

Sarments de vigne: nouvelle source de composés antifongiques

Sylvain SCHNEE¹, Francine VOINESCO¹, Pierre-Henri DUBUIS¹, Olivier VIRET¹, Jean-Luc WOLFENDER², Emerson F. QUEIROZ² et Katia GINDRO¹

¹Agroscope, 1260 Nyon

²Phytochimie et produits naturels bioactifs, Section des sciences pharmaceutiques, Université de Genève - Université de Lausanne, 1211 Genève 4

Renseignements: Katia Gindro, e-mail katia.gindro@agroscope.admin.ch, tél. +41 22 363 43 74, www.agroscope.ch



Taille hivernale de la vigne avec les sarments prêts à être broyés.

Introduction

La plupart des vignobles sont composés de vignes européennes (*Vitis vinifera*) sensibles au mildiou (*Plasmopara viticola*), à l'oidium (*Erysiphe necator*) et à la pourriture grise (*Botrytis cinerea*). En Suisse, les méthodes de lutte reposent avant tout sur l'application raisonnée de fongicides, en fonction des conditions climatiques,

de la phénologie de la vigne et de la pression des maladies (www.agrometeo.ch). Depuis quelques années, les consommateurs et les instances politiques ont pris conscience de manière prononcée des dangers potentiels des pesticides. Cela se traduit par des préoccupations de santé publique au sujet des résidus dans les denrées alimentaires et par un rejet de l'impact des produits phytosanitaires sur l'environnement. En ré-

ponse à ces préoccupations, les politiques ont exprimé leur volonté de réduire les intrants en agriculture, et en particulier en viticulture (Grenelle de l'environnement en France). Le développement de nouvelles stratégies de protection de la vigne plus respectueuses de l'environnement est ainsi vivement souhaité. La viticulture biologique propose une réponse différente à ces questions, en renonçant à utiliser tout fongicide de synthèse au profit de produits naturels d'origine minérale (cuivre, soufre) ou végétale (extraits de plantes, micro-organismes). Un nombre limité de ces derniers est utilisé avec plus ou moins de succès, mais aucun à ce jour ne s'est montré suffisamment efficace dans les situations favorables aux champignons pathogènes pour remplacer le cuivre et le soufre. Cependant, le soufre et certains produits à base d'argile ont aussi des effets au niveau environnemental et posent des problèmes d'écotoxicologie, en particulier pour la faune auxiliaire (typhlodromes). Quant au cuivre, son inconvénient est d'être un métal lourd qui s'accumule dans le sol. Aucun produit biologique actuellement ne peut se substituer à ces deux plus anciens fongicides viticoles, ce qui rend le bilan écologique de la viticulture biologique insatisfaisant.

Toutefois, les perspectives offertes par l'exploration et l'exploitation de produits naturels demeurent très intéressantes face à la grande diversité des composés antifongiques identifiés dans certains extraits de plantes (Choi *et al.* 2009). Les activités antifongiques répertoriées à l'heure actuelle sont d'autant plus prometteuses que ces extraits se caractérisent par leur biodégradabilité et une toxicité généralement réduite envers l'environnement et la santé humaine.

La vigne contient une grande variété de composés phénoliques, tels que les tannins, les flavonoïdes et les stilbènes (Jeandet *et al.* 2010). Dans cette dernière famille chimique, le resvératrol a été très largement étudié pour ses effets bénéfiques sur la santé humaine, souvent évoqués sous le nom de «*French paradox*» (Renaud et Delorgeril 1992). D'une façon générale, les composés phénoliques issus de la vigne jouent un rôle bénéfique dans la prévention des maladies cardiovasculaires et neurodégénératives, mais également contre le vieillissement cellulaire et l'inhibition de la tumérogénèse (Szajdek et Borowska 2008). La vigne produit naturellement un éventail bien plus large de stilbènes en réponse à différents stress biotiques et environnementaux (Pezet *et al.* 2004). Les baies sont considérées comme une source importante d'antioxydants. En particulier, les raisins contiennent une grande variété de composés phénoliques, incluant des acides phénoliques, des tanins, des flavonoïdes et des stilbènes, sou-

Résumé ■ Des extraits de sarments de trois cépages de vigne (*Vitis vinifera*), cv. Pinot noir, Gamaret et Divico, présentent des activités antifongiques contre le mildiou (*Plasmopara viticola*), l'oïdium (*Erysiphe necator*) et la pourriture grise (*Botrytis cinerea*) dans des tests de laboratoire, alors que les extraits aqueux ne montrent aucun effet. Les extraits méthanoliques ont été séparés selon leur polarité en quatre fractions et analysés par chromatographie. L'évaluation de chaque fraction montre que toutes présentent une forte toxicité contre le mildiou, trois d'entre elles contre la pourriture grise et que seule la fraction la plus apolaire agit contre l'oïdium. Parmi la grande diversité de molécules constitutives mises en évidence, six composés principaux ont été identifiés et leur toxicité contre le mildiou quantifiée (CI_{50}). Les valeurs de CI_{50} de la E-Vitisine B et de l'hopéaphénol sont très basses, respectivement 12 et 17 μM , et donc fortement fongicides. Cependant, les constituants majoritaires de l'extrait présentent une forte sensibilité à la lumière: une exposition de 24 h suffit à les altérer. La possibilité de formuler un extrait actif stable novateur pour la protection de la vigne est discutée.

vent liés aux réponses de défense contre les pathogènes fongiques (Nicholson et Hammerschmidt 1992). Parmi ces composés phénoliques, les bénéfiques du resvératrol sur la santé sont connus depuis des siècles dans la médecine traditionnelle japonaise et chinoise (Nonomura *et al.* 1963). Cependant, bien que les stilbènes aient été bien étudiés en ce qui concerne la santé humaine, peu de travaux se sont focalisés sur leur utilisation potentielle en tant que fongicides. Ces stilbènes sont présents constitutivement dans les parties lignifiées de la plante également. Les sarments sont traditionnellement broyés après la taille annuelle, pour contribuer au maintien de la matière organique du vignoble, et représentent un sous-produit peu exploité de la viticulture. L'activité biologique des stilbènes présents dans les sarments contre les principales maladies fongiques de la vigne et leur composition chimique ont donc été examinées pour déterminer si un extrait ou certains composés purs pourraient potentiellement être utilisés dans une perspective de protection du

nable du vignoble. A cette fin, des sarments de *V. vinifera* cv. Pinot noir, un cépage très répandu, ont été choisies comme matériel de départ pour notre recherche. Le choix des solvants d'extraction s'est fait pour pouvoir travailler avec des composés hydrophiles, plus faciles à utiliser dans une perspective de protection de la vigne.

Cet article présente le potentiel antifongique des constituants des sarments de vigne et discute de l'usage possible de ces composés à l'heure actuelle.

Matériel et méthodes

Matériel biologique et conditions de culture

Des sarments aoûtés de *Vitis vinifera* L. cv. Pinot noir, Gamaret (Gamay x Reichensteiner) et Divico (Gamaret x Bronner) ont été récoltés en janvier 2012 dans les parcelles expérimentales non traitées d'Agroscope (Nyon, VD, Suisse) et stockés à 20 °C durant un mois à l'obscurité. Les sarments ont été débités en fragments de 2 cm, séchés à 30 °C durant 72 h puis broyés dans un moulin (diamètre des mailles < 1 mm). La poudre obtenue a été stockée à 20 °C à l'obscurité.

Extraction et analyses chimiques

Selon Schnee *et al.* (2013), quatre types d'extractions ont été réalisées à partir des poudres obtenues précédemment: extraction à l'eau, à l'eau à 100 °C, au méthanol et à l'éthanol. Les extraits aqueux ont été centrifugés, filtrés et lyophilisés. Les extraits méthanoliques et éthanoliques ont été séchés sous vide sur un évaporateur rotatif et solubilisés dans de l'eau avant lyophilisation. Ces extraits ont été divisés en quatre fractions selon leur polarité et analysés avec différents systèmes de chromatographie en phase liquide. Les composés purs ont été identifiés par résonance magnétique nucléaire (RMN).

Biotests antifongiques

Mildiou

La toxicité des différents extraits et composés purs a été évaluée à différentes concentrations sur des suspensions aqueuses de zoospores mobiles de *P. viticola*. Des variantes de contrôle ont subi la même procédure, en remplaçant les extraits par de l'eau ou par un fongicide commercial (Melody Combi, Bayer, 9 % iprovalicarb + 56 % folpet) utilisé à 2 mg/ml. L'inhibition de la natation des zoospores a été comptée en microscopie optique (grossissement x100) dans un champ fixe d'observation. En parallèle, des gouttes de suspension ont été déposées sur la face abaxiale de feuilles de *V. vinifera* cv. Chasselas afin d'évaluer l'inhibition du déve-

loppement de la maladie selon une méthode décrite précédemment (Gindro *et al.* 2006). Les concentrations d'inhibition médiane du développement du pathogène (CI₅₀) de chaque composé pur ont été calculées selon la formule dose-réponse suivante: $y = \min + (\max - \min) / (1 + 10^{(\log CI_{50} - x) \text{ pente}})$ (Module de régression logistique intégrée sur Sigmaplot).

Oïdium

La toxicité des différents extraits et composés purs a été évaluée à différentes concentrations sur le taux de germination des conidies d'*Erysiphe necator* en conditions contrôlées sur milieu gélosé. Des contrôles ont été effectués de la même manière en remplaçant les extraits par de l'eau ou par un fongicide commercial (Thiovit soufre mouillable, Syngenta) utilisé à 4 mg/ml. Les conidies ont été observées au moyen d'un microscope photonique (grossissement x100) et le taux de germination calculé (pourcentage de conidies germées).

Pourriture grise

La toxicité des différents extraits et composés purs a été évaluée à différentes concentrations sur le développement mycélien de *Botrytis cinerea* en conditions contrôlées sur milieu gélosé. Des contrôles ont été effectués de la même manière en remplaçant les extraits par de l'eau ou par un fongicide commercial (Switch, Syngenta: cyprodinil 37,5 % + fludioxonil 25 %) utilisé à 1 mg/ml. Le développement du mycélium a été observé après cinq jours.

Microscopie électronique

Les sporanges de *P. viticola* ou les conidies de *B. cinerea* en suspension aqueuse ont été utilisés pour observer les effets cytologiques de l'extrait de sarment à 1 mg/ml. Après centrifugation, les culots de cellules ont été fixés et traités selon la méthode de Roland et Vian (1991). Ces échantillons ont été observés en microscopie électronique à transmission (MET) sur des coupes ultrafines (épaisseur 0,08 μm). Des spores non traitées ont été observées en tant que témoin.

Résultats et discussion

Bioactivité des extraits de sarment

Des quatre méthodes d'extractions réalisées, seuls les extraits éthanoliques et méthanoliques ont présenté des activités antifongiques contre le mildiou, l'oïdium et la pourriture grise, alors que les extraits aqueux se sont révélés inactifs. Les profils chromatographiques des extraits méthanoliques et éthanoliques sont similaires. Le rendement de l'extrait éthanolique (3,33 %) a

été deux fois inférieur à l'extrait méthanolique (6,95 %), tout en conservant une bioactivité similaire. Seul l'extrait méthanolique a été exploré dans la suite du travail.

Afin de savoir si l'activité antifongique est spécifique au Pinot noir ou est également présente dans d'autres cépages, le Gamaret et le Divico ont été sélectionnés pour leur résistance à la pourriture grise et au mildiou. Les résultats montrent que l'activité fongicide est similaire dans les trois cépages utilisés. Les profils chromatographiques ne présentent que de légères différences quantitatives dans la composition des extraits avec des rendements différents par rapport au Pinot noir (8,2 % pour Divico et 5,4 % pour Gamaret). Des travaux antérieurs (résultats non présentés) ont montré que des cépages blancs présentaient également une activité fongicide. Il apparaît donc que tous les cépages analysés peuvent être utilisés comme source d'extraits actifs. Cependant, les constituants majoritaires de l'extrait présentent une forte sensibilité à la lumière: une exposition de 24h est suffisante pour altérer ces composés. Des expérimentations sont actuellement en cours pour comprendre ce phénomène et tenter d'améliorer la stabilité de l'extrait. Dans la littérature récente, un certain nombre d'exemples d'extraits actifs au laboratoire n'ont pas amené au développement de produits de traitement suffisamment efficaces au champ.

Afin de déterminer le ou les composés responsables de cette activité, l'extrait méthanolique a été séparé en quatre fractions selon un gradient de polarité (fig.1). Les constituants de la fraction 4 n'étant que peu vi-

sibles aux UV, le profil de cette fraction ne présente aucun pic caractéristique. Les résultats montrent que les quatre fractions sont actives contre le mildiou à une concentration d'utilisation de 1 mg/ml. Actuellement, six composés majoritaires des fractions 2 et 3 ont été purifiés par chromatographie en phase liquide et identifiés par spectrométrie de masse et résonance magnétique nucléaire: l'ampélopsine A, l'hopéaphénol, le resvératrol, l'ampélopsine H (peu visible en détection UV), l' ϵ -viniférine et l'E-vitisine B. La Cl_{50} (concentration qui inhibe 50 % du développement du pathogène) des six composés a été calculée sur la base de la mobilité des zoospores et en fonction de la sporulation sur feuilles de Chasselas après infection. Les composés les plus toxiques sont l'E-vitisine B (13 μ M) et l'hopéaphénol (17 μ M). Ces valeurs d' Cl_{50} contre le mildiou sont analogues à celles déterminées pour le ptérostilbène (Cl_{50} 12 μ M) et la δ -viniférine (14 μ M), deux stilbènes très toxiques contre le mildiou, produits à la suite d'une infection et impliqués dans la défense naturelle de la vigne (Pezet *et al.* 2004), mais absents de façon constitutive dans le bois.

La toxicité de l'extrait brut méthanolique sur l'ultrastructure des sporanges de *Plasmopara viticola* a été observée par microscopie électronique à transmission (fig. 2). Les sporanges de mildiou traités à l'extrait méthanolique de sarments présentent une forte contraction de la cellule, une importante désorganisation des membranes et des organelles cellulaires, 6h après le traitement déjà, par rapport au contrôle négatif traité

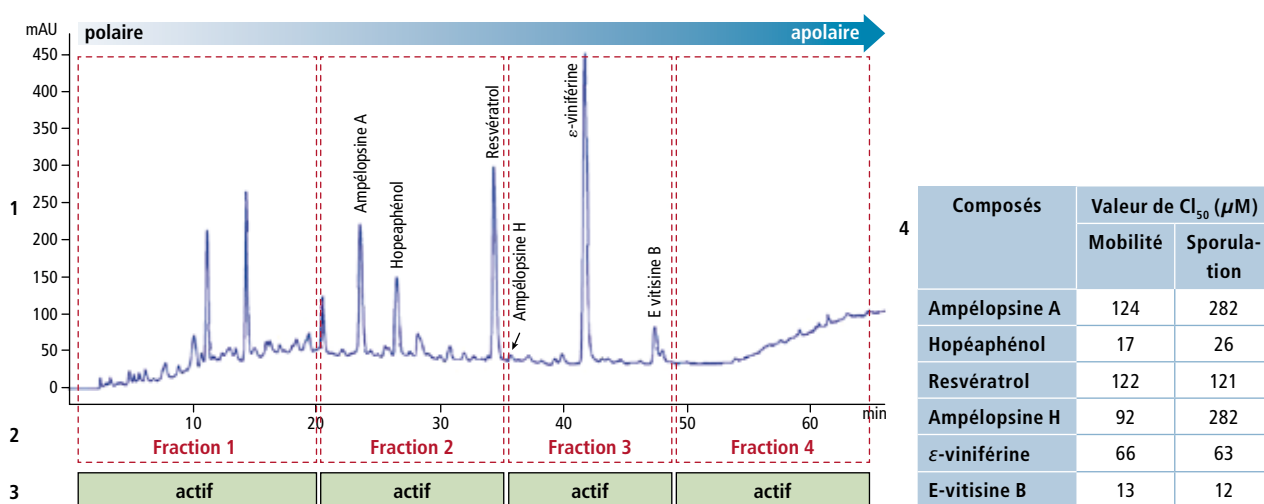


Figure 1 | Procédure d'identification chimique et d'évaluation de l'activité anti-mildiou de l'extrait méthanolique de sarments de vigne et de ses composés principaux.

1. Chromatogramme de l'extrait méthanolique des sarments de Pinot noir indiquant les composés préalablement identifiés par RMN.
2. Fractionnement de l'extrait brut par gradient de polarité.
3. Activité fongicide des quatre fractions contre *Plasmopara viticola* à 1 mg/ml.
4. Cl_{50} sur la mobilité des zoospores et la sporulation du mildiou sur feuilles de Chasselas, calculée pour chacun des six composés purs identifiés.

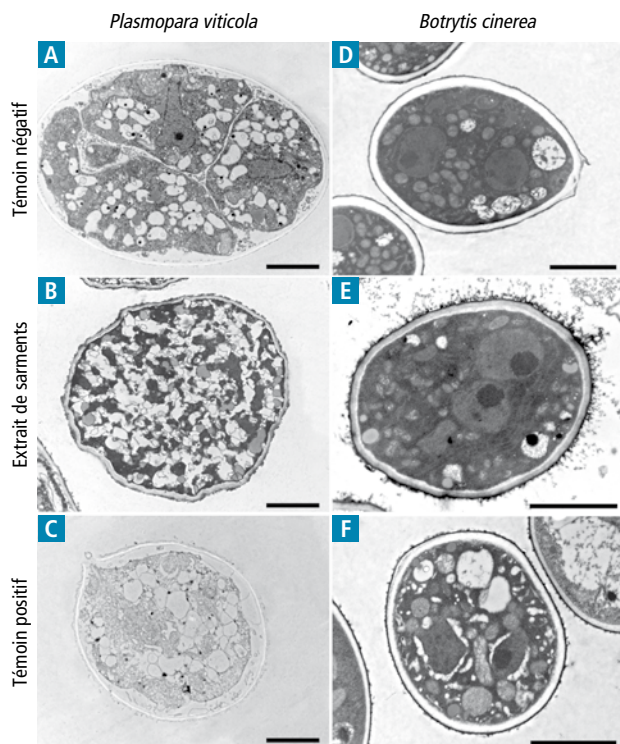


Figure 2 | Ultrastructure des sporanges de *Plasmopara viticola* et des conidies de *Botrytis cinerea* vue au microscope électronique à transmission 6h après traitement à l'extrait méthanolique brut de sarments de vigne (cv. Pinot noir), avec un fongicide commercial (témoin positif) et à l'eau (témoin négatif).

A à C. *Plasmopara viticola*: A. Sporange traité à l'eau. B. Sporange traité à l'extrait méthanolique de sarment à 1 mg/ml. C. Sporange de *P. viticola* traité avec un fongicide (Melody Combi à 2 mg/ml). D à F. *Botrytis cinerea*: D. Conidie traitée à l'eau. E. Conidie traitée à l'extrait méthanolique de sarment à 5 mg/ml. F. Conidie traitée avec un fongicide (Switch à 1 mg/ml). La barre d'échelle représente 5 µm.

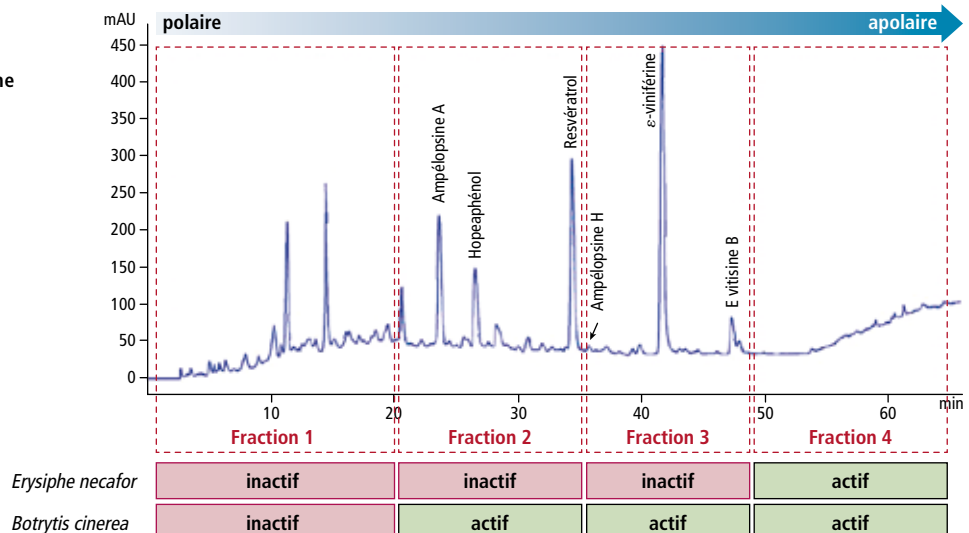
avec de l'eau. Le contrôle positif (Melody Combi) a quant à lui provoqué une altération de la couche externe de la paroi cellulaire et une importante vacuolisation du contenu cellulaire. Les modifications de la paroi cellulaire sont dues au mode d'action de l'iprovalicarbe, inhibant l'activité d'une cellulose synthase (Blum *et al.* 2012) qui participe à la synthèse de la paroi. Après 24h, le cytoplasme est entièrement coagulé et les membranes cellulaires détruites, que ce soit avec l'extrait méthanolique de *V. vinifera* ou avec le fongicide témoin.

Seule la fraction 4 fait preuve d'une forte activité antigerminative contre l'oïdium à une concentration de 1 mg/ml (fig. 3). Le mode de détection aux UV n'a pas permis de visualiser les molécules actives présentes dans la fraction 4, mais détectables par d'autres moyens de chimie analytique (résultats non présentés). Les six composés purs identifiés ont également été testés mais aucun n'a montré de toxicité contre *E. necator* dans la gamme de concentrations testées.

Dans le cas de la pourriture grise, les fractions 2 à 4 présentent une activité antifongique mais à une concentration élevée (5 mg/ml). Parmi les composés purs testés, seule l' ϵ -viniférine a permis d'inhiber le développement du champignon entre 1 et 5 mM. Les modifications structurales des conidies de *B. cinerea* en contact avec l'extrait brut méthanolique ont également été observées au microscopie électronique (fig. 2).

Après 6 h de traitement à l'extrait méthanolique de sarments, les conidies manifestent une importante dégradation de leur paroi cellulaire alors que le contenu cellulaire reste comparable au témoin traité avec de l'eau. Après 24h, une désorganisation complète de l'intégrité cellulaire a pu être observée avec

Figure 3 | Activité fongicide des quatre fractions de l'extrait méthanolique de sarments de vigne contre l'oïdium (*Erysiphe necator*) à 1 mg/ml et la pourriture grise (*Botrytis cinerea*) à 5 mg/ml.



l'extrait méthanolique de bois comme avec le fongicide de référence. Ceci confirme les résultats d'études antérieures montrant que de faibles concentrations de certains stilbènes spécifiques peuvent coaguler le matériel cytoplasmique et désorganiser les organelles et les membranes cellulaires (Pezet et Pont 1990). Le contrôle positif (Switch) a induit d'importantes altérations du contenu cellulaire avec une forte rétraction des noyaux.

Ces résultats font ressortir la diversité des composés actifs au sein de l'extrait méthanolique, dont six ont été pour l'instant identifiés. Les molécules responsables de l'activité anti-oïdium et anti-botrytis restent à identifier chimiquement, en particulier les composés apolaires de la fraction 4 de l'extrait.

Conclusions

- Cette étude montre que les extraits au méthanol et à l'éthanol de sarments de vigne possèdent en laboratoire des propriétés antifongiques intéressantes contre les trois principales maladies de la vigne.

- L'activité fongicide de l'extrait de sarments est constitutive et ne semble pas liée au cépage. Toutefois, des cépages résistants tels que le Divico fournissent des rendements supérieurs en extraits actifs.
- Six molécules majoritaires parmi tous les composés constitutifs de l'extrait ont été caractérisées et présentent différents niveaux de toxicité contre le mildiou. Des expérimentations complémentaires sont en cours afin d'identifier d'autres composés actifs.
- L'utilisation de produits secondaires de la vigne comme source de composés fongicides constitue un concept élégant dans une stratégie de viticulture durable. Toutefois, ces extraits se révèlent photosensibles et une recherche approfondie est nécessaire pour obtenir des formulations stables, afin d'expérimenter et d'évaluer leur efficacité au champ.
- La stratégie expérimentale mise au point dans cet essai pour l'extraction, la purification, l'identification des molécules actives ainsi que les biotests peuvent s'appliquer à d'autres plantes. ■

Remerciements

Nous tenons à remercier Eric Remolif pour toute l'aide apportée durant ces expérimentations, Monsieur François-Xavier Maxant, directeur du développement de Tribo Technologies (Sultz-sous-Forêt, France) pour les nombreuses discussions scientifiques pertinentes, ainsi que les neuf premiers Grands Crus de Bordeaux pour leur soutien financier au travail de post-doctorat du D^r Sylvain Schnee: Château Ausone, Château Cheval blanc, Château Haut-Brion, Château Lafitte Rothschild, Château Latour, Château Margaux, Château Mouton Rothschild, Château Petrus et Château d'Yquem.

Bibliographie

- Blum M., Gamper H. A., Waldner M., Sierotzki H. & Gisi U., 2012. The cellulose synthase 3 (CesA3) gene of oomycetes: structure, phylogeny and influence on sensitivity to carboxylic acid amide (CAA) fungicides. *Fungal Biology* **116**, 529–542.
- Choi N. H., Choi G. J., Min B. S., Jang K. S., Choi Y. H., Kang M. S., Park M. S., Choi J. E., Bae B. K. & Kim J. C., 2009. Effects of neolignans from the stem bark of *Magnolia obovata* on plant pathogenic fungi. *Journal of Applied Microbiology* **106**, 2057–2063.
- Gindro K., Spring J. L., Pezet R., Richte H. & Viret O., 2006. Histological and biochemical criteria for objective and early selection of grapevine cultivars resistant to *Plasmopara viticola*. *Plant Physiology and Biochemistry* **45**, 191–196.
- Jeandet P., Delaunoy B., Conreux A., Donnez D., Nuzzo V., Cordelier S., Clement C. & Courot E., 2010. Biosynthesis, metabolism, molecular engineering and biological functions of stilbene phytoalexins in plants. *Biofactors* **36**, 331–341.
- Nicholson R. L. & Hammerschmidt R., 1992. Phenolic-compounds and their role in disease resistance. *Ann. Rev. of Phytopathology* **30**, 369–389.
- Nonomura S., Kanagawa H. & Makimoto A., 1963. Chemical constituents of Polygonaceous plants. I. Studies on the components of Ko-jo-kon (*Polygonum cuspidatum* Sieb. et Zucc.). *Yakugaku Zasshi* **83**, 988–990.
- Pezet R., Gindro K., Viret O. & Richter H., 2004. Effects of resveratrol, viniferins and pterostilbene on *Plasmopara viticola* zoospore mobility and disease development. *Vitis* **43**, 145–148.
- Pezet R., Gindro K., Viret O. & Spring J. L., 2004. Glycosylation and oxidative dimerization of resveratrol are respectively associated to sensitivity and resistance of grapevine cultivars to downy mildew. *PMPP* **65**, 6297–6303.
- Pezet P. & Pont V., 1990. Ultrastructural observations of pterostilbene fungitoxicity in dormant conidia of *Botrytis cinerea* Pers. *Journal of Phytopathology* **129**, 19–30.
- Renaud S. & Delorgeril M., 1992. Wine, alcohol, platelets, and the french paradox for coronary heart-disease. *Lancet* **339**, 1523–1526.
- Roland J. & Vian B., 1991. General preparation and staining of thin sections. In: *Electron microscopy of plant cells*. J. L. Hall et C. Hawes (eds), 1–66.
- Schnee S., Queiroz F. E., Voinesco F., Marcourt L., Dubuis P. H., Wolfender J. L. & Gindro K., 2013. *Vitis vinifera* canes, a new source of antifungal compounds against *Plasmopara viticola*, *Erysiphe necator* and *Botrytis cinerea*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **61**, 5459–5467.
- Szajdek A. & Borowska E. J., 2008. Bioactive compounds and health-promoting properties of berry fruits: a review. *Plant Foods Hum. Nutr.* **63**, 147–156.

Summary**Grapevine canes as new source of antifungal compounds**

Crude methanolic and ethanolic extracts of *Vitis vinifera* canes cv. Pinot noir, Gamaret and Divico, have shown high fungitoxic activities against downy mildew (*Plasmopara viticola*), powdery mildew (*Erysiphe necator*) and grey mould (*Botrytis cinerea*), while aqueous extracts did not show any effect. Extracts have been separated according to their polarity in four fractions by chromatography. The toxicity of each fraction has been analyzed, showing that each exhibits an high activity against downy mildew, three of them against grey mold, while the most apolar fraction is active against powdery mildew. Among all constitutive components of the methanolic extract, six major components have been first identified and their toxicity against *P. viticola* was calculated (IC_{50}). E-Vitisine B and hopeaphenol are the two most fungitoxic stilbenes with very low IC_{50} values, respectively 13 and $17 \mu M$. However, the components of the crude extract exhibit a high light sensitivity: an exposure of 24 h is sufficient to alter them. The opportunity to formulate a stable and innovative antifungal product to protect grapevine is discussed.

Key words: downy mildew, powdery mildew, grey mould, canes, natural products.

Zusammenfassung**Weinranken: neue Quelle fungizider Wirkstoffe**

Extrakte aus Weinranken von *Vitis vinifera* von drei Sorten, Pinot noir, Gamaret und Divico, zeigen eine fungizide Wirkung gegen den Falschen Mehltau (*Plasmopara viticola*), den Echten Mehltau (*Erysiphe necator*) und die Graufäule der Weinrebe, während die wässrigen Extrakte keine Wirkung haben. Die Methanol-Extrakte wurden nach ihrer Polarität fraktioniert und mittels Chromatographie analysiert. Die Toxizität jeder dieser Fraktionen wurde evaluiert, und zeigte, dass alle vier eine starke Aktivität auf den falschen Mehltau haben, drei wirkten gegen die Graufäule und nur eine, die am stärksten apolarische Fraktion, ist gegen den echten Mehltau effizient. In der grossen Diversität der gefundenen, konstitutiven Moleküle, konnten sechs Hauptkomponenten identifiziert und ihre Wirkung (LD_{50}) gegen den falschen Mehltau wurde errechnet. E-Vitisine B und Hopeaphenol haben sehr tiefe LD_{50} -Werte 12 et bzw. $17 \mu M$ und sind somit starke Fungizide. Allerdings sind diese Verbindungen sehr lichtsensibel und eine Bestrahlung von 24 Stunden genügt um die Hauptkomponenten zu verderben. Die Möglichkeit eines formulierten, stabilen und innovativen Extraktes zum Schutz der Reben wird diskutiert.

Riassunto**I tralci della vite: una nuova fonte di composti antifungini**

Durante dei test condotti in laboratorio su estratti da tralci di tre vitigni (*Vitis vinifera*), cv. Pinot nero, Gamaret e Divico, presentavano delle attività antifungine contro la peronospora (*Plasmopara viticola*), l'oidio (*Erysiphe necator*) e il marciume grigio (*Botrytis cinerea*), mentre gli estratti acquosi non hanno dimostrato nessun effetto. Gli estratti metanolici sono stati separati secondo la loro polarità in quattro frazioni e analizzati mediante cromatografia. La tossicità di ogni frazione è stata valutata e mostra che ognuna presenta una forte attività contro la peronospora, tre di loro sono attive contro il marciume grigio, mentre solo la frazione più apolare risulta essere attiva contro l'oidio. Sulla grande diversità di molecole costitutive evidenziate, sei composti maggioritari hanno potuto essere identificati e la loro tossicità contro la peronospora quantificata (CI_{50}). La E-vitisina B e l'opeafenolo presentano dei valori di CI_{50} molto bassi, rispettivamente 12 e $17 \mu M$ e sono, dunque, fortemente fungicidi. Tuttavia, i costituenti maggioritari dell'estratto presentano una forte sensibilità alla luce: un'esposizione di 24 h è sufficiente per alterarle. La possibilità di formulare un estratto attivo stabile innovativo per la protezione della vite è discusso.