55	0	107	52	7	2	69	40
<i>G. chinensis</i> 5%/Nu-Film 0,5%	0	0	0	24	2	1	0	100
Kendal 0,75%	98	0	121	48	0	0	108	61
Kocide DF (40% Cu) 0,2%	0	0	1	7	0	0	0	100
Kocide Opti (30% Cu) 0,1%	13	0	12	37	2	0	9	92
Messenger 0,13%	49	0	137	51	11	5	79	31
Myco-Sin 0,5%	11	0	11	7	0	0	12	89
Nu-Film 17 0,5%	100	0	142	109	3	5	105	8
Ortie 0,6%	96	0	157	28	12	7	77	33
Ortie/Osier/Kocide DF (20%) 0,1%	49	0	91	31	8	4	59	48
Osier 0,1%	100	0	184	32	10	7	69	40
Prêle 0,1%	41	0	39	25	0	0	33	71
Rhubarbe 0,5%/Nu-Film 0,5%	51	12	65	107	96	78	5	95
Rhubarbe 1%/Nu-Film 0,5%	42	33	198	354	383	142	0	100
Rhubarbe 5%/Nu-Film 0,5%	39	29	171	628	361	313	0	100
Sauge 0,5%	100	0	31	34	2	1	89	22
Siapton 0,3%	90	0	132	47	1	1	84	26

PF = poids frais. ED₅₀ = inhibition de 50% du développement de la maladie.

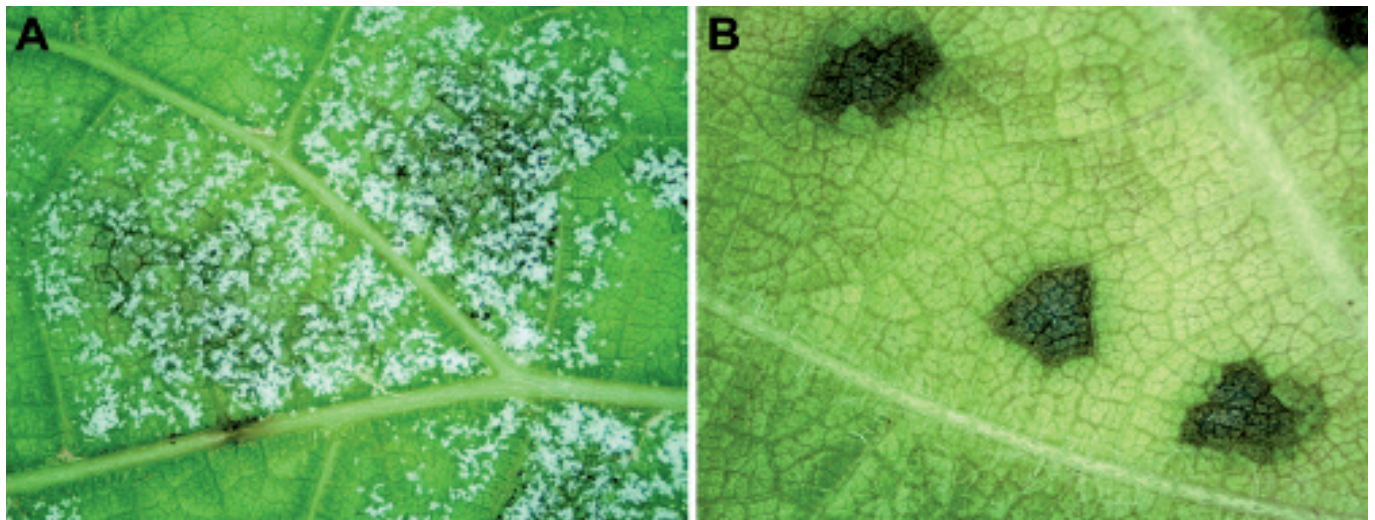


Fig. 1. Niveau de sporulation de *Plasmopara viticola* sur feuilles de Chasselas huit jours après infection. A: Chasselas non traité; sporulation dense (115 sporanges/mm²). B: Chasselas traité vingt-quatre heures avant infection avec un extrait de rhubarbe à 5%; sporulation nulle et fortes nécroses des tissus aux endroits des infections (absence de sporulation).

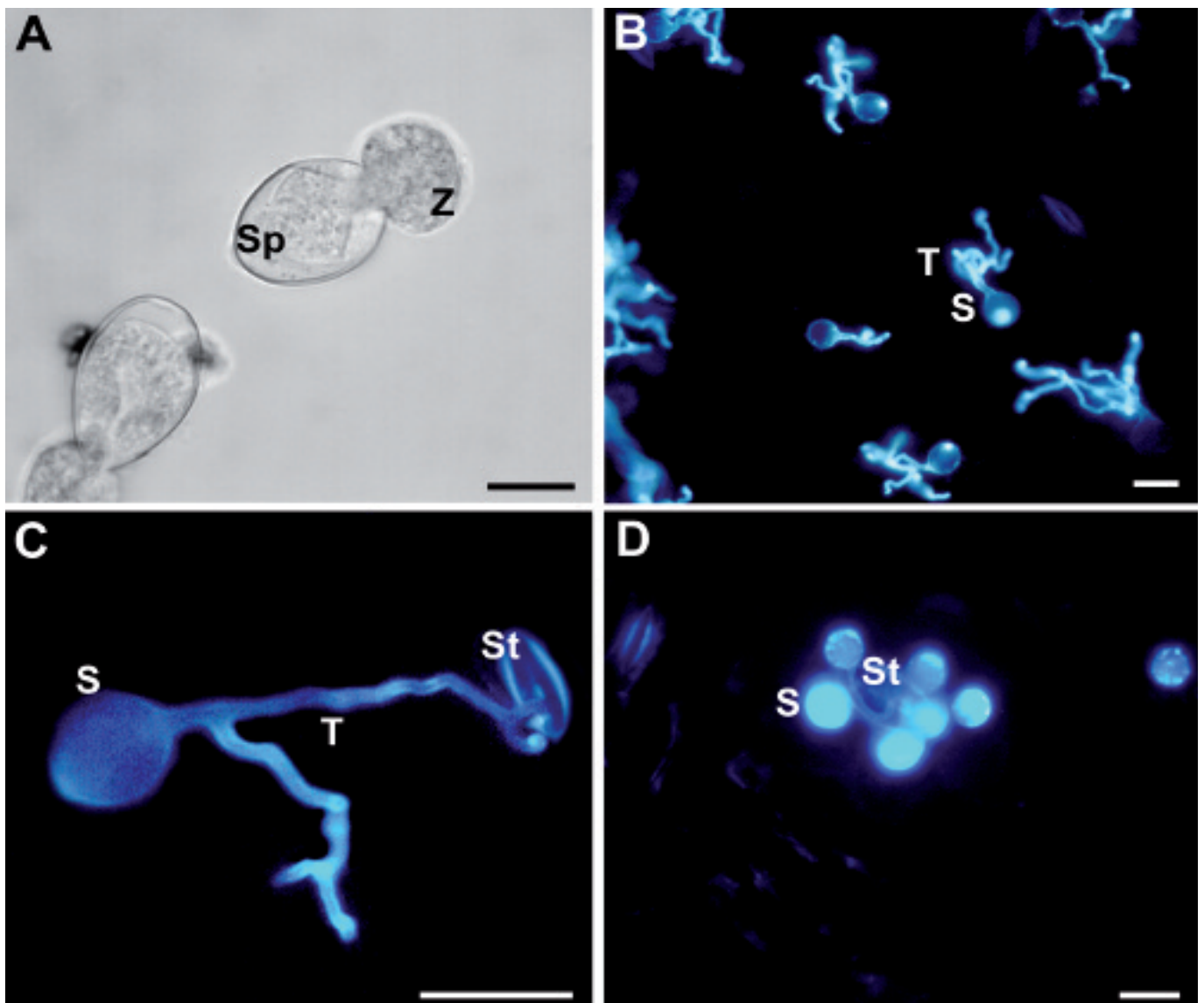


Fig. 2. Effet de la tisane d'ortie (*Urtica dioica*) sur la germination de *Plasmopara viticola*. A: sporanges bloqués en phase d'expulsion des zoospores. B: germination aléatoire des spores vingt-quatre heures après infection (hpi). C: longs tubes de germination permettant la mise en route de l'infection dès 24 hpi. D: infections normales 48 hpi. S: spore; Sp: sporange; St: stomate; T: tube de germination; Z: zoospore. Les barres d'échelle représentent 10 μ m.

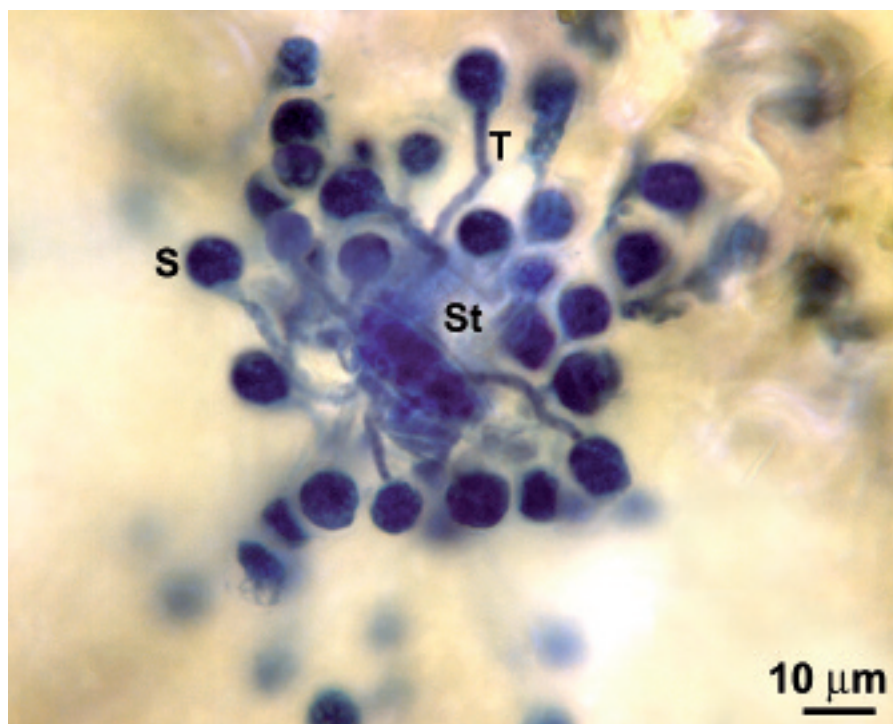


Fig. 3. Effet du Siapton à 0,3% sur *Plasmopara viticola*. Agglutination de spores en phase d'infection (25 à 30 spores/stomate). S: spore; St: stomate; T: tube de germination.

mildiou. Cet effet de «priming» se retrouve après traitement à l'acide β -aminobutyrique (BABA), mais dans des proportions largement inférieures (efficacité 66%). L'extrait de rhubarbe quant à lui présente un effet différent mais tout aussi efficace. L'activation des mécanismes de défense se fait déjà après l'application du produit. Toutefois, après infection, la concentration en resvératrol, ϵ - et δ -viniférine atteint des valeurs dix à vingt fois supérieures aux ED₅₀ mesurées pour ces produits. De plus, l'activation des mécanismes de défense se traduit par des zones de nécrose très importantes à l'endroit des infections (fig.1). Cet extrait de rhubarbe a donc un effet éliciteur très important sur les mécanismes de défense et permet aussi une protection totale contre le mildiou (efficacité 100%). A un autre niveau, la tisane d'ortie a un effet direct sur le mildiou durant les premières vingt-quatre heures après l'infection. Les observations microscopiques montrent que les sporanges se bloquent dans les phases d'expulsion des zoospores, et que les spores elles-mêmes germent aléatoirement sans présence de stomates à proximité (fig. 2). Toutefois, cette désorganisation dans le cycle infectieux de *Plasmopara viticola* est transitoire, puisque 48 hpi, malgré la germination aléatoire, de longues hyphes parviennent sans difficulté à pénétrer dans les stomates et à démarrer le cycle infectieux. De même, les sporanges bloqués sont capables de reprendre l'expulsion

des zoospores, encore infectieuses, et d'amorcer des infections normales (fig. 2), ce que démontre le fort taux de sporulation enregistré cinq jours après l'infection (efficacité 33%). Certaines observations montrent aussi que des produits comme le Siapton (acides aminés) induisent des agglutinations de spores (généralement quinze à vingt spores par stomate contre une à trois dans des cas normaux) (fig. 3). La compréhension de ce phénomène nous permettrait peut-être d'expliquer quels sont les éléments permettant la reconnaissance et l'adhérence du pathogène à son hôte. Les résultats obtenus avec les extraits de rhubarbe et de bourdaine, bien que prometteurs, doivent être considérés avec prudence. Premièrement, l'impact des éléments naturels (lessivage, modifications chimiques sous l'effet des UV et autres facteurs climatiques) sur la durée d'efficacité après l'application doivent encore être considérés (Dorn *et al.*, 2007). D'autre part, ces extraits de plantes sont chimiquement parlant des cocktails de molécules en grande partie non identifiées, dont certaines peuvent avoir des effets toxiques pour l'homme à doses répétées, comme certaines anthraquinones (émodyne, rhéine...) (Komatsu *et al.*, 2006). C'est la raison pour laquelle une identification chimique exhaustive de ces extraits est indispensable, pour éviter tout problème pharmacologique et pour identifier les molécules réellement actives contre l'infection.

Conclusions

- ❑ Les quatre critères histologiques et biochimiques utilisés pour la sélection de vignes résistantes au mildiou permettent d'évaluer l'efficacité de différents éliciteurs naturels ou de synthèse sur les mécanismes de défense de la vigne. Le taux de callose dans les stomates est déterminé par microscopie à fluorescence, la densité des sporanges par spectrophotométrie et l'analyse des stilbènes par chromatographie (HPLC).
- ❑ Outre l'activité fongitoxique de certains produits, deux extraits de plantes (rhubarbe et bourdaine) sont retenus pour leurs potentiels d'élicitation des mécanismes de défense de la vigne et de protection contre le mildiou.
- ❑ La méthode décrite permet une évaluation rapide en conditions de laboratoire du mode d'action et des seuils d'efficacité des produits naturels et de synthèse courants.
- ❑ Depuis 2005, nos critères d'évaluation sur les effets et l'efficacité des produits phytosanitaires sont utilisés dans des projets communs avec la production biologique, biodynamique et la production intégrée (évaluation des seuils d'efficacité de produits cupriques). Ces expériences mènent à des informations précieuses avant la mise en place d'essais en plein champ.
- ❑ Des analyses chimiques et pharmacologiques doivent être envisagées dans le cas d'extraits complexes, afin d'identifier d'une part les molécules réellement impliquées dans les mécanismes d'élicitation et d'autre part celles qui pourraient avoir un effet nocif sur la santé humaine.
- ❑ Une standardisation de ces extraits est indispensable pour pouvoir planifier une lutte maîtrisée en conditions naturelles.

Remerciements

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

Bibliographie

- Dorn B., Musa T., Krebs H., Fried P. & Forrer H. R., 2007. Control of late blight in organic potato production: evaluation of copper-free preparations under field, growth chamber and laboratory conditions. *Eur. J. Plant Pathol.* **119**, 217-240.
- Gindro K. & Pezet R., 2001: Effects of long-term storage at different temperatures on conidia of *Botrytis cinerea* Pers.: Fr. *FEMS Microbiol. Lett.* **204**, 101-104.
- Gindro K., Pezet R. & Viret O., 2003. Histological study of the responses of two *Vitis vinifera* cultivars (resistant and susceptible) to *Plasmopara viticola* infections. *Plant Physiol. Biochem.* **41**, 846-853.
- 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**, 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.
- Komatsu K., Nagayama Y., Tanaka K., Ling Y., Cai S. Q., Omote T. & Meselhy M. R., 2006. Comparative study of chemical constituents of rhubarb from different origins. *Chemical & Pharmaceutical Bulletin* **54** (11), 1491-1499.
- Kortekamp A., Wind R. & Zyprian E., 1997. The role of callose deposits during infection of two downy mildew tolerant and two susceptible *Vitis* cultivars. *Vitis* **36** (2), 104-108.
- Krebs H., Dorn B. & Forrer H. R., 2006. Lutte contre le mildiou de la pomme de terre avec des préparations à base de plantes. *Revue suisse Agric.* **38** (4), 203-207.
- Pezet R., Gindro K., Viret O. & Spring J.-L., 2004a. Glycosylation and oxidative dimerization of resveratrol are respectively associated to sensitivity and resistance of grapevine cultivars to downy mildew. *Physiol. Mol. Plant Pathol.* **65**, 297-303.
- Pezet R., Gindro K., Viret O. & Richter H., 2004b. Effects of resveratrol, viniferins and pterostilbene on *Plasmopara viticola* zoospore motility and disease development. *Vitis* **43** (2), 145-148.
- Pezet R., Perret C., Jean-Denis J. B., Tabacchi R., Gindro K. & Viret O., 2003. δ -viniferin, a resveratrol dehydromer: one of the major stilbenes synthesized by stressed grapevine leaves. *J. Agric. Food Chem.* **51**, 5488-5492.
- Spring J.-L., 2005. Expérimentation en Suisse romande de nouveaux cépages rouges résistants aux maladies. *Revue suisse Vitic., Arboric., Hortic.* **37** (5), 255-261.
- Viret O., Bloesch B., Taillefs J., Siegfried W. & Dupuis D., 2001. Prédiction et gestion des infections du mildiou de la vigne (*Plasmopara viticola*) à l'aide d'une station d'avertissement. *Revue suisse Vitic., Arboric., Hortic.* **33** (2), I-XII.

Zusammenfassung

Können die Abwehrmechanismen der Rebe stimuliert werden? Eine neue Methode zur Beurteilung des Potentials der Induktoren

Die Wirksamkeit und die Wirkungsweise verschiedener Fungizide oder Induktoren (d.h. Auslöser von Abwehrmechanismen) wurden mit Hilfe der an der Agroscope Changins-Wädenswil ACW entwickelten Marker für die Resistenz der Rebe gegen falschen Mehltau (*Plasmopara viticola*) geprüft. Diese Marker (Befallsgrad, Quantifizierung der Sporulation, Quantifizierung der stilbenähnlichen Phytoalexinen und der Kalloseablagerungen im Bereich der Blattöffnungen) werden sowohl auf abgetrennte Blätter als auf ganze Chasselas-Pflanzen angewendet. Die Resultate zeigen, dass nur zwei (Medizinrhabarberwurzel *Rheum palmatum* und Faulbaumrinde *Frangula alnus*) der 21 getesteten Produkte die Abwehrmechanismen der Rebe dauerhaft auslösen, insbesondere durch die Stimulation des δ -Viniferinsynthese (des am stärksten toxischen Stilbens) und gleichzeitig durch die signifikante Hemmung der Entwicklung des falschen Mehltau. Die Gallussäure induziert eine starke Stilbenproduktion während einer kurzen Zeit, die allerdings nicht ausreicht, um die Entwicklung des falschen Mehltau zu hemmen. Sie schützt die Pflanze aber aufgrund ihrer fungiziden Wirkung. Schliesslich, Kupferprodukte ebenso wie Tanninsäure und chinesischer Gallapfel-extrakt (*Galla chinensis*) zeigen eine starke toxische Wirkung gegen den falschen Mehltau, ohne jedoch auf der Rebe die oben beschriebenen Abwehrmechanismen auszulösen. Die beschriebene Testmethode erlaubt, eine zuverlässige Bewertung der Wirksamkeit von Induktoren oder von Pflanzenschutzmitteln gegen den falschen Mehltau der Rebe.

Riassunto

Si possono stimolare i meccanismi di difesa della vite? Un nuovo metodo per valutare il potenziale degli elicitori

L'efficacia e il meccanismo di azione di diversi fungicidi ed elicitori (i.e. attivatori dei meccanismi di difesa) sono stati valutati sulla base di *markers* di resistenza della vite alla peronospora (*Plasmopara viticola*). I *markers*, sviluppati (precedentemente) alla Stazione Agroscope Changins-Wädenswil ACW, possono essere utilizzati sia su foglie staccate sia sull'intera pianta di *Vitis vinifera* cv. Chasselas. I parametri considerati comprendono: grado di infezione, quantificazione della sporulazione, quantificazione degli stilbeni (in particolare delle fitoalexine) e osservazione di calli stomatali. Dai risultati ottenuti risulta evidente che solamente due prodotti dei 21 testati (estratto di radici di rabarbaro *Rheum palmatum* ed estratto di corteccia di spincervino *Frangula alnus*) sono realmente efficaci in quanto allo stesso tempo stimolano in modo permanente i meccanismi di difesa della pianta, in particolare aumentano la produzione di δ -viniferin (uno dei composti stilbenici più tossici prodotti da *P. viticola*), e inibiscono significativamente lo sviluppo del patogeno. L'acido gallico induce un incremento massiccio della produzione di stilbeni per un breve periodo di tempo, insufficiente ad inibire lo sviluppo dello mildiou, ma permette una protezione interessante grazie al suo effetto biocida. Infine, i prodotti cuprici, l'acido tannico e l'estratto di galla cinese (*Galla chinensis*) mostrano un effetto fungitossico rilevante, ma senza induzione dei meccanismi di difesa della pianta. Il metodo descritto permette, basandosi su criteri analitici oggettivi, una valutazione affidabile dell'efficacia degli elicitori o dei prodotti fitosanitari contro la peronospora.

Summary

Is it possible to induce grapevine defence mechanisms? A new method to evaluate the potential of elicitors

The efficacy and the mode of action of various fungicides or elicitors (i.e. activators of defence mechanisms) were evaluated on the basis of grape resistance markers to downy mildew (*Plasmopara viticola*) developed at Agroscope Changins-Wädenswil ACW. These markers (rate of infection, quantification of sporulation, quantification of stilbenic phytoalexins and stomatal callose) are used both on single leaves and whole plants of *Vitis vinifera* cv. Chasselas. The results show that only two products (root extract of rhubarb *Rheum palmatum* and bark extract of glossy buckthorn *Frangula alnus*) out of 21 tested allow, at the same time, the elicitation of defence mechanisms in a prolonged

way, particularly by stimulation of the δ -viniferin synthesis (the most toxic stilben for *P. viticola*), and the inhibition of pathogen development at a significant degree. Gallic acid induced in the plants a massive production of stilbens for a short time, insufficient to inhibit the development of downy mildew. Nevertheless, it protects the plants by means of fungitoxic effect. On the contrary, copper treatments, tannic acid and extract of Chinese gall (*Galla chinensis*) showed important fungitoxic effects without induction of plant defence mechanisms. The described method allows a reliable evaluation of efficacy of elicitors or plant protection products against downy mildew of grapevine, based on objective analytical parameters.

Key words: grape, defence mechanisms, stilbens, elicitors.