Journal International des Sciences de la Vigne et du Vin, 1996, **30**, N°1, 7-13

MISE EN ÉVIDENCE D'UNE ACTIVITÉ ANTI-*BOTRYTIS* DANS LES CIRES ÉPICUTICULAIRES DE JEUNES BAIES DE *VITIS VINIFERA*, VARIÉTÉ PINOT NOIR

ANTI-*BOTRYTIS* ACTIVITY IN EPICUTICULAR WAXES OF YOUNG GRAPE BERRIES OF *VITIS VINIFERA* (PINOT NOIR)

P. COMMÉNIL* et **, L. BELINGHERI*, J.-C. AUDRAN**,
A. COLLAS*** et B. DEHORTER*

*Laboratoire de Cryptogamie-Phytopathologie, USTL, Bat. SN2, Et.2,
59655 Villeneuve d'Ascq cedex (France)
**Laboratoire de Biologie et Physiologie Végétales, URCA,
U.F.R. Sciences Exactes et Naturelles, B.P. 1039, 51687 Reims cedex 2 (France)
***Mumm - Perrier-Jouët, Vignobles et Recherches, 11 av. de Champagne, B.P. 186,
51206 Epernay cedex (France)

Résumé : Une activité anti-fongique, qui se manifeste par une inhibition de la germination des spores du *Botrytis cinerea*, a pu être mise en évidence dans les cires épicuticulaires des baies de raisin du cépage Pinot noir. Ce composé lipidique est présent pendant la phase de résistance des baies au *Botrytis cinerea* alors que son absence, variable selon les clones, coïncide avec la phase de sensibilité des baies au parasite.

Abstract : The susceptibility of the grape berries against *Botrytis cinerea* was known as a relation with their phenological state : young grapes are resistant while mature grapes are highly sensible. In the present study, chromatographic analysis (TLC) of the epicuticular waxes of the grape berries were performed, grape berries were originated from two sensible (S_{792}) and tolerant (T_{7613}) cultivars of Pinot noir vineyards along their ripening to flowering from grape harvest.

The epicuticular waxes of grape berries were generally composed by hydrocarbons, wax esters, free fatty acids, primary alcohols and triterpenoic acids (oleanolic acid). Changes in the epicuticular composition were shown along the maturation of grape berries, primary alcohols and oleanolic acid are predominant in the bloom stage and all constituent classes are noticed to maturity.

The evidence of a substance which exhibits a strong inhibition on the conidial germination of *Botrytis cinerea* was made after epicuticular waxes chromatographic analysis and biological tests. This compound, characterized by a Rf (0,2) closely related to the Rf of the primary alcohols, was present in the wax extracts originated from bloom and immature grape berries stages and it was absent in the extracts issued to the mature grape berries. The concentration of the conidial germination inhibitor was markedly different between the sensible (S_{792}) and tolerant (T_{7613}) cultivars of Pinot vineyards. Also this antifungal product would be considereted as an hypothetical resistance marked against *Botrytis cinerea.*

Mots-clés : *Vitis vinifera*, cuticule, cires épicuticulaires, *Botrytis cinerea*
Key words : *Vitis vinifera*, cuticle, epicuticular waxes, *Botrytis cinerea*

INTRODUCTION

Durant le cycle végétatif de la vigne (*Vitis vinifera* L.), la sensibilité au *Botrytis cinerea*, l'agent de la pourriture grise, varie selon les stades phénologiques des baies (BULIT et LAFON, 1977). Si les grappes demeurent généralement indemnes de pourriture depuis la floraison jusqu'à la véraison, elles deviennent ensuite sensibles au parasite et la contamination s'amplifie au cours de la maturation. Pourtant, la présence de spores au niveau des grappes peut être détectée à des stades bien plus précoces que le développement effectif de la maladie (COMMÉNIL, 1995), confirmant ainsi, pour le fruit, l'existence de deux phases, l'une de résistance, de la floraison à la véraison, où les baies sont réfractaires à l'infection, et l'autre de sensibilité (HILL et *al.*, 1981), de la véraison jusqu'à la vendange. Par des incubations de fruits sur milieu nutritif (PADGETT et MORRISON, 1990) et par des marquages radioactifs de spores de *Botrytis cinerea* (PEZET et PONT, 1986), ces auteurs ont montré que le parasite peut rester latent, soit à la surface des baies, soit à l'intérieur de celles-ci. Les baies vertes et immatures s'opposent au développement du parasite sauf si elles sont

blessées, ce qui souligne la localisation essentiellement pelliculaire des mécanismes de défense mis en jeu (Mc CLELLAN et HEWITT, 1973 ; BLAKEMAN, 1976). De multiples facteurs physiques et chimiques sont évoqués pour expliquer la résistance de la baie de raisin au *Botrytis cinerea*. Plus particulièrement, en ce qui concerne les causes chimiques de la résistance, différents composés présents dans la pellicule sont connus pour leur toxicité vis-à-vis du *Botrytis cinerea* : acides organiques et stilbènes (PEZET et PONT, 1988). La concentration de ceux-ci diminuant durant la maturation des fruits, la réceptivité à la maladie des baies mûres pourrait être liée à la disparition d'inhibiteurs présents transitoirement dans le raisin immature (JEANDET et BESSIS, 1989). Il faut noter que tanins et anthocyanes pourraient aussi être impliqués dans la résistance des baies au *Botrytis cinerea* (NYERGES et *al.*, 1975 ; BLAICH et *al.*, 1982). Les cires épicuticulaires, structure la plus superficielle de la cuticule, peuvent constituer également une barrière chimique à l'infection (MARTIN, 1964 ; MAROIS et *al.*, 1985, 1986). Dans ce sens, PERCIVAL et *al.* (1993) expliquent en partie la tolérance du cépage Cabernet-Sauvignon par la qualité (structure) et la quantité des cires épicuticulaires en relation avec la compacité des grappes et leur exposition à la lumière. De même, ROSENQUIST et MORRISON (1989) montrent que les grains en contact étroit possèdent moins de cires au niveau de la zone de contact, contribuant à la sensibilité au *Botrytis cinerea*. Des substances inhibitrices de la croissance du parasite ont déjà été mises en évidence dans les cires cuticulaires ou dans les exsudats associés à celles-ci (PADGETT et MORRISON, 1990). D'une façon similaire, BLAKEMAN et ATKINSON (1976) ont isolé des cires épicuticulaires de feuilles de chrysanthème un composé à action biocide. Chez le genre *Lupinus*, HARGREAVES et *al.* (1980) indiquent la présence, à la surface des feuilles, d'isoflavones (lutéone et wighteone) extraites à l'acétone et présentant des effets toxiques pour les pathogènes.

Cette étude a pour objet d'analyser, chez deux clones de Pinot noir plus ou moins sensibles au *Botrytis cinerea*, les modifications de la composition des cires épicuticulaires au cours de la formation de la baie de raisin et, parallèlement, de préciser l'effet de ces composés sur la germination des spores de *Botrytis cinerea*. Plus précisément, peut-on mettre en évidence, dans les cires épicuticulaires des baies de raisin, un composé fongitoxique qui serait relié à une plus ou moins grande sensibilité des baies ?

MATÉRIELS ET MÉTHODES

I — MATÉRIEL VÉGÉTAL

Les deux clones de Pinot noir, sujets de nos prélèvements, sont situés dans le vignoble champenois et font partie des parcelles d'essai des sociétés Mumm-Perrier-Jouët, Vignobles et Recherches.

Ces clones de Pinot noir, sélectionnés pour leur différence de sensibilité au *Botrytis cinerea*, sont notés S_{792} pour le clone sensible et T_{7613} pour le clone tolérant. Les expérimentations sont réalisées à divers stades caractéristiques de la formation de la baie de raisin : floraison (chute des capuchons floraux), nouaison (début de la croissance et du développement du jeune ovaire en fruit), fermeture de la grappe (grappes pendantes), véraison (les baies prennent leur couleur caractéristique), début de maturation, vendange.

II — EXTRACTION DES CIRES ÉPICUTICULAIRES DES BAIES DE RAISIN

L'extraction des cires épicuticulaires pour chacun des deux clones et pour tous les stades de prélèvement a été réalisée sur du matériel frais. A partir des grappes de raisins préalablement lavées à l'eau et séchées sur papier filtre, les cires épicuticulaires des baies sont extraites par immersion directe dans deux bains successifs de chloroforme respectivement de 30 secondes et d'une minute. Les extraits sont filtrés sur filtres 1PS (phase separator), concentrés par évaporation sous vide et conservés à -20°C jusqu'à leur chromatographie. Pour déterminer la présence éventuelle de phospholipides (constituants des membranes cellulaires), des aliquotes des extraits obtenus après les bains de chloroforme de 30 secondes et d'une minute sont déposés sur une plaque de gel de silice puis chromatographiés dans un solvant de migration convenant pour les lipides polaires (chloroforme/ méthanol/ acétone/ acide acétique glacial/ eau distillée, 50:10:20:10:5, v/v/v/v/v). La comparaison avec des témoins (phosphatidylinositol, phosphatidylsérine, phosphatidyléthanolamine) ne montre pas la présence de phospholipides dans les extraits « 30 secondes » et « 1 minute ». Il n'y a donc pas eu de contamination par des lipides membranaires lors de l'extraction. On rassemble alors les extraits « 30 secondes » et « 1 minute ».

III — CHROMATOGRAPHIE DES CIRES ÉPICUTICULAIRES

Les cires épicuticulaires (50 µg/dépôt) ont été séparées, par chromatographie unidimensionnelle sur couche mince de silice (C.C.M., plaques Sil G-25 Macherey-Nagel, HR), dans le solvant hexane/ éther éthylique/ acide acétique (78:20:4, v/v/v) utilisé pour

l'analyse des lipides neutres (FONVIEILLE et *al.*, 1987). Les témoins employés (10 µg/dépôt) sont : le n-tétracosane ($C_{24}H_{50}$, hydrocarbure), l'oléate de méthyle ($C_{19}H_{37}O_2$, ester d'acide gras), l'acide oléique ($C_{18}H_{34}O_2$, acide gras), l'alcool lignocérique (1-tétracosanol, $C_{24}H_{50}O$, alcool primaire), l'acide oléanolique ($C_{30}H_{48}O_3$, acide triterpénoïque). Pour l'analyse des catégories lipidiques, les chromatogrammes sont révélés par pulvérisation de primuline à 0,01 p. cent (p/v) dans un mélange eau/ acétone (80:20, v/v). La lecture s'effectue sous UV à 365 nm. Parallèlement, des chromatogrammes identiques sont soumis au test biologique d'inhibition.

IV — MATÉRIEL FONGIQUE

La souche de *Botrytis cinerea* provient d'un isolement monospore réalisé après prélèvement sur une baie de raisin contaminée. Utilisées pour ce test, les spores sont obtenues de cultures du champignon à 23°C, sous un éclairement (1000 µW.cm-2) journalier de 16 heures en lumière blanche et sur milieu à base de jus de légumes (V8 juice, Campbell Soup) à pH 7,0, glucosé (1 p. cent, p/v), gélosé (2 p. cent, p/v), réparti (20 ml) en tubes pyrex 25 x 200 mm, stérilisé et ensemencé à l'aide de boutures mycéliennes. Après deux semaines, les conidies sont récupérées des tubes de culture sur gélose inclinée par agitation dans une solution aqueuse de Tween 80 à 0,1 p. cent. La suspension, après avoir été filtrée par passage sur la laine de verre, est agitée au vortex avant d'être centrifugée à 10.000 tours/minute pendant 10 minutes. Le traitement du culot de spores, agitation dans une solution de Tween 80 puis centrifugation, est répété trois fois. Enfin, après une dernière centrifugation, les conidies sont placées dans une solution d'eau de pomme de terre glucosée (Difco). La suspension est ajustée à 1,8 x 10^6 spores/ml par comptage sur cellule de Nageotte.

V — TEST SUR PLAQUES DE SILICE

Sur les chromatogrammes des cires épicuticulaires séchés et déposés à plat, est pulvérisée la suspension de spores du *Botrytis cinerea* jusqu'à humidification complète des gels de silice. Après 3 heures à température ambiante, ces derniers sont déposés dans des boîtes hermétiques dont toutes les faces sont recouvertes de papier filtre imbibé d'eau pour maintenir une forte humidité relative. Dans ces conditions d'humidité nécessairement optimales pour la germination des conidies, l'incubation des boites est effectuée à 23°C sous 16 heures de lumière blanche par jour pendant 3 jours. Les chromatogrammes sont alors examinés à l'oeil nu et la croissance mycélienne est estimée par rapport à celle évaluée lorsque l'échantillon chromatographié n'est constitué que par le solvant (chloroforme). Des valeurs arbitraires sont attribuées en regard de l'activation ou de l'inhibition de la croissance (PADGETT et MORRISON, 1990) :

- 1 = croissance inhibée d'au moins 90 p. cent par rapport à la croissance du témoin,
- 2 = croissance inhibée de 20 à 90 p. cent par rapport à la croissance du témoin,
- 3 = croissance égale entre 80 et 120 p. cent par rapport à la croissance du témoin,
- 4 = croissance activée de plus de 120 p. cent par rapport à celle du témoin.

Pour confirmer les estimations visuelles précédentes, une technique très simple de détection de la zone d'inhibition après coloration a été mise au point. Ainsi, les couches minces sont plongées directement pendant 5 minutes dans une solution aqueuse de bleu de méthyle (bleu coton) à 0,25 p. cent (p/v) puis lavées à l'eau 10 minutes. Cette méthode très rapide fait apparaître les lipides en bleu foncé, la croissance fongique en bleu clair et les zones d'inhibition de la croissance fongique par des zones claires très peu colorées.

VI — TEST SUR LAMES GÉLOSÉES

La fraction des cires épicuticulaires, inhibitrice de la croissance mycélienne du *Botrytis cinerea*, détectée lors du test sur plaque est recueillie par grattage de la silice en regard de la tache correspondant au dépôt témoin des alcools primaires. La silice récupérée est éluée pendant 2 heures et sous agitation intermittente, dans un mélange chloroforme/méthanol (2:1, v/v) à 0,5 p. cent (v/v) d'acide acétique glacial. L'éluat est desséché sous vide puis repris dans un volume d'éthanol absolu pour obtenir une solution à 10 $mg.ml^{-1}$. Celle-ci est introduite à raison de 0,1 ml dans 5 ml de milieu malt (2 p. cent, p/v) gélosé à 1,5 p. cent (p/v), maintenu en surfusion et finalement réparti à la surface de lames de verre. De même, sont préparées des lames du milieu témoin où l'échantillon est remplacé par l'éthanol absolu. Dans les deux cas, une suspension conidienne, obtenue dans les mêmes conditions que précédemment, est pulvérisée sur les lames. La germination des spores est observée au microscope optique après différents temps (12, 24 et 48 heures) d'incubation des lames en chambre humide (23°C, 16 heures de lumière blanche par jour).

RÉSULTATS

I — ÉVOLUTION DE LA COMPOSITION DES CIRES ÉPICUTICULAIRES AU COURS DU DÉVELOPPEMENT DE LA BAIE

L'évolution de la composition des cires épicuticulaires lors du développement des baies est suivie par

l'étude du chromatogramme de la planche I. Les différents constituants sont identifiés par référence aux Rf des substances témoins. Les proportions des diverses catégories lipidiques sont estimées par l'importance des taches après coloration à la primuline.

L'analyse des constituants lipidiques majeurs montre, d'une manière générale, la présence d'hydrocarbures, d'esters d'acides gras ou cérides, d'acides gras libres et de composés plus polaires parmi lesquels des alcools primaires et acides gras cycliques, dont l'acide oléanolique. Cet acide est bien connu pour être présent en quantité importante dans les cires de baies de raisin (RADLER, 1968).

En plus de ces composés, peuvent être présents des aldéhydes, stérols, cétones et alcools secondaires mais ceux-ci restent minoritaires.

Plusieurs constatations peuvent être établies par comparaison des différents extraits :

- Floraison (1) : les alcools primaires sont les constituants majeurs ainsi que l'acide oléanolique. Les acides gras libres et les hydrocarbures sont présents en faible quantité tandis que les cérides sont quasiment absents à ce stade.

- Nouaison (2) : les cérides, les alcools primaires et l'acide oléanolique sont les constituants les mieux représentés. On note la présence d'acides gras libres en quantité plus faible et d'hydrocarbures à l'état de traces.

- Fermeture de la grappe (3) : la composition des cires à ce stade paraît similaire à celle qui a été observée à la nouaison.

- Véraison (4) : les cérides, les acides gras libres et l'acide oléanolique sont les composés les plus importants. Notons l'augmentation de la proportion des hydrocarbures. La teneur en alcools primaires est sensiblement égale à celle en hydrocarbures. A ce stade apparaît un nouveau composé minoritaire (Rf = 0,15) que nous n'avons pas pu identifier. Sa migration se situe entre l'acide oléanolique et les alcools primaires.

- Début de maturation (5) : peu de modifications sont notées par rapport au stade antérieur.

- Vendange (6) : les acides gras libres et l'acide oléanolique sont les constituants majeurs suivis par les cérides. Les hydrocarbures sont ensuite les constituants les mieux représentés, tandis que les alcools primaires et le composé non identifié (Rf 0,15) sont présents en quantité plus faible.

Les points qui nous paraissent essentiels sur l'ensemble de ces résultats sont les suivants :

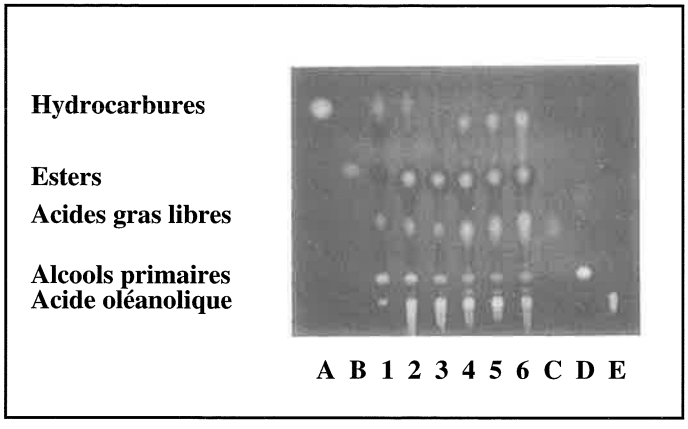


Planche I — Chromatographie sur couche mince des cires épicuticulaires de baies de raisin (var. Pinot noir) à différents stades de leur développement

Le solvant de chromatographie est composé par le mélange hexane/ éther éthylique/ acide acétique glacial (78:20:4 ; v/v/v). A : n-tétracosane, B : oléate de méthyle, C : acide oléique, D : tétracosanol, E : acide oléanolique. 1 : floraison, 2 : nouaison, 3 : fermeture de la grappe, 4 : véraison, 5 : début de maturation, 6 : vendange. A, B, C, D, E : 10 µg/dépôt. 1, 2, 3, 4, 5, 6 : 50 µg/dépôt.

- l'importance de l'acide oléanolique dans les stades 2 à 6 où sa teneur semble constante,

- l'apparition des cérides au stade nouaison. Les stades 2 et 3 sont ceux où la proportion en cérides est la plus forte,

- la présence en faible quantité d'acides gras libres et d'hydrocarbures aux stades floraison, nouaison et fermeture de la grappe. C'est à partir de la véraison que les acides gras libres sont des constituants majeurs des cires,

- les alcools primaires sont largement majoritaires à la floraison. Leur teneur diminue lors de la maturation de la baie,

- l'apparition, à partir de la véraison, d'un composé nouveau de nature inconnue.

Des changements importants interviennent dans la composition des cires épicuticulaires au cours de la maturation de la baie et trois phases peuvent être distinguées. La première phase correspond à la floraison où les cires sont formées essentiellement d'alcools. La deuxième qui englobe les stades nouaison et fermeture de la grappe se caractérise par la présence importante d'acide oléanolique et de cérides. La troisième phase, de la véraison jusqu'au stade vendange, révèle principalement une augmentation de la teneur en acides gras libres et en hydrocarbures. La véraison semble être un stade charnière où de nombreuses modifications sont détectables.

Ces observations sont obtenues pour les deux clones sélectionnés S_{792} et T_{7613}. En effet, d'un point de vue

analytique, on ne note pas de différences significatives dans les proportions des catégories lipidiques entre ces deux clones.

II — PRÉSENCE D'UN INHIBITEUR DE GERMINATION DES SPORES DU *BOTRYTIS CINEREA* DANS LES CIRES ÉPICUTICULAIRES

Le test d'inhibition de la germination des spores a été réalisé sur plaques de gel de silice, après chromatographie des échantillons correspondant aux cires épicuticulaires des baies des clones S_{792} et T_{7613}, aux différents stades caractéristiques de leur développement (Planche II).

Sur les plaques de silice ensemencées par une suspension de spores de *Botrytis cinerea*, on remarque après trois jours d'incubation l'existence d'une zone présentant un fort effet inhibiteur sur la germination des spores (valeur 1 sur l'échelle). Cette zone correspond à un composé présentant un Rf compris entre 0,2 et 0,3 dont la migration est identique à celle des alcools primaires. La zone d'inhibition est essentiellement détectée pour les extraits provenant des stades précoces de la maturation des baies (floraison, nouaison, fermeture de la grappe).

Les cires épicuticulaires des baies de raisin du cépage Pinot noir renferment donc un composé fongitoxique dont la présence varie selon les stades phénologiques des fruits. Existe-t-il alors des différences dans la teneur de ce composé fongitoxique entre les deux clones sélectionnés ?

Les résultats présentés dans le tableau I font apparaître des différences entre le clone sensible S_{792} et le clone tolérant T_{7613}. Si l'inhibition est identique jusqu'au stade fermeture de la grappe, des modifications interviennent à la véraison.

En effet, nos résultats indiquent une absence d'inhibition qui apparaît pour le clone S_{792} à partir de ce stade. En ce qui concerne le clone T_{7613}, il semblerait que l'action de l'inhibiteur persiste jusqu'au stade début de maturation (valeur 2 sur l'échelle).

III — INHIBITION DE LA GERMINATION DES SPORES DU *BOTRYTIS CINEREA* SUR LAMES GÉLOSÉES

A partir de l'ensemble des extraits (stades confondus), l'activité antifongique du composé (0,2 ‹ Rf › 0,3) élué des plaques de silice a été éprouvée après culture de spores du *Botrytis cinerea* sur lames de malt gélosé.

Les observations microscopiques montrent, après 12 heures d'incubation, une germination importante des spores de *Botrytis cinerea* à la surface des lames gélosées ne contenant pas l'extrait (Planche III A). Parallèlement, nous constatons une inhibition complète de la germination des spores à la surface des lames de malt additionné (0,02 p. cent, p/v) de l'extrait fongitoxique. Cet effet se poursuit après 48 heures d'incubation (Planche III B) alors que les lames témoins sont déjà recouvertes d'une nappe mycélienne.

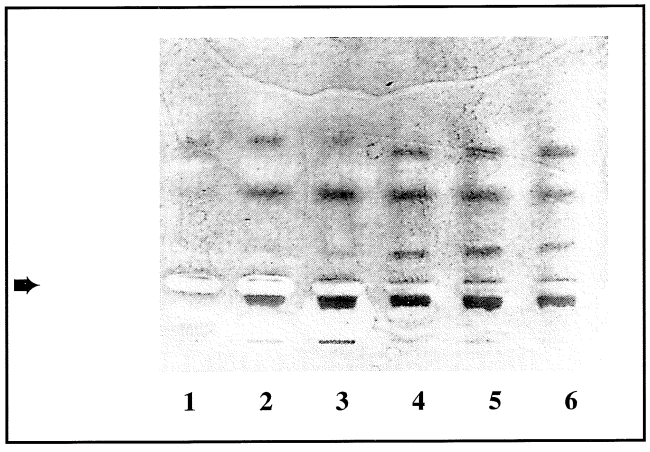


Planche II — Test biologique sur C.C.M. de la mise en évidence d'un inhibiteur de germination des spores de *Botrytis cinerea* dans les cires épicuticulaires des baies de raisin var. Pinot noir.

1 : floraison, 2 : nouaison, 3 : fermeture de la grappe, 4 : véraison, 5 : début de maturation, 6 : vendange. L'inhibition de la germination des spores de *Botrytis cinerea* est mise en évidence au niveau des zones très peu colorées (➨ = inhibition de la germination).

TABLEAU I

Comparaison entre les clones S_{792} et T_{7613}

Stades	Clones	
	S_{792}	T_{7613}
Floraison	1	1
Nouaison	1	1
Fermeture de la grappe	1	1
Véraison	3	2
Début de maturation	3	2
Vendange	3	3

Estimation de l'inhibition : 1 = croissance inhibée d'au moins 90 p. cent par rapport à la croissance du témoin. 2 = croissance inhibée de 20 à 90 p. cent par rapport à la croissance du témoin. 3 = croissance égale entre 80 et 120 p. cent par rapport à la croissance du témoin

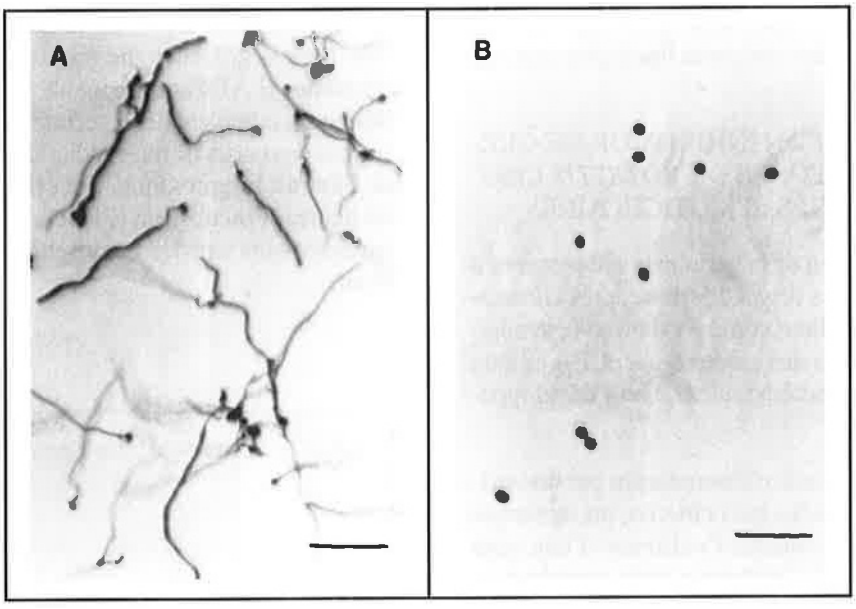


Planche III — Effet de la fraction inhibitrice sur la germination des spores de *Botrytis cinerea* sur lames gélosées

A : Témoins conidies en germination après 12 heures d'incubation. B : Action de la fraction inhibitrice, présente à 0,02 p. cent, p/v dans la gélose, sur la germination des spores après 48 heures d'incubation (barre = 100 µm).

DISCUSSION ET CONCLUSION

Ces travaux montrent la présence, dans les cires épicuticulaires des baies de raisin, variété Pinot noir, d'un composé lipidique, inhibiteur de la germination des spores du *Botrytis cinerea*, et présentant sur C.C.M. un Rf comparable à celui des alcools primaires. La présence de cette substance anti-fongique localisée dans les cires épicuticulaires des baies de raisin peut être corrélée avec la phase dite de résistance des baies au *Botrytis cinerea* (floraison, nouaison, fermeture de la grappe). Son absence, plus ou moins complète à partir de la véraison, semble coïncider avec la phase de sensibilité des baies. D'autre part, nous constatons, à partir de la véraison, des variations dans la teneur du produit qui pourraient expliquer en partie les différences de comportement des clones vis-à-vis du *Botrytis cinerea.* La présence, dans le clone tolérant T_{7613}, d'un inhibiteur jusqu'à des stades avancés de la maturation pourrait protéger les baies d'une attaque et ainsi réduire à quelques semaines la période de forte sensibilité. Ce composé présente une grande stabilité puisque son activité est conservée après chromatographie sur couche mince de silice. Ces résultats sont à rapprocher de ceux obtenus par PEZET et PONT (1984). Ces auteurs ont détecté, dans les jeunes grappes de *Vitis vinifera*, variété Gamay, une activité antifongique présente de la floraison des baies jusqu'à leur véraison. Ce composé de nature lipophile n'a pas été identifié ni localisé et son effet se manifeste par des ruptures membranaires comparables à celles observées lors de l'action de détergents. Deux hypothèses peuvent être émises quant à la disparition de l'effet inhibiteur du produit sur la croissance du *Botrytis cinerea*. Il peut s'agir soit de variation quantitative, soit de variation de la nature du composé entraînant son inactivation au cours du développement du fruit. Les analyses par C.C.M montrent que ce produit est caractérisé par un Rf équivalent à celui des alcools primaires qui sont constamment présents dans les cires. Une étape préalable de purification de l'inhibiteur est donc indispensable afin de procéder à sa caractérisation. Sa détermination serait susceptible d'ouvrir une voie supplémentaire dans la lutte contre la pourriture grise. Ce composé pourrait être considéré comme un marqueur de résistance de *Vitis vinifera* au *Botrytis cinerea.*

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

BLAICH R., BACHMANN O. et STEIN U., 1982. Causes biochimiques de la résistance de la vigne à *Botrytis cinerea. Bull. O.E.P.P.*, **12,** 167-170.

BLAKEMAN J.-P., 1976. Effect of substances associated with the surface wax of leaves on germination of *Botrytis cinerea conidia. V^e Symposium sur les* Botrytis, Bordeaux.

BLAKEMAN J.-P. and ATKINSON P., 1976. *Evidence for a spore germination inhibitor co-extracted with wax from leaves. In* : Dickinson C. H. and Preece T. F., eds., Microbiology of aerial plant surfaces, Academic Press, London, 441-450.

BULIT J. et LAFON R., 1977. *Observations sur la contamination des raisins par le Botrytis cinerea* Pers. Travaux dédiés à Georges Viennot-Bourgin. Société Française de Phytopathologie, 61-69.

COMMÉNIL P., 1995. Lipase, enzyme de pathogénicité ? Approche enzymatique de la pénétration cuticulaire de la baie de Raisin (*Vitis vinifera* L., cépage Champenois de Pinot noir) par l'agent de la pourriture grise *Botrytis cinerea* Pers. (Téléomorphe *Botryotinia fuckeliana* De Bary). *Thèse de Doctorat*, mention Biologie et Physiologie Végétales, Université de Reims Champagne-Ardenne, 186 pages.

FONTVIEILLE J.-L., TOUZE-SOULET J.-M. et MONTANT Ch., 1987. Les systèmes membranaires de *Scopulariopsis brevicaulis*. II. Etude comparée de leur composition lipidique. *Can. J. Microbiol.*, **33**, 78-81.

HARGREAVES J.-A., BROWN G.-A. and HOLLOWAY P. J., 1980. *The structural and chemical characteristics of the leaf surface of* Lupinus albus *L. in relation to the distribution of antifungal compounds. In* : Cutler D. F., Alvin K. L. and Price C. E., eds, The plant cuticle, Academic Press, London, 331-340.

HILL G., STELLWAAG-KITTLER F., HUTH G. and Schlosser E., 1981. Resistance of grapes in different developmental stages to *Botrytis cinerea. Phytopath. Z.*, **102**, 328-338.

JEANDET P. et BESSIS R., 1989. Une réflexion sur les mécanismes morphologiques et biochimiques de l'interaction vigne-*Botrytis. Bull. O. I. V.*, 637-657.

MAROIS J.-J., BLEDSOE A.-M. and GUBLER W.-D., 1985. Effect of surfactants on epicutilar wax and infection of grape berries by *Botrytis cinerea. Biological Abstracts*, **75**, n°11, 1329.

MAROIS J.-J., NELSON J.-K., MORRISON J.-C., LILE L. S. and BLEDSOE A.-M., 1986. The influence of berry contact within grape clusters on the development of *Botrytis cinerea* and epicuticular wax. *Am. J. Enol. Vitic.*, **37**, n°4, 293-296.

MARTIN J.-T., 1964. Role of cuticle in the defense against plant disease. *Ann. Rev. Phytopathol.*, **2**, 81-100.

McCLELLAN W.-D. and HEWITT W. B., 1973. Early *Botrytis* rot of grapes : Time of infection and latency of *Botrytis cinerea* Pers. in *Vitis vinifera* L. *Phytopathology*, **63**, 1151-1157.

NYERGES P., SZABO E. and DONKO E., 1975. The role of anthocyan and phenol compounds in the resistance of grapes against *Botrytis* infection. Acta Phytopathol. *Acad. Sci. Hung.*, **10**, n°1-2, 21-32.

PADGETT M. and MORRISON J.-C., 1990. Changes in grape berry exudates during fruit development and their effect on mycelial growth of *Botrytis cinerea. J. Amer. Soc. Hort. Sci.*, **115**, n°2, 269-273.

PERCIVAL D.-C., SULLIVAN J.-A. and FISHER K.-H., 1993. Effect ot cluster exposure, berry contact and cultivar on cuticular membrane formation and occurence of bunch rot (*Botrytis cinerea*) with three *Vitis vinifera* L. cultivars. *Vitis*, **32**, n°2, 87-99.

PEZET R. et PONT V., 1984. *Botrytis cinerea* : Activité antifongique dans les jeunes grappes de *Vitis vinifera*, variété Gamay. *Phytopath. Z.*, **111**, 73-81.

PEZET R. et PONT V., 1986. Infection florale et latence de *Botrytis cinerea* dans les grappes de *Vitis vinifera* (var. Gamay). *Revue Suisse Vitic. Arboric. Hortic.*, **18**, n°5, 317-322.

PEZET R. et PONT V., 1988. Activité antifongique dans les baies de *Vitis vinifera* : effets d'acides organiques et du ptérostilbène. *Revue Suisse Vitic. Arboric. Hortic.*, **20**, n°5, 303-309.

RADLER F., 1968. La cire cuticulaire des grains de raisin et des feuilles de la vigne. *Conn. Vigne Vin*, **3**, 271-294.

ROSENQUIST J. K. and MORRISON J. C., 1989. Some factors affecting cuticle and wax accumulation on grape berries. *Am. J. Enol. Vitic.*, **40**, n°4, 241-244.

Manuscrit reçu le 1er décembre 1995 ;
accepté pour publication le 8 février 1996