

Biodégradation des lignocelluloses de vigne (*Vitis vinifera* cv. Cabernet Sauvignon) par *Eutypa lata* (PERS. FR.) TUL.

par

B. ELGHAZALI¹⁾, G. GAS²⁾ et J. FALLOT¹⁾

1) Laboratoire de Biotechnologie et Amélioration des Plantes, Ecole Nationale Supérieure Agronomique, Toulouse, France

2) Centre de Physiologie Végétale, Université Paul Sabatier, Toulouse, France

Biodegradation of lignocelluloses in grapevine (*Vitis vinifera* cv. Cabernet Sauvignon) by *Eutypa lata* (PERS. FR.) TUL.

S u m m a r y : The biodegradation of lignocelluloses in *Vitis vinifera* cv. Cabernet Sauvignon by the parasitic fungus *Eutypa lata* was studied in dependence on culture conditions. By use of lignocelluloses labelled with ¹⁴C in two different ways, it was possible for the first time to determine the degradation rates of two main parietal constituents, cellulose and lignin. The rate of lignin decomposition in the overall degradation was constantly weak. This can explain the prolonged time span needed for mycelium development in the trunk or in the arms (3—10 years). The just slight lignin degradation may also be responsible for the hardness of the attacked tissue.

The fungus activity was stimulated when *E. lata* was cultivated in media of low nitrogen and sugar concentration and in an atmosphere which was rich in oxygen. These reactions are similar to those shown by *Phanerochaete chrysosporium*, lignivorous fungus most often reported.

Several pathotypes of *E. lata* showed similar aggressiveness, whereas in studies using other model systems their toxicity was more or less different.

Key words : *Eutypa lata*, fungus, disease, pathotype, wood, lignin, cellulose, degradation, sugar, nitrogen, oxygen.

Introduction

L'eutypiose, maladie de dépérissement de la vigne, entraîne la mort prématurée de nombreuses souches chez certaines cépages à l'origine de vins de haute qualité et pose un véritable problème économique (BOUBALS 1986; DUBOS *et al.* 1989). Malgré sa présence dans le monde entier (BOLAY et CARTER 1985), on ne dispose d'aucun moyen de lutte curative contre le champignon responsable, *Eutypa lata* (PERS. FR.) TUL.

L'identification récente de cette maladie dans les vignobles californiens (MOLLER *et al.* 1974) et français (BOLAY et MOLLER 1977), ainsi que la durée de l'incubation avant l'apparition des attaques sur les organes herbacés (3 à 10 ans), en sont partiellement responsables.

Par ailleurs, la dualité d'action du pathogène introduit un élément de complexité (MOLLER *et al.* 1981). Le champignon n'a jamais été décelé dans les parties herbacées, laissant penser à une action à distance par l'intermédiaire d'une toxine. Effectivement, un composé a été isolé à partir de milieux de culture du champignon (RENAUD 1985). Cette molécule, présente dans les ceps de vigne malades, se comporte comme une toxine hôte-spécifique et reproduit certains des symptômes de la maladie sur des modèles expérimentaux simplifiés; elle a été appelée Eutypine et identifiée comme

4-hydroxy-3-(3-méthylbut-3-en-1-ynyl)benzaldéhyde (TEY-RULH 1988; TEY-RULH *et al.* 1991).

Par contre, le champignon est toujours présent dans le tronc et les bras (dying arm disease) dont une coupe transversale montre une nécrose de couleur brune, dure, toujours sectorielle et bien délimitée (DUBOS *et al.* 1983). L'attaque s'effectue d'ailleurs au niveau de ces organes. Le bois dégradé a l'aspect d'une pourriture sèche de type cubique semblant indiquer une attaque préférentielle de la cellulose. L'analyse chimique des constituants de fragments ligneux de tiges attaqués *in vitro* par *E. lata* (DERUCHE 1984) montre que ce champignon a un pouvoir lignivore faible (environ 10 % de perte de masse globale après 100 d de contact).

La possibilité de synthèse de lignocelluloses marquées au ^{14}C , soit uniquement sur la partie phénolique, soit sur l'ensemble des polymères pariétaux, permet de préciser l'intensité et les caractéristiques d'attaque de tels champignons parasites (BONO *et al.* 1983; GALLIANO 1985).

Notre étude a donc eu pour objectif d'apprécier les modalités de biodégradation des lignocelluloses de vigne par divers isolats selon les conditions de culture, parallèlement au travail conduit sur la toxine isolée.

Matériel et méthodes

1. Le microorganisme

E. lata est un parasite surtout caractérisé au niveau du bois sous sa forme téléomorphe (*E. lata* (PERS. FR.) TUL). Les souches utilisées ont été isolées à partir d'ascospores prélevées sur des fragments de bois infectés¹). Elles sont conservées sur milieu potato-dextrose-agar à 25 °C et à l'obscurité.

2. Matériel végétal et méthodes d'incorporation des éléments marqués

Les lignocelluloses marquées au ^{14}C ont été obtenues à partir de jeunes tiges en forte croissance de *Vitis vinifera* cv. Cabernet Sauvignon clone 1565 en culture hydroponique (serres AZF Toulouse).

L'incorporation de L-phénylalanine U- ^{14}C se déroule selon la méthode du rameau coupé (BOUDET 1969) à raison de 15 $\mu\text{Ci/plant}$ soit 555 kBq/plant (activité de la L-phénylalanine: 495 $\mu\text{Ci/mmole}$ origine CEA).

Celle du $^{14}\text{CO}_2$ s'effectue dans une enceinte étanche d'où le CO_2 est préalablement chassé par de l'air décarbonaté et remplacé par le $^{14}\text{CO}_2$ issu de la réaction de l'acide phosphorique (dilué au 1/3) sur $\text{NaH}^{14}\text{CO}_3$ (50 mCi/mmole origine CEA). L'absorption du $^{14}\text{CO}_2$ (5 μCi soit 185 kBq/plant) s'effectue pendant 36 h avant renouvellement de l'atmosphère par aspiration du $^{14}\text{CO}_2$ et piégeage de celui-ci par la potasse. La métabolisation se poursuit dans les deux cas pendant une semaine sous un éclaircissement de 5 $\text{W} \cdot \text{m}^{-2}$ et à une température de 22 ± 2 °C.

3. Extraction des lignocelluloses marquées

Elles sont extraites à partir du matériel végétal écorcé et broyé, sous forme de poudre alcool-benzène (PAB selon le protocole décrit par ALIBERT et BOUDET 1979).

¹) Nous remercions Mme DUBOS - INRA Bordeaux - de nous les avoir fournies.

La radioactivité spécifique des lots de poudre obtenus est déterminée après combustion complète de parties aliquotes au Packard Tricarb Sample Oxidizer. Les PAB-L sont constituées par des lignocelluloses marquées essentiellement sur le polymère lignine (activité spécifique 2 270 dpm/mg), alors que les PAB-P sont marquées sur l'ensemble des polymères pariétaux (activité spécifique 18 641 dpm/mg).

4. Protocole expérimental et mesure des dégagements de $^{14}\text{CO}_2$

Le champignon est ensemencé dans un milieu liquide contenant les lignocelluloses marquées à l'aide d'une partie aliquote d'une préculture (équivalent à 30 mg protéines). Les erlenmeyers de 250 ml contiennent 20 ml de milieu Pezet, milieu de base utilisé dans les études précédentes, et à partir duquel, dans les diverses expériences, l'influence de la variation des quantités de sucres (glucose: 1 ou 5 g · l⁻¹; maltose: 1 ou 5 g · l⁻¹; saccharose: 0,5 ou 2,5 g · l⁻¹) ou d'élément azoté (KNO₃: 1 ou 5 g · l⁻¹) a été étudiée. Les quantités de PAB marquées sont ajoutées de façon à introduire une radioactivité équivalente à 100.000 dpm/flacon.

5. Mesures de radiorespirométrie

Le $^{14}\text{CO}_2$ dégagé par métabolisation fongique des lignocelluloses est balayé tous les 3 d pendant 30 min par un courant d'air (21 % d'oxygène) ou d'oxygène pur décarbonaté. Il est piégé dans un pilulier de comptage de 20 ml contenant 5 ml d'une solution d'éthanolamine à 20 %. La radioactivité est mesurée au spectromètre à scintillation liquide Packard Tricarb 460 C après adjonction de mélange scintillant.

6. Mode d'expression des résultats

Selon le substrat utilisé, il est possible de déterminer (BONO *et al.* 1983):

- l'activité lignolytique (AL) reflétant l'aptitude à dégrader la lignine résultant du catabolisme des PAB-L;
- l'activité dégradative globale (ADG) définie comme l'aptitude du champignon à utiliser l'ensemble des polymères du bois (PAB-P). Les résultats sont exprimés en % du $^{14}\text{CO}_2$ émis par rapport au ^{14}C fourni sous forme de poudre alcool benzène.

Résultats

La présente étude porte sur l'effet des facteurs connus pour influencer la ligninolyse (composition du milieu de culture du champignon, teneur en O₂ de l'atmosphère) et sur la comparaison de divers isolats.

1. Détermination des conditions optimales d'expression des capacités dégradatives

Elle porte sur l'isolat EL1 qui, par ailleurs, s'était montré très actif dans la production de la toxine.

Teneurs en azote et en sucres

Les courbes présentées (Fig. 1 A et B) montrent que le milieu à plus faible teneur en sucres (2,5 g · l⁻¹) et en azote (1 g · l⁻¹ de KNO₃) est le plus favorable à la dégradation des lignocelluloses (environ 9 % du ^{14}C fourni libéré en fin de culture sur PAB-P,

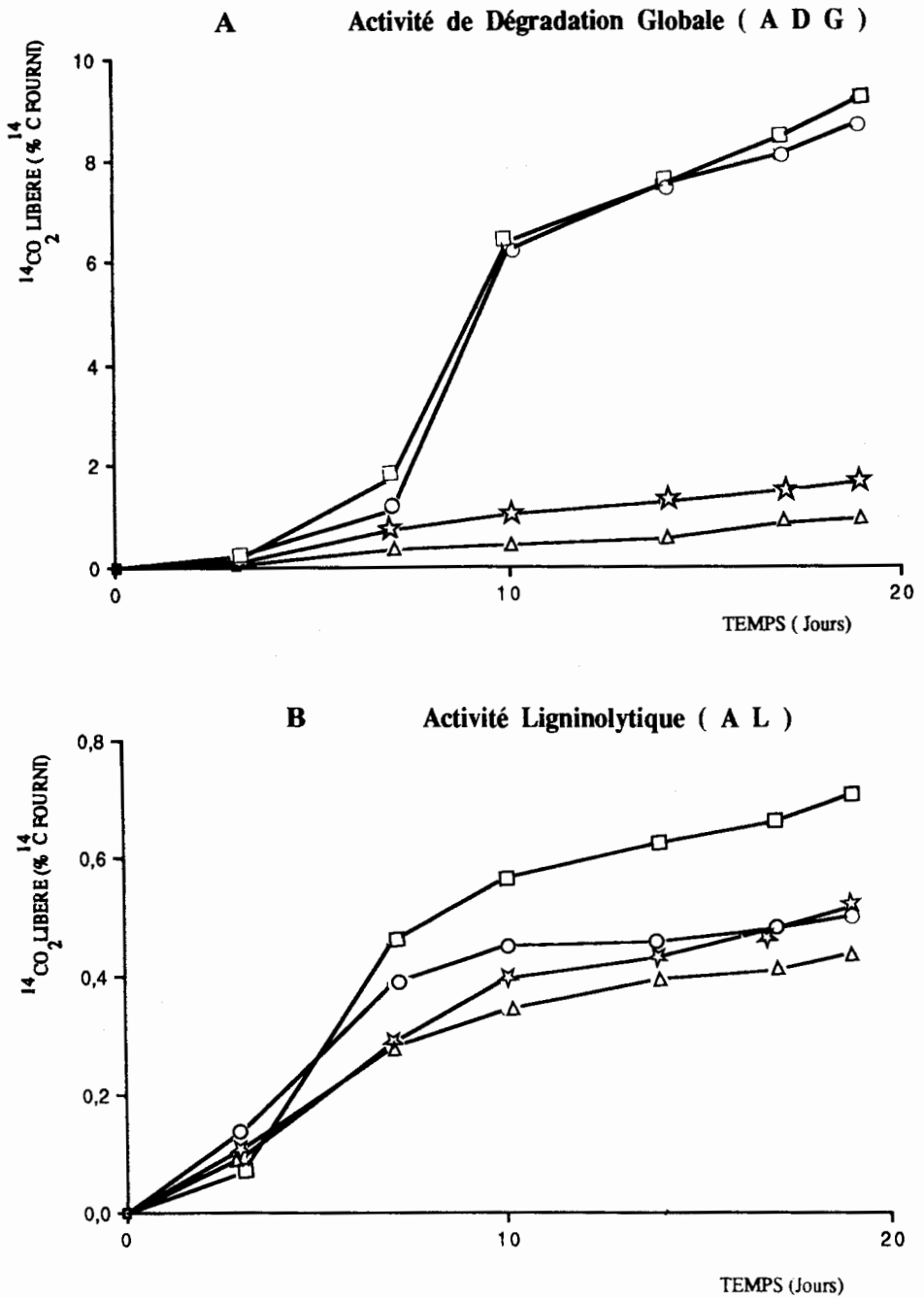


Fig. 1: Influence des paramètres nutritionnels du milieu sur la dégradation de lignocelluloses de vigne par *Eutypa lata*, au cours d'une culture de 20 d (isolat EL1). — A) Lignocelluloses marquées

et moins de 1 % pour les PAB-L). Les activités ligninolytiques mesurées pour les quatre milieux étudiés sont relativement voisines (0,4 à 0,6 % du $^{14}\text{CO}_2$ émis en fin de culture par rapport au ^{14}C fourni); au contraire, les activités de dégradation globale passent de 1 à 9 % pendant le même temps selon le milieu de culture.

D'une façon générale, les valeurs absolues, notamment pour les activités ligninolytiques, sont faibles, comparées à celles de *Phanerochaete chrysosporium*, champignon saprophyte dont la biodégradation est la plus souvent étudiée. Dans la suite de ce travail, les cultures ont été effectuées dans un milieu contenant $2,5 \text{ g} \cdot \text{l}^{-1}$ de sucres et $1 \text{ g} \cdot \text{l}^{-1}$ de KNO_3 .

Teneur en oxygène de l'atmosphère de culture

Les courbes obtenues (Fig. 2) montrent une activité ligninolytique stimulée par l' O_2 , mais toujours faible par rapport à l'activité de dégradation globale. La stimulation

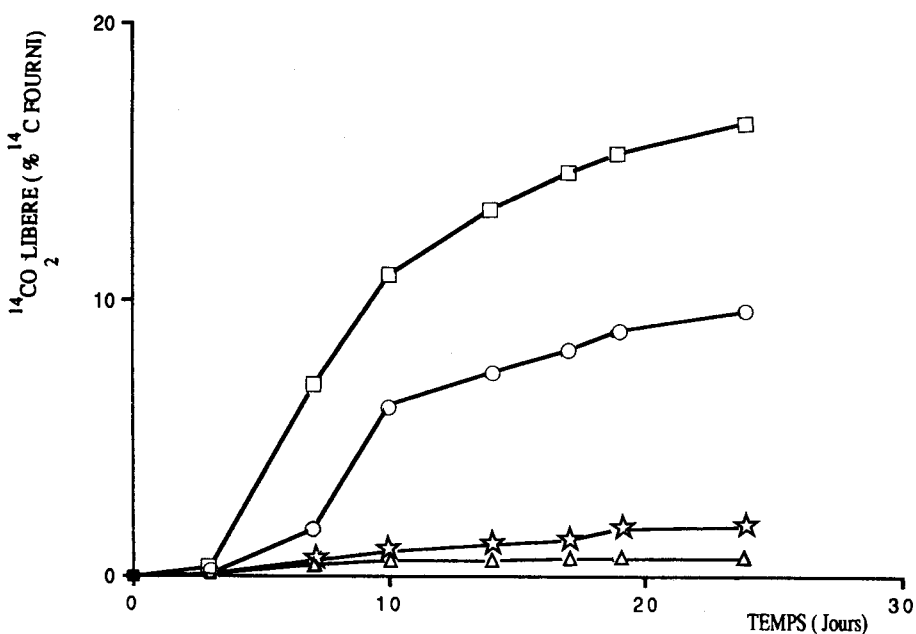


Fig. 2: Influence de la teneur en oxygène de l'atmosphère sur les activités de dégradation globale (ADG) et ligninolytique (AL) d'*Eutypa lata*, isolat EL1, au cours d'une culture de 24 d. — □ ADG et ☆ AL: 100 % d'oxygène; ○ ADG et △ AL: 21 % d'oxygène.

Effect of the O_2 content of atmosphere on the total degradation capacity (ADG) and lignin degradation capacity (AL) of *Eutypa lata*, pathotype EL1, during 24 d of culturing. — □ ADG and ☆ AL = 100 % oxygen; ○ ADG and △ AL = 21 % oxygen.

sur l'ensemble des polymères pariétaux (PAB-P). B) Lignocelluloses marquées uniquement sur les lignines (PAB-L). — △ total sucres $12,5 \text{ g} \cdot \text{l}^{-1}$, azote $5 \text{ g} \cdot \text{l}^{-1}$; ☆ total sucres $12,5 \text{ g} \cdot \text{l}^{-1}$, azote $1 \text{ g} \cdot \text{l}^{-1}$; ○ total sucres $2,5 \text{ g} \cdot \text{l}^{-1}$, azote $5 \text{ g} \cdot \text{l}^{-1}$; □ total sucres $2,5 \text{ g} \cdot \text{l}^{-1}$, azote $1 \text{ g} \cdot \text{l}^{-1}$.

Effect of nutrient medium parameters on grapevine lignocellulose degradation by *Eutypa lata* during 20 d of culturing (pathotype EL1). — A) Labelled lignocelluloses in the total parietal polymers (PAB-P). B) Labelled lignocelluloses only in the lignins (PAB-L). — △ sugar content $12,5 \text{ g} \cdot \text{l}^{-1}$, nitrogen $5 \text{ g} \cdot \text{l}^{-1}$; ☆ sugar content $12,5 \text{ g} \cdot \text{l}^{-1}$, nitrogen $1 \text{ g} \cdot \text{l}^{-1}$; ○ sugar content $2,5 \text{ g} \cdot \text{l}^{-1}$, nitrogen $5 \text{ g} \cdot \text{l}^{-1}$; □ sugar content $2,5 \text{ g} \cdot \text{l}^{-1}$, nitrogen $1 \text{ g} \cdot \text{l}^{-1}$.

de dégradation corrélative de la forte teneur en O₂ de l'atmosphère de culture est surtout connue comme caractéristique de la ligninolyse (KIRK *et al.* 1978; REID et SEIFERT 1980). Dans le cas d'*E. lata*, elle apparaît pourtant beaucoup plus spectaculaire pour l'activité dégradative globale (augmentation d'environ 60 % par rapport à la dégradation sous atmosphère d'air).

2. Comparaison de l'activité dégradative des différents isolats

Le tableau montre que tous les isolats sont capables de décomposer l'ensemble des polymères pariétaux, y compris la lignine, mais à des degrés plus ou moins importants.

Dans tous les cas, l'isolat EL4 est le plus actif au niveau de la décomposition *in vitro* des lignocelluloses. EL1, retenu dans les expériences précédentes, se classe généralement immédiatement après. En outre, pour les quatre isolats utilisés, la réponse à l'oxygène est analogue à celle de l'isolat EL1 choisi.

Comparaison des capacités dégradatives de différents isolats d'*Eutypa lata* vis-à-vis des lignocelluloses de vigne: sous atmosphère de 21 % d'oxygène (24 d de culture) et sous oxygène pur (19 d de culture) · Les résultats sont exprimés en % de ¹⁴CO₂ émis en fin de culture par rapport au ¹⁴C fourni sous forme de poudre alcool benzène

Comparison between the degradation capabilities of grapevine lignocelluloses for some *Eutypa lata* pathotypes: in 21 % O₂ (24 d of culture) and in pure O₂ (19 d of culture) · The results are expressed in % of ¹⁴CO₂ produced at the end of culture compared with ¹⁴C (benzyl alcohol powder) given at the beginning of culture

Teneur en O ₂ de l'atmosphère	Capacités dégradatives	Différents isolats			
		EL1	EL2	EL3	EL4
21 %	Activité ligninolytique (AL)	0,77 ± 0,13	1,04 ± 0,28	1,03 ± 0,26	1,07 ± 0,03
	Activité dégradative globale (ADG)	9,59 ± 2,34	8,01 ± 1,77	9,19 ± 2,29	9,75 ± 2,63
100 %	Activité ligninolytique (AL)	1,70 ± 0,38	1,25 ± 0,32	1,61 ± 0,25	2,03 ± 0,17
	Activité dégradative globale (ADG)	16,45 ± 3,23	13,15 ± 1,59	15,06 ± 2,16	18,57 ± 1,79

Discussion et conclusion

E. lata possède une faible capacité dégradative des lignocelluloses de vigne (cv. Cabernet Sauvignon) en culture *in vitro*, en milieu liquide. Ces résultats confirment, en

les précisant à l'aide de polymères marqués, ceux de DERUCHE (1984) obtenus par une estimation globale de la perte de poids de fragments de bois mis en présence du champignon.

1. Activité ligninolytique

La très faible activité ligninolytique du parasite peut expliquer la durée d'incubation, de 3 à 10 ans, entre l'inoculation et l'extériorisation des symptômes sur les organes herbacés au vignoble, de même que la dureté des tissus nécrosés bruns. D'autre part, la coloration brune qui caractérise la nécrose paraît pouvoir être imputée à la présence de composés phénoliques provenant d'une dégradation incomplète des lignines.

La ligninolyse effectuée par *E. lata* cultivé *in vitro* en présence de lignocelluloses de vigne, bien que faible, montre les mêmes réponses aux paramètres culturaux que celles décrites par KIRK *et al.* (1978) pour *Phanerochaete chrysosporium*.

Ces résultats indiquent par ailleurs que le milieu riche mis au point pour la production de composés toxiques (PEZET 1983) ne correspond pas aux conditions optimales d'attaque des lignocelluloses et que les conditions naturelles du tissu ligneux, pauvre en azote, sont susceptibles de constituer un substrat plus favorable à la biodégradation.

L'augmentation de l'activité ligninolytique en présence d'oxygène reste faible. Sous atmosphère d'air, EL4, isolat à plus fort pouvoir biodégradant, a une activité ligninolytique 2 à 3 fois moins importante que la souche la plus agressive de *Fomes annosus* vis-à-vis des lignines d'épicéa (BONO *et al.* 1983) ou que la souche de *Rigidoporus lignosus* retenue par GALLIANO (1985) pour l'étude de l'attaque des lignines d'hévéa.

Sous atmosphère d'O₂, l'activité ligninolytique de *Rigidoporus lignosus* est double de celle de l'isolat EL4 d'*E. lata* après 24 d de culture. Cette dernière subit pourtant, dans ces conditions, une stimulation d'environ 20 %.

2. Activité de dégradation globale

L'essentiel de l'activité de dégradation globale des lignocelluloses par *E. lata* est à imputer à la cellulolyse (plus de 90 %). Ce type de comportement est comparable à celui d'autres champignons lignivores parasites comme *Fomes annosus* (BONO 1981) et *Rigidoporus lignosus* (GALLIANO *et al.* 1988).

La réaction à l'oxygène affecte de façon marquée l'intensité de dégradation globale laissant penser que certaines étapes de la biodégradation des celluloses seraient également stimulées par ce facteur, ainsi que le suggère GEIGER (1985).

Par ailleurs, la nature liquide du milieu de culture n'est probablement pas la plus propice à l'expression des capacités dégradatives du champignon. Ainsi GALLIANO *et al.* (1990) ont montré que pour *Rigidoporus lignosus*, parasite du bois des racines d'hévéa, la culture en milieu semi-solide, plus proche des conditions d'attaque naturelle dans les tissus ligneux pauvres en eau, permet d'augmenter l'activité dégradative globale et en particulier celle des enzymes impliquées (laccases et Mn-peroxydases: 5 à 50 fois). L'étape ligneuse de l'attaque pourrait donc être plus active que ne le révèle l'étude *in vitro* en milieu liquide. L'influence du contenu en eau du substrat sur les activités de biodégradation doit être approfondie à l'image des études effectuées par GALLIANO *et al.* (1990).

Les résultats obtenus au niveau de l'attaque mettent indirectement l'accent sur le rôle que pourraient jouer les polysaccharides libérés dans l'obstruction des vaisseaux. Ils n'excluent pas le relai par la sécrétion d'une toxine maintenant isolée et active sur les rameaux herbacés. A ce propos, il est difficile de corrélérer les résultats obtenus dans

cette étude avec ceux résultant de l'action des filtrats de culture du champignon ou de la toxine sur des systèmes simplifiés (feuilles excisées ou protoplastes de vitroplants), destinés à modéliser l'action de composés toxiques sur les parties herbacées de la vigne (MAURO 1986; MAURO *et al.* 1988; TEY-RULH 1988; FALLOT *et al.* 1990). Toutefois, l'attaque à caractère lignivore du cep apparaît comme un point d'impact primaire qu'il serait judicieux de mieux connaître au niveau enzymatique pour déceler précocément la maladie et la stopper de façon spécifique.

Enfin, des études comparables conduites chez les cépages Cabernet Sauvignon, sensible, et Merlot, tolérant, devraient permettre de mieux appréhender les bases scientifiques de la résistance primaire à cette étape du parasitisme.

Résumé

Ce travail concerne l'attaque par *Eutypa lata* du cep de vigne de la variété Cabernet Sauvignon. L'utilisation de lignocelluloses de vigne diversement marquées au ^{14}C permet pour la première fois de préciser l'intensité de l'attaque des deux principaux composés pariétaux (cellulose et lignine) et d'analyser l'influence des paramètres culturels sur ces activités. La part de la ligninolyse dans l'activité de dégradation globale réalisée par *E. lata* est toujours faible. Ce fait peut expliquer le délai nécessaire pour le développement du mycélium dans le tronc ou dans les bras (3 à 10 ans). La faible dégradation de la lignine peut aussi être responsable de la dureté du tissu nécrosé.

Le parasite montre les mêmes réponses aux paramètres culturels que *Phanerochaete chrysosporium*, champignon lignivore le plus souvent étudié: stimulation de l'activité sur des milieux pauvres en azote et en sucres et dans une atmosphère riche en oxygène.

Les différences entre isolats d'*E. lata*, dont la toxicité est plus ou moins forte sur d'autres modèles d'études, sont peu marquées à ce niveau.

Références bibliographiques

- ALIBERT, G.; BOUDET, A. M.; 1979: La lignification chez le peuplier. Mise au point d'une méthode de dosage et d'analyse monomérique des lignines. *Physiol. Vég.* **17**, 67—74.
- BOLAY, A.; CARTER, M. V.; 1985: Newly recorded hosts of *Eutypa lata* (= *E. armeniacae*) in Australia. *Plant Protection Quarterly* **1**, 10—12.
- — ; MOLLER, W. J.; 1977: *Eutypa armeniacae* HANSF. et CARTER, agent d'un grave dépérissement des vignes en production. *Rev. Suisse Viticult. Arboricult. Hort.* **9**, 241—251.
- BONO, J. J.; 1981: Détermination des paramètres influençant l'activité ligninolytique de *Fomes annosus*. DEA Biologie et Technologie Végétales, Toulouse, France.
- — ; GAS, G.; BOUDET, A. M.; FAYRET, J.; DELATOUR, C.; 1983: Etude comparée de la dégradation de lignocelluloses par différentes souches de *Fomes annosus*. *Can. J. Microbiol.* **29**, 1683—1688.
- BOUBALS, D.; 1986: L'eutypiose est actuellement la plus grave maladie de la vigne. *Progr. Agric. Vitic.* **103**, 358—360.
- BOUDET, A. M.; 1969: Recherches sur la biosynthèse des composés aromatiques chez les végétaux supérieurs. Intervention de l'acide quinique dans la biosynthèse de la phénylalanine chez *Quercus pedunculata* (ERRH.). *C.R. Acad. Sci. (Paris)*, **269**, 1966—1968.
- DERUCHE, C.; 1984: Les dépérissements de la vigne. Pouvoir lignivore et potentialités enzymatiques des parasites responsables. Mémoire de DEA, Univ. Bordeaux II, France.

- DUBOS, B.; BUGARET, Y.; BULIT, J.; ROUDET, J.; 1983: Maladies du bois: symptômes et méthodes de lutte. *Phytoma* (334), 16—19.
- — ; LE GALL, D.; MUR, G.; 1989: Les maladies du bois: *Esca* et *Eutypa*. Incidence économique, symptômes et moyens de lutte. *Progr. Agric. Vitic.* **106**, 143—147.
- FALLOT, J.; TEY-RULH, P.; COUTOULY, P.; PETITPREZ, M.; ROUSTAN, J. P.; PHILIPPE, I.; TABACCHI, R.; 1990: Culture *in vitro*: étude de l'eutypiose et stratégie de création de somaclones de vigne tolérants. C.R. X^{ème} Coll. IAPTC. Cinquantenaire de la culture *in vitro* chez les végétaux, Versailles, 24—25 octobre 1989. Ed. INRA, Paris, No. 51, 151—159.
- GALLIANO, H.; 1985: Biodégradation de lignocelluloses d'hévéa par le pourridié blanc (*Rigidoporus lignosus* (K.I.) IMAZ). Mémoire de DEA, Univ. Paul Sabatier, Toulouse, France.
- — ; GAS, G.; BOUDET, A. M.; 1988: Biodegradation of *Hevea brasiliensis* lignocellulose by *Rigidoporus lignosus*: influence of culture conditions and involvement of oxidizing enzyme. *Plant Physiol. Biochem.* **26**, 619—627.
- — ; — — ; — — ; 1990: Lignin degradation by cultures of *Rigidoporus lignosus* in solide state conditions. *Fems Microbiol. Lett.* **67** (3), 295—300.
- GEIGER, J. P.; 1985: Maladies racinaires de l'hévéa: biochimie et physiologie des relations hôte-parasite. Thèse de doctorat d'état Strasbourg ORSTOM (Office de la Recherche Scientifique et Technique Outre-Mer), Ed. Paris.
- KIRK, T. K.; SCHULTZ, E.; CONNORS, W. J.; LORENTZ, L. F.; ZEIKUS, J. G.; 1978: Influence of culture parameters on lignin metabolism by *Phanerochaete chrysosporium*. *Arch. Microbiol.* **117**, 277—285.
- MAURO, M. C.; 1986: Embryogénèse somatique chez *Vitis vinifera* cv. Cabernet Sauvignon. Application à la sélection de clones résistants à *Eutypa lata* (PERS.: FR.) TUL. Thèse INP Toulouse, France.
- — ; VAILLANT, V.; TEY-RULH, P.; MATHIEU, Y.; FALLOT, J.; 1988: *In vitro* study of the relationship between *Vitis vinifera* and *Eutypa lata* (PERS.: FR.) TUL. I. Demonstration of toxic compounds secreted by the fungus. *Amer. J. Enol. Viticult.* **39**, 200—204.
- MOLLER, W. J.; KASIMATIS, A. N.; 1981: Further evidence that *Eutypa armeniaca* not *Phomopsis viticola* incites dead arm symptoms on grape. *Plant Dis.* **65**, 429—431.
- — ; — — ; KISSLER, J. J.; 1974: A dying arm disease of grape in California. *Plant Dis. Rept.* **58**, 869—871.
- PEZET, R.; 1983: Rapid spore production by *Cytosporina* sp. on a synthetic medium and production of a toxin-like product. *Rapp. Int. Stat. Féd. Changins, Suisse*.
- REID, I. D.; SEIFERT, K. A.; 1980: Lignin degradation by *Phanerochaete chrysosporium* in hyperbaric oxygen. *Can. J. Microbiol.* **26**, 1168—1171.
- RENAUD, J. M.; 1985: Isolement et identification de métabolites secondaires et phytotoxiques d'*Eutypa armeniaca*. Thèse Univ. Neuchâtel, Suisse.
- TEY-RULH, P.; 1988: Métabolites toxiques sécrétés *in vitro* par *Eutypa lata* (PERS.: FR.) TUL., parasite de la vigne. Isolement et activité biologique. Thèse INP Toulouse, France.
- — ; PHILIPPE, I.; RENAUD, J.-M.; TSOUPRAS, G.; DE ANGELIS, P.; FALLOT, J.; TABACCHI, R.; 1991: Eutypine, a phytotoxin produced by *Eutypa lata* the causal agent of dying-arm disease of grapevine. *Phytochemistry* **30**, 471—473.

Reçu le 26 août 1991

Correspondance à:

J. FALLOT
 Professeur
 Ecole Nationale Supérieure
 Agronomique
 145 avenue de Muret
 F - 31076 Toulouse Cedex
 France