

INFLUENCE DE L'EUTYPIOSE SUR LES TENEURS EN POLYAMINES LIBRES ET CONJUGUÉES DES RAMEAUX DE VIGNE AU COURS DE LEUR CROISSANCE ACTIVE

EFFECTS OF EUTYPIOSIS ON FREE AND CONJUGATED POLYAMINES CONTENT IN INTERNODES OF GRAPEVINE (*VITIS VINIFERA* L. CV. CABERNET SAUVIGNON) DURING THEIR ACTIVE PHASE OF GROWTH

L.A. RIFAI¹, T. KOUSSA^{1*}, A. FASSOUANE²,
M. BROQUEDIS³ et B. DUBOS⁴

1 : Laboratoire de Physiologie et Pathologie Végétales,
Université Chouaib Doukkali, 24000 El Jadida, Maroc

2 : Laboratoire de biochimie appliquée,
Université Chouaib Doukkali, 24000 El Jadida, Maroc

3 : Laboratoire des Sciences de la Vigne, Université Bordeaux I,
Avenue des Facultés, 33405 Talence, France

4 : UMR santé végétale, INRA-ENITA, centre de recherche de Bordeaux,
B.P. 81, 33883 Villenave d'Ornon cedex, France

Résumé : L'évolution des teneurs en polyamines [Putrescine (Put), Spermidine (Spd) et Spermine (Spm)] a été déterminée dans les entre-nœuds de vigne portés par des pieds infectés par *Eutypa lata* l'agent causal de l'eutypiose. Ce travail a porté sur des entre-nœuds sains (portés par des pieds sains), sur des entre-nœuds apparemment sains (portés par des pieds malades mais ne présentant pas de symptômes) et sur des entre-nœuds malades pendant leur phase de croissance active. Cette étude a concerné les polyamines (PAs) libres, les PAs liées aux molécules de faible masse moléculaire (PAs-fpm) et aux macromolécules (PAs-mm).

Le rabougrissement des entre-nœuds provoqué par l'eutypiose s'accompagne d'une réduction des teneurs en Put libre et d'un enrichissement en Spm libre entre les stades boutons floraux séparés et nouaison. Les PAs-mm présentent le même comportement que celui des PAs libres, mais d'une manière plus atténuée. Les teneurs en put-fpm et Spd-fpm sont augmentées dans les entre-nœuds apparemment sains et réduites dans les organes malades sous l'influence de l'eutypiose.

La relation entre la perturbation des teneurs en PAs libres dans les entre-nœuds malades et leur rabougrissement, ainsi que l'implication des PAs-fpm dans la réaction de la vigne à l'infection par *Eutypa lata* sont discutées.

Abstract. Development of polyamines levels [Putrescine (Put), Spermidine (Spd), and Spermine (Spm)] was investigated in internodes of grapevine infected by eutypiosis fungus, *Eutypa lata*. The study was performed using (1) internodes from healthy vines, (2) apparently healthy internodes from vines with one arm symptomless and one diseased arm and (3) diseased internodes. Free polyamines (PAs: hydrochloric acid soluble fraction), conjugated polyamines (PAs-fpm: PAs covalently linked to molecules with low molecular weight like hydroxycinnamic acids) and bound polyamines (PAs-mm: covalently linked to macromolecules) were analysed in *Vitis vinifera* L. cv. Cabernet sauvignon, which is sensitive to eutypiosis.

The internodes stunting induced by eutypiosis was accompanied by a decrease of free Put and free Spm contents between flower buds separated and fruit set stages. The same results were observed for PAs-mm but more slightly than free PAs. The Put-fpm and Spd-fpm levels increased in the apparently healthy internodes and decreased in diseased organs by *Eutypa lata* effect. The relationship between free PAs contents in the diseased internodes and their growth reduction, as well as the involvement of PAs-fpm on the grapevine response to *Eutypa lata* infection are discussed.

Key words: Polyamines, internodes, *Eutypa lata*, *Vitis vinifera*

Mots clés: Polyamines, entre-nœuds, *Eutypa lata*, *Vitis vinifera*

Abbreviations. PAs: Polyamines ; Put.: Putrescine ; Spd.: Spermidine ; Spm.: Spermine ; -mm: liées aux macromolécules (bound) ; -fpm: liées à des molécules de faible masse moléculaire (Conjugated) ; BFS: boutons floraux séparés (Flower buds separated) ; FL: floraison (Flowering) ; N: nouaison (Fruit set); N+13j: 13 jours après nouaison (13 days after fruit set) ; FG: fermeture de la grappe (Closure of berries bunch) ; S: entre-nœuds sains (healthy internodes) ; Ap. Sains: entre-nœuds apparemment sains (apparently healthy internodes) ; M.: entre-nœuds malades (diseased internodes); M.S.: Dry weight, matière sèche.

INTRODUCTION

Les polyamines (PAs) sont actuellement considérées comme des régulateurs de croissance. Ils peuvent se présenter sous formes libres, liées aux macromolécules (PAs-mm) (comme les protéines et les acides nucléiques) ou à des molécules de faible masse moléculaire (PAs-fpm) (comme les acides hydroxycinnamiques). Ces substances interviennent dans de multiples processus physiologiques du développement des plantes (GALSTON, 1983). Elles semblent notamment jouer un rôle important dans la division et l'élongation cellulaire (LEE et CHU, 1992). Les PAs interviennent aussi dans la réponse des végétaux aux stress biotiques et abiotiques. Plus particulièrement, de profonds dérèglements du métabolisme de ces substances ont été signalés lors de l'infection de certaines plantes par des champignons ou par des virus (WALTERS, 2003). La nature de ces perturbations paraît dépendre du pathogène (virus ou champignon), de la relation trophique entre la plante et le champignon et du type de la réaction de la plante (compatible ou incompatible) (WALTERS, 2000). D'autre part, les polyamines liées aux acides hydroxycinnamiques ont été signalées comme des produits antifongiques isolés à partir des végétaux supérieurs (GRAYER et HARBORNE, 1994). Elles peuvent aussi assurer la protection des plantes en contribuant à la formation de barrières phénoliques (CLARKE, 1982; MALMBERG, 1984).

Chez la vigne atteinte d'eutypiose, un dérèglement des teneurs en PAs libres a été signalé dans les feuilles à certains stades de leur développement (BROQUEDIS *et al.*, 1993). Cette maladie, induite par le champignon *Eutypa lata*, est l'une des graves maladies de dépérissement de la vigne. L'agent pathogène est localisé dans le bois où il provoque sa dégradation par voie enzymatique (CHAPUIS, 1995). Son action ne se limite cependant pas à l'endroit où il se trouve, puisque des symptômes apparaissent sur la partie herbacée de la vigne alors que le champignon n'a jamais été isolé à partir de ces organes (BERNARD et MUR, 1986). Les pieds atteints montrent des entre-nœuds courts, mais toujours réguliers portant des feuilles de petites tailles. Sur un pied de vigne infecté, ces symptômes peuvent apparaître sur un seul bras uniquement comme sur les deux bras à la fois. Le rabougrissement des entre-nœuds, provoqué par ce champignon, suggère la présence d'un dérèglement de la balance hormonale dans ces organes, comme c'est le cas pour les feuilles (BROQUEDIS *et al.*, 1993).

Le but du présent travail est de préciser l'influence de l'eutypiose sur le contenu des différentes catégories de polyamines dans les entre-nœuds de vigne pendant leur phase de croissance active. Nous avons aussi essayé de mettre en évidence une éventuelle relation entre le dérè-

glement des teneurs en ces molécules et l'apparition des symptômes de la maladie.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Cette étude a été réalisée sur le Cabernet-Sauvignon, une variété de *Vitis vinifera* L. sensible à l'eutypiose. Les entre-nœuds situés entre les deux premières grappes à partir de la base des rameaux principaux de vigne ont été prélevés pendant deux années consécutives dans un vignoble du Bordelais (France). La récolte de ces organes a été effectuée aux stades boutons floraux séparés (BFS), floraison (FL), nouaison (N), 13 jours après nouaison (N+13 j) et fermeture de la grappe (FG). Trois états sanitaires ont été distingués pour chaque prélèvement : entre-nœuds sains (portés par des pieds sains), entre-nœuds apparemment sains (portés par un bras ne présentant pas de symptômes alors que l'autre bras est malade) et entre-nœuds malades (présentant des symptômes). Les entre-nœuds récoltés ont été immédiatement fixés à l'azote liquide, lyophilisés puis conservés à -20°C jusqu'au dosage. L'allongement non cumulé des entre-nœuds a été suivi pendant la période étudiée en réalisant la différence entre les longueurs d'un entre-nœud donné, mesurées lors des deux stades successifs.

Sur les échantillons prélevés, nous avons dosé la putrescine (Put), la spermidine (Spd) et la spermine (Spm) sous formes libres, liées aux macromolécules (-mm) et à des

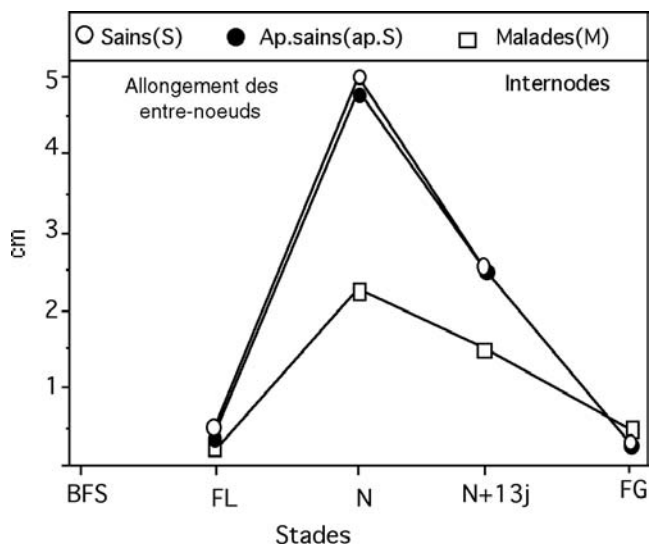


Fig. 1 : Influence de l'eutypiose sur l'allongement non cumulé des entre-nœuds du Cabernet sauvignon portés par des pieds sains et infectés par *Eutypa lata*. (S; Ap. Sains; M.; BFS; FL; N; N+13j; FG : voir abréviations).

Effect of eutypiosis on internodes lengthening in grapevines infected by *Eutypa lata*.

(Lengthening was calculated by difference between the lengths of one internode determined at two successive stages). (S; Ap. Sains; M.; BFS; FL; N; N+13j; FG : see abbreviations).

molécules de faible masse moléculaire (-fpm). Ces polyamines ont été extraites et dérivées par dansylation selon la méthode de FLORES et GALSTON (1982). Les entre-nœuds lyophilisés sont réduits en poudre, mis à macérer dans de l'acide chlorhydrique (HCl) 1N, puis le mélange est filtré à l'aide d'un filtre Whatman n°42. Le filtrat obtenu est évaporé à sec sous pression réduite, puis repris avec 3 ml d'HCl 1N. L'analyse chromatographique de ce filtrat permet de quantifier les PAs libres. Les PAs liées sont extraites de la même manière après hydrolyse acide d'une partie aliquote du filtrat et de la totalité du culot (HCl 6N à 110 °C pendant 10 heures). Les amines libérées à partir de l'hydrolyse du filtrat sont les polyamines liées aux molécules de faible masse moléculaire (PAs-fpm) et celles libérées du culot représentent les polyamines liées aux macromolécules (PAs-mm). L'extrait de PAs (200 µl) est déprotonné par 70 mg de carbonate de sodium puis dansylé avec 600 µl de chlorure de dansyle dilué dans de l'acétone (10 mg/ml). Après 17 heures de réaction à l'obscurité et à température ambiante, la réaction est stoppée par 300 µl de proline (150 mg/ml d'eau). Un ml de toluène est ajouté et l'extrait est centrifugé à froid (5 000 tours/min pendant 20 minutes). La phase organique contenant les PAs est récupérée puis évaporée à sec sous un flux d'azote. L'extrait sec est alors repris avec 500 µl de méthanol pour identification par chromatographie liquide à haute performance couplée à un détecteur fluorimétrique selon la méthode de SMITH et DAVIES (1985) adaptée à la vigne par GENY *et al.* (1997) pour les conditions chromatographiques. Les polyamines sont séparées sur une colonne inverse C18 (Purosphère RP 18 Merck dont le diamètre des particules est de 5 µm), de 24 cm de longueur et de 4 mm de diamètre intérieur maintenue à 30 °C. La séparation est optimisée par un gradient eau (contenant 0,1 % d'acide trifluoroacétique) -acétonitrile en 25 minutes (T 0 min : 65 %-35 % ; T 8 min : 35 %-65 % ; T17 min : 35 %-65 % ; T20 min : 65 %-35 % ; T25 min : 65 %-35 %). La détection est faite à 365 nm en excitation et à 510 nm en émission. Tous les résultats présentés correspondent à la moyenne de trois répétitions.

RÉSULTATS

I - ÉVOLUTION DE LA CROISSANCE DES ENTRE-NŒUDS

Quel que soit l'état pathologique considéré, l'augmentation de la longueur des entre-nœuds du Cabernet-Sauvignon est moyenne entre les stades BFS et FL. Elle devient maximale entre les stades FL et N avant de s'annuler au stade FG (fig. 1). La croissance des différents types d'entre-nœuds est achevée entre les stades N et 13 jours après la nouaison. La présence d'*E. lata* dans les pieds de vigne induit toutefois une réduction de la croissance des entre-nœuds, inhibition qui ne concerne pas les organes apparemment sains.

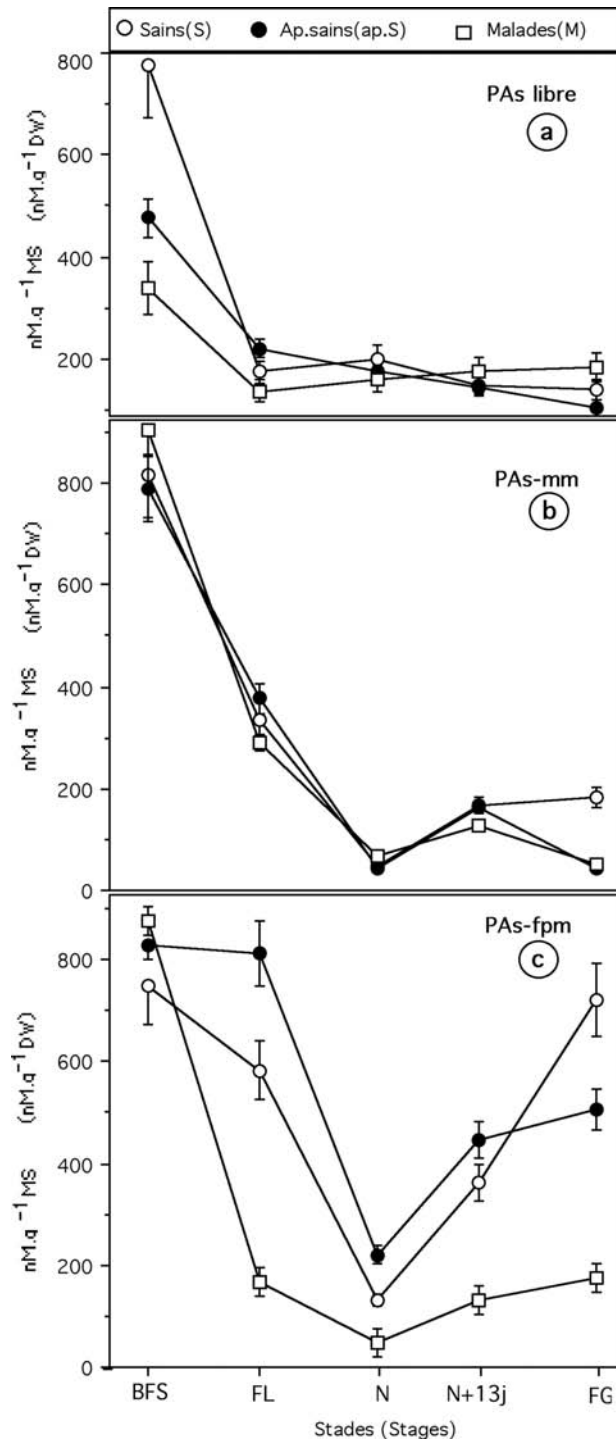


Fig. 2 : Influence de l'eutypiose sur l'évolution des teneurs en (a) PAs libres totaux, (b) PAs-mm totaux et (c) PAs-fpm totaux dans les entre-nœuds du Cabernet-Sauvignon au cours de leur phase de croissance active.

(S; Ap. Sains; M.; BFS; FL; N; N+13j; FG : voir abréviations).

Effect of Eutypiosis on development of (a) total free PAs, (b) total bound PAs (PAs-mm) and (c) total conjugated PAs (PAs-fpm) contents in Cabernet-Sauvignon internodes during their active phase of growth.

(S; Ap. Sains; M.; BFS; FL; N; N+13j; FG : see abbreviations)

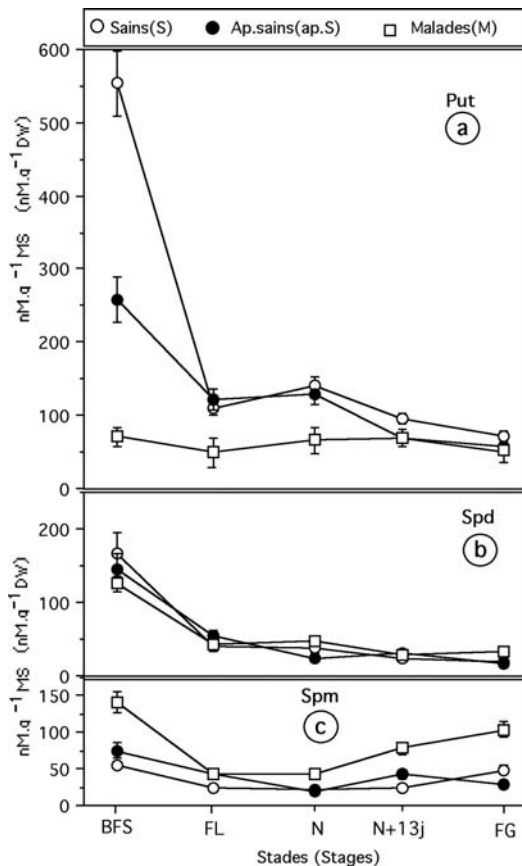


Fig. 3 : Influence de l'eutypiose sur l'évolution des teneurs des formes libres de (a) Put, (b) Spd et (c) Spm dans les entre-nœuds du Cabernet-Sauvignon au cours de leur phase de croissance active.

(S; Ap. Sains; M.; BFS; FL; N; N+13j; FG : voir abréviations).

Effect of Eutypiosis on development of (a) free Put, (b) free Spd and (c) free Spm contents in Cabernet-Sauvignon inter-nodes during their active phase of growth.

(S; Ap. Sains; M.; BFS; FL; N; N+13j; FG : see abbreviations)

II - ÉVOLUTION DES TENEURS EN POLY-AMINES DES ENTRE-NŒUDS

Le type d'évolution du total des PAs libres, des PAs-mm et des PAs-fpm des entre-nœuds n'est généralement pas perturbé par la maladie pendant leur phase de croissance active (fig. 2). L'analyse des différents types de PAs dans les catégories d'entre-nœuds prélevées est en accord avec cette constatation. En effet, dans ces organes, les teneurs en Spm libre diminuent du stade BFS au stade N (fig. 3c) avant de présenter une tendance à l'accumulation de manière plus ou moins intense selon l'état pathologique considéré. La Put-fpm s'accumule dans les trois catégories d'entre-nœuds particulièrement entre les stades N et FG (fig. 5a). En revanche, les teneurs de toutes les autres polyamines analysées subissent une forte diminution pendant la période étudiée quel que soit l'état patho-

logique des entre-nœuds, chute notée essentiellement entre les stades BFS et N (fig. 3, 4 et 5).

Néanmoins, l'eutypiose provoque généralement un dérèglement des teneurs en polyamines dans les entre-nœuds. Ces perturbations, qui affectent aussi les organes apparemment sains, sont observées particulièrement entre les stades BFS et N. L'action de cette maladie sur les teneurs en ces composés paraît dépendre de la polyamine et de la période considérées. En effet, les teneurs en Spd libre des entre-nœuds ne semblent pas être affectées par la présence d'*Eutypa lata* dans les pieds de vigne (fig. 3b). En revanche, l'eutypiose provoque un appauvrissement en Put libre, dérèglement intense pour les entre-nœuds malades et plus atténué pour les organes apparemment sains (fig. 3a). À l'inverse, les teneurs en Spm libre sont augmentées dans les entre-nœuds malades alors qu'elles ne sont pas affectées dans les organes apparemment sains (fig. 3c). Alors que l'action de l'eutypiose paraît s'annuler pour la Put libre dès le stade N+13 j, elle persiste dans le cas de la Spm libre pour les entre-nœuds rabougris.

En outre, l'eutypiose ne perturbe les teneurs en PAs-mm dans les entre-nœuds malades que pendant le stade BFS où elle induit un enrichissement en Spd-mm (fig. 4b) et en Spm-mm (fig. 4c) et un appauvrissement en Put-mm (fig. 4a). Les entre-nœuds malades présentent aussi un appauvrissement en Put-fpm (fig. 5a) et en Spd-fpm (fig. 5b) pendant pratiquement toute la période étudiée. Au contraire, dans les entre-nœuds apparemment sains, c'est un phénomène inverse qui est noté. L'action de l'eutypiose sur la Spm-fpm n'est pas aussi nette que pour les deux précédentes amines. Dans les entre-nœuds malades, on observe une tendance à l'enrichissement en Spm-fpm au stade BFS et un appauvrissement par la suite (fig. 5c). Dans les entre-nœuds apparemment sains, les teneurs en Spm-fpm ne sont que peu affectées par la maladie.

DISCUSSION

Les études concernant le mode d'action d'*Eutypa lata* sur la vigne sont peu nombreuses. Elles ont porté essentiellement sur les toxines produites par ce champignon (SOULIE *et al.*, 1993). Des dérèglements biochimiques ont aussi été signalés dans les organes présentant des symptômes de l'eutypiose (BROQUEDIS *et al.*, 1993, CHAPUIS, 1995, KOUSSA *et al.*, 2002). La présente étude montre, pour la première fois, que le métabolisme des polyamines est également perturbé par ce champignon dans les entre-nœuds du Cabernet-Sauvignon, dérèglement qui concerne aussi bien les formes libres que conjuguées (PAs-mm et PAs-fpm). Un tel résultat n'est pas étonnant puisqu'il a été signalé auparavant dans certains cas d'infections chez la vigne (DARRIEUMERLOU *et al.*, 2001) comme chez d'autres plantes (EDREVA, 1997, WALTERS, 2003).

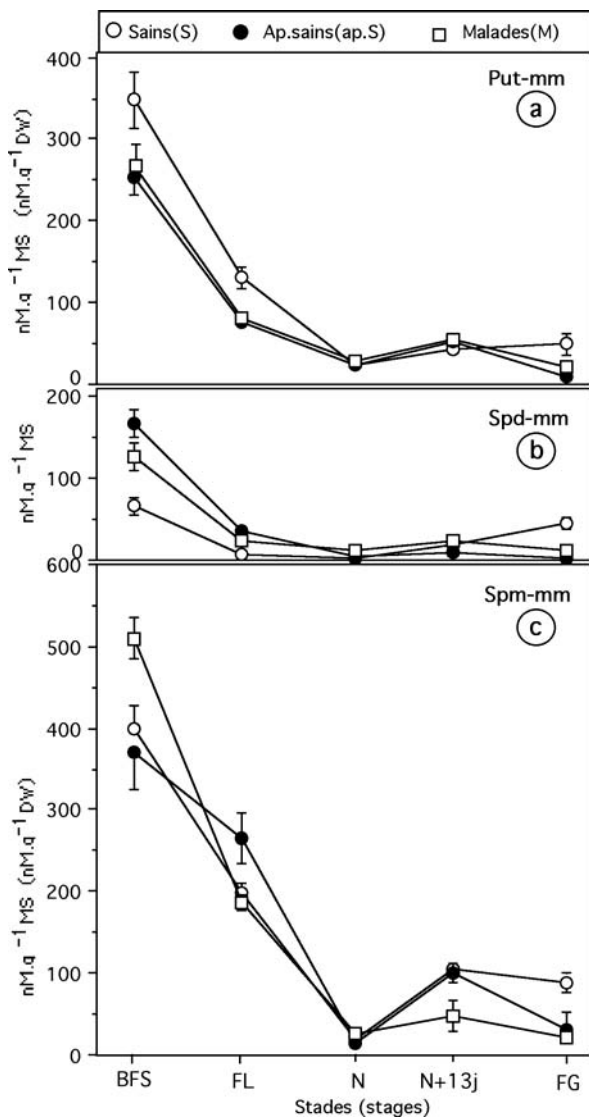


Fig. 4 : Influence de l'eutypiose sur l'évolution des teneurs en (a) Put-m-m, (b) Spd-m-m et (c) Spm-m-m dans les entre-nœuds du Cabernet-Sauvignon au cours de leur phase de croissance active.

(S; Ap. Sains; M.; BFS; FL; N; N+13 j; FG : voir abréviations).

Effect of Eutypiosis on development of (a) Put-m-m, (b) Spd-m-m and (c) Spm-m-m contents in Cabernet-Sauvignon internodes during their active phase of growth.

(S; Ap. Sains; M.; BFS; FL; N; N+13 j; FG : see abbreviations)

L'appauvrissement en PAs libres totaux provoquée par l'eutypiose dans les entre-nœuds portés par des pieds infectés (plus important dans les entre-nœuds malades que dans les entre-nœuds apparemment sains) est en accord avec les résultats signalant une réduction du contenu en PAs lors d'attaques par quelques agents pathogènes (BELLES *et al.*, 1991, EDREVA, 1997). Cependant, d'autres travaux rapportent une augmentation des teneurs

en PAs libres chez certaines plantes lors d'attaques parasitaires (FOSTER et WALTERS, 1992, DARRIEU-MERLOU *et al.*, 2001). Cet enrichissement qui a souvent été signalé dans des organes contenant l'agent pathogène, a poussé la plupart de ces auteurs à suggérer une origine fongique de ces PAs libres. Cultivé en milieu liquide, *Eutypa lata* est capable de synthétiser des PAs et de les libérer dans le milieu extérieur (KOUSSA *et al.*, 1997). La localisation de ce champignon dans les pieds de vigne et non dans les rameaux de l'année (BERNARD et MUR, 1986) ainsi que l'absence de l'augmentation des teneurs en PAs libres dans les entre-nœuds écartent la possibilité d'une participation des polyamines fongiques dans les variations des polyamines de ces organes. Cette hypothèse est étayée par les travaux de WALTERS et WYLIE (1986) sur *Hordeum vulgare* L qui mettent en évidence une réduction de l'augmentation des teneurs en PAs libres des feuilles infectées par *Erysiphe graminis* avec l'éloignement du site d'infection.

La réduction des teneurs en PAs libres des entre-nœuds portés par des pieds malades pourrait être mise en relation avec l'action de l'eutypine, toxine produite par *Eutypa lata* et qui peut circuler dans la plante. En effet, les travaux de DESWARTE *et al.* (1996) et d'AMBORABE *et al.* (2001) portant sur le mode d'action de l'eutypine, montrent que cette toxine affecte le fonctionnement des membranes cellulaires aboutissant à une altération du transport actif de certaines substances essentielles pour le fonctionnement de la cellule tels que les acides aminés. Ce fait aurait probablement comme conséquence la diminution des teneurs en PAs libres puisque les acides aminés sont les précurseurs de la biosynthèse des polyamines. La diminution des PAs libres dans les entre-nœuds apparemment sains étant plus faible que celle observée dans les organes malades, il est probable que l'eutypine y soit présente en plus faible quantité ou que son action soit moins accentuée. On peut également supposer que l'action de l'eutypine se ferait au niveau des enzymes de biosynthèse des polyamines. Le dosage de l'activité de ces enzymes dans des entre-nœuds traités par l'eutypine permettrait de vérifier cette hypothèse.

Pendant la période comprise entre les stades BFS et N, les entre-nœuds sains sont caractérisés par un allongement et des teneurs en PAs totaux libres élevées principalement en Put. Après le stade N, lorsque l'allongement des entre-nœuds devient faible, les teneurs en PAs connaissent leur niveau le plus bas. Un effet stimulateur des PAs libres sur l'allongement des entre-nœuds semble donc se dégager de ces résultats. Cela semble rejoindre les travaux de MARTIN-TANGUY et CARRE (1993) qui montrent, sur les rameaux de boutures de vigne, l'existence d'un gradient décroissant en PAs du sommet vers la base. C'est d'ailleurs ce qui ressort des travaux de cer-

tains auteurs qui signalent que les PAs interviennent dans la division et l'élongation cellulaire (LEE et CHU, 1992).

Dans les entre-nœuds présentant les symptômes de l'eutypiose, la croissance est fortement inhibée. L'appauvrissement de ces organes en PAs, qui concerne principalement la Put libre, n'est observé que pendant la période allant jusqu'au stade N, c'est-à-dire la phase de crois-

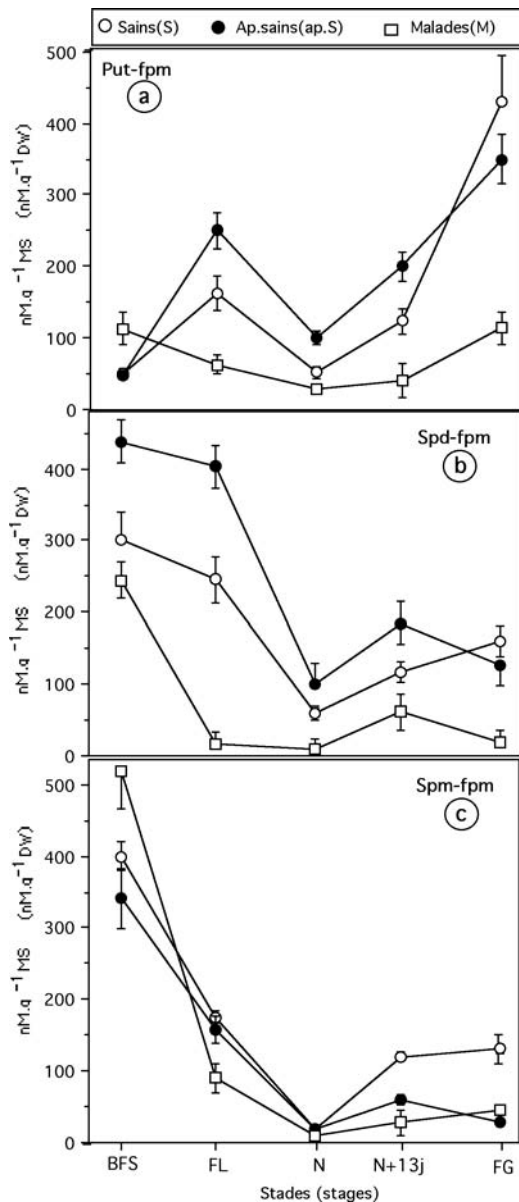


Fig. 5 : Influence de l'eutypiose sur l'évolution des teneurs en (a) Put-fpm, (b) Spd-fpm et (c) Spm-fpm dans les entre-nœuds du Cabernet-Sauvignon au cours de leur phase de croissance active.

(S; Ap. Sains; M.; BFS; FL; N; N+13j; FG : voir abréviations).

Effect of Eutypiosis on development of (a) Put-fpm, (b) Spd-fpm and (c) Spm-fpm contents in Cabernet-Sauvignon internodes during their active phase of growth.

(S; Ap. Sains; M.; BFS; FL; N; N+13j; FG : see abbreviations)

sance intense des entre-nœuds. Ce résultat est en accord avec l'hypothèse d'une stimulation de l'allongement des entre-nœuds par les polyamines. Cependant, l'allongement normal des entre-nœuds apparemment sains, malgré leurs teneurs réduites en PAs libres au stade BFS, par rapport aux organes sains, laisse supposer que ces substances n'agiraient pas seules sur la croissance, mais plutôt en association avec d'autres hormones. En effet, des auteurs ont signalé que l'allongement des entre-nœuds induit par les gibbérellines nécessite l'action synergique des PAs qui interviennent en favorisant la prolifération cellulaire et la synthèse de l'ADN dans ces organes (SMITH *et al.*, 1985; SMITH, 1990). De même, l'allongement du coléoptile du riz induit par un traitement avec les auxines, semble en relation avec leur enrichissement en Put et la réduction de leur teneur en Spm (LEE et LIN, 1996). Ces derniers travaux sont d'ailleurs en accord avec nos résultats, puisque les entre-nœuds malades, qui présentent une croissance réduite, sont caractérisés par de faibles teneurs en Put et des teneurs élevées en Spm par rapport aux organes sains. Un même type de perturbation a d'ailleurs été signalé par LEGAZ *et al.* (1998) dans les feuilles de la canne à sucre.

Entre les stades BFS et FL, le dérèglement des teneurs en Put-mm et en Spm-mm dans les entre-nœuds malades rappelle celui noté pour ces PAs sous leur forme libre. Il semblerait donc que l'action de l'eutypiose sur les PAs libres se répercuterait sur les PAs-mm. Cette constatation serait en accord avec les travaux FLORES et FILNER (1985) qui suggèrent que la conjugaison des PAs peut être un moyen pour réguler les quantités des polyamines libres dans les cellules végétales. Ainsi, l'appauvrissement en Put libre et l'enrichissement en Spm libre causés par l'eutypiose dans les entre-nœuds malades seraient respectivement compensés par la réduction de la teneur en Put-mm et l'augmentation de celle de la Spm-mm.

L'augmentation des teneurs en Put-fpm et en Spd-fpm dans les entre-nœuds apparemment sains est en accord avec les résultats obtenus dans d'autres cas d'infections. En effet, une accumulation de Put-fpm a été signalée par SAMBORSKI et ROBRINGER (1970) dans le cas du blé infecté par la rouille et par MALMBERG (1984) dans le système pomme de terre/*Phoma exigua*. D'après VON ROPENACK *et al.* (1998), l'augmentation des teneurs en PAs-fpm serait une réponse rapide de la plante après l'attaque du champignon afin de s'opposer à sa pénétration. Ainsi, ces molécules agiraient en formant des barrières phénoliques qui rendent les parois cellulaires résistantes à l'arsenal enzymatique et toxique du champignon (MALMBERG, 1984). On peut donc supposer que l'enrichissement des entre-nœuds apparemment sains en Put-fpm et en Spd-fpm agirait dans le même sens que celui signalé par ce dernier auteur. Dans le cas de l'eutypiose, le champignon n'est pas localisé dans les entre-

noeuds et son action serait due, au moins en partie, à la toxicité de l'eutypine (DESWARTE *et al.*, 1996 ; AMBORABE *et al.*, 2001). Dans les entre-noeuds apparemment sains, il est possible que les PAS-fpm accumulées puissent agir en renforçant les parois cellulaires s'opposant ainsi à la pénétration de l'eutypine. De même, d'autres chercheurs ont attribué aux PAS-fpm une action antifongique directe (VON ROPENACK *et al.*, 1998). Dès lors, ces PAS-fpm peuvent agir en réponse à l'infection parasitaire en assurant un rôle de transporteur de composés phénoliques jusqu'au site de présence du champignon, c'est-à-dire le vieux bois. Une telle possibilité de migration est tout à fait possible sous cette forme, puisqu'elle a été signalée auparavant par HAVELANGE *et al.* (1996).

En revanche, dans les entre-noeuds malades, la réduction des teneurs en Put-fpm et en Spd-fpm reflèterait la diminution des teneurs en composés phénoliques dans ces organes. Une telle réduction de composés phénoliques sous l'effet de l'eutypiose a d'ailleurs été signalée par DARNE *et al.* (2003) dans les bois de boutures inoculées par *E. lata*. De même, sur des cultures cellulaires de vigne, AFFIFI *et al.* (2003) ont pu mettre en évidence une action inhibitrice de l'eutypine sur le métabolisme des composés phénoliques et plus précisément sur la synthèse des anthocyanes. Ainsi, l'eutypiose, probablement par l'intermédiaire de l'eutypine, interviendrait en diminuant les teneurs en PAS-fpm réduisant la résistance des entre-noeuds à l'infection ce qui favoriserait l'apparition des symptômes. Ce rôle des PAS-fpm dans la réponse des plantes aux agressions parasitaires a été signalé par plusieurs auteurs comme LEGAZ *et al.* (1998) qui ont montré que les feuilles de la canne à sucre présentant les symptômes d'infection par *Ustilago scitaminea* ont des teneurs faibles en Put-fpm.

CONCLUSION

Le métabolisme des polyamines dans les entre-noeuds paraît être influencé par la présence d'*Eutypa lata* dans les pieds de vigne. L'appauvrissement en PAS libres pourrait être mis en relation avec le rabougrissement des entre-noeuds suggérant l'implication de ces substances dans la division et l'allongement cellulaire. Dans les entre-noeuds malades, les PAS-mm interviendraient probablement pour réguler les perturbations des PAS libres. En revanche, les PAS-fpm feraient partie de l'arsenal de défense de la vigne mobilisé à l'occasion du stress causé par l'eutypiose. Ainsi, dans les organes apparemment sains, l'accumulation des PAS-fpm s'opposerait à l'apparition des symptômes alors que la diminution de leurs teneurs favoriserait l'expression de la maladie.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- AFIFI M., EL-KEREAMY A., LEGRAND V., CHERVIN C., MONJE M.-C., NEPVEU F., ROUSTAN J.-P., 2003. Control of anthocyanin biosynthesis pathway gene expression by eutypine, a toxin from *Eutypa lata*, in grape cell tissue cultures. *J. Plant Physiol.*, **160** (8), 971-975.
- AMBORABE B.E., FLEURAT-LESSARD P., BONMORT J., ROUSTAN J.P. et ROBLIN G., 2001. Effects of eutypine, a toxin from *Eutypa lata*, on plant cell plasma membrane: Possible subsequent implication in disease development. *Plant Physiol. Biochem.*, **39** (1), 51-58.
- BELLES J.M., PEREZ-AMADOR M.A., CARBONELL J. et CONEJERO V., 1991. Polyamines in plant infected by citrus exocortis viroid or treated with silver ions and ethphon. *Plant Physiol.*, **96**, 1053-1059.
- BERNARD A.C. et MUR G., 1986. Les sites de présence de la souche des mycéliums d'*Eutypa lata*, agent causal de l'eutypiose de la vigne. *Prog. Agric. Vitic.*, **103** (11), 288-289.
- BROQUEDIS M., CAUCHOIS A., DUBOS B. et BOUARD J., 1993. L'acide abscissique et les polyamines dans les mycéliums d'*Eutypa lata* et dans les feuilles et les grappes de vigne atteintes d'eutypiose. In : *Actes du colloque O.I.L.B.*, 2-5 mars 1993, Bordeaux, France.
- CHAPUIS L., 1995. L'eutypiose de la vigne. Contribution à l'étude des relations hôtes parasites. *Thèse d'Université*, Bordeaux II. 176 p.
- CLARKE D.D., 1982. The accumulation of cinnamic acid amides in the cell walls of potato tissue as an early response to fungal attack. In: *Wood RKS, ed. Active Defence Mechanisms in Plants*. London: Plenum Press, 321.
- DESWARTE C., CANUT H., KLAEBE A., ROUSTAN J.P. et FALLOT J., 1996. Transport, cytoplasmic accumulation and mechanism of action of the toxin eutypine in *Vitis vinifera* cells. *J. Plant Physiol.*, **149** (3/4), 336-342.
- DARNÉ G., BRAQUESSAC P., LECOMTE P. et DUBOS B., 2003. Relation entre la sensibilité variétale et la composition phénolique de boutures de *Vitis vinifera* inoculées par *Eutypa lata*. *Œnologie 2003, Proceeding of 7th international symposium of oenology*, Arcachon (France), 19-21 Juin 2003. Editeur : Tec et Doc., 36-39.
- DARRIEUMERLOU A., GENY L., BROQUEDIS M. et DONÈCHE B., 2001. Évolution de la composition en polyamines des baies de raisin au cours du processus d'infection par *Botrytis cinerea*. *Vitis*, **40** (1), 11-15.
- EDREVA A., 1997. Tobacco polyamines as affected by stresses induced by different pathogens. *Biol. Plant*, **40**, 317-320.
- FLORES H.E., et FILNER P., 1985. Polyamines catabolism in higher plants : Characterization of pyroline deshydrogenase. *Plant Growth Regul.*, **3**, 277-291.
- FLORES H.E. et GALSTON A.W., 1982. Analysis of polyamines in higher plants by high performance liquid chromatography. *Plant Physiol.*, **69**, 701-706.
- FOSTER S.A. et WALTER D.R., 1992. Polyamine concentrations and activities of ornithine and arginine decarboxylase in wheat infected with the stem rust fungus. *J. Plant Physiol.*, **140**, 134-136.

- GALSTON A.W., 1983. Polyamines as modulators of plant development. *Bio. Scien.*, **33**, 382-388.
- GENY L., BROQUEDIS M., MARTIN-TANGY J., SOYER J. et BOUARD J., 1997. Effects of potassium nutrition on polyamines content of various organs of fruiting cuttings of *Vitis vinifera* L. cv. Cabernet Sauvignon. *Am. J. Enol. Vitic.*, **48**, 85-92.
- GRAY R. et HARBORNE J.B., 1994. Survey of antifungal compounds from higher plants. 1982-1993. *Phytochem.* **37**, 19-42.
- HAVELANGE A., LEJEUNE P., BERNIER G., KAUR-SAWHNEY R. et GALSTON A.W., 1996. Putrescine export from leaves in relation to floral transition in *Sinapis alba*. *Physiol. Plant.*, **96**, 59-65.
- KOUSSA T., BROQUEDIS M. et DUBOS B., 1997. Relation possible entre l'agressivité de deux souches d'*Eutypa lata* et leur contenu en polyamines et en acides abscissique. *J. Int. Sci. Vigne Vin*, **31** (3), 153-156.
- KOUSSA T., DUBOS B. et CHERRAD M., 2002. Les teneurs en acides gras, en eau et en acide abscissique des feuilles de vigne (*Vitis vinifera* L. var. Cabernet sauvignon) infectées par *Eutypa lata*. *Vitis*, **41** (3), 143-146.
- LEE T.M. et CHU, C., 1992. Ethylène-induced polyamine accumulation in rice (*Oryza sativa* L.) coleoptiles. *Plant Physiol.*, **100**, 283-245.
- LEE T.M. et LIN Y.H., 1996. Opposite effects of fusicoccin and IAA on putrescine synthesis of rice coleoptiles. *Physiol. Plant.*, **97**, 63-68.
- LEGAZ M.E., DE ARMAS R., PINON D. et VINCENTE C., 1998. Relationships between phenolics-conjugated polyamines and sensitivity of sugarcane to smut (*Ustilago scitaminea*). *J. Exp. Bot.*, **49**, 1723-1728.
- MALMBERG A., 1984. N-feruloylputrescine in infected potato tubers. *Acta Chemica Scand.*, **B38**, 153-155.
- MARTIN-TANGY J. et CARRE M., 1993. Polyamines in grapevine microcuttings cultivated *in vitro*. Effects of amines and inhibitors of polyamine biosynthesis on polyamine levels and microcutting growth and development. *Plant Growth Regul.*, **13** (3), 269-280
- SAMBORSKI DJ. et ROBRINGER R., 1970. Abnormal metabolites of wheat. occurrence, isolation and biogenesis of 2-hydroxy-putrescine amides. *Phytochem.*, **9**, 1939-1945.
- SMITH T.A., 1990. Plant polyamines-Metabolism and function. In *Polyamines and Ethylene*. Biochemistry, Physiology, and Interactions. Flores H.E., Arteca R.N. Shannon J.C., eds, *American Society of plant Physiologists*, 1-23.
- SMITH T.A. et DAVIES P.J., 1985. Separation and quantification of polyamines in plant tissue by high performance liquid chromatography of their dansyl derivatives. *Plant Physiol.*, **78**, 89-91.
- SMITH T.A., DAVIES P.J. et REID J.B., 1985. Role of polyamines in gibberellin-induced internode growth in peas. *Plant Physiol.*, **78**, 92-99.
- SOULIE O., ROUSTAN J.P. et FALLOT J., 1993. Early *in vitro* selection of eutypine-tolerant plantlets. Application to screening of *Vitis vinifera* cv. Ugni blanc somaclones. *Vitis*, **32**, 243-244.
- VON ROPENACK E., PARR A. et SCHULZE-LEFERT P., 1998. Structural analysis and dynamics of soluble and cell wall bound barley phenolics and their role in a broad spectrum resistance to the powdery mildew fungus. *J. Biology. Chem.*, **273**, 9013-9022.
- WALTERS D.R. 2000. Polyamines in plant-microbe interactions. *Physiol. Mol. Plant Pathol.*, **57**, 137-146.
- WALTERS D.R., 2003. Polyamines and plant disease. *Phytochem.*, **64** (1), 97-107.
- WALTERS D.R., WYLIE M.A., 1986. Polyamines in discrete regions of barley leaves infected with the powdery mildew fungus, *Erysiphe graminis*. *Physiol. Plant.*, **67**, 630-633.

Manuscrit reçu le 2 mai 2004 ; accepté pour publication, après modifications le 31 août 2004