



UNIVERSITÉ DE STRASBOURG

ÉCOLE DOCTORALE DES SCIENCES DE LA VIE ET DE LA SANTE

UMR 1131 « Santé de la Vigne et Qualité du Vin »

INRAE Grand Est de Colmar

THÈSE présentée par

Hadrien CHEPCA

soutenue le : **07 novembre 2024**

pour obtenir le grade de : **Docteur de l'Université de Strasbourg**

Discipline : Sciences de la vie

Spécialité : Aspects moléculaires et cellulaires de la biologie

Analyse du déterminisme de la composition du bois de la vigne en relation avec la tolérance aux maladies du bois

THÈSE dirigée par :

M. HUGUENEY Philippe

Directeur de recherche, INRAE (Colmar)

RAPPORTEURS :

Mme ADRIAN Marielle

Professeure, Université de Bourgogne Franche-Comté

M. GRAVOT Antoine

Professeur, Université de Rennes

AUTRES MEMBRES DU JURY :

Mme HEMMERLIN Andréa

Chargée de Recherche, Université de Strasbourg

M. PETRE Benjamin

Maître de conférences, Université de Lorraine

Mme MAIA-GRONDARD Alessandra

Ingénieure de recherches, INRAE (Colmar)

Remerciements

La première page de ce manuscrit sera consacrée à remercier toutes les personnes m'ayant accompagné et ayant permis le bon déroulé de ces trois années d'aventures que représente une thèse.

En premier lieu, je remercie Marielle Adrian, Antoine Gravot, Andréa Hemmerlin et Benjamin Petre qui ont accepté de faire partie de mon jury de thèse et d'évaluer mon travail. Merci également à Éric Duchêne et Romain Lariat d'avoir pris part à mon comité de suivi de thèse, vos remarques et conseils ont été importants pour l'orientation de la thèse.

Je tenais à remercier tout particulièrement mon directeur de thèse, Philippe Hugueney, qui m'a permis de réaliser cette thèse. Merci de m'avoir accordé ta confiance, merci pour tes nombreux conseils, et d'avoir fait de moi un meilleur scientifique jour après jour. Je remercie chaleureusement ma co-encadrante Alessandra Maia-Grondard. Tes connaissances et ton expertise en chimie analytique m'ont grandement aidé en métabolomique, et m'ont permis de devenir autonome sur les instruments analytiques.

Ce projet de thèse, multidisciplinaire, n'aurait pas été possible sans le concours de nombreuses personnes de l'équipe GMV et GAV. Ainsi, un très grand merci à toute l'équipe de Génomique et Métabolisme de la Vigne, présents ou passés : Raymonde Baltenweck, Jean-François Chich, Apolline Claudel, Patricia Claudel, Camille Gutierrez, Philippe Hugueney, Marie Lahaye, Olivia Ledieu, Françoise Le-Bohec, Alessandra Maia-Grondard, Lauriane Renault, Geneviève Riveill, Camille Rustenholz, Ana Sivsivadze, Amandine Velt et Claire Villeroy. Un grand merci à Camille Rustenholtz, Marie Lahaye, Amandine Velt, Sophie Blanc et Lauriane Renault, pour votre travail en bio-informatique, et les formidables outils que vous avez développés, ainsi que le temps passé pour me former à les utiliser correctement. Un remerciement tout particulier envers Camille, pour t'être cassé la tête avec mes QTLs, cela n'a pas été vain ! Merci également à Raymonde Baltenweck pour la gestion de la chaîne UHPLC-HRMS et l'aide que tu as pu m'apporter quand celle-ci tombait en panne, ainsi qu'à Geneviève Riveill et Jean-François Chich pour l'appui que vous m'avez apportée lors de travaux en microbiologie et de biologie moléculaire, je tâcherai de me souvenir de vos enseignements. Jean-François, sache que ton humour piquant et toutes tes références d'un autre temps me manqueront.

Tous mes remerciements également aux membres de l'équipe GAV. Un grand merci à Komlan Avia et Eric Duchêne pour votre travail en génomique qui a été vital pour la réalisation de cette thèse, ainsi que du temps que vous m'avez accordé pour m'expliquer les concepts si complexes de la

génétique quantitatives. Merci à Vincent Dumas et Gisèle Butterlin pour la gestion de la population d'étude et leur génotypage, ainsi qu'à toi Guillaume Arnold, c'était toujours un plaisir de discuter maladies du bois avec toi.

Merci à Stéphane Réty, Catarina Araújo Branco et Raquel Tavares qui ont permis d'enrichir ma thèse grâce à leurs travaux en biologie structurale et en génomique évolutive, ainsi qu'à l'équipe du LVBE de l'Université de Haute Alsace et du laboratoire RIBP de l'Université de Reims Champagne-Ardenne pour le phénotypage de la population Ri x Gw pour la sensibilité à *N. parvum*.

Je n'oublie pas Ana, Camille et Olivia, qui au-delà d'être des collègues ont avant tout été à la fois des camarades d'aventure et des psychologues pendant les périodes les plus difficiles de ma thèse.

Plus globalement, j'aimerais remercier l'ensemble des membres du centre INRAE de Colmar que je n'ai pas mentionnés, mais qui m'ont aidé à ce que ces trois années de thèse se passent le mieux possible. Bonne continuation à vous !

Remerciements	1
Liste des abréviations	6
Liste des figures	7
Liste des tableaux	10
Introduction	11
1. Le bois : structure et fonctions	13
1.1. Les origines évolutives du bois	13
1.2. Anatomie du bois	13
1.3. Composition chimique du bois	15
1.3.1. Généralités	15
1.3.2. Holocellulose	15
1.3.3. La lignine	16
1.3.4. Les extractibles	19
2. Article 1 : Origin, diversity and roles of constitutive stilbenes in plants	21
3. Les maladies du bois de la vigne	52
3.1. Généralités	52
3.2. Une épidémie très ancienne	52
3.3. Les principales maladies du bois de la vigne	53
3.3.1. L'eutypiose	53
3.3.2. L'esca	54
3.3.3. Dépérissements à Botryosphaeriaceae	56
3.4. La lutte contre les maladies du bois de la vigne	58
3.4.1. Traitements curatifs	58
3.4.2. Pratiques culturales	61
3.5. Obtention de variétés de vigne plus tolérantes aux MDB	62
4. Objectifs de la thèse	64
Matériels et méthodes	67
1. Matériel végétal	69
1.1. Population d'étude Ri x Gw	69
1.2. Prélèvement des sarments	69
2. Phénotypage de la sensibilité de la population à <i>N. parvum</i>	71
2.1. Contexte	71
2.2. Inoculation par <i>N. parvum</i>	71
2.3. Mesure de la nécrose	72
3. Traitement des échantillons en vues des analyses métabolomiques	72
3.1. Broyages	72
3.1.1. Sarments sains	72
3.1.2. Troncs	73
3.1.3. Entre-nœuds inoculés	73

3.2. Extraction des échantillons de poudre de bois pour les analyses en chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse	75
4. Analyses métabolomiques de la population de croisement Ri x Gw	75
4.1. Matériel analytique pour l'analyse métabolomiques du bois	76
4.1.1. Chromatographie liquide	76
4.1.2. Spectrométrie de masse	76
4.2. Traitement des données d'UHPLC-HRMS et UHPLC-HRMS/MS	78
4.2.1. Traitement des données en approche non-ciblée	78
4.2.2. Traitement des données en approche ciblée	79
5. Analyses génétiques sur la population Ri x Gw	81
5.1. Cartes génétiques SNPs	81
5.1.1. Principe général	81
5.1.2. Carte génétique du Ri	81
5.1.3. Carte génétique du Gw	83
5.1.4. Cartes génétiques consensus	84
5.2. Recherche de metabolite Quantitative Trait Loci (mQTLs)	85
6. Clonage et validation fonctionnelle des gènes candidats	86
6.1. Identification de gènes candidats liés aux mQTLs.	86
6.1.1. Outils à disposition	86
6.1.2. Choix des gènes	87
6.2. Clonage et caractérisation fonctionnelle.	88
6.2.1. Synthèse des gènes d'intérêt	88
6.2.2. Expression et validation fonctionnelles <i>in vitro</i> des UGTs	88
Chapitre 1 : Étude du déterminisme génétique de la composition des extractibles du bois de vigne dans la population Ri x Gw	91
1. Introduction	93
2. Article 2: Genetic analysis of grapevine (<i>Vitis vinifera</i> L.) wood composition identifies UDP-glycosyltransferases involved in the biosynthesis of stilbene glycosides	94
3. Déterminisme génétique de la biosynthèse des oligomères de stilbènes	129
3.1. Introduction	129
3.2. Résultats et discussion	129
3.2.1. Identification des métabolites colocalisant un hotspot sur le chr 18	129
3.2.2. Identification des gènes candidats	133
3.3. Conclusion et perspectives	134
4. Conclusion	135
Chapitre 2 : Étude du déterminisme génétique de la tolérance aux maladies du bois de vigne	137
1. Contexte	139
2. Analyse génétique de la tolérance à <i>N. parvum</i> par phénotypage de la nécrose sur bois détaché	140
2.1. Introduction	140

2.2.	Variabilité de la réaction de nécrose au sein de la population Ri x Gw	141
2.2.1.	Première année : 2020	141
2.2.2.	Seconde année : 2021	143
2.2.3.	Troisième année : 2022	145
2.3.	Analyse des bases génétiques de la tolérance ou la sensibilité à <i>N. parvum</i>	147
2.4.	Conclusion	149
3.	Analyse génétique de la réponse du bois à l'infection par <i>N. parvum</i> par une approche de métabolomique non-ciblée.	150
3.1.	Introduction	150
3.2.	Résultats et discussion	154
3.2.1.	Analyse du « hotspot » de mQTLs identifié sur le chr 1 de la carte Ri	155
3.2.2.	Analyse du « hotspot » de mQTLs identifié sur le chr 1 de la carte Gw	161
3.2.3.	Analyse du « hotspot » de mQTLs identifié sur le chr 6 de la carte Gw	164
3.2.4.	Analyse du « hotspot » de mQTLs identifié sur le chr 8 de la carte Gw	166
3.3.	Conclusion	169
4.	La quantification de toxines fongiques pour l'analyse génétique de la tolérance à <i>N. parvum</i>.	170
4.1.	Introduction	170
4.2.	Résultats et discussion	171
4.3.	Conclusion	176
	Conclusion et perspectives	177
1.	Approche génétique pour une meilleure connaissance du métabolome constitutif du bois de vigne	178
2.	Évolution et rôles des stilbènes constitutifs chez la vigne	180
3.	Étude du déterminisme génétique de la tolérance de la vigne à <i>N. parvum</i> : des marqueurs métaboliques à la rescousse	183
	Annexes	184
	Bibliographie	197

Liste des abréviations

AF : Acide formique	Pb : Paire de base
a.m.u : Unité de masse atomique	PCR : Réaction de Polymérisation en chaîne
BDA : Black Dead Arm	PN40024 : Génome de référence de <i>Vitis vinifera</i>
Chr : Chromosome	Ppm : Partie Par Million
cM : Centimorgan	QTL : Quantitative Trait Locus
Da : Dalton	QC : Contrôle qualité
ESI : Electrospray Ionization	Ri : Riesling
GBS : Genotyping by Sequencing	Ri x Gw : Population issu d'un croisement entre un génotype Riesling 49 et un Gewurztraminer 643
Gw : Gewurztraminer	RPM : Révolution par minute
HEPES : acide 4-(2-hydroxyéthyl)-1-pipérazine éthane sulfonique	SNP : Single Nucleotide Polymorphism
IPTG : Isopropyl β-D-1-thiogalactopyranoside	STS : Stilbènes synthase
LOD : Logarithm of Odds	UHPLC-HRMS : Ultra-High Pressure Liquid Chromatography – High Resolution Mass Spectrometry
MDB : Maladie du bois	UGTs : UDP-glucosyl transférases
m/z : Rapport masse sur charge	
Min : Minute	
mQTL : Metabolite Quantitative Trait Locus	

Liste des figures

Figure 1 : Schéma d'une coupe longitudinale d'un tronc d'arbre (This, 2017).	14
Figure 2 : Représentation de la structure moléculaire d'une paroi de cellule de bois (Korányi et al., 2020).	16
Figure 3 : Monomères identifiés dans la lignine. (A) : monomères canoniques de la lignine ; (B) : monomères non-canoniques dérivés de monolignols ; (C) : composé phénolique dérivé de flavonoïdes ; (D) : stilbènes ; E : acides hydroxycinnamiques (Del Río et al., 2020).	18
Figure 4 : Symptômes observés sur des vignes atteintes par l'Eutypiose : rameaux courts et rabougris (A), grappes aux baies millerandées (B), feuilles nécrosées (C), boursouflures noirâtres sur le tronc (D) et nécroses sectorielles dans le tronc du pied de vigne (E). Crédit photo : Philippe Larignon et Pascal Lecomte.	54
Figure 5 : Symptômes observés sur des vignes atteintes par l'esca. Symptômes associés à la forme lente au niveau des feuilles (A), du tronc (B) et des baies (C). Forme apoplectique conduisant à la mort du pied (D). Crédit photo : Philippe Larignon et Pascal Lecomte.	55
Figure 6 : Symptômes observés sur des vignes atteintes par le BDA. Symptômes foliaires (A). Nécrose du bois en coupe longitudinale (B) et sous l'écorce du tronc (C). Forme apoplectique de la maladie conduisant à la mort du pied (D). Crédit photo : Philippe Larignon et Pascal Lecomte.	57
Figure 7 : Structure chimique de différentes toxines produites par <i>N. parvum</i>	58
Figure 8 : Traitements curatifs mécaniques utilisés en viticulture pour lutter contre les MDB.	60
Figure 9 : Prévalence de l'expression des symptômes de l'esca et du BDA entre 2012 et 2015, dans les vignobles français selon les cépages (Source : Compte rendu journées maladie du bois 2015).	63
Figure 10 : Population d'étude issue du croisement Ri x Gw et localisée dans le vignoble de Bergheim (Haut-Rhin, Alsace, France).	70
Figure 11 : Illustration du protocole d'échantillonnage des sarments et des troncs de vigne.	71
Figure 12 : Protocole de broyage des sarments et de la sciure de bois.	74
Figure 13 : À gauche est présentée une photo du système Dionex Ultimate 3000 couplé au spectromètre de masse Exactive Orbitrap. À droite, on retrouve le système Vanquish couplé au spectromètre de masse Orbitrap Exploris 120.	75
Figure 14 : Schéma détaillé du spectromètre de masse Exactive Orbitrap.	78
Figure 15 : Localisation des marqueurs SNP sur la carte génétique du Ri.	82
Figure 16 : Localisation des marqueurs SNP sur la carte génétique du Gw.	84
Figure 17 : Localisation des marqueurs SNP sur la carte génétique consensus Avrg1234.	85
Figure 18 : mQTLs détectés sur le chr 18 avec la carte génétique du Ri, sur les données de métabolomique globale des sarments de la population Ri x Gw en 2020, 2021 et 2022 ($p_{\text{value}} \leq 0.05$). Chaque point représente un ion.	130
Figure 19 : Structure des composés identifiés et colocalisant le hotspot de mQTLs identifiés sur le chr 18. Les molécules annotées par un astérisque (*) sont des structures putatives non-validées par MS ²	132

Figure 20 : Quantité relative d'ε-viniférine et de miyabénol C dans les sarments de vigne de Ri et de Gw pour les années 2020, 2021 et 2022. *** : $p_{\text{value}} \leq 0.001$.	134
Figure 21 : Protocole des essais sur bois détachés dans le cadre de l'étude de la tolérance à <i>N. parvum</i> de la population Ri x Gw.	Erreur ! Signet non défini.
Figure 22 : Distribution de la nécrose superficielle des entre-nœuds pour chacun des 30 génotypes ainsi que des parents de la population Ri x Gw en 2020 (A) (Crédit : Samuele Moretti/Laura Gérard). Analyse de la nécrose des entre-nœuds chez les parents et les descendants (B). Analyse de l'héritabilité de la nécrose au sein de la population Ri x Gw (C). Les flèches bleue et rouge indiquent la valeur moyenne du Ri et du Gw respectivement.	142
Figure 23 : Distribution de la nécrose superficielle des entre-nœuds pour chacun des 96 génotypes et des parents de la population Ri x Gw en 2021 (A) (Crédit : Samuele Moretti/Laura Gérard). Analyse de la nécrose moyenne des entre-nœuds chez les parents et les descendants (B). Analyse de l'héritabilité de la nécrose au sein de la population Ri x Gw (C). Les flèches bleue et rouge indiquent la valeur moyenne du Ri et du Gw respectivement.	144
Figure 24 : Distribution de la nécrose superficielle des entre-nœuds pour chacun des 105 génotypes et des parents de la population Ri x Gw en 2022 (A). Analyse de la nécrose moyenne des entre-nœuds chez les parents, les descendants ainsi que chez <i>Vitis vinifera</i> sp <i>sylvestris</i> (B). Analyse de l'héritabilité de la nécrose au sein de la population Ri x Gw (C). Les flèches brune, bleue et rouge indiquent la valeur moyenne de nécrose pour le <i>Sylvestris</i> , Ri et Gw respectivement.	146
Figure 25 : QTLs détectés sur la base des données nécrose obtenues en 2021 sur le chr 4 de la carte génétique Gw (à gauche) et en 2022 (à droite) sur le chr 4 de la carte génétique Ri. La ligne bleue indique le seuil de significativité du QTL.	148
Figure 26 : Détection de QTLs à l'échelle du génome entier sur la carte génétique du Gw sur la base des données de métabolomique non-ciblée de 2022 (ESI + et ESI -) des sarments sains et infectés par <i>N. parvum</i> ($p_{\text{val}} < 0.05$). Chaque point correspond à un ion, les points bleus correspondant à ce provenant du bois sain, les points gris aux bois blessés, et les oranges aux bois infectés par <i>N. parvum</i> .	152
Figure 27 : Détection de QTLs à l'échelle du génome entier sur la carte génétique du Ri sur la base des données de métabolomique non-ciblée de 2022 (ESI + et ESI -) des sarments sains et infectés par <i>N. parvum</i> ($p_{\text{val}} < 0.05$). Chaque point correspond à un ion, les points bleus correspondant à ce provenant du bois sain, les points gris aux bois blessés, et les oranges aux bois infectés par <i>N. parvum</i> .	153
Figure 28 : mQTL détectés avec les données UHPLC-HRMS des sarments sains (ronds bleus), blessés (ronds gris) et infectés par <i>N. parvum</i> (ronds oranges) sur le chr 1 de la carte Ri ($p_{\text{value}} \leq 0.05$).	155
Figure 29 : Abondance relative de deux lipides, deux toxines et deux stilbènes identifiés dans le hotspot de mQTLs du chr 1 du Ri, au sein des entre-nœuds témoins (T) non infectés par <i>N. parvum</i> , et ceux présentant une faible nécrose (N) ou une forte nécrose (N++).	159
Figure 30 : Quantité relative de sphaéropsidone et de trois autres métabolites fongiques dans la descendance de la population Ri x Gw selon les allèles au marqueur chr1_21987119 sur le chr 1, pour les données de l'année 2022. *** : $p_{\text{value}} \leq 0.001$.	160

Figure 31 : mQTL détectés avec les données UHPLC-HRMS des sarments sains (ronds bleus), blessés (ronds gris) et infectés par <i>N. parvum</i> (ronds oranges) sur le chr 1 de la carte Gw. $p_{\text{value}} \leq 0.05$	161
Figure 32 : Abondance relative des flavonoïdes et stilbène identifiés dans le hotspot de mQTLs du chr 1 du Gw, au sein des entre-nœuds témoins (T) non infectés par <i>N. parvum</i> , et ceux présentant une faible nécrose (N) ou une forte nécrose (N++). * : $p_{\text{value}} \leq 0.1$, ** $p_{\text{value}} \leq 0.05$	163
Figure 33 : mQTL détectés avec les données UHPLC-HRMS des sarments sains (ronds bleus), mécaniquement blessés (ronds gris) et infectés par <i>N. parvum</i> (ronds oranges) sur le chr 6 de la carte Gw ($p_{\text{value}} \leq 0.05$).	164
Figure 34 : Abondance relative des flavonoïdes et stilbène identifiés dans le hotspot de mQTLs du chr 6 du Gw, au sein des entre-nœuds témoins (T) non infectés par <i>N. parvum</i> , et ceux présentant une faible nécrose (N) ou une forte nécrose (N++). ** $p_{\text{value}} \leq 0.05$	166
Figure 35 : mQTL détectés avec les données UHPLC-HRMS des sarments sains (ronds bleus), blessés (ronds gris) et infectés par <i>N. parvum</i> (ronds oranges) sur le chr 8 de la carte Gw. $p_{\text{value}} \leq 0.05$	167
Figure 36 : Quantité relative de sphaéropsidone et de trois autres métabolites fongiques dans la descendance de la population Ri x Gw selon les allèles au marqueur chr8_11229218 sur le chr 8, pour les données de l'année 2022. *** : $p_{\text{value}} \leq 0.001$	169
Figure 37 : Abondance relative des quatre métabolites fongiques liés au QTL sur le chr 13, entre les individus faiblement et fortement nécrosés (A), et tableau de corrélation entre ces métabolites et la notation de nécrose (B). *** : $p_{\text{value}} \leq 0.001$	172
Figure 38 : Quantité relative de sphaéropsidone dans la descendance de la population Ri x Gw selon les allèles au marqueur chr13_5331126 sur le chr 13, pour les données de l'année 2022. *** : $p_{\text{value}} \leq 0.001$	175
Figure 39 : Analyses phylogénétiques des UGTs putatives de <i>Vitis vinifera</i> (points rouges) et d' <i>Arabidopsis thaliana</i> (points cyans) (Wei et al, 2021). Un zoom a été réalisé sur le cluster contenant les UGTs identifiées sur le chr 16 du Ri (cadre rouge), ainsi que sur le cluster d'UGTs adjacentes (cadre violet).	182

Liste des tableaux

Tableau 1 : Pratiques culturales recommandées pour limiter les risques de contamination par les MDB.	62
Tableau 2 : Liste des standards analysés en chromatographie liquide.	79
Tableau 3 : Informations générales sur la carte génétique du Ri.	82
Tableau 4 : Informations générales sur la carte génétique du Gw.	83
Tableau 5 : Informations générales sur les cartes génétiques consensus.	84
Tableau 6 : Composition du milieu réactionnel des tests enzymatiques des UGTs.	89
Tableau 7 : Métabolites identifiés parmi les ions colocalisant le QTL sur le chr 18 de la carte génétique du Ri ($p_{\text{value}} \leq 0.05$).	131
Tableau 8 : Intervalle du QTL identifié sur le chr 18 avec la carte génétique du Ri et liés à la présence d'oligomères de stilbènes.	132
Tableau 9 : Paramètres des QTL identifiés sur la base des données de nécrose en 2021 et 2022.	149
Tableau 10 : Nombre de QTLs détectés et nombre d'ions correspondants identifiés par UHPLC-HRMS dans les sarments infectés par <i>N. parvum</i> en fonction des cartes génétiques ($p_{\text{value}} \leq 0.05$).	154
Tableau 11 : Liste des ions colocalisant le QTL sur le chr 1 de la carte Ri ($p_{\text{value}} \leq 0.05$), pour lesquels une formule chimique ou une identité putative a pu être proposée.	156
Tableau 12 : Liste des ions colocalisant le QTL sur le chr 1 de la carte Gw ($p_{\text{value}} \leq 0.05$), pour lesquels une formule chimique ou une identité putative a pu être proposée. N.I : Non-identifié.	162
Tableau 13 : Liste des ions colocalisant le QTL sur le chr 6 de la carte Gw ($p_{\text{value}} \leq 0.05$), pour lesquels une formule chimique ou une identité putative a pu être associée.	165
Tableau 14 : Liste des ions colocalisant le QTL sur le chr 8 de la carte Gw ($p_{\text{value}} \leq 0.05$), pour lesquels une formule chimique ou une identité putative a pu être proposée.	167
Tableau 15 : Métabolites fongiques identifiés dans les entre-nœuds de vigne infectées par <i>N. parvum</i>	171
Tableau 16 : mQTLs liés aux toxines fongiques détectées dans les entre-nœuds infectés par <i>N. parvum</i> dans la population Ri x Gw ($p_{\text{value}} \leq 0.1$).	173
Tableau 17 : Caractéristiques du QTL détecté sur le chr 13 de la carte génétique du Gw et lié à l'accumulation de sphérospidone.	174
Tableau 18 : Liste des ions correspondant aux mQTLs colocalisant avec le QTL sur le chr 13 de la carte Gw ($p_{\text{value}} \leq 0.05$), pour lesquels une formule chimique ou une identité putative a pu être associée. AF : Acide formique	174

Introduction

Mes travaux de thèse concernent le déterminisme de la composition des composés extractibles du bois de vigne, et leur impact éventuel sur la sensibilité aux maladies du bois. La première partie de cette introduction présentera donc les connaissances générales sur le bois de vigne. Les stilbènes étant des composés majeurs, présents de manière constitutive dans les extractibles du bois de vigne, il m'a semblé intéressant de réaliser une revue détaillée de la littérature scientifique actuelle concernant les stilbènes constitutifs des plantes. En effet, si de nombreuses revues portent sur les stilbènes en tant que molécules induites en réponse à différents stress biotiques ou abiotiques, il n'existait pas, à ma connaissance, de revue focalisée sur les stilbènes constitutifs, c'est à dire comme constituant à part entière accumulés chez certaines espèces végétales. La seconde partie de cette introduction présentera donc le manuscrit de cette revue, intitulée « Origin, diversity and roles of constitutive stilbenes in plants ». La troisième et dernière partie de l'introduction sera consacrée à une présentation générale des maladies du bois de la vigne.

1. Le bois : structure et fonctions

1.1. Les origines évolutives du bois

La colonisation de la terre par les plantes aurait vraisemblablement été initiée il y a 480 à 500 millions d'années à la suite de la divergence d'un groupe d'algues vertes (Charophytes), bien que le faible nombre de fossiles de plantes disponibles rendent difficiles les estimations (Sanderson et al., 2004). Les premières espèces terrestres s'apparenteraient aux bryophytes actuelles (mousses, hépatiques et anthocérotes) et étaient dépourvues de racines, tiges, feuilles et bois (Donoghue et al., 2021). Ces structures sont apparues durant le Dévonien (415 - 394 millions d'années). Le bois serait quant à lui apparu plusieurs fois de manière indépendante au sein de différents grands groupes de plantes. Toutefois, seuls les spermaphytes ont conservé cette particularité, les autres groupes l'ayant perdue (lycophytes, sphénophytes et fougères) ou ayant disparu (progymnospermes) (Gerrienne et al., 2011; Meyer-Berthaud & Decombeix, 2021).

1.2. Anatomie du bois

Le bois composé d'un ensemble de cellules vivantes et mortes, assurant de nombreuses fonctions biologiques à la plante. D'un point de vue anatomique, on peut délimiter le bois en plusieurs zones (Figure 1). De l'intérieur à l'extérieur, on retrouve la moelle qui est la partie centrale, plus molle.

Le bois de cœur, ou duramen, entourant la moelle est composé de cellules mortes totalement lignifiées (Venäläinen et al., 2004). Dur et sec, il est très durable notamment en raison des fortes concentrations en composés solubles produites par les cellules du parenchymes (Scalbert, 1992). L'aubier entoure le duramen. Il est composé majoritairement de cellules vivantes, bien qu'il contienne également les vaisseaux conducteurs de la sève brute, le xylème. Au cours de la croissance de l'arbre, l'aubier se transforme en duramen. Autour de l'aubier, on retrouve le cambium. Le cambium est composé de cellules méristématiques à l'origine de l'aubier et du liber, menant à la croissance radiale de l'arbre (Wang et al., 2021). Le liber, ou phloème secondaire, est un tissu vivant permettant le transport de la sève élaborée grâce aux tubes criblés du phloème. On l'appelle également écorce interne. Le périderme est constitué du phelloderme, phellogène et du suber (liège), et est également appelé écorce externe. Le liber et le périderme forment l'écorce.

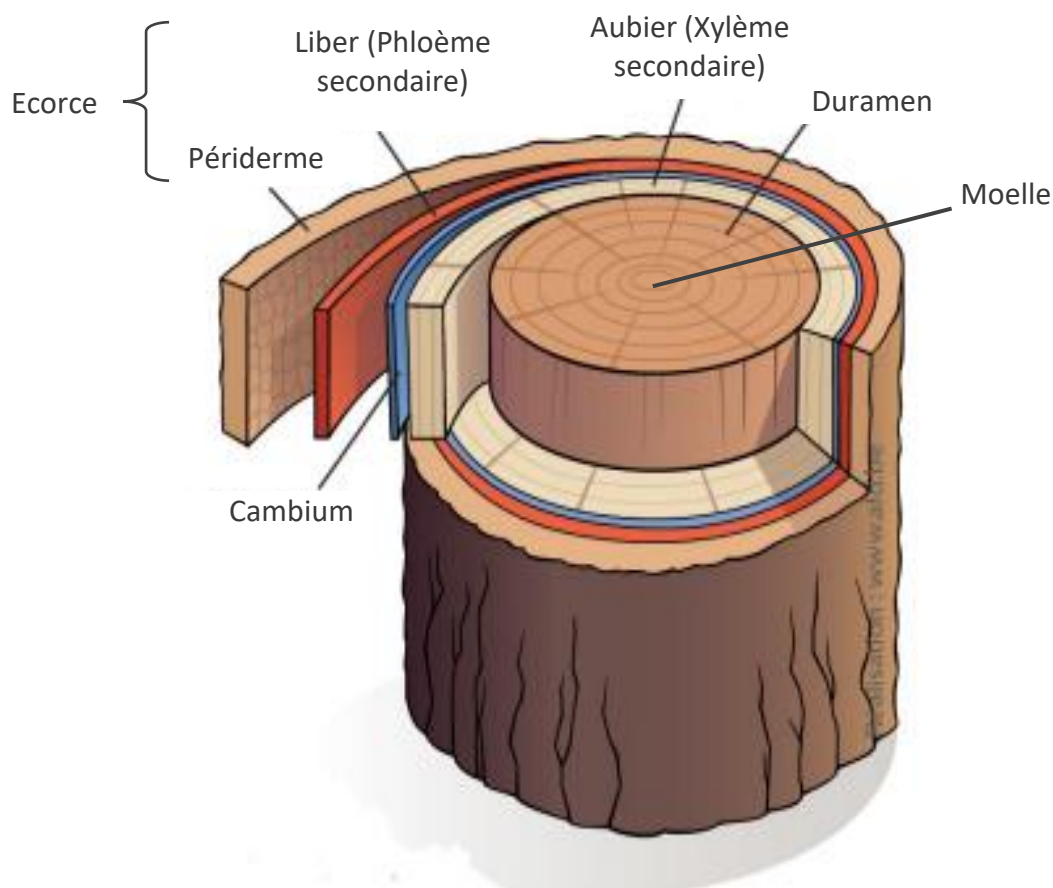


Figure 1 : Schéma d'une coupe longitudinale d'un tronc d'arbre (This, 2017).

1.3. Composition chimique du bois

1.3.1. Généralités

Les cellules qui composent le bois présentent dans leur paroi un réseau complexe de longs polymères imbriqués et interconnectés appelé lignocellulose (Figure 2). Les 3 polymères le composant sont la cellulose, l'hémicellulose et la lignine. Les proportions de ces polymères varient grandement selon l'espèce, néanmoins chez la vigne on retrouve 35 % de cellulose, 35 % d'hémicellulose et 15 % de lignine (Pacetti et al., 2022; Shrotri et al., 2017). Au sein de cette matrice, des composés solubles également appelés extractibles représentent environ 15 % de la masse sèche du bois chez la vigne.

1.3.2. Holocellulose

La cellulose et l'hémicellulose sont des polymères de sucres qui ensemble constituent l'holocellulose. La cellulose est le polymère le plus abondant sur Terre et le constituant principal de la paroi cellulaire. La cellulose est constituée d'une chaîne linéaire formée de plusieurs milliers d'unité D-glucose, liés par des liaisons éther β -1,4 (Duchesne & Larson, 1989). Des liaisons hydrogène et de Van der Waals inter et intramoléculaire établissent une cohésion entre les chaînes de cellulose. L'hémicellulose forme des chaînes plus courtes, de quelques centaines de résidus comprenant des ramifications. Contrairement à la cellulose, l'hémicellulose présente une grande diversité de monomères qui diffèrent entre angiospermes et gymnospermes (Pallardy, 2008; Terrett & Dupree, 2019). La cohésion entre les chaînes de cellulose et d'hémicellulose est assurée par des liaisons hydrogène et de Van der Waals (Shrotri et al., 2017).

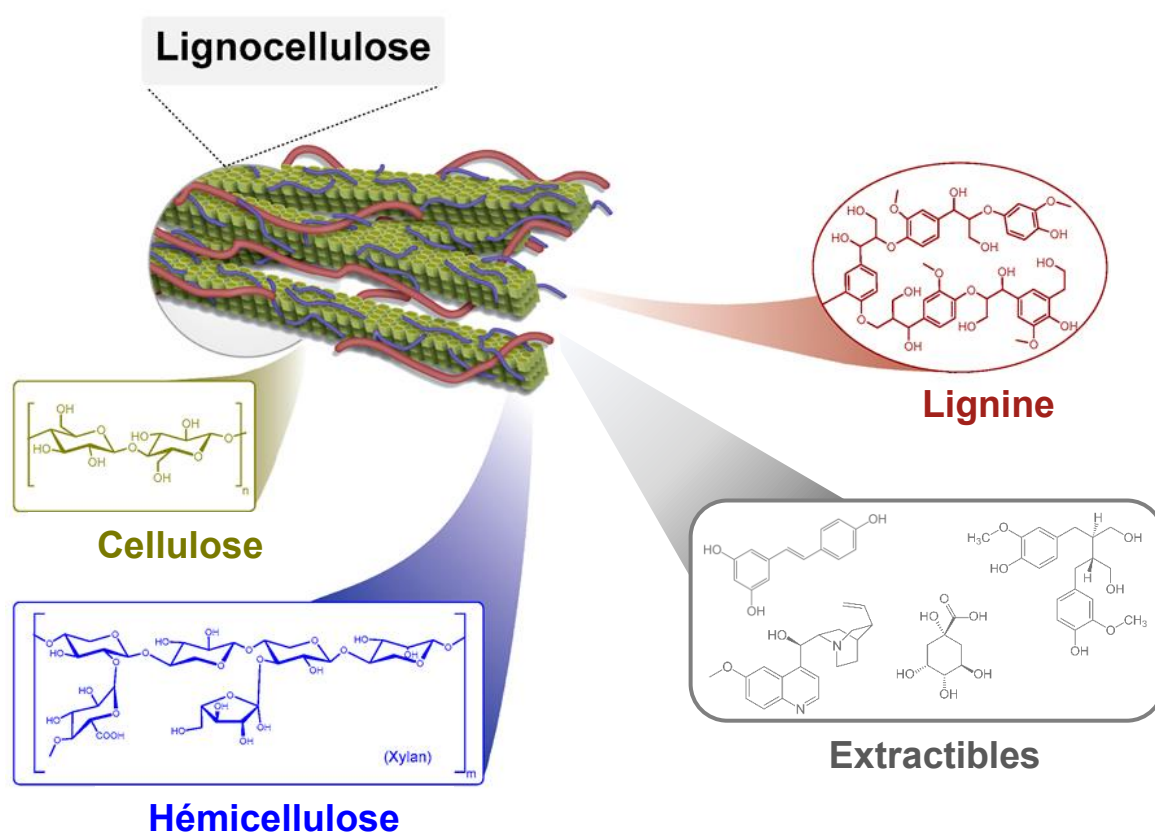


Figure 2 : Représentation de la structure moléculaire d'une paroi de cellule de bois (Korányi et al., 2020).

1.3.3. La lignine

La lignine est un polymère phénolique présent au niveau de la paroi secondaire des cellules végétales, qui après la cellulose représente le deuxième polymère le plus abondant dans la nature. Elle est constituée de 3 sous-unités phénoliques appelées monolignols ou monomères canoniques (Figure 3). Ces 3 sous-unités sont l'alcool sinapylique (sous-unité S), l'alcool coniférylique (sous-unité G) et l'alcool *para*-coumarylique (sous-unité H). Elles sont issues de la voie de biosynthèse des phénylpropanoïdes, ayant pour précurseur la phénylalanine (Vanholme et al., 2010). La formation de la lignine se fait par polymérisation radicalaire des monolignols, sous l'action de laccases et de peroxydases, afin de coupler les monomères par des liaisons carbone-carbone et carbone-oxygène. La spécificité large de ces enzymes peut également induire l'oxydation de ramifications de l'hémicellulose, créant des liaisons covalentes avec la lignine (Terrett & Dupree, 2019).

De plus, d'autres composés phénoliques nommés monomères non-canoniques prennent une part importante dans la composition de la lignine (Del Río et al., 2017; Karlen et al., 2016). Parmi ces monomères non-canoniques, on trouve des dérivés de monolignols, des stilbènes, des flavonoïdes et

des acides hydroxycinnamiques (Figure 3). Par exemple, la lignine de *Copernicia prunifera* contiendrait jusqu'à 23 % de picéatannol (Del Río et al., 2017).

La lignine assure plusieurs fonctions biologiques indispensables : le port érigé des plantes, le transport de l'eau et la défense contre les pathogènes. En effet, en rigidifiant les cellules, la lignine va permettre à la plante de lutter contre la gravité pour croître en hauteur. Etant donné sa nature phénolique, la lignine est relativement hydrophobe, cela permettant à l'eau de s'écouler à travers les vaisseaux sans être retenue par la cellulose et l'hémicellulose qui elles sont hydrophiles (Xie et al., 2018). La lignine constitue également une barrière chimique à l'entrée des champignons pathogènes, les empêchant d'accéder et de dégrader l'holocellulose dont ils se servent comme source de carbone (Miedes et al., 2014). Un grand nombre d'espèces fongiques responsables des pourritures blanches sont toutefois capables de dégrader cette lignine, à l'aide d'enzymes spécialisées telles que les peroxydases et les laccases (Yu et al., 2009). Les dépôts de lignine consécutifs à l'infection peuvent également empêcher la propagation des pathogènes et de leurs toxines (Miedes et al., 2014).

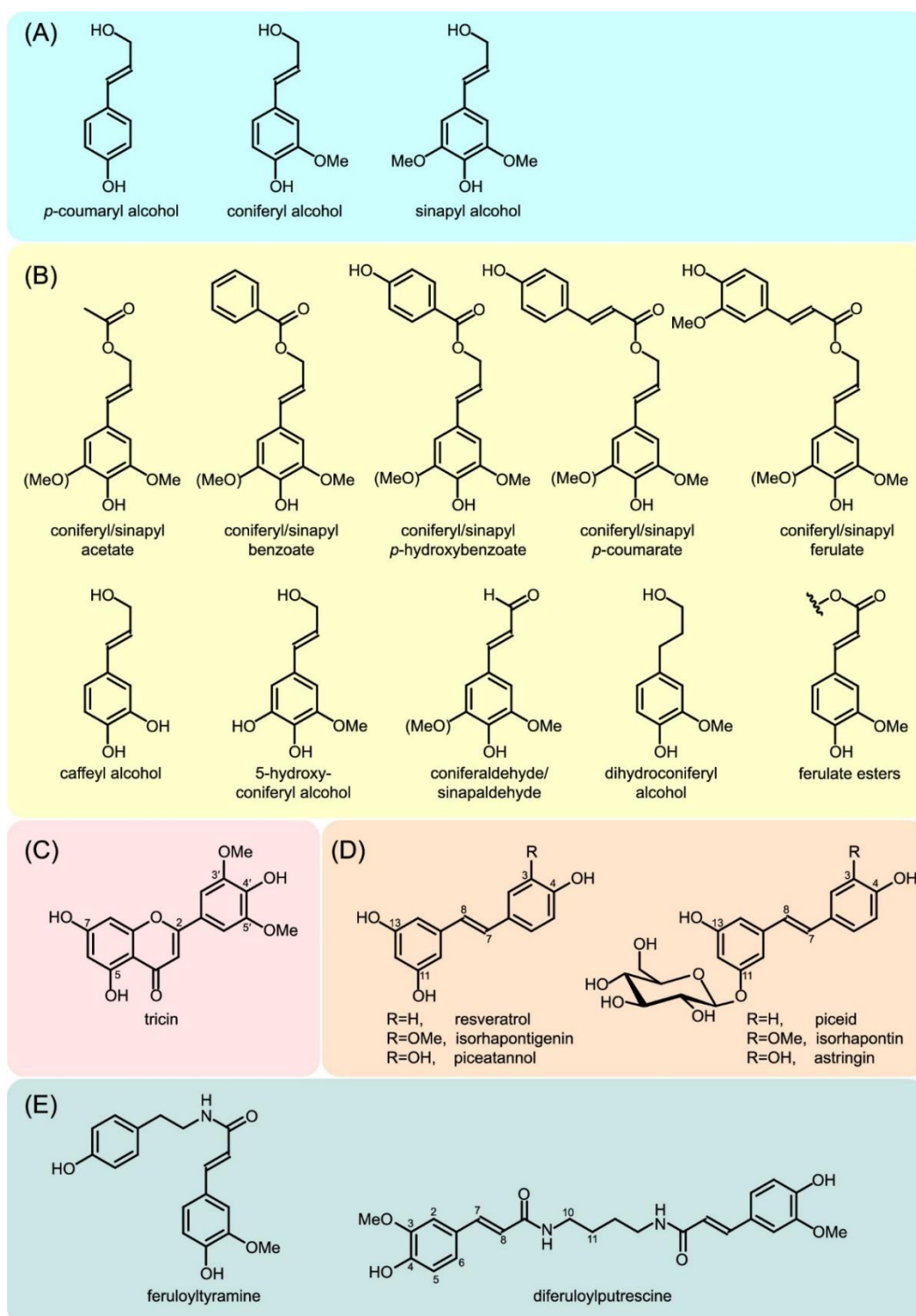


Figure 3 : Monomères identifiés dans la lignine. A : monomères canoniques de la lignine ; B : monomères non-canoniques dérivés de monolignols ; C : composé phénolique dérivé de flavonoïdes ; D : stilbènes ; E : acides hydroxycinnamiques (Del Río et al., 2020).

1.3.4. Les extractibles

a. Généralité

Les extractibles du bois sont constitués de molécules de faibles poids moléculaires qui, bien que relativement peu abondantes (10 à 15 % du poids sec), jouent un rôle primordial dans la préservation de l'intégrité structurale du bois contre les pathogènes et les herbivores (Scalbert., 1992). De faible poids moléculaire, ils sont nommés ainsi, car n'étant pas des composés structuraux, ils peuvent être extraits à l'aide de solvants organiques ou aqueux (Taylor et al., 2002). Ils présentent une large diversité chimique et les plus communs peuvent être catégorisés en plusieurs classes : les carbohydrates non-structuraux, les composés azotés non-structuraux, les terpènes, les composés phénoliques (phénols simples, flavonoïdes, stilbènes, lignanes, tanins hydrolysables), les alcaloïdes et les composés aliphatiques (lipides principalement).

b. Les extractibles du bois de vigne

Le métabolome des feuilles et des baies de vigne ont fait l'objet de nombreux travaux, en raison de leur importance, vis-à-vis de l'impact de l'oïdium et du mildiou sur les feuilles mais également de la composition des baies sur les caractéristiques organoleptiques des vins (Becker et al., 2013; Wu et al., 2016). Toutefois, le métabolome du bois a fait l'objet d'une attention bien plus limitée, et celui-ci a principalement été étudié dans le cadre des maladies du bois ou bien comme source de molécules d'intérêt (Amalfitano et al., 2000; Amalfitano et al., 2011; Labois et al., 2020; Lima et al., 2017).

Une revue publiée en 2020 dresse une liste très complète des composés phénoliques extractibles présents dans les différentes parties lignifiées de la vigne, comprenant les baguettes, les racines et les troncs, et rapportées dans la littérature (Goufo et al., 2020). Les tissus lignifiés de la vigne sont particulièrement riches en stilbènes. Ceux-ci sont présents sous forme monomérique, glycosylés ou non, mais surtout sous forme d'oligomère. Plusieurs dizaines d'entre eux ont été identifiés, des dimères, trimères et tétramères (Galarneau et al., 2021; Gabaston et al., 2019 ; Goufo et al., 2020; Labois et al., 2020). Comme dans de nombreuses autres essences de bois, celui de la vigne apparaît riche en tannins condensés (procyanidines) ainsi que leurs précurseurs (catéchine et épicatechine), en précurseurs de tannins hydrolysables (acide gallique) et en précurseurs de la lignine (acide sinapique, acide férulique etc..). De nombreux flavonoïdes libres ont été identifiés, comme la naringénine, la quercétine, le kaempférol ainsi que leurs dérivés glycosylés, bien que leur abondance soit plus faible (Galarneau et al., 2021 ; Goufo et al., 2020). Les terpènes, très abondants dans les baies

de raisins de certains cépages, sont également identifiables dans le bois de vigne (Galarneau et al., 2021).

Le métabolome du bois contient également un grand nombre de métabolites primaires. Parmi eux, on compte des glucides (oses acides, oses simples, polyols), des acides aminés protéinogènes et non protéinogènes (GABA, β -Alanine), ainsi qu'un certain nombre d'acides organiques (Labois et al., 2020 ; Lima et al., 2017 ; Noronha et al., 2023). Plusieurs acides gras et phospholipides et glycérophospholipides ont été identifiés dans le bois de différents cépages (Gw, Chardonnay et Mourvèdre) (Lemaitre-Guillier et al., 2020; Chervin et al., 2022).

Le bois de la vigne se caractérise par sa richesse en molécules de la classe des stilbènes (Pawlus et al., 2013). Au sein du règne végétal, les stilbènes sont distribués dans un nombre restreint d'espèces, principalement chez les angiospermes et les gymnospermes (Rivière et al., 2012). Largement décrits dans le cadre d'interactions plantes-pathogènes, les stilbènes ont montré des propriétés antimicrobiennes notables (Schnee et al., 2013). Comme il n'existait pas, à ma connaissance, de revue focalisée sur les stilbènes constitutifs, le manuscrit d'un article de revue, intitulé « *Origin, diversity and roles of constitutive stilbenes in plants* », est présenté à la fin de cette introduction.

2. Article 1 : Origin, diversity and roles of constitutive stilbenes in plants

Origin, diversity and roles of constitutive stilbenes in plants

Chepca H, Maïa-Grondard A and Hugueney P

Santé de la Vigne et Qualité du Vin (SVQV), INRAE, Université de Strasbourg, Colmar, France.

Introduction

Plants elaborate a wide range of specialized metabolites, which have evolved to confer selective advantages in their biotic and abiotic environments. Among them, the phenylpropanoids constitute a large family of compounds derived from phenylalanine and tyrosine. Phenylpropanoids play key roles in many aspects of plants' life, as major components of structural polymers, providing protection against biotic and abiotic stresses, or as floral pigments and scent compounds involved in plant-pollinator interactions (Deng and Lu, 2017). If phenylpropanoids are found throughout the plant kingdom, some subfamilies of phenylpropanoids are restricted to specific plant genera. This is the case of stilbenes, which are characterized by their 1,2-diphenylethylene backbone. Most plant stilbenes are derived from the basic unit *trans*-resveratrol (3,5,4'-trihydroxy-*trans*-stilbene). Stilbenes have been identified in over a hundred plant species belonging to dozens of families, including Vitaceae, Pinaceae, Moraceae, Fabaceae and Polygonaceae. This review will not present the diversity of stilbene structures, nor list all plant taxa that synthesize stilbenes, as these aspects have been described elsewhere (Rivière et al., 2012; Keylor et al., 2015). Plant stilbenes have received considerable interest in medical research, due to their ability to prevent or slow down the progression of a wide variety of illnesses, such as cancer, cardiovascular diseases, and aging-related diseases. The pharmacological and clinical applications of stilbenes will not be presented, as this subject has been extensively reviewed (Roupe et al., 2006; Xia et al., 2017; Meng et al., 2020). Depending on the plant species, stilbenes may be considered as phytoalexins, which are synthesized in response to biotic and abiotic stresses, or they may be constitutively accumulated in various organs of some species. Stress-related and general aspects of stilbene biosynthesis have been subjected to different reviews (Chong et al., 2009; Jeandet et al., 2010; Jeandet et al., 2021; Valletta et al., 2021), however, the specific case of stilbenes as constitutively accumulated compounds has not often been discussed, although stilbenes may be accumulated to high amount in some plant species. Therefore, we present here recent advances about the origin, diversity and biosynthesis of constitutive stilbenes, i.e. stilbenes whose biosynthesis and accumulation are developmentally-regulated, and we discuss their biological and ecological roles.

1. Distribution of constitutive stilbenes in the plant kingdom

Stilbene biosynthesis is derived from the general phenylpropanoid pathway, which has been extensively described previously (Vogt, 2010; Valletta et al., 2021; Deng and Lu, 2017). Phenylpropanoids are common to all embryophytes and thought to have evolved with the emergence of the first land plants, around 500 million years ago (Emiliani et al., 2009). Indeed, terrestrialisation has led plants to face new stresses such as gravity, desiccation, UV radiations and new pathogens and phenylpropanoids have been shown to be involved in plant protection against both abiotic and biotic stresses (Lambert et al., 2012; Mierziak et al., 2014).

With the exception of hornworts, all embryophytes are able to synthesize flavonoids (Yonekura-Sakakibara et al., 2019), while a relatively smaller number of species can produce stilbenes. Among them, some have been found to accumulate stilbenes only in response to stresses (for example *Festuca arundinacea* or *Stipa robusta*, (Powell et al., 1994), and will therefore not be discussed in this work. An analysis of current literature about stilbene-containing plants has identified hundreds of species across at least 225 genera, including mosses, ferns, gymnosperms and angiosperms (**Figure 1** and **Annexe Table S1**). Among mosses, the oldest groups of land plants, only two species have been found to accumulate stilbenes, albeit in relatively small amounts. For example, 3,4-dihydroxy-3'-methoxystilbene has been extracted from *Marchesina bongardia* gametophytes and was the first stilbene identified in bryophytes (Speicher & Schoeneborn, 1997). Two stilbene derivatives, named corsifuran A and C, were then extracted from *Corsinia coriandrinai* (von Reuss & König, 2004). Among Gymnosperms, stilbenes have been found in Gnetales and are widely distributed among the Pinales (conifers) order. Within ferns, stilbenes have been reported in two species. Ugonstilbenes, cyclized geranylated stilbenes, and stilbene glucosides such as piceid have been respectively extracted from rhizomes of *Helminthostachys zeylanica* and *Dryopteris sublaeta* (Chen et al., 2003; Feng et al., 2005). Conifer stilbenes have been extensively documented, and numerous stilbene monomers and dimers, such as pinosylvin (and its derivatives) or piceasides have been identified in dozens species of the *Pinus*, *Abies* and *Larix* genera (Gabaston et al., 2017; Solhaug, 1990). In Gnetales order, only species belonging to *Welwitschia* and *Gnetum* genera are known to produce stilbenes. Glycosylated stilbenes have been found in *Welwitschia mirabilis* stems and roots (Murata et al., 2005), while a great diversity of stilbenes including monomers, dimers and trimers, glycosylated or not, have been identified in *Gnetum* species (Iliya et al., 2003; Tanaka et al., 2001).

Angiosperms harbor a large diversity of stilbenes-containing species, with at least 216 genera belonging to 23 different orders of Magnoliids, Monocotyledons and eudicots. Among these, the *Vitis* genus has been the subject of multiple works, probably because grape-derived products are the most important source of stilbenes in western diet. Indeed, wine has been estimated to account for over 98 % of resveratrol and piceid intakes in the Spanish adult population (Zamora-Ros et al. 2008). In addition to *Vitis vinifera*, the Vitaceae family includes numerous stilbene-producing species spanning 7 genera (*Ampelopsis*, *Cayratia*, *Cissus*, *Cyphostemma*, *Parthenocissus*, *Tetrastigma* and *Vitis*). Species of *Morus* et *Vaccinium* have also been the subject of numerous studies, and several monomers such as resveratrol, oxyresveratrol and mulberroside A have been identified in berries and stems (Song et al., 2009; Zhou et al., 2013). The Fabaceae, Orchidaceae and Asteraceae families contain relatively large numbers of stilbene-producing species (Christenhusz & Byng, 2016).

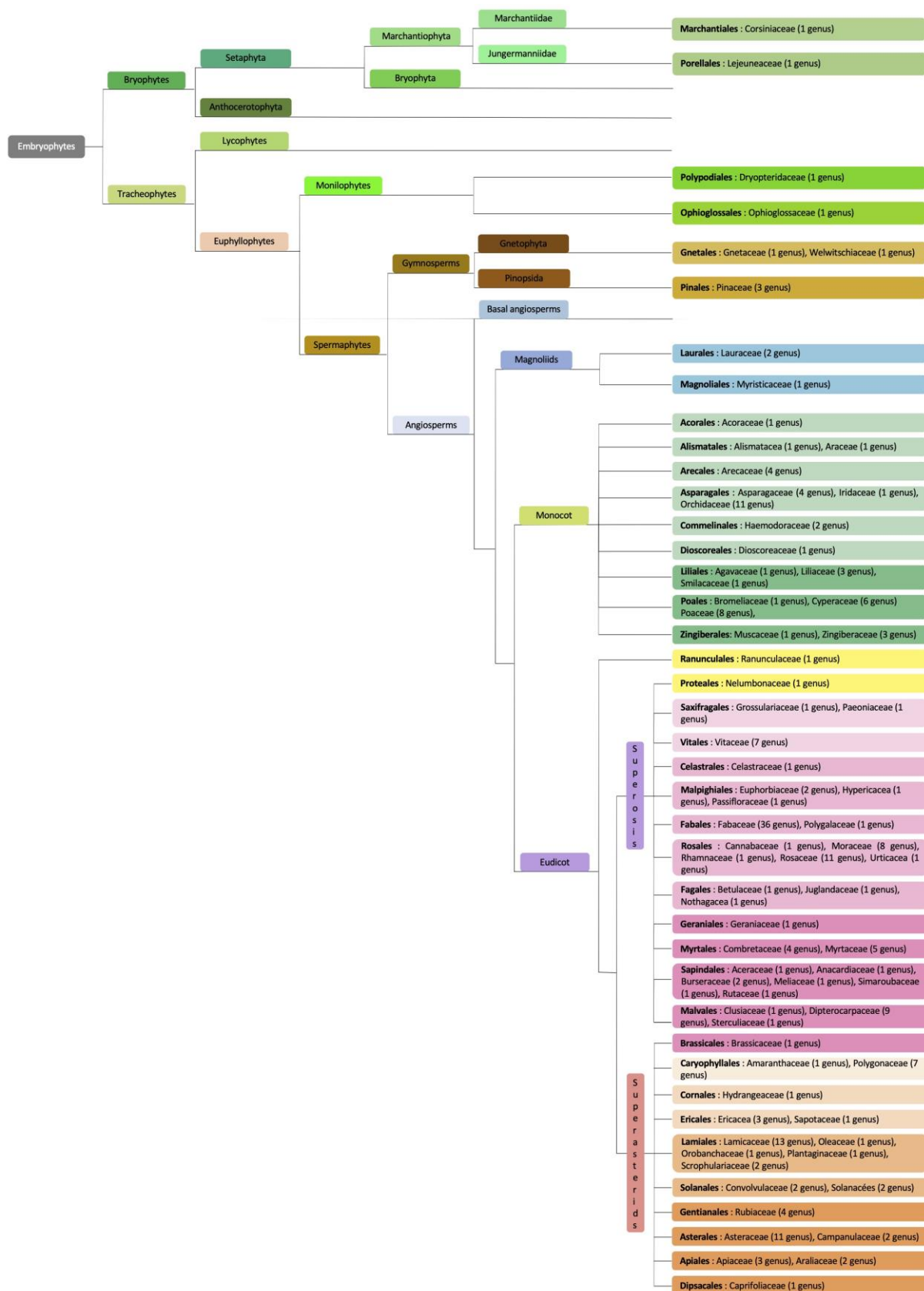


Figure 1 : Distribution of constitutive stilbenes in the plant kingdom. Orders and families in which stilbene-accumulating plants have been characterized are indicated

Many stilbene-containing plant species only accumulate low amounts of these compounds. Nevertheless, some species in the *Picea*, *Pinus*, *Morus*, *Vitis*, *Reynoutria*, *Paeonia* and *Rheum* genera may accumulate high amounts of stilbenes in various organs. **Table 1** reports examples of major constitutive stilbene accumulated to several grams per kg of dry weight in various plant species. For instance, roots of *Rheum rhaponticum* have been found to accumulate amounts of rhapontin ranging from 14 to more than 180 g/kg dry weight (Aaviksaar et al., 2003; Liudvytska et al., 2023) and the heartwood of *Artocarpus lakoocha* has been reported to accumulate over 150 g/kg of oxyresveratrol (Maneechai et al., 2009). It should be noted that stilbene amounts among plant organs are very often heterogeneous, with larger amounts usually present in lignified parts such as stems, trunks or roots than in leaves or berries. Grape canes (*Vitis vinifera*) accumulate up to 15.1 g/kg of stilbenes, compared to 18.9 g/kg in roots and 32.9 g/kg in wood (Gabaston et al., 2019). Similarly, leaves of *Morus atropurpurea* do not accumulate stilbenes, while roots contain over 17 g/kg mulberroside (**Table 1**) (Zhou et al., 2013).

Table 1 : Examples of major constitutive stilbenes accumulated in various tissues of a selection of stilbene-rich plant species. Amounts of stilbenes are represented according to the indicated color scale. The names of stilbenes whose structures are represented are underlined.

Species	Tissue	Amounts (g/kg DW)		Structure of <u>major stilbenes</u>	Ref
Gymnosperms					
<i>Picea abies</i>	Root bark	<u>Astringin</u> : 22 <u>trans-Isorhapontin</u> : 18 Piceid: 5			Girma Mulat et al., 2014
<i>Pinus nigra</i>	Heartwood	<u>PinosylvinMME</u> : 40.3 Pinosylvin: 17.07			Ioannidis et al., 2017
<i>Pinus koraiensis</i>	Bark	<u>trans-Piceid</u> : 22.4 <u>trans-Pinostilbenoside</u> : 28.4			Kwon et al., 2009
Angiosperms					
<i>Artocarpus lakoocha</i>	Heartwood	<u>Oxyresveratrol</u> : 182			Maneechai et al., 2009
<i>Morus atropurpurea</i>	Roots	<u>Mulberroside A</u> : 17.1			Zhou et al., 2013
<i>Rheum rhaponticum</i>	Roots	<u>trans-Piceid</u> : 36.6 <u>trans-Rhapontin</u> : 151.3 <u>trans-Astringin</u> : 99.3 <u>trans-Deoxyrhapontin</u> : 42.6			Aaviksaara et al., 2003
<i>Vitis vinifera</i>	Roots	<u>trans-ε-Viniferin</u> : 8.9 <u>trans-Resveratrol</u> : 3.2 Vitisin B: 23.9			Gabaston et al., 2019
<i>Paeonia rockii</i>	Seeds	<u>Suffruticosol A</u> : 11.5 <u>Suffruticosol B</u> : 30.54 Gnetin H: 17.1			He et al., 2013
<i>Fallopia japonica</i>	Roots	<u>Piceid</u> : 16.4			Beňová et al., 2008
<i>Helichrysum italicum</i>	Flowers	<u>cis-Resveratrol</u> : 6.5			Mekinic et al., 2016
<i>Carex glauca</i>	Roots	<u>α-Viniferin</u> : 5.5			Arraki et al., 2013

2. Genomics of stilbene biosynthesis

2.1. Stilbene synthase gene families

Stilbene biosynthesis is a particular branch of the general phenylpropanoid pathway, which relies on specific genomic features of stilbene-accumulating plants. Indeed, these plants have evolved specialized genes and gene families, and particularly genes encoding stilbene synthase, which catalyzes the first committed step of stilbene biosynthesis. Stilbene synthase (*STS*) genes share substantial similarities with the genes encoding chalcone synthase (*CHS*), and phylogenetic analyses suggest that *STS* have repeatedly and independently evolved from *CHS* in unrelated plant genera (Tropf et al., 1994). Consistent with the relatively frequent occurrence of this evolution process, site directed mutagenesis of a small number of amino acids in *CHS* were shown to be sufficient to confer *STS* activity (Tropf et al., 1994). *STS* enzymes can be subcategorized in two groups : resveratrol synthase and pinosylvin synthase, depending on their preferred substrate (Morita et al., 2001). Resveratrol synthase are found in species of genus *Vitis* (Parage et al., 2012), *Arachis* (Zhu et al., 2014), *Rheum* (Samappito et al., 2003) or *Morus* (Wang et al., 2017). They are involved in resveratrol formation, by coupling *p*-coumaroyl-CoA with 3 malonyl-CoA (**Figure 2**). Pinosylvin synthases are mainly found in conifer such as *Pinus sylvestris* (Schanz et al., 1992), and convert cinnamoyl-CoA with 3 malonyl-CoA to produce pinosylvin (3,5-dihydroxystilbene).

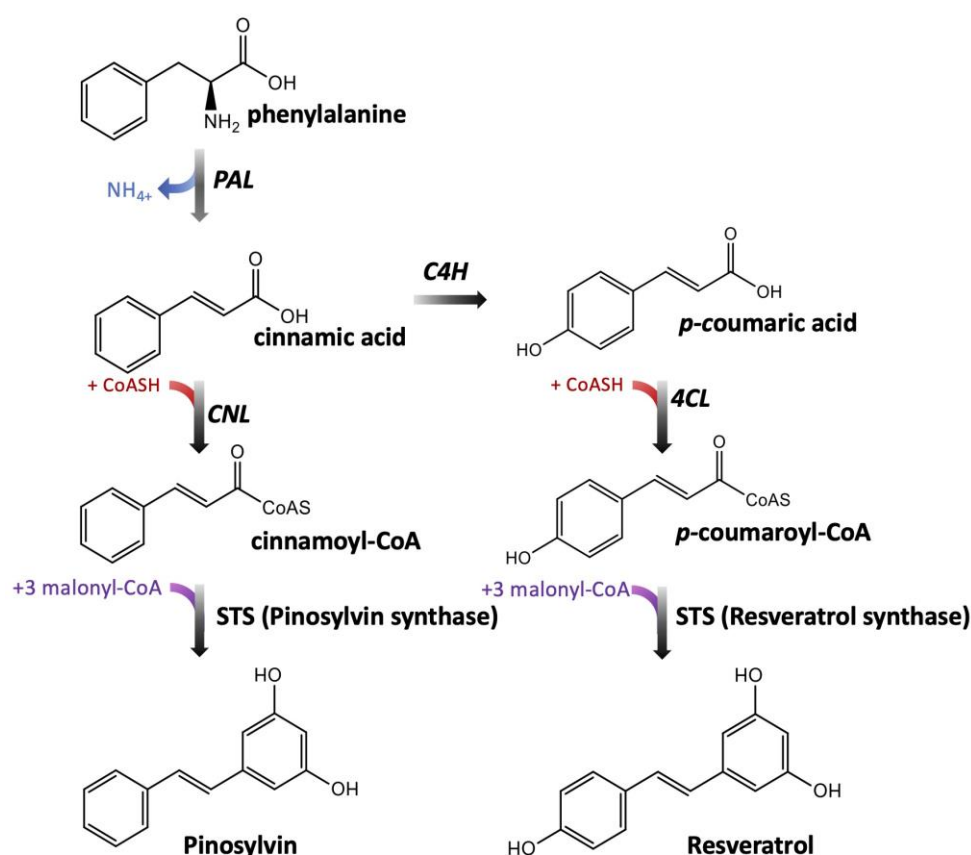


Figure 2 : Biosynthesis pathways of stilbenes from phenylalanine. PAL : phenylalanine ammonia lyase; C4H : cinnamate-4-hydroxylase ; 4CL : 4-coumarate CoA ligase; CNL : cinnamate CoA ligase

Although stilbenes have been found in hundreds of plant species, data about *STS* genes and enzymes remain scarce. To date, *STS* enzymes have been formally identified and characterized in about twenty different species (**Table 2**). Depending on conditions, many plant species may accumulate both constitutive and stress-related stilbenes. Co-occurrence of these two types of stilbenes poses the question as to whether specific genes or regulations are involved in the biosynthesis of constitutive versus stress-related stilbenes. In the last decade, the development of next-generation sequencing technologies has provided access to the sequence of a large number of plant genomes. Availability of genome sequences of stilbene-producing plants make it now possible to analyze the genomics of stilbene biosynthesis, i.e. to investigate the characteristics of stilbene-related gene families.

Among monocots, sorghum (*S. bicolor*) and wild sugarcane (*Saccharum spontaneum*) have been shown to accumulate methylated stilbenes, albeit only in response to biotic or abiotic stress (Yu et al., 2005; Lui et al., 2023). Analysis of the complete sequence of sorghum genome suggested that it contains only one *STS* gene (*SbSTS1*) (Paterson et al., 2009). However, the genomes of most stilbene-producing plants harbour multiple *STS* genes.

Woody parts of conifers such as *Pinus* and *Picea* species contain significant amounts of constitutive stilbenes (**Table 1**). However, the very large size of conifer genomes has made it difficult to characterise their *STS* gene families until recently. Nevertheless, older works have identified a few *STS* genes in several conifer species. At least five *STS* have been identified in *Pinus sylvestris* (*PST-1* → *PST-5*), four of which were potentially functional (Preisig-Müller et al., 1999). *PST-1* has been expressed in *E. coli* and the corresponding enzyme has shown a higher affinity for the cinnamoyl-CoA, classifying it as pinosylvin synthase (Schanz et al., 1992). Two *STS* genes (*PaSTS1*, *PaSTS2*) have been identified and cloned from Norway spruce (*Picea abies*) (Hammerbacher et al., 2011). The recent availability of conifer genome sequences has allowed a detailed analysis of *STS* gene families, which confirmed the results of earlier works. For example, analysis of the white spruce (*Picea glauca*) genome revealed two functional *STS* genes and two putative pseudogenes (Warren et al. 2015). Similarly, *de novo* transcriptome assembly identified two expressed *STS* genes in *Pinus strobus* (Kim et al., 2024), indicating that relatively small numbers of *STS* genes are responsible for the biosynthesis of the large amounts of constitutive stilbenes accumulated in conifer trees.

While the genomes of most stilbene-producing plants harbor a small number of *STS* genes (typically one to ten *STS*). However, the genome of some species may contain up to several dozens of such genes. For example, the genome of *Morus notabilis* harbours at least 10 *STS* genes, two of them (*MnSTS7*, *MnSTS8*) being functionally characterized after expression in *E. coli* (Li et al., 2016). Initially, four *STS* genes had been identified in the genome of mulberry (*Morus alba*). The expression of the *MaSTS3* gene in *Nicotiana tabacum* has led to the accumulation of *trans*-resveratrol, thereby confirming its function (Wang et al., 2017). Recently, improved structural and functional annotation of the mulberry (*M. alba*) genome combined with transcriptomic analyses indicated that the genome of this species harbors 22 *STS* genes (Santiago et al., 2024).

The complete sequencing of the peanut (*A. hypogaea*) genome has revealed up to 46 different *STS* genes, 42 of which are located on chromosomes 4 and 14 (Brasileiro et al., 2023). Similarly, 48 *STS* genes organized in two clusters located on chromosome 10 and 16 have been identified in the *Vitis vinifera* genome, at least 32 of which being potentially functional. The function of 9 of these genes has been confirmed after transient expression in *Nicotiana benthamiana* leaves (Parage et al., 2012). In

Vitis quinquangularis, 47 putative *STS* genes have been identified by comparison of transcriptomic data with the reference genome of *V. vinifera* PN40024 (Yan et al., 2023).

2.2. Stilbene synthases: Constitutively-expressed versus stress-related genes

In many stilbene-producing plants *STS* genes constitute a small to mid-size gene family, raising the question as to whether different *STS* genes may be specialized in the biosynthesis of constitutive and stress-related stilbenes, respectively. The genome of sorghum (*S. bicolor*) has been shown to harbor a single *STS* gene *SbSTS1*, which is only expressed under stress conditions, explaining the lack of constitutive stilbenes in this species (Yu et al., 2005). Grapevine (*V. vinifera*) is an interesting model to investigate specialization of *STS* genes, due to the large size of the *STS* gene family and its capacity to accumulate both constitutive and stress-related stilbenes. Analysis of grapevine *STS* gene expression indicated that all genes did not respond to stress in the same way. *STS* genes could be classified into three groups A,B,C based on their expression profiles and stress responsiveness in *V. vinifera* cv. Pinot noir and Corvina (Vannozzi et al, 2012). Taking advantage of the large number of grapevine RNAseq data sets currently available, transcriptomic analysis of the *STS* gene family may be extended to other grapevine varieties, by using the GRapevine Expression ATlas (GREAT) tool (<https://great.colmar.inrae.fr/>), which enables comparative transcriptomic analyses based on publicly available RNA seq data. Expression of the *STS* gene from the chromosome 10 gene cluster is relatively high in stilbene-rich healthy canes, consistent with a significant role of this cluster in constitutive stilbene biosynthesis (**Figure 3A**). Induction of *STS* expression following abiotic or biotic stress affects genes in both chromosome 10 and 16 clusters, depending on the type of stress and on grape varieties. Infection with *P. viticola* induces gene expression in both clusters, while the chromosome 16 gene cluster is highly responsive to UV exposure (**Figure 3B**). These patterns are consistent with a certain extent of specialization among *STS* genes, although the specialization in the synthesis of constitutive or stress-related stilbenes may be influenced by the type of stress or the grape variety.

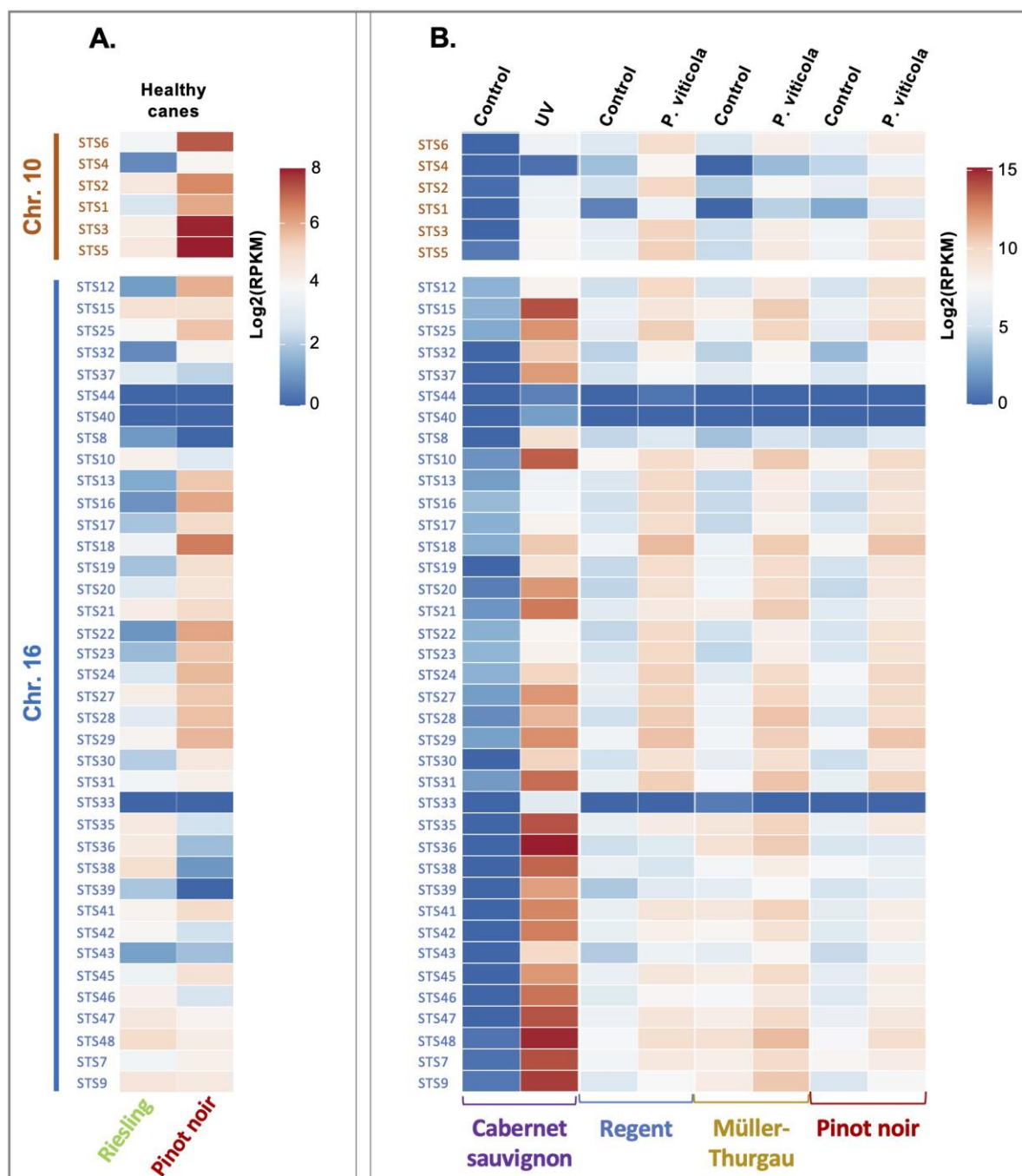


Figure 3 : Constitutive and stress-related expression of *STS* genes in the *V. vinifera* *STS* family. Gene expression in healthy canes (A) and leaves (B) submitted to UV light (UV) or downy mildew infection (DM) was compared in different *V. vinifera* varieties. Log2 of the number of mapped reads per Kb per million mapped reads (RPKM) are indicated by shades of red or blue colors according to the scale bar. *STS* genes are numbered according to Parage et al. (2012) and organized based on to their membership of the gene clusters located on chromosomes 10 and 16. Gene expression analyses were based on publicly available RNA seq data using the GREAT tool for comparative transcriptomics. RNA seq data were collected from Eisenmann et al., 2019 ; Enoki et al., 2018 ; Yang et al., 2015 and Vannozzi et al., 2012.

Grapevines is not the only species, in which this specialization was highlighted. From the 4 *STS* genes found in *Morus alba*, *MaSTS1* and *MaSTS3* have been shown to be constitutively expressed, correlating with stilbene accumulation in the different organs of the plant. Conversely, *MaSTS4* was only expressed following a stress, categorizing it as a stress-inducible *STS* (Wang et al., 2017).

Similarly, analysis of *STS* gene expression in needles of *Picea jezoensis* has shown that out of 4 *STS* genes, *PjSTS1a* and *PjSTS1b* were the most expressed with seasonal variations, reaching a peak in autumn, while *PjSTS2* and *PjsSTS3* were barely expressed. This expression pattern correlated with stilbenes accumulation, that increase from spring to autumn and decrease to the winter (Kiselev et al., 2016). Interestingly, *PjSTS1a* and *PjSTS1b* were also induced by abiotic stress and precursor feeding, while *PjSTS2* and *PjSTS3* are comparatively less affected (Kiselev et al., 2019).

Regarding these results, it seems that *STS* genes present in species that accumulate both constitutive and stress-related stilbenes show a certain extent of specialization in the biosynthesis of either form of stilbenes, indicating that different regulation pathways operate to regulate both constitutive and stress-induced stilbene biosynthesis.

Table 2: Species where STS have been identified and functionally validated by cloning in a heterologous organism.

Species	Number of putative STS genes	Cloned STS genes	Organism used for functional validation	References
Polypodiopsida				
<i>Psilotum nudum</i>	2 PS : PnI, PnL	<i>PnI, PnL</i>	<i>A. thaliana</i>	Yamazaki et al., 2001
Gymnosperms				
<i>Picea abies</i>	2 PS : PaSTS1, PaSTS2	<i>PaSTS1, PaSTS2</i>	<i>E. coli, Picea abies</i>	Hammerbacher et al., 2011
<i>Picea jezoensis</i>	4 STS : PjSTS1a, PjSTS1b, PjSTS2, PjSTS3	<i>PjSTS1a, PjSTS2, PjSTS3</i>	<i>Vitis amurens</i>	Kiselev et al., 2016 Suprun et al., 2020
<i>Pinus densiflora</i>	3 STS : PdSTS1 → PdSTS3	<i>PdSTS1, PdSTS2, PdSTS3</i>	<i>E. coli</i>	Kodan et al., 2002
<i>Pinus strobus</i>	2 PS : STS1, STS2	<i>STS1, PaSTS2</i>	<i>E. coli</i>	Raiber et al., 1995
<i>Pinus sylvestris</i>	5 PS : PST-1 → PST-5	<i>PST-1</i>	<i>E. coli</i>	Schanz et al., 1992 Muller et al., 1999
Angiosperms				
<i>Arachis hypogaea</i>	26 STS	<i>AhSTS1, AhSTS3, PNRS1</i>	<i>E. coli, Allium cepa</i>	Brasileiro et al., 2023 Zhu et al., 2014
<i>Morus alba</i>	4 STS : MaSTS1 → MaSTS3	<i>MaSTS3</i>	<i>E. coli</i>	Wang et al., 2017
<i>Morus notabilis</i>	10 RS : MnSTS1 → MnSTS10	<i>MnSTS7, MnSTS8</i>	<i>E. coli</i>	Li et al., 2016
<i>Parthenocissus henryana</i>	1 STS	<i>STS</i>	<i>Lactuca sativa</i>	Liu et al., 2006
<i>Reynoutria japonica</i>	11 STS	<i>PcRS1, PcPKS5</i>	<i>A. thaliana</i>	Zheng et al., 2021
<i>Reynoutria multiflora</i>	1 STS : FmSTS1	<i>FmSTS1</i>	<i>A. thaliana</i>	Sheng et al., 2006
<i>Rheum tataricum</i>	1 RS : RtSTS	<i>RtSTS</i>	<i>E. coli</i>	Samappito et al., 2003
<i>Sorghum bicolor</i>	1 STS : SbSTS1	<i>SbSTS1</i>	<i>A. thaliana</i>	Christine et al., 2005
<i>Vitis amurens</i>	22 STS	<i>VaSTS</i>	<i>Vitis amurens</i>	Yin et al., 2016 Kiselev et al., 2016
<i>Vitis labrusca</i>	1 STS : pLAB	<i>pLAB</i>	<i>Actinidia deliciosa</i>	Kobayashi et al., 2000
<i>Vitis pseudoreticulata</i>	6 STS : VpSTS1 → VpSTS6	<i>VpSTS6</i>	<i>Vitis vinifera</i>	Wang et al., 2007 Fan et al., 2008
<i>Vitis quinquangularis</i>	47 STS	<i>VqSTS6</i>	<i>Vitis vinifera</i> var. <i>Thompson Seedless</i>	Hanhineva et al., 2009 Cheng et al., 2016 Yan et al., 2023
<i>Vitis riparia</i>	2 STS : pRIP, NS-Vitis3	<i>pRIP, NS-Vitis3</i>	<i>Actinidia deliciosa, Fragaria ananassa</i>	Kobayashi et al., 2000 Hanhineva et al., 2009
<i>Vitis vinifera</i>	48 STS	9 STS genes: <i>VvSTS5, VvSTS10, VvSTS16, VvSTS28, VvSTS29, VvSTS36, VvSTS38, VvSTS46, VvSTS48</i>	<i>Nicotiana benthamiana</i>	Parage et al., 2012

2.3. Modifications of stilbenes: an overview

Although it is the major precursor of stilbenoids, resveratrol is seldom accumulated to significant amounts in stilbene-accumulating plants (**Table 1**). Instead, constitutive stilbenes are predominantly accumulated as resveratrol derivatives, particularly glycosides and oligomers (**Figure 3A, 3B**), indicating that modifications play important roles in stilbene storage and activity.

Glycosylation

Glycosides are major forms of constitutively accumulated stilbenes, which are frequently found in *Reynoutria* species (Kato-Noguchi, 2022), in *Morus* species (Zhou et al., 2013), in the *Vitis* genus (Błaszczuk et al., 2019), as well as in conifers (Solhaug, 1990). Glycosylation is the addition of one or more carbohydrates on a stilbene from as glycosyl donor, glycosylation from UDP-glucose being the most common modification (**Figure 3A**). Stilbene glycosylation is considered to take place in the cytosol, through the activity of UDP glycosyl transferases (UGTs) enzymes (Vogt & Jones, 2000). Transgenic expression of *STS* genes in non-stilbene-producing species such as Alfalfa (*Medicago sativa*) or Arabidopsis has led to the accumulation of piceid instead of resveratrol (Hipskind & Paiva, 2000; Yu et al., 2006), highlighting the substrate versatility of UGTs involved in the glycosylation of xenobiotics (Landmann et al., 2007). A few stilbene-related UGTs have been identified from stilbene-producing species based on biochemical approaches and gene expression analysis. The VLRSgt enzyme, purified from berries of *Vitis labrusca*, presented a broad specificity depending on the pH and catalyzed the formation of glucosides and glucosyl esters with a wide range of polyphenol substrates (Hall & De Luca, 2007). At neutral pH, this UGT was able to efficiently glycosylate resveratrol in resveratrolside, while the formation of piceid required a pH higher than 8.5. However, VLRSgt activity was generally higher with flavonoid substrates than with stilbenes. Gene expression analysis identified the resveratrol/guaiacol UGT UGT72B27, which showed a significant *in vitro* activity toward resveratrol, leading to the formation of resveratrolside and piceid (Härtl et al., 2017). More recently, genetic analysis of grapevine wood and canes extractives identified Vitvi16g01150 as the main gene involved in the biosynthesis of constitutive stilbene glucosides in these tissues (Chepca et al., 2024). This UGT identified among a cluster of five UGTs located on chromosome 16 exhibited high resveratrol-glucosyltransferase activity, while activity with flavonoids was very low.

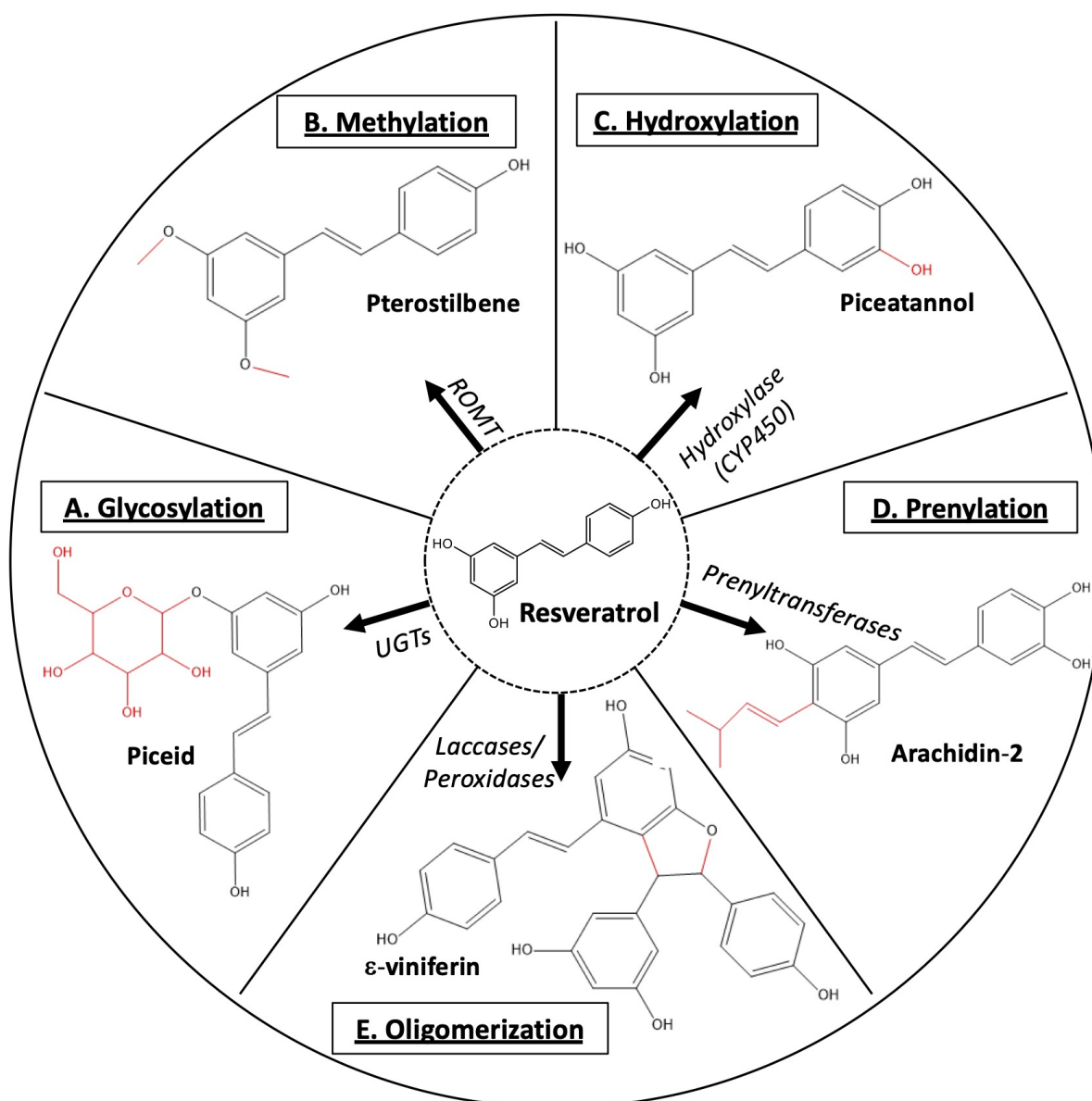


Figure 3 : Modifications of plant stilbenes (UGT : UDP-Glycosyltransferase ; ROMT : Resveratrol O methyltransferase ; CYP450 : Cytochrome P450).

Methylation

Methylation is a common modification of metabolites from the phenylpropanoid pathway such as flavonoids, chalcones and stilbenes, consisting in the addition of one or more methyl groups through the activity of S-adenosyl-methionine-dependent O-methyltransferases (OMTs) (Noel et al., 2003). The heartwood of *Pinus* species may contain large amounts of methoxylated pinosylvin derivatives such as pinosylvin monomethyl ether and pinosylvin dimethyl ether (**Table 1**) (Hovelstad et al., 2006; Ioannidis et al. 2017). The dimethoxylated resveratrol derivative pterostilbene (**Figure 3B**), was identified in the heartwood of the red sandalwood (*Pterocarpus santalinus*) (Kumar et al., 1974), but it is also found in the wood of *Pinus pinaster* (2 g/kg) (Gabaston et al., 2017). Pterostilbene has received a great attention as a candidate in the treatment of diabetes or cancers (Nagarajan et al., 2022). Pterostilbene has

showed a 10 to 20 times greater antifungal activity than resveratrol on *Botrytis cinerea* spores (Adrian et al., 1997).

In grapevine, a gene encoding a resveratrol-OMT (ROMT) has been cloned from Cabernet sauvignon leaves infected by *Plasmopara viticola*. ROMT exhibited a good affinity for resveratrol and resveratrol monomethyl ether to yield pterostilbene. Coexpression of the *ROMT* gene with a grapevine *STS* gene in tobacco resulted in pterostilbene accumulation, thus validating its function (Schmidlin et al., 2008). Based this sequence, *ROMT* has been cloned from other *Vitis* species (Jeong et al., 2014).

A gene encoding a multifunctional OMT (PMT1) with pinosylvin methylating activity was cloned from Scots pine (*Pinus sylvestris*) (Chiron et al., 2000). The PMT1 gene is constitutively expressed in needles, transition zone and xylem. However, more recent studies have identified the *PMT2* gene, which was highly expressed in the transition zone of Scots pine wood. Following expression in *E. coli*, the purified PMT2 enzyme displayed specific methylating activity on stilbene substrates, with a clear preference for pinosylvin over resveratrol. PMT2 has therefore been proposed to be the main OMT involved in the biosynthesis of methoxylated pinosylvin derivatives in Scots pine wood (Paasela et al., 2017).

Hydroxylation

Unlike the biosynthesis of resveratrol and pinosylvin, the biosynthesis of piceatannol (**Figure 3C**) was not fully understood. A first hypothesis stated that specific STS enzymes would use caffeoyl CoA as a precursor for piceatannol biosynthesis (Raiber et al., 1995). Indeed, *in vitro* experiments using a STS enzyme from *Pinus strobus* could yield piceatannol using caffeoyl CoA as precursor, although STS affinity for caffeoyl-CoA is significantly lower than for cinnamoyl CoA (Hammerbacher et al., 2011). A second hypothesis was that a cytochromes P450 (CYP450) would hydroxylate resveratrol to produce piceatannol. Such enzymatic activity was known in mammals, as several cytochromes localized in human liver could hydroxylate resveratrol in piceatannol. Co-expression of a human CYP450 (CYP1B1) with a grapevine STS in tobacco leaves (*N. benthamiana*) has led to the accumulation of piceatannol (Martínez-Márquez et al., 2016). More recently, a genome-wide transcription factor-binding site interrogation coupled to co-expression network analysis with the transcription factor MYB14 and MYB15 from grapevine, showed that these stilbene-related transcription factors were involved in the regulation of CYP76C4 genes. The expression profiles of these genes were consistent with their potential involvement in the biosynthesis of piceatannol (Orduña et al., 2022).

Oxyresveratrol is a major constitutive stilbene in mulberry (*Morus alba*), which also serves as precursor for mulberrosides (**Table 1**). Oxyresveratrol was thought to originate from the P450-dependent hydroxylation of resveratrol, as is the case with piceatannol. However, recent results suggest that, in mulberry, oxyresveratrol is not derived from resveratrol, but is formed instead through the activity of p-coumaroyl-CoA 2'-hydroxylases (C2'H). C2'H enzymes may synthesize 2'4'-dihydroxycinnamoyl-CoA from p-coumaroyl-CoA, which is then the substrate for STS enzyme to give rise to oxyresveratrol (Santiago et al., 2024).

Finally, stilbene oligomers may also be subjected to hydroxylation. Following heterologous expression in the yeast *Pichia pastoris*, the CYP450 enzyme trans-scirpusin A hydroxylase from grapevine was able to convert ϵ -viniferin to scirpusin A *in vitro* (Xu et al., 2021).

Prenylation

Peanut (*Arachis hypogaea*) synthesizes a great diversity of prenylated stilbenes, with more than 45 different compounds identified. The most common prenylation pattern consists of adding one or more 3,3-dimethylallyl moieties on the C-3' or C-4 carbon of the stilbene backbone (**Figure 3D**). The 3,3-dimethylallyl group comes from dimethylallyl diphosphate (DMAPP) produced by the methyl-D-erythritol-4-phosphate (MEP) pathway (Yang et al., 2016). Based on sequence homology with flavonoid prenyltransferases, five stilbene prenyltransferases have been identified in peanut. However prenylated stilbenes are only accumulated in response to abiotic and biotic stress in *A. hypogaea* (Yang et al., 2018). In contrast, constitutive prenylated stilbenes are accumulated in roots of *Lonchocarpus chiricanus* (chiricanines A-E and longistylines C and D) (Ioset et al., 2001), and leaves of *Macaranga mappia* trees (van Der Kaaden et al., 2001), but the genes and enzymes involved are not known in these species.

Oligomerization

More than 300 stilbene oligomers have been characterized, mainly in the lignified parts of plants (Keylor et al., 2015). Constitutive stilbene oligomers may participate in the protection against fungal pathogens, due to their antifungal properties (Lambert et al., 2012). Indeed, stilbenes oligomers found in grapevine wood showed better antifungal properties against six major wood decay fungi *in vitro*, compared to monomers like resveratrol. Resveratrol oligomerization has been proposed to proceed via the coupling of oxidatively generated phenoxyl radicals (Langcake & Pryce, 1977). The different oxidative coupling mechanisms allowing to produce a wide diversity of oligomers have been reviewed previously (Keylor et al., 2015). Stilbene oligomerization could be obtained *in vitro* using peroxidase and laccase enzymes from different sources. In early works, hydrogen peroxide and horseradish peroxidase were used to obtain resveratrol dimers (Langcake & Pryce, 1977). Similarly, a laccase-like stilbene oxidase purified from *Botrytis cinerea* catalyzed the dimerization of resveratrol into ϵ -viniferin (Pezet, 1998). However, specific enzymes catalyzing *in planta* stilbene oxidative polymerization into dimers and oligomers have not been formally identified yet, although genetic and gene networks analyses have pointed out possible candidates. In grapevine, six peroxidase genes and two laccase genes have been proposed as possibly involved in stilbene oligomerization, based on their localization in QTL regions related to the accumulation of monomeric and oligomeric stilbenes (Vezzulli et al., 2019). Recently, genome-wide binding site analysis of the transcription factors MYB14 and MYB15 regulating STS genes identified putative laccases as co-regulated genes. Increases ϵ -viniferin accumulation correlated with the expression of the *LAC59* laccase gene, which is part of the network of MYB14/MYB15-regulated genes (Orduña et al., 2022).

2.4. Transport of stilbenes through plant cells

The fact that stilbenes can accumulate in a wide variety of plant organs (**Table 1**) raises the question as to whether stilbenes are locally synthesized or may be transported through the vascular system. Analysis of the distribution of resveratrol and stilbene synthase expression in young Cabernet

Sauvignon vines showed that the highest amount of resveratrol was found in stem phloem although *STS* gene expression was low in this organ, suggesting that resveratrol may be transported throughout the plant (Wang et al., 2010). On the other hand, analysis of stilbene biosynthesis in the needles of spruce (*Picea jezoensis*) showed that seasonal variations of stilbene contents in needles correlated closely with *STS* gene expression patterns, indicating that stilbenes were locally produced in needles (Kiselev et al., 2016). Local or delocalized stilbene biosynthesis may therefore depend on plant species and organs. Studies of the intracellular distribution of the *STS* enzyme in grapevine using immunohistochemical and green-fluorescent protein (GFP)-fusion approaches suggested that *STS* proteins may be localized in the cytosol, associated to vesicles or plastids, or even transported to the cell wall, depending on organs and stress factors, however additional experimental proofs supporting these observations are difficult to obtain (Fornara et al., 2008; Pan et al., 2009; Wang et al., 2010; Ma et al., 2019).

Little is known about the mechanisms involved in the intracellular transport of stilbenes, however, homologies may exist with the transport of more ubiquitous phenylpropanoid compounds, namely anthocyanins and monolignols. Following their biosynthesis in the cytoplasm, monolignols are secreted into the cell wall, oxidized to radicals, which are polymerized into lignin. Monolignol transport to the cell wall has been proposed to proceed via several non-exclusive mechanisms, which include gradient-driven diffusion through the plasma membrane and transport through ATP-binding cassette (ABC) transporters, multidrug and toxic compound extrusion (MATE) transporters or MFS (Major Facilitator Superfamily) transporters (**Figure 4A**) (Dixon & Barros-Rios, 2019; Perkins et al., 2019; Väisänen et al., 2020).

Cultured grapevine cells have been shown to secrete stilbene to the apoplast (Belhadj et al., 2008), where laccases and peroxidases may participate in the oligomerization of stilbenes in the cell wall (Morales et al., 1997; Perkins et al., 2022). In addition, stilbenes can be incorporated into lignin as non-canonical monomers in fruits of some palm species (del Río et al., 2017). Due to the structural and functional similarities of stilbenes and monolignols as building blocks of cell wall polymers, it can be assumed that the mechanisms involved in monomer export to the apoplast may share some similarities. Indeed, a proteomic approach on grapevine cells membrane fractions was recently used to identify the ABC-family transporter, ABCB15, transporting resveratrol from the cytoplasm to the cell wall (**Figure 4B**) (Martínez-Márquez et al., 2023). This mechanism is reminiscent of the transport of the monolignol p-coumaryl alcohol catalyzed by the AtABCG29 ABC transporter in *A. thaliana* (**Figure 4A**) (Alejandro et al., 2012). In addition, differential gel electrophoresis (DIGE)-based proteomic experiment analyses in grapevine cells identified the tau class glutathione-S-transferases GSTU-2, which co-accumulated with phenylalanine ammonia-lyase and *STS* enzymes. GSTU-2-GFP fusion proteins were localized to the plasma membrane. Overexpression of GSTU-2 following *Agrobacterium*-mediated grapevine cells transformation resulted in enhanced extracellular accumulation of resveratrol, consistent with a role of GSTU-2 in the transport of stilbenes to the cell wall (Martínez-Márquez et al., 2017). This mechanism is well known in anthocyanins biosynthesis, where glutathione-S-transferases have been shown to participate in transport mechanisms of anthocyanins in plant cells (Marrs et al., 1995; Alfenito et al., 1998; Eichenberger et al., 2023).

Finally, biochemical experiments have suggested that ATP-dependent mechanisms were involved in monolignols transport to the vacuole, possibly via uncharacterized ABC-family transporters (Miao & Liu, 2010). Similarly, stilbene glucosides are presumably transported and stored into vacuoles (Regev-Shoshani et al., 2003), however, no transporter has been identified to date.

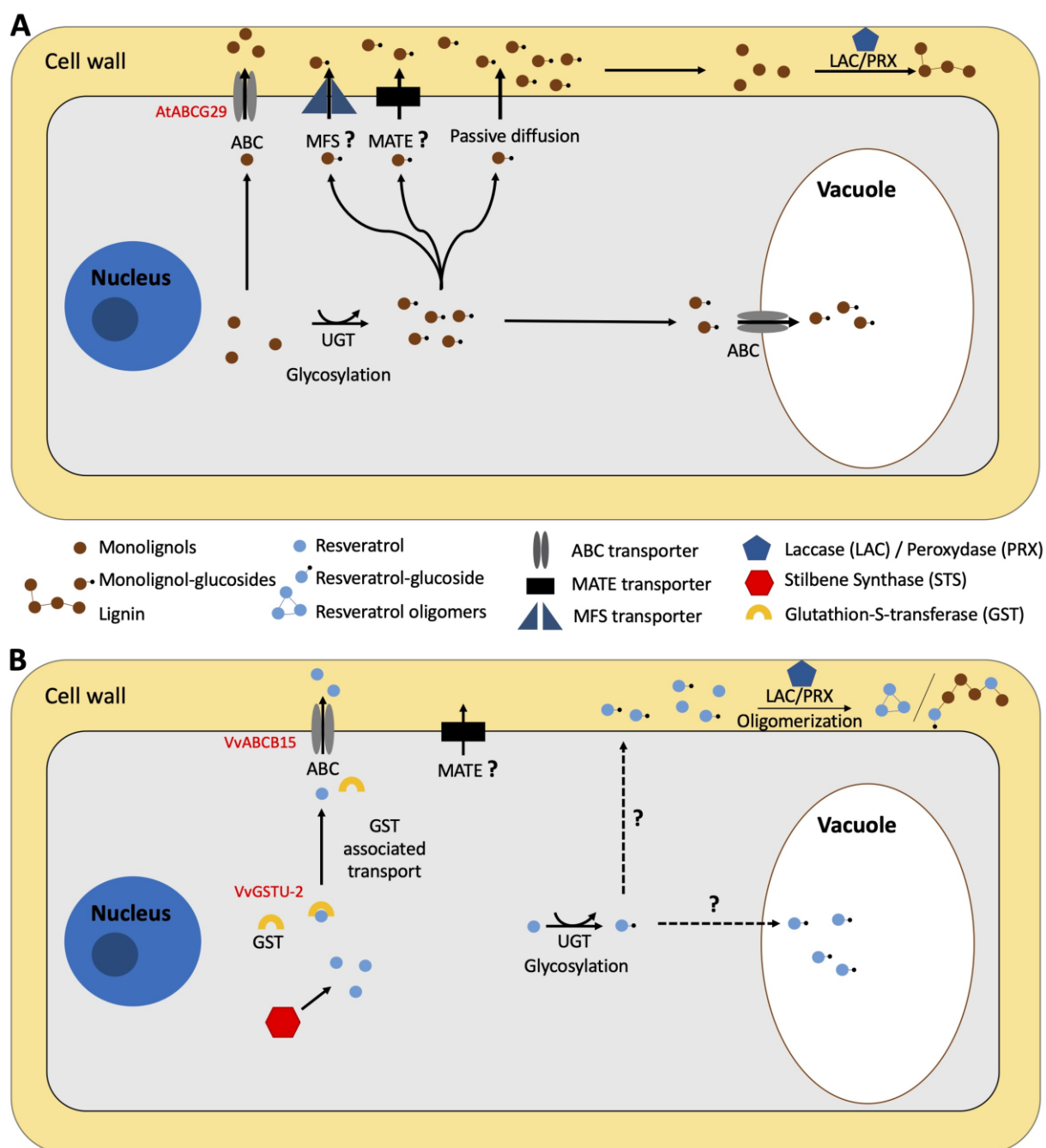


Figure 4 : Putative and identified actors involved in the transport of monolignols (**A**) and stilbenes (**B**) from the cytoplasm to the vacuole and the cell wall. ABC : ATP-binding cassette, MATE : Multidrug And Toxin Extrusion transporter, MFS : Major Facilitator Superfamily. Putative steps and mechanisms are indicated by « ? ». Characterized genes/proteins are indicated in red.

2.5. Transcriptomic regulation of constitutive stilbene biosynthesis.

A wide range of mechanisms and signal for transcriptomic regulation of stilbene-related gene expression have been identified, including hormone, reactive oxygen species or ion movements, which

act via specific transcription factors (Jeandet et al., 2021). However, these regulatory pathways have mainly been described in biotic or abiotic stress context, and the regulation of constitutive stilbene biosynthesis is less documented, although some regulatory pathways may operate in both constitutive and stress-induced stilbene biosynthesis. A number of actors of these regulatory pathways have been identified mostly in *Vitis* species. These include transcription factors (TF) from different families: the MYB (myeloblastosis) family, the WRKY family, The bZIP (basic leucine zipper) family and the AP2/ERF (Apetala2/Ethylene Responsive Factor) family (**Figure 5**).

The MYB family of TF constitutes a large TF family in plants, notably involved in the regulation of specialized metabolism (Cao et al., 2020). Analysis of *MYB* genes co-expressed with *STS* genes in stressed grapevine tissues has led to the characterization of the MYB14 and MYB15 transcription factors as regulators of stilbene biosynthesis. Both MYB14 and MYB15 specifically activated the promoters of *STS* genes in transient gene reporter assays, and the transgenic expression of *MYB15* in grapevine hairy roots resulted in increased *STS* expression and in the accumulation of stilbenes *in planta* (Höll et al., 2013). MYB14 and MYB15 have been shown to act in both induced and constitutive biosynthesis of stilbenes as they are constitutively expressed in roots (Wong et al., 2016). A third MYB TF, named MYB13, has been identified in grapevine, expressed in all organs, especially in roots and leaves. It seems to be less responsive to stress than MYB14/15, suggesting a more important role in basal stilbene accumulation (Wong et al., 2016). MYB13 also binds *STS* genes promoters in a similar manner to MYB14/15. All 3 MYBs can regulate the expression of 30 of the 48 *STS*s identified in grapevine (Orduña et al., 2022).

In *Vitis amurensis*, *VaMYB40* and *VaMYB60* are also involved in stilbenes biosynthesis, however their function has only been demonstrated in the context of stress response (Ananev et al., 2022). In the Chinese wild species *Vitis quinquangularis*, *VqMYB35* can interact with the promoters of the *STS* genes *VqSTS15/28/42/46*, inducing their expression, although its role in the synthesis of constitutive stilbenes has not been explored (Wang & Wang, 2019).

On the other hand, some MYB TF can act as inhibitor of stilbene synthesis, such as *MYB30*, recently characterized in grapevine (Mu et al., 2023). *MYB30* is expressed in berries and leaves, and appeared to bind *STS15* and *STS21* promoters on the same binding sites than MYB14, resulting in competition between the two TF. Thus, *MYB30* is considered as a repressor of stilbene biosynthesis. In *Vitis amurensis*, *VaMYBA1* act as a repressor of resveratrol accumulation, despite that its mode of action remains unknown as it does not seem to impact the expression of *STS* (Tyunin & Kiselev, 2017).

In addition, stilbene-related MYB TFs function is not only limited to *STS* genes, and their regulatory roles seem to be extended to the phenylpropanoid pathway, as well as to genes involved in stilbene modifications. Co-expression network analyses in grapevine have shown that *MYB13/14/15* also target and regulate the expression of genes encoding laccases (oligomerization), *O*-methyltransferases (methylation), cytochrome P450s (hydroxylation), UDP-glycosyltransferases (glycosylation) and PAL (early phenylpropanoid pathway) (Orduña et al., 2022). This is also the case for *VaMYB40*, *VaMYB60* from *Vitis amurensis*, whose transgenic expression in grapevine callus increased the expression of several *PAL* in addition to *STS* genes (Ananev et al., 2022). Beside grapevine, the regulation of stilbene biosynthesis has been studied in few other plant species. Analysis of gene expression in eastern white pine (*Pinus strobus*) challenged by pine wood nematodes has highlighted several transcription factors in the bHLH, MYB and WRKY families potentially regulating the biosynthesis of pinosylvin-related stilbenes (Hwang et al., 2021).

WRKY family transcription factors are involved in responses to biotic and abiotic stresses in plants (Chen et al., 2012). Genome-wide gene co-expression showed that WRKY TFs were the top TF family correlated with *STS* genes. Expression analyses under both unstressed and stressed conditions, together with promoter–luciferase reporter assays, identified *VviWRKY24* as an effector in the activation of the *VviSTS29* promoter, while *VviWRKY03* acts through a combinatorial effect with *VviMYB14*, (Vannozzi et al., 2018). In the Chinese wild *Vitis quinquangularis*, *VqWRKY53* is involved in the regulation of various aspects of stilbenes biosynthesis. Yeast two-hybrid assay showed *VqWRKY53* interacted physically with *VqMYB14* and *VqMYB15* and yeast one-hybrid assay showed that *VqWRKY53* could bind directly to the promoters of *STS* genes. *VqWRKY53* responded to abscisic acid and its expression increased in maturing grape berries, consistent with a possible role in stilbene accumulation in ripe berries (Wang et al., 2020). The bZIP family TF *VqbZIP1* from *V. quinquangularis* has been shown to regulate stilbene synthesis in an ABA-dependent way. Overexpression of *VqbZIP1* in grape leaves induced the expression of *STS* genes and the accumulation of stilbenes (Wang et al., 2019). Finally, TF of the AP2/ERF family are involved in plant responses to stress (Mizoi et al., 2012). In *V. quinquangularis*, the overexpression of *VqERF114* has been shown to promote the expression of *PAL* and *STS* genes, as well as stilbene accumulation, although it is not able to directly interact with their promoters. Instead, *VqERF114* indirectly regulated *STS* transcription by physically interacting with *VqMYB35* and enhancing its promoting activity (Wang & Wang, 2019).

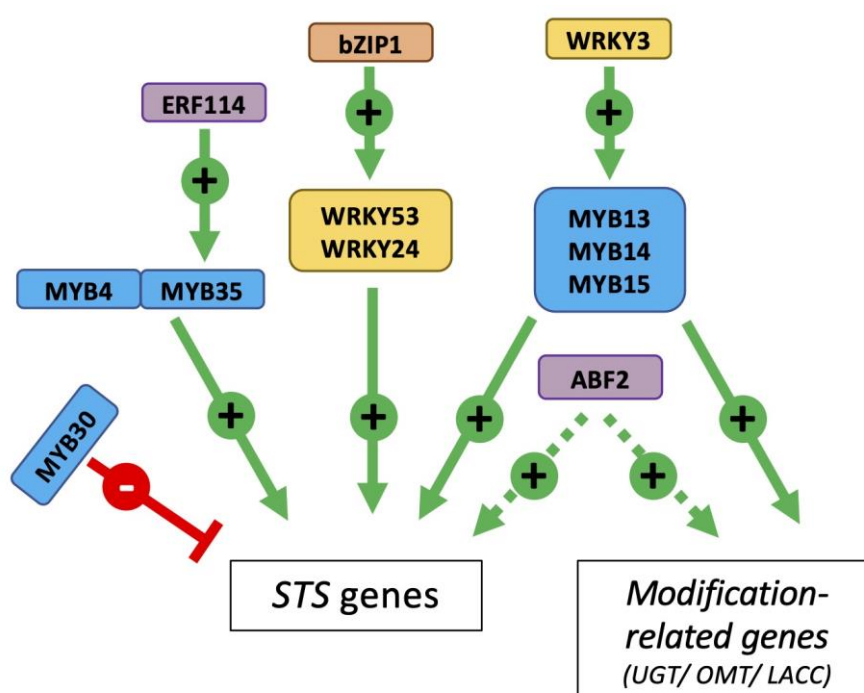


Figure 5 : Transcription factors involved in the regulation of stilbene synthesis in *Vitis*. *STS* : Stilbene synthases. Stilbene modification-related genes : *UGT* : UDP-glycosyltransferases ; *OMT* : *O*-methyltransferases ; *LACC* : Laccases. Green arrows correspond to gene activation or positive interactions between transcriptions factors, while red arrows correspond to inhibition of gene expression or biosynthetic pathway. Dotted arrows indicate indirect interactions, while solid arrows correspond to direct interactions.

3. Biological and ecological significance of constitutive stilbene accumulation in plants

3.1. Stilbenes as non-conventional phenolic precursors in lignin biosynthesis

Lignin is synthesized from three p-hydroxycinnamyl alcohols derived from the phenylpropanoid pathway, named "canonical" monolignols: coniferyl, sinapyl and *p*-coumaryl alcohol. These monolignols are synthesized in the cytosol before being translocated to the cell wall where they are oxidized by laccases and/or peroxidases. Once oxidized, units are linked together via radical coupling reactions giving rise to high molecular weight polymers (Boerjan et al., 2003; Vanholme et al., 2010). The conventional lignin model has been completed with the discovery of non-conventional phenolic monomers entering the biosynthesis of lignin, such as flavonoids or stilbenes (del Río et al., 2020). The first report of stilbenes as non-conventional lignin monomers was in the endocarp of macauba (*Acrocmia aculeata*), carnauba (*Copernicia prunifera*) and coconut (*Cocos nucifera*) palm fruit (del Río et al., 2017). Derivatization of lignin followed by reductive cleavage released the three canonical monolignols as well as piceatannol, resveratrol and isorhapontigenin. Exhaustive extraction of lignin and NMR analysis ensured that the stilbenes came from lignin cleavage, instead of non-specific trapping into the lignin polymer. Similarly to conventional monolignols, stilbenes can be oxidized and incorporated in lignin by radical coupling. These radicals can be coupled with other stilbenes, leading to the formation of oligomers, or coupled with monolignols before being incorporated in the growing lignin polymer (del Río et al., 2017). Recently, hydroxystilbene glucosides (isorhapontin, astringin and piceid) have been found to be incorporated in the lignin of Norway spruce bark. Reducing cleavage of bark lignin release both the stilbene aglycones and glucosides, confirming their incorporation into lignin in their glycosylated form (Rencoret et al., 2019). The proportion of stilbenes in lignin can be significant. In *Acacia dealbata* bark, the amount of resorcinol released after pyrolysis, which corresponds to flavonoids and stilbenes, reached 36% of the total lignin. This proportion was similar in *Picea abies* bark lignin, with hydroxystilbenes representing 36% of the total units, mainly as hydroxystilbenes glucosides (Neiva et al., 2020). The incorporation of stilbenes as non-conventional monomers in lignin could make it more resistant to degradation and reinforce its role as a barrier against pathogens. In addition, due to their toxicity on microorganisms, the release of stilbenes during lignin degradation under the action of fungal laccases may enhance the fungicidal properties of lignin degradation products (Rencoret et al., 2019; Youn et al., 1995).

3.2. Constitutive stilbenes as protection against fungal pathogens

Wood decaying fungi, classified as brown rot, white rot and soft rot fungi are major actors of wood degradation processes in the natural environment as well as on products of the wood industry (Goodell et al., 2020). However, molecules present in wood extractives may interfere with this process, due to their antifungal properties. Indeed, solvent-extracted *Pinus taeda* displayed a 3-fold increase in degradation rate by wood decaying fungi, presumably due to the removal of the antifungal stilbenes oxyresveratrol, pinosylvin and pinosylvin monomethyl ether (Hart & Shrimpton, 1979).

Different mechanisms have been proposed to explain the antifungal activity of stilbenes. Combretastatin A-4 and its derivatives can bind to tubulin, preventing the formation of microtubules, leading to the death of cells (Woods et al., 1995). In a culture of *Botrytis cinerea* conidia, the addition

of pterostilbene led to the destruction of the endoplasmic reticulum, as well as the disorganization of nuclear and mitochondrial membranes and ultimately to the disruption of the plasma membrane (Pezet & Pont, 1990). Pinosylvin monomethyl ether has been shown to interact with phospholipids, increasing membrane permeability and reducing fluidity, ultimately leading to the lysis of membranes and subsequent collapse of spores of *Aspergillus flavus* (Li et al., 2022). Finally, stilbenes may promote fungal cell death by up-regulating genes involved in apoptosis (Lee and Lee, 2015; Kong et al., 2016).

In the arms race between plants and fungal pathogens, fungi use countermeasures to detoxify plant antimicrobial compounds and to evade host resistance mechanisms (Maorn & Shirasu, 2005). Some wood decay fungi have been shown to be adapted to efficiently degrade the wood of specific arrays of plant species, including species with stilbene-rich wood tissues. *Fomitiporia mediterranea* is one of the fungi associated with Botryosphaeria dieback, which belongs grapevine trunk diseases. *F. mediterranea* has better growth rate and is able to degrade vine wood as well as the stilbenes it contains with greater efficiency than the non-specific white-rot fungus *Trametes versicolor* (Schilling et al., 2023). Exploring the genome and secretome of *F. mediterranea* revealed the presence of a wider pool of laccases and peroxidases than *T. versicolor*, suggesting that some of these enzymes may be involved in the detoxification of the stilbenes present in grapevine wood (Schilling et al., 2022). In addition, comparison of grapevine wood metabolization by the Botryosphaeria dieback-associated fungi *N. parvum* and *Diplodia seriata* showed that the more aggressive *N. parvum* produced a higher diversity of resveratrol and piceatannol metabolization products, consistent with higher detoxification capacities (Labois et al., 2021). Norway spruce (*Picea abies*) forests suffer periodic attacks by the bark beetle *Ips typographus* and its fungal associate *Ceratocystis polonica*. During *C. polonica* infection, *STS* gene expression and stilbene biosynthesis was up-regulated in tree tissues, however, stilbene concentrations declined due to fungal metabolism. Fungal growth in the stilbene-rich bark of Norway spruce relied on the metabolism of stilbenes as a carbon source, which was thought to benefit the bark beetle by neutralizing tree defenses (Hammerbacher et al., 2013).

Several classes of fungal enzymes have been shown to be involved in the metabolization of stilbenes. A 32-kDa laccase-like stilbene oxidase purified from the grey mold fungus *Botrytis cinerea* has been shown to oxidize resveratrol and pterostilbene to form stilbene dimers (Pezet, 1998). Catechol dioxygenases (CDOs) catalyze the opening of the phenolic cycles of certain stilbenes to lactone derivatives termed muconates, which may be metabolized as a source of carbon for fungal colonization. For example, *E. polonica* was shown to metabolized spruce stilbenes such as astringin (piceatannol- glucoside) into muconates (Wadke et al., 2016).

Stilbene cleavage oxygenases (SCOs), which are related to carotenoid cleavage dioxygenases (CCDs), constitute a third class of metalloproteins involved in the detoxification of stilbenes. SCO enzymes cleave the double bond linkage between the two phenolic rings of resveratrol, leading to the formation of two phenolic aldehydes (Brefort et al., 2011). The presence of a free OH group in the 4' position of stilbene seems crucial to the interaction between the substrate and the enzyme's active site, as its methylation or absence severely impairs stilbene cleavage (McAndrew et al., 2016). *SCO* gene clusters have been identified in the genomes of more than 500 fungi, and phylogenetic studies reveal that they have undergone numerous rearrangements selecting SCOs capable of metabolizing different phenolic substrates (Gluck-Thaler et al ; 2018).

Altogether, the evolution and persistence of a wide array of fungal enzymes dedicated to stilbenes detoxification provide compelling evidence of their role as antifungal metabolites that pathogens must bypass.

3.3. Constitutive stilbenes as feeding deterrent against various type of pests and herbivores

Stilbenes have been found to interfere with the feeding activity of a wide range of pests and herbivores, including nematodes, insects and mammals. Over the 20th century, pine wilt disease devastated vast areas of pine forests, causing worldwide concern. Pine wilt, due to the pine wood nematode (PWN) *Bursaphelenchus xylophilus*, may kill affected trees within a few weeks to a few months. Pine wilt outbreak is also associated with the ability of its insect vector (*Monochamus* species) to transmit the nematode from tree to tree. Unlike most plant-parasitic nematodes, PWN are not associated with plant roots, but instead found in aboveground parts of the tree. PWN kill the tree by feeding on the cells surrounding the resin ducts. This causes resin to leak into the tracheids, resulting in tracheid cavitation due to air pockets affecting water transport (Donald et al., 2016 ; Futai, 2013). Constitutive stilbenes accumulated in the wood of some pine species have shown significant nematicidal properties. Resin from pitch pine (*Pinus rigida*), which is highly resistant to PWN, is naturally rich in *cis*-pinosylvin dimethylether. All PWN grown in *Pinus rigida* resin extracts died after 6 days, which was not the case with resin of *Pinus densiflora* and *Pinus koraiensis*, which do not contain this stilbene. Similarly, growth in *cis*-pinosylvin dimethylether enriched culture medium resulted in PWN death (Hwang et al., 2022). Extracts of heartwood and bark from *Pinus massoniana*, *Pinus strobus* and *Pinus palustris* also presented nematicidal activity, attributed to their high content in pinosylvin monomethylether (Suga et al., 1993). Nematicidal properties of stilbenes have been studied in other plants species such as grapevine. Indeed, the constitutive accumulation of high amounts of resveratrol trimers and tetramers such as miyabenol C or hopeaphenol in the « Freedom » rootstock variety could explain its greater resistance to the root knot nematodes *Meloidogyne incognita* (Wallis, 2020).

Stilbenes have also been found to impact plant insect relationships. The bark of yucca (*Yucca periculosa*), which is highly resistant to insect attacks, constitutively accumulates three stilbenes : 4, 4'-dihydroxystilbene, resveratrol and 3,5,3',5'-tetrahydroxy-4-methoxy-stilbene. These three stilbenes, as well as crude yucca bark extracts, induced a high mortality among larvae of the fall armyworm (*Spodoptera frugiperda*) (70% mortality at 10 ppm concentration), as well as a strong reduction of the growth of those that survive (Torres Morales et al., 2003). Similarly, grapevine shoot extracts showed insecticidal activity on African cotton leafworm (*Spodoptera littoralis*) larvae. Among the stilbenes isolated from these extracts, vitisin B exhibited the best insecticidal activity, although synergistic effects may be important, with increased mortality when vitisin B was combined with isohopeaphenol or ϵ -viniferin (Pavela et al., 2017). Grapevine root extracts also presented insecticidal activity on Colorado potato beetle (*Leptinotarsa decemlineata*). Vitisin A and B were the most insecticidal stilbenes, with a lower LC₅₀ and LC₉₀ than other stilbenes present in the extracts (Gabaston et al., 2018). The mechanism of action of stilbenes on insect larvae may be due to the inhibition of tyrosinase, an enzyme belonging to the phenoloxidase family. Indeed, tyrosinase is a key enzyme in the processes of sclerotization, leading to cuticle formation, as well as insect molting (Kim et al., 2002; Shimizu et al., 2000). Stilbenes may also interfere directly with the molting process, by acting as an antagonist of the ecdysteroid receptors (Sarker et al., 1999).

Finally, constitutive stilbenes also act as deterrents to herbivorous mammals. Aerial parts of green alder (*Alnus crispa*) are particularly rich in pinosylvin and pinosylvin methylether, with up to 2.9% of dry weight in buds. Pinosylvin has shown high deterrent properties toward snowshoe hare (*Lepus americanus*), even at lower concentration (0.1% of dry mass) (Bryant et al., 1983). In norway spruce (*Picea abies*), bark and needles from plantlets may accumulate high amounts of piceatannol, astringin and isorhapontin, reaching 25 g/kg DW. Field voles (*Microtus agrestis*) showed a marked preference towards plantlets containing low levels of stilbenes (less than 5 g/kg DW), confirming the deterrent effect of stilbenes on field vole feeding (Virjamo et al., 2013).

3.4. Allelopathic effects of stilbenes in plant-plant interactions

Allelopathy is a direct or indirect plant-plant relationship established through the release of chemicals in the environment, with either beneficial or adverse effects. The most common chemicals involved in allelopathic interactions are phenolic compounds including flavonoids, coumarins or stilbenes (Li et al., 2010). Plants can excrete allelopathic chemicals directly into the soil through the roots, or allelopathic compounds may be released by the leaching of leaves or stems by rain, or the decomposition of aerial parts that have fallen to the ground (Solhaug, 1990; Song et al., 2019). Early works performed on Engelmann spruce (*Picea engelmannii*) identified stilbenes as potential allelochemicals (Taylor & Shaw, 1983). Indeed, the bark of Engelmann spruce trees contains high amounts of stilbenes such as astringin and isorhapontin (3% of dry weight), which diffuse to the ground around trees. Seeds of other conifer species submitted to stilbene-containing extracts or bark fragments of Engelmann spruce presented a delayed germination and decreased size and weight of the roots.

More recently, the allelopathic properties of knotweeds have been the subject of numerous studies. Japanese knotweed (*Reynoutria japonica* or *Fallopia japonica*), Bohemian knotweed (*Reynoutria × bohemica*), and giant knotweed (*Reynoutria sachalinensis* or *Fallopia sachalinensis*), native from Asia, were introduced in Europe during the 19th century as ornamental plants. Nowadays, they are considered as invasive species because of their fast growth even under poor soil conditions, and also because of their allelopathic properties, which may impact the abundance and diversity of endemic species (Kato-Noguchi, 2021). The roots of Japanese and giant knotweed are rich in stilbenes, including resveratrol, piceid, resveratrolsides and astringin (Fan et al., 2009). Seedlings of *Lepidium sativum* grown in the presence of these four stilbenes showed reduced growth, with up to 70% growth inhibition for resveratrol (Fan et al., 2010). Japanese and Bohemian and giant knotweed rhizomes aqueous extract severely reduced the growth of several plant species including radish, mustard, on willow and cottonwood (Vrchotová & Šerá, 2008; Dommanget et al., 2014; Tucker Serniak, 2016; Šoln et al., 2022). Adverse allelopathic effects of knotweeds may be due to direct interactions of allelochemicals with, but also to reduced abundance and species richness of arbuscular mycorrhizal fungi (AMF). Japanese knotweeds have been shown to negatively impact AMF communities in different soil conditions (Zubek et al., 2022)

4. Conclusion and perspectives

A large number of works about stilbene biosynthesis and associated regulations have been performed in biotic or abiotic stress contexts. However, recent development of genomic and metabolomic approaches applied to non-model plants has allowed better insight into the origin and roles of constitutive stilbenes in various plant species. The rapid development of next-generation sequencing technologies made it possible to analyze the genome of stilbene-rich plants such as mulberry and conifers, for a better characterization of the genes involved in the biosynthesis of constitutive stilbenes and in the regulation of their accumulation (Paasela et al., 2017 ; Santiago et al., 2024). Genome-wide approaches such as transcription factor-binding site interrogation have proven successful for the characterization of stilbene-related genes in the context of non-model plant species (Orduña et al., 2022) and will undoubtedly be very useful for identifying gene regulatory networks of specialized metabolism. Although the mechanisms involved in the intracellular transport of stilbenes are still poorly characterized, the first actors identified so far share similarities with those involved in the transport of other phenylpropanoid compounds such as anthocyanins and monolignols (Martínez-Márquez et al., 2017; Martínez-Márquez et al., 2023). These homologies will help the identification of further actors of stilbene transport between cell compartments.

Finally, the constitutive accumulation of stilbenes has been selected in a number of plant species, which suggests that stilbenes confer certain advantages in the interactions between plants and their environment. Although cues about the biological and ecological roles of constitutive stilbenes have accumulated, direct proof of their putative roles are lacking. Therefore, the question remains as to why some plants accumulate constitutive stilbenes in the first place. This challenging question is mainly due to the fact that stilbene-accumulating plants are non-model species, in which biotechnological approaches are difficult to implement. For example, genetic approaches were used to assess the extent to which phytoalexin biosynthesis contributes to *Arabidopsis thaliana* resistance to pathogen attack. The *pad3* mutant defective in camalexin biosynthesis exhibited enhanced susceptibility to a number of fungal and oomycete pathogens (Glazebrook & Ausubel, 1994; Schlaeppi et al., 2010; Hiruma et al., 2013), indicating the importance of camalexin in *Arabidopsis* resistance to these pathogens. Similarly, mutants of stilbene-rich plants defective in stilbene biosynthesis would allow a direct analysis of the biological roles of stilbenes in their interaction with their biotic and abiotic environments. However, such mutants have not been identified to date. In the last years, genome editing technologies have seen tremendous developments in plant sciences, both in fundamental research aiming at the understanding of gene function and applied research providing answers to the numerous challenges of agriculture (Nogué et al., 2019). In the future, the manipulation of stilbene biosynthesis through the application of genome editing technologies to stilbene-accumulating plants may help to decipher the biological roles of constitutive stilbenes.

References:

- Aaviksaar, A., Haga, M., Kuzina, K., Püssa, T., Raal, A., & Tsoupras, G. (2003). Hydroxystilbenes in the roots of *Rheum rhabdanthum*. *Proceedings of the Estonian Academy of Sciences. Chemistry*, 52, 99.
- Adrian, M., Jeandet, P., Veneau, J., Weston, L. A., & Bessis, R. (1997). Biological Activity of Resveratrol, a Stilbenic Compound from Grapevines, Against *Botrytis cinerea*, the Causal Agent for Gray Mold. *Journal of Chemical Ecology*, 23(7), 1689-1702.
- Alejandro S, Lee Y, Tohge T, Sudre D, Osorio S, Park J, Bovet L, Lee Y, Geldner N, Fernie AR, Martinoia E. (2012). AtABC29 is a monolignol transporter involved in lignin biosynthesis. *Curr Biol*. 22(13):1207-12.
- Alfenito MR, Souer E, Goodman CD, Buell R, Mol J, Koes R, Walbot V. (1998). Functional complementation of anthocyanin sequestration in the vacuole by widely divergent glutathione S-transferases. *Plant Cell*. (7):1135-49.
- Ananov, A. A., Suprun, A. R., Aleynova, O. A., Nityagovsky, N. N., Ogneva, Z. V., Dubrovina, A. S., & Kiselev, K. V. (2022). Effect of VaMyb40 and VaMyb60 Overexpression on Stilbene Biosynthesis in Cell Cultures of Grapevine *Vitis amurensis* Rupr. *Plants*, 11(15), Article 15.
- Arraki, K., Richard, T., Alain, B., Pedrot, E., Bisson, J., Waffo-Tégou, P., Mahjoub, A., Merillon, J.-M., & Décendit, A. (2013). Isolation, Characterization and Quantification of Stilbenes from Some *Carex* Species. *Records of Natural Products*, 7, 281.
- Belhadji A, Telef N, Saigne C, Cluzet S, Barrieu F, Hamdi S, Méillon JM. Effect of methyl jasmonate in combination with carbohydrates on gene expression of PR proteins, stilbene and anthocyanin accumulation in grapevine cell cultures. *Plant Physiol Biochem*. 2008 Apr;46(4):493-9.
- Benová, B., Adam, M., Onderková, K., Královský, J., & Krajčec, M. (2008). Analysis of selected stilbenes in *Polygonum cuspidatum* by HPLC coupled with CoulArray detection. *J Sep Sci*, 31(13):2404-9.
- Błaszczak, A., Sady, S., & Sielicka, M. (2019). The stilbene profile in edible berries. *Phytochemistry Reviews*, 18(1), 37-67.
- Boerjan, W., Ralph, J., & Baucher, M. (2003). Lignin biosynthesis. *Annual Review of Plant Biology*, 54, 519-546.
- Brasileiro, A. C. M., Gimenes, M. A., Pereira, B. M., Mota, A. P. Z., Aguiar, M. N., Martins, A. C. Q., Passos, M. A. S., & Guimarães, P. M. (2023). The Stilbene Synthase Family in *Arachis*: A Genome-Wide Study and Functional Characterization in Response to Stress. *Genes*, 14(12), 2181.
- Brefort T, Scherzinger D, Limón MC, Estrada AF, Trautmann D, Mengel C, Avalos J, Al-Babili S. (2011). Cleavage of resveratrol in fungi: characterization of the enzyme Rco1 from *Ustilago maydis*. *Fungal Genet Biol* ; 48(2):132-43
- Bryant, J. P., Wieland, G. D., Reichardt, P. B., Lewis, V. E., McCarthy, M. C. (1983). Pinosylvin methyl ether deters snowshoe hare feeding on green alder. *Science*, 222(4627):1023-5.
- Cao, Y., Li, K., Li, Y., Zhao, X., & Wang, L. (2020). MYB Transcription Factors as Regulators of Secondary Metabolism in Plants. *Biology*, 9(3), 61.
- Chen, CC., Huang, Y. L., Yeh, P. Y., & Ou, J. C. (2003). Cyclized geranyl stilbenes from the rhizomes of *Helminthostachys zeylanica*. *Planta Med*, 69(10):964-7.
- Chen, L., Song, Y., Li, S., Zhang, L., Zou, C., & Yu, D. (2012). The role of WRKY transcription factors in plant abiotic stresses. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Gene Regulatory Mechanisms*, 1819(2), 120-128.
- Cheng, S., Xie, X., Xu, Y., Zhang, C., Wang, X., Zhang, J., & Wang, Y. (2016). Genetic transformation of a fruit-specific, highly expressed stilbene synthase gene from Chinese wild *Vitis quinquangularis*. *Planta*, 243(4), 1041-1053.
- Chiron, H., Drouet, A., Claudot, A. C., Eckerskorn, C., Trost, M., Heller, W., Ernst, D., & Sandermann, H. (2000). Molecular cloning and functional expression of a stress-induced multifunctional O-methyltransferase with pinosylvin methyltransferase activity from Scots pine (*Pinus sylvestris* L.). *Plant Molecular Biology*, 44(6), 733-745.
- Chong, J., Poutaraud, A., & Huguency, P. (2009). Metabolism and roles of stilbenes in plants. *Plant Science*, 177(3), 143-155.
- Christenhusz, M., & Byng, J. (2016). The number of known plant species in the world and its annual increase. *Phytotaxa*, 261, 201-217.
- del Río, J.C., Rencoret, J., Gutiérrez, A., Kim, H., & Ralph, J. (2017). Hydroxystilbenes Are Monomers in Palm Fruit Endocarp Lignins. *Plant Physiology*, 174(4), 2072-2082.
- del Río, J. C., Rencoret, J., Gutiérrez, A., Elder, T., Kim, H., & Ralph, J. (2020). Lignin Monomers from beyond the Canonical Monolignol Biosynthetic Pathway : Another Brick in the Wall. *ACS Sustainable Chemistry & Engineering*, 8(13), 4997-5012.
- Deng, Y., and Shanfa, L. (2017) Biosynthesis and Regulation of Phenylpropanoids in Plants, *Critical Reviews in Plant Sciences*, 36:4, 257-290
- Dixon R and Barros-Rios J (2019). Lignin biosynthesis: Old roads revisited and new roads explored. *Open Biology*, 9, 190215.
- Dommanget, F., Evette, A., Spiegelberger, T., Gallet, C., Pacé, M., Imbert, M., & Navas, M.-L. (2014). Differential allelopathic effects of Japanese knotweed on willow and cottonwood cuttings used in riverbank restoration techniques. *Journal of Environmental Management*, 132, 71-78.
- Donald, P.A., Stamps, W.T., Linit, M.J., & Tood, T. C. (2016). Pine Wilt. *The Plant Health Instructor*, 16.
- Eichenberger, M., Schwander, T., Hüppi, S. et al. (2023). The catalytic role of glutathione transferases in heterologous anthocyanin biosynthesis. *Natural catalysis*, 6, 927–938.
- Eisenmann, B., Czemplak, S., Ziegler, T., Buchholz, G., Kortekamp, A., Trapp, O., Rausch, T., Dry, I., & Bogs, J. (2019). Rpv3-1 mediated resistance to grapevine downy mildew is associated with specific host transcriptional responses and the accumulation of stilbenes. *BMC Plant Bio*, 19(1):343.
- Emiliani, G., Fondi, M., Fani, R., & Gribaldo, S. (2009). A horizontal gene transfer at the origin of phenylpropanoid metabolism: A key adaptation of plants to land. *Biology Direct*, 4, 7.

- Enoki, S., Hamaguchi, Y., Suzuki, S., Fujisawa, H., Hattori, T., Arita, K., Yamaguchi, C., Mikami, M., Nagasaka, S., & Tanaka, K. (2018). Physiological characterization of leaf and internode after bud break in Japanese indigenous Koshu grape by comparative RNA sequencing analysis. *PLoS One*, 13(3):e0194807.
- Fan, C., Pu, N., Wang, X., Wang, Y., Fang, L., Xu, W., & Zhang, J. (2007). Agrobacterium-mediated genetic transformation of grapevine (*Vitis vinifera* L.) with a novel stilbene synthase gene from Chinese wild *Vitis pseudoreticulata*. *Plant Cell Tissue and Organ Culture*, 92, 197-206.
- Fan, P., Hay, A.-E., Marston, A., Lou, H., & Hostettmann, K. (2009). Chemical variability of the invasive neophytes *Polygonum cuspidatum* Sieb. And Zucc. And *Polygonum sachalinensis* F. Schmidt ex Maxim. *Biochemical Systematics and Ecology*, 37(1), 24-34.
- Fan, P., Hostettmann, K., & Lou, H. (2010). Allelochemicals of the invasive neophyte *Polygonum cuspidatum* Sieb. & Zucc. (Polygonaceae). *Chemoecology*, 20(3), 223-227.
- Feng, W. S., Cao, X.W., Kuang, H. X, & Zheng, X. K. (2005). A new stilbene glycoside from *Dryopteris sublaeta*. *Yao Xue Xue Bao*, 40(12):1131-4.
- Fornara, V., Onelli, E., Sparvoli, F., Rossoni, M., Aina, R., Marino, G., & Citterio, S. (2008). Localization of stilbene synthase in *Vitis vinifera* L. during berry development. *Protoplasma*, 233(1-2), 83-93.
- Futai, K. 2013. Pine wood nematode, *Bursaphelenchus xylophilus*. *Annual Review of Phytopathology*, 51:61-83.
- Gabaston, J., El Khawand, T., Waffo-Teguo, P., Decendit, A., Richard, T., Méridon, J.-M., & Pavela, R. (2018). Stilbenes from grapevine root: A promising natural insecticide against *Leptinotarsa decemlineata*. *Journal of Pest Science*, 91(2), 897-906.
- Gabaston, J., Richard, T., Cluzet, S., Palos Pinto, A., Dufour, M.-C., Corio-Costet, M.-F., & Méridon, J.M. (2017). *Pinus pinaster* Knot : A Source of Polyphenols against *Plasmopara viticola*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 65(40), 8884-8891.
- Gabaston, J., Leborgne, C., Waffo-Teguo, P., Valls, J., Palos Pinto, A., Richard, T., Cluzet, S., Méridon, J.M. (2019). Wood and roots of major grapevine cultivars and rootstocks: A comparative analysis of stilbenes by UHPLC-DAD-MS/MS and NMR. *Phytochem Analysis*, 30(3):320-331.
- Glazebrook, J., and Ausubel, F.M. (1994). Isolation of phytoalexin-deficient mutants of *Arabidopsis thaliana* and characterization of their interactions with bacterial pathogens. *PNAS*, 91: 8955-8959.
- Gluck-Thaler, E., Vijayakumar, V., & Slot, J.C. (2018). Fungal adaptation to plant defences through convergent assembly of metabolic modules. *Mol Ecol*, 27(24):5120-5136.
- Goodell, B., Winandy, J. E., & Morrell, J. J. (2020). Fungal Degradation of Wood: Emerging Data, New Insights and Changing Perceptions. *Coatings*, 10(12), Article 12.
- Guo, Y.-W., Guo, H.-L., Li, X., Huang, L.-L., Zhang, B.-N., Pang, X.-B., Liu, B.-Y., Ma, L.-Q., & Wang, H. (2013). Two type III polyketide synthases from *Polygonum cuspidatum*: Gene structure, evolutionary route and metabolites. *Plant Biotechnology Reports*, 7(3), 371-381.
- Hall, D., & De Luca, V. (2007). Mesocarp localization of a bi-functional resveratrol/hydroxycinnamic acid glucosyltransferase of Concord grape (*Vitis labrusca*). *The Plant Journal: For Cell and Molecular Biology*, 49(4), 579-591.
- Hammerbacher, A., Ralph, S. G., Bohlmann, J., Fenning, T. M., Gershenzon, J., & Schmidt, A. (2011). Biosynthesis of the Major Tetrahydroxystilbenes in Spruce, Astringin and Isorhapontin, Proceeds via Resveratrol and Is Enhanced by Fungal Infection. *Plant Physiology*, 157(2), 876.
- Hammerbacher, A., Schmidt, A., Wadke, N., Wright, L. P., Schneider, B., Bohlmann, J., Brand, W. A., Fenning, T. M., Gershenzon, J., & Paetz, C. (2013). A Common Fungal Associate of the Spruce Bark Beetle Metabolizes the Stilbene Defenses of Norway Spruce. *Plant Physiology*, 162(3), 1324-1336.
- Hanhineva, K., Kokko, H., Siljanen, H., Rogachev, I., Aharoni, A., & Kärenlampi, S.O. (2009). Stilbene synthase gene transfer caused alterations in the phenylpropanoid metabolism of transgenic strawberry (*Fragaria x ananassa*). *J Exp Bot*, 60(7):2093-106.
- Hart, J. H., & Shrimpton, D. M. (1979). Role of stilbenes in resistance of wood to decay. *Phytopathology* 69:1138
- Härtl, K., Huang, F.-C., Giri, A. P., Franz-Oberdorf, K., Frotscher, J., Shao, Y., Hoffmann, T., & Schwab, W. (2017). Glucosylation of Smoke-Derived Volatiles in Grapevine (*Vitis vinifera*) is Catalyzed by a Promiscuous Resveratrol/Guaiacol Glucosyltransferase. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 65(28), 5681-5689.
- He, C., Peng, Y., Wu, Q.-L., Xiao, W., Peng, B., Wang, Z., & Xiao, P.-G. (2013). Simultaneous determination of ten stilbenes in the seeds of paeonia species using HPLC-DAD. *Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies*, 36.
- Hipskind, J. D., & Paiva, N. L. (2000). Constitutive accumulation of a resveratrol-glucoside in transgenic alfalfa increases resistance to *Phoma medicaginis*. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 13(5), 551-562.
- Hiruma, K., Fukunaga, S., Bednarek, P., Pislewska-Bednarek, M., Watanabe, S., Narusaka, Y., Shirasu, K., and Takano, Y. (2013). Glutathione and tryptophan metabolism are required for Arabidopsis immunity during the hypersensitive response to hemibiotrophs. *PNAS*, 110: 9589-9594.
- Höll, J., Vannozzi, A., Czemplak, S., D'Onofrio, C., Walker, A. R., Rausch, T., Lucchin, M., Boss, P. K., Dry, I. B., & Bogs, J. (2013). The R2R3-MYB transcription factors MYB14 and MYB15 regulate stilbene biosynthesis in *Vitis vinifera*. *The Plant Cell*, 25(10), 4135-4149.
- Hovelstad, H., Leirset, I., Oyaas, K., & Fiksdahl, A. (2006). Screening analyses of pinosylvin stilbenes, resin acids and lignans in Norwegian conifers. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 11(1), 103-114.
- Hwang, H.-S., Han, J. Y., & Choi, Y. E. (2021). Enhanced accumulation of pinosylvin stilbenes and related gene expression in *Pinus strobus* after infection of pine wood nematode. *Tree Physiology*, 41(10), 1972-1987.
- Hwang, H.-S., Kim, Y.-R., Han, J.-Y., & Choi, Y.-E. (2022). Nematicidal Properties and Chemical Composition of *Pinus rigida* Mill. Resin against Pinewood Nematodes. *Forests*, 13(7), Article 7.
- Iliya, I., Ali, Z., Tanaka, T., Iinuma, M., Furusawa, M., Nakaya, K., Murata, J., Darnaedi, D., Matsuura, N., & Ubukata, M. (2003).

Stilbene derivatives from *Gnetum gnemon* Linn. *Phytochemistry*, 62(4):601-6.

Isoet, J.-R., Marston, A., Gupta, M. P., & Hostettmann, K. (2001). Five New Prenylated Stilbenes from the Root Bark of *Lonchocarpus chiricanus*. *Journal of Natural Products*, 64(6), 710-715.

Ioannidis K, Melliou E, Alizoti P, Magiatis P. (2017). Identification of black pine (*Pinus nigra* Arn.) heartwood as a rich source of bioactive stilbenes by qNMR. *J Sci Food Agric*, 97(6):1708-1716.

Jeong, Y. J., An, C. H., Woo, S. G., Jeong, H. J., Kim, Y.-M., Park, S.-J., Yoon, B. D., & Kim, C. Y. (2014). Production of pinostilbene compounds by the expression of resveratrol O-methyltransferase genes in *Escherichia coli*. *Enzyme and Microbial Technology*, 54, 8-14.

Jeandet, P.; Delaunois, B.; Conreux, A.; Donnez, D.; Nuzzo, V.; Cordelier, S.; Clément, C.; Courrot, E. (2010). Biosynthesis, metabolism, molecular engineering, and biological functions of stilbene phytoalexins in plants. *Biofactors*, 36, 331–341

Jeandet P, Vannozzi A, Sobarzo-Sánchez E, Uddin MS, Bru R, Martínez-Márquez A, Clément C, Cordelier S, Manayi A, Nabavi SF, Rasekhian M, El-Saber Batiha G, Khan H, Morkunas I, Belwal T, Jiang J, Koffas M, Nabavi SM. (2021). Phytostilbenes as agrochemicals: biosynthesis, bioactivity, metabolic engineering and biotechnology. *Nat Prod Rep*, 21;38(7):1282-1329.

Kato-Noguchi, H. (2021). Allelopathy of Knotweeds as Invasive Plants. *Plants* (Basel, Switzerland), 11(1), 3.

Keylor, M. H., Matsuura, B. S., & Stephenson, C. R. J. (2015). Chemistry and Biology of Resveratrol-Derived Natural Products. *Chemical Reviews*, 115(17), 8976-9027.

Kim, Y. M., Yun, J., Lee, C.-K., Lee, H., Min, K. R., & Kim, Y. (2002). Oxyresveratrol and hydroxystilbene compounds. Inhibitory effect on tyrosinase and mechanism of action. *The Journal of Biological Chemistry*, 277(18), 16340-16344.

Kim, Y. R., Moon, Y. B., Choi, H. B., Han, J. Y., Choi, H. S., Shim, S., & Choi, Y. E. (2024). MYB4 is the best candidate transcription factor involved in pinosylvin stilbene biosynthesis in *Pinus strobus* L. cells by fungal elicitor treatment. *Annals of Forest Science*, 81(1), 18.

Kiselev, K. V., & Aleynova, O. A. (2016). Influence of overexpression of stilbene synthase VaSTS7 gene on resveratrol production in transgenic cell cultures of grape *Vitis amurensis* Rupr. *Applied Biochemistry and Microbiology*, 52(1), 56-60.

Kiselev, K. V., Grigorchuk, V. P., Ogneva, Z. V., Suprun, A. R., & Dubrovina, A. S. (2016). Stilbene biosynthesis in the needles of spruce *Picea jezoensis*. *Phytochemistry*, 31:57-67.

Kiselev KV, Ogneva ZV, Suprun AR, Zhuravlev YN. (2016). Expression of the stilbene synthase genes in the needles of spruce *Picea jezoensis*. *Genetika*, 52(11):1279-86.

Kiselev, K. V., Grigorchuk, V. P., Ogneva, Z. V., Suprun, A. R., & Dubrovina, A. S. (2019). The effect of ultraviolet-C and precursor feeding on stilbene biosynthesis in spruce *Picea jezoensis*. *J Plant Physiol*, 234-235:133-137.

Kobayashi, S., Ding, C. K., Nakamura, Y., Nakajima, I., & Matsumoto, R. (2000). Kiwifruits (*Actinidia deliciosa*) transformed with a *Vitis* stilbene synthase gene produce piceid (resveratrol-glucoside). *Plant Cell Reports*, 19(9), 904-910.

Kodan, A., Kuroda, H., & Sakai, F. (2002). A stilbene synthase from Japanese red pine (*Pinus densiflora*): Implications for phytoalexin accumulation and down-regulation of flavonoid biosynthesis. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 99(5), 3335-3339.

Kong, Q., Ren, X., Tu, L., Zheng, X., Wang, Z., & Pan, Y. (2016). The Mechanism of Action of Pterostilbene in Xinjiang Wine Grape Against the Growth of *Geotrichum citri-aurantii*. *Food Biotechnology*, 30(3), 173-188.

Kumar, N., Ravindranath, B., & Seshadri, T. R. (1974). Terpenoids of *Pterocarpus santalinus* heartwood. *Phytochemistry*, 13(3), 633-636.

Kwon, D.-J., & Bae, Y.-S. (2009). *Stilbenoids of Korean Pine (Pinus koraiensis) Inner Bark. Mokchae Konghak*, 37(5), 474 – 479.

Labois, C., Stempien, E., Schneider, J., Schaeffer-Reiss, C., Bertsch, C., Goddard, M.-L., Chong, J. (2021). Comparative Study of Secreted Proteins, Enzymatic Activities of Wood Degradation and Stilbene Metabolization in Grapevine *Botryosphaeria* Dieback Fungi. *J. Fungi*, 7(7):568.

Lambert, C., Bisson, J., Waffo-Tégou, P., Papastamoulis, Y., Richard, T., Corio-Costet, M.-F., Mérillon, J.-M., & Cluzet, S. (2012). Phenolics and Their Antifungal Role in Grapevine Wood Decay: Focus on the *Botryosphaeriaceae* Family. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60(48), 11859-11868.

Landmann, C., Fink, B., & Schwab, W. (2007). FaGT2: A multifunctional enzyme from strawberry (*Fragaria × ananassa*) fruits involved in the metabolism of natural and xenobiotic compounds. *Planta*, 226(2), 417-428.

Langcake, P., & Pryce, R. J. (1977). Oxidative dimerisation of 4-hydroxystilbenes in vitro: Production of a grapevine phytoalexin mimic. *Journal of the Chemical Society, Chemical Communications*, 7, 208-210.

Lee, J., & Lee, D.G. (2015). Novel antifungal mechanism of resveratrol: apoptosis inducer in *Candida albicans*. *Current Microbiology*, 70:383–389.

Li, H., Liang, J., Chen, H., Ding, G., Ma, B., & He, N. (2016). Evolutionary and functional analysis of mulberry type III polyketide synthases. *BMC Genomics*, 17(1), 540.

Li, X., Yao, L., Xiong, B., Wu, Y., Chen, S., Xu, Z., & Qiu, S.-X. (2022). Inhibitory Mechanism of Pinosylvin Monomethyl Ether against *Aspergillus flavus*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 70(50), 15840-15847.

Li, Z.-H., Wang, Q., Ruan, X., Pan, C.-D., & Jiang, D.-A. (2010). Phenolics and Plant Allelopathy. *Molecules*, 15(12), 8933-8952.

Liu, S., Hu, Y., Wang, X., Zhong, J., & Lin, Z. (2006). High content of resveratrol in lettuce transformed with a stilbene synthase gene of *Parthenocissus henryana*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54(21), 8082-8085.

Liu, Z., Zhuang, C., Sheng, S., Shao, L., Zhao, W., & Zhao, S. (2011). Overexpression of a resveratrol synthase gene (PcRS) from *Polygonum cuspidatum* in transgenic *Arabidopsis* causes the accumulation of trans-piceid with antifungal activity. *Plant Cell Reports*, 30(11), 2027-2036.

Liudvytska, O., Ponczek, M. B., Ciesielski, O., Krzyżanowska-Kowalczyk, J., Kowalczyk, M., Balcerczyk, A., & Kolodziejczyk-Czepas, J. (2023). *Rheum rhaponticum* and *Rheum*

rhabarbarum Extracts as Modulators of Endothelial Cell Inflammatory Response. *Nutrients*, 15(4):949.

Lui, A. C. W., Pow, K. C., Lin, N., Lam, L. P. Y., Liu, G., Godwin, I. D., Fan, Z., Khoo, C. J., Tobimatsu, Y., Wang, L., Hao, Q., & Lo, C. (2023). Regioselective stilbene O-methylations in Saccharinae grasses. *Nature Communications*, 14(1), 3462.

Ma, F., Yao, W., Wang, L., & Wang, Y. (2019). Dynamic translocation of stilbene synthase VpSTS29 from a Chinese wild *Vitis* species upon UV irradiation. *Phytochemistry*, 159, 137-147.

Maorn, R., & Shirasu, K. (2005). The arms race continues: battle strategies between plants and fungal pathogens. *Current Opinion in Microbiology*, 8(4):399-404.

Maneechai, S., Likhitwitayawuid, K., Sritularak, B., Palanuvej, C., Ruangrunsi, N., & Sirisa-Ard, P. (2009). Quantitative analysis of oxyresveratrol content in *Artocarpus lakoocha* and 'Puag-Haad'. *Med Princ Pract*, 18(3):223-7.

Marrs, K. A., Alfenito, M. R., Lloyd, A. M., & Walbot, V. (1995). A glutathione S-transferase involved in vacuolar transfer encoded by the maize gene *Bronze-2*. *Nature*, 375:397-400.

Martínez-Márquez, A., Morante-Carriel, J. A., Ramírez-Estrada, K., Cusidó, R. M., Palazon, J., & Bru-Martínez, R. (2016). Production of highly bioactive resveratrol analogues pterostilbene and piceatannol in metabolically engineered grapevine cell cultures. *Plant Biotechnology Journal*, 14(9), 1813-1825.

Martínez-Márquez A., Martínez-Esteso M.J., Vilella-Antón M.T., Sellés-Marchart S., Morante-Carriel J.A., Hurtado E., Palazon J., Bru-Martínez R. (2017). A Tau Class Glutathione-S-Transferase is Involved in Trans-Resveratrol Transport out of Grapevine Cells. *Frontier in Plant Science*, 8:1457

Martínez-Márquez, A., Martins, V., Sellés-Marchart, S., Gerós, H., Corchete, P., & Bru-Martínez, R. (2023). The grapevine ABC transporter B family member 15 (VvABCB15) is trans-resveratrol transporter out of grapevine cells (p. 2023.10.20.563313). *bioRxiv*.

McAndrew, R. P., Sathitsuksanoh, N., Mbughuni, M. M., Heins, R. A., Pereira, J. H., George, A., Sale, K.L., Fox, B. G., Simmons, B. A., Adams, P.D. (2016). Structure and mechanism of NOV1, a resveratrol-cleaving dioxygenase. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 13;113(50):14324-14329.

Mekinić, I. G., Skroza, D., Ljubenkov, I., & Katalinić, V. (2016). Insight into the Presence of Stilbenes in Medicinal Plants Traditionally Used in Croatian Folk Medicine. *Nat Prod Commun*, 11(6):833-5.

Meng, X., Zhou, J., Zhao, C.-N., Gan, R.-Y., & Li, H.-B. (2020). Health Benefits and Molecular Mechanisms of Resveratrol : A Narrative Review. *Foods*, 9(3), 340.

Miao Y. C., & Liu C. J. (2010). ATP-binding cassette-like transporters are involved in the transport of lignin precursors across plasma and vacuolar membranes. *Proc. Natl. Acad. Sci. United States America*, 107, 22728-22733.

Mizoi, J., Shinozaki, K., & Yamaguchi-Shinozaki, K. (2012). AP2/ERF family transcription factors in plant abiotic stress responses. *Biochimica Et Biophysica Acta*, 1819(2), 86-96.

Morales, M., & Ros Barceló, A. (1997). A basic peroxidase isoenzyme from vacuoles and cell walls of *Vitis vinifera*. *Phytochemistry*, 45(2), 229-232.

Morita, H., Noguchi, H., Schröder, J., & Abe, I. (2001). Novel polyketides synthesized with a higher plant stilbene synthase. *European Journal of Biochemistry*, 268(13), 3759-3766.

Mu, H., Li, Y., Yuan, L., Jiang, J., Wei, Y., Duan, W., Fan, P., Li, S., Liang, Z., & Wang, L. (2023). MYB30 and MYB14 form a repressor-activator module with WRKY8 that controls stilbene biosynthesis in grapevine. *The Plant Cell*, 35(1), 552-573.

Mulat, D. G., Latva-Mäenpää, H., Koskela, H., Saranpää, P., & Wähälä, K. (2014). Rapid chemical characterisation of stilbenes in the root bark of Norway spruce by off-line HPLC/DAD-NMR. *Phytochem Anal*, 25(6):529-36.

Murata, H., Iliya, I., Tanaka, T., Furasawa, M., Ito, T., Nakaya, K., Oyama, M., & Iinuma, M. (2005). Four new trimeric stilbene glucosides from *Welwitschia mirabilis*. *Chem Biodivers*, 2(6):773-9.

Nagarajan, S., Mohandas, S., Ganesan, K., Xu, B., & Ramkumar, K. M. (2022). New Insights into Dietary Pterostilbene : Sources, Metabolism, and Health Promotion Effects. *Molecules*, 27(19), Article 19.

Neiva, D. M., Rencoret, J., Marques, G., Gutiérrez, A., Gominho, J., Pereira, H., & del Río, J. C. (2020). Lignin from Tree Barks : Chemical Structure and Valorization. *ChemSusChem*, 13(17), 4537-4547.

Németh, G., Hegyi, O., Dunai, A., & Kocsis, L. (2017). Stilbenes in the different organs of *Vitis vinifera* cv. Merlot grafted on Teleki Kober 5BB rootstock. *OENO One*, 51(3), Article 3.

Noel, J. P., Dixon, R. A., Pichersky, E., Zubieta, C., & Ferrer, J.-L. (2003). Chapter two Structural, functional, and evolutionary basis for methylation of plant small molecules. In J. T. Romeo (Ed.). *Recent Advances in Phytochemistry* (Vol. 37, p. 37-58). Elsevier.

Nogué, F., Vergne, P., Chèvre, A. M., Chauvin, J. E., Bouchabké-Coussa, O., Déjardin, A., Chevreau, E., Hibrand-Saint Oyant L., Mazier, M., Barret, P., Guiderdoni, E., Sallaud, C., Foucrier, S., Devaux, P., & Rogowsky, P. M. (2019). Crop plants with improved culture and quality traits for food, feed and other uses. *Transgenic Res*, 28(Suppl 2):65-73.

Orduña, L., Li, M., Navarro-Payá, D., Zhang, C., Santiago, A., Romero, P., Ramšak, Ž., Magon, G., Höll, J., Merz, P., Gruden, K., Vannozzi, A., Cantu, D., Bogs, J., Wong, D. C. J., Huang, S. C., & Matus, J. T. (2022). Direct regulation of shikimate, early phenylpropanoid, and stilbenoid pathways by Subgroup 2 R2R3-MYBs in grapevine. *The Plant Journal*, 110(2), 529-547. 6

Paasela, T., Lim, K.-J., Pietiäinen, M., & Teeri, T. H. (2017). The O-methyltransferase PMT2 mediates methylation of pinosylvin in Scots pine. *New Phytologist*, 214(4), 1537-1550.

Pan, Q.-H., Wang, L., & Li, J.-M. (2009). Amounts and subcellular localization of stilbene synthase in response of grape berries to UV irradiation. *Plant Science*, 176(3), 360-366.

Parage, C., Tavares, R., Réty, S., Baltenweck-Guyot, R., Poutaraud, A., Renault, L., Heintz, D., Lugan, R., Marais, G. A. B., Aubourg, S., & Hugueney, P. (2012). Structural, functional, and evolutionary analysis of the unusually large stilbene synthase gene family in grapevine. *Plant Physiology*, 160(3), 1407-1419.

- Paterson AH, Bowers JE, Bruggmann R, Dubchak I, Grimwood J, Gundlach H, Haberer G, Hellsten U, Mitros T, Poliakov A, Schmutz J, Spannagl M, Tang H, Wang X, Wicker T, Bharti AK, Chapman J, Feltus FA, Gowik U, Grigoriev IV, Lyons E, Maher CA, Martis M, Narechania A, Otiillar RP, Penning BW, Salamov AA, Wang Y, Zhang L, Carpita NC, et al. (2009). The *Sorghum bicolor* genome and the diversification of grasses. *Nature*, 457:551–556.
- Pavela, R., Waffo-Teguo, P., Biais, B., Richard, T., & Mérillon, J.-M. (2017). *Vitis vinifera* canes, a source of stilbenoids against *Spodoptera littoralis* larvae. *Journal of Pest Science*, 90(3), 961-970.
- Perkins, M., Smith, R. A., Samuels, L. (2019). The transport of monomers during lignification in plants: anything goes but how?. *Current Opinion in Biotechnologies*, 56, 69–74.
- Perkins, M., Schuetz, M., Unda, F., Chen, K., Bally, M., Kulkarni, J., Yan, Y., Pico Carbajo, J., Castellarin, S. D., Mansfield, S., & Samuels, A. (2022). Monolignol export by diffusion down a polymerization-induced concentration gradient. *The Plant Cell*, 34.
- Pezet, R. (1998). Purification and characterization of a 32-kDa laccase-like stilbene oxidase produced by *Botrytis cinerea* Pers.:Fr. *FEMS Microbiology Letters*, 167(2), 203-208.
- Pezet, R., & Pont, V. (1990). Ultrastructural Observations of Pterostilbene Fungitoxicity in Dormant Conidia of *Botrytis cinerea* Pers. *Journal of Phytopathology*, 129(1), 19-30.
- Powell, R. G., TePaske, M. R., Plattner, R. D., White, J. F., & Clement, S. L. (1994). Isolation of resveratrol from *Festuca versuta* and evidence for the widespread occurrence of this stilbene in the poaceae. *Phytochemistry*, 35(2), 335-338.
- Preisig-Müller, R., Schwekendiek, A., Brehm, I., Reif, H. J., & Kindl, H. (1999). Characterization of a pine multigene family containing elicitor-responsive stilbene synthase genes. *Plant Molecular Biology*, 39(2), 221-229.
- Raiber, S., Schröder, G., & Schröder, J. (1995). Molecular and enzymatic characterization of two stilbene synthases from Eastern white pine (*Pinus strobus*). A single Arg/His difference determines the activity and the pH dependence of the enzymes. *FEBS Letters*, 361(2-3), 299-302.
- Regev-Shoshani, G., Shoseyov, O., Bilkis, I., & Kerem, Z. (2003). Glycosylation of resveratrol protects it from enzymic oxidation. *Biochem J*, 374(Pt 1):157-63.
- Rencoret, J., Neiva, D., Marques, G., Gutiérrez, A., Kim, H., Gominho, J., Pereira, H., Ralph, J., & del Río, J. C. (2019). Hydroxystilbene Glucosides Are Incorporated into Norway Spruce Bark Lignin. *Plant Physiology*, 180(3), 1310-1321.
- Rivière, C., Pawlus, A. D., & Mérillon, J. M. (2012). Natural stilbenoids: distribution in the plant kingdom and chemotaxonomic interest in Vitaceae. *Nat Prod Rep*, 29(11):1317-33.
- Roupe, K. A., Remsberg, C. M., Yáñez, J. A., and Davies, N. M. (2006). Pharmacometrics of stilbenes: segueing towards the clinic. *Current Clinical Pharmacology*, 1: 81–101.
- Samappito, S., Page, J. E., Schmidt, J., De-Eknamkul, W., & Kutchan, T. M. (2003). Aromatic and pyrone polyketides synthesized by a stilbene synthase from *Rheum tataricum*. *Phytochemistry*, 62(3), 313-323.
- Santiago, A., Romero, P., Martínez, A., Martínez, M. J., Echeverría, J., Selles, S., Alvarez-Urdiola, R., Zhang, C., Navarro-Payá, D., Pizzio, G. A., Micó, E., Samper, A., Morante, J., Cigliano, R. A., Manzano, D., Bru, R., & Matus, J. T. (2024). Biosynthesis of oxyresveratrol in mulberry (*Morus alba* L.) is mediated by a group of p-coumaroyl-CoA 2'-hydroxylases acting upstream of stilbene synthases. *bioRxiv*.
- Sarker, S. D., Whiting, P., Dinan, L., Šik, V., & Rees, H. H. (1999). Identification and ecdysteroid antagonist activity of three resveratrol trimers (suffruticosols A, B and C) from *Paeonia suffruticosa*. *Tetrahedron*, 55(2), 513-524.
- Schanz, S., Schröder, G., & Schröder, J. (1992). Stilbene synthase from Scots pine (*Pinus sylvestris*). *FEBS Letters*, 313(1), 71-74.
- Schlaeppli, K., Abou-Mansour, E., Buchala, A., & Mauch, F. (2010). Disease resistance of *Arabidopsis* to *Phytophthora brassicae* is established by the sequential action of indole glucosinolates and camalexin. *Plant Journal*, 62: 840–851.
- Shi, J., He, M., Cao, J., Wang, H., Ding, J., Jiao, Y., Li, R., He, J., Wang, D., & Wang, Y. (2014). The comparative analysis of the potential relationship between resveratrol and stilbene synthase gene family in the development stages of grapes (*Vitis quinquangularis* and *Vitis vinifera*). *Plant Physiol Biochem*, 74:24-32.
- Schilling, M., Levasseur, M., Barbier, M., Oliveira-Correia, L., Henry, C., Touboul, D., Farine, S., Bertsch, C., & Gelhaye, E. (2023). Wood Degradation by *Fomitiporia mediterranea* M. Fischer: Exploring Fungal Adaptation Using Metabolomic Networking. *Journal of Fungi*, 9(5).
- Schilling, M., Maia-Grondard, A., Baltenweck, R., Robert, E., Hugueney, P., Bertsch, C., Farine, S., & Gelhaye, E. (2022). Wood degradation by *Fomitiporia mediterranea* M. Fischer: Physiologic, metabolomic and proteomic approaches. *Frontiers in Plant Science*, 13.
- Schmidlin, L., Poutaraud, A., Claudel, P., Mestre, P., Prado, E., Santos-Rosa, M., Wiedemann-Merdinoglu, S., Karst, F., Merdinoglu, D., & Hugueney, P. (2008). A Stress-Inducible Resveratrol O-Methyltransferase Involved in the Biosynthesis of Pterostilbene in Grapevine. *Plant Physiology*, 148(3), 1630-1639.
- Sheng, S., Xia, W., Rui, W., Zhao, W., She, T., Xie, J., Zhao, S., & Chen, L. (2020). Overexpression of a stilbene synthase gene from *Fallopia multiflora* causes trans-piceid accumulation in transgenic *Arabidopsis*. *Biologia plantarum*, 64, 266-270.
- Shimizu, K., And, R. K., & Sakai, K. (2000). Inhibition of Tyrosinase by Flavonoids, Stilbenes and Related 4-Substituted Resorcinols: Structure-Activity Investigations. *Planta Medica*, 66(1), 11-15.
- Solhaug, K. A. (1990). Stilbene glucosides in bark and needles from picea species. *Scandinavian Journal of Forest Research*, 5(1-4), 59-67.
- Šoln, K., Horvat, M., Iskra, J., & Dolenc Koče, J. (2022). Inhibitory effects of methanol extracts from *Fallopia japonica* and *F. × bohemica* rhizomes and selected phenolic compounds on radish germination and root growth. *Chemoecology*, 32(4), 159-170.
- Song, W., Wang, H. J., Bucheli, P., Zhang, P. F., Wei, D. Z., & Lu, Y. H. (2009). Phytochemical profiles of different mulberry (*Morus* sp.) species from China. *J Agric Food Chem*, 57(19):9133-40.

- Song, Q., Qin, F., He, H., Wang, H., & Yu, S. (2019). Allelopathic potential of rain leachates from Eucalyptus urophylla on four tree species. *Agroforestry Systems*, 93.
- Speicher, A., & Schoeneborn, R. (1997). 3,4-dihydroxy-3'-methoxystilbene, the first monomeric stilbene derivative from bryophytes. *Phytochemistry*, 45(8), 1613-1615.
- Suga, T., Ohta, S., Munesada, K., Ide, N., Kurokawa, M., Shimizu, M., & Ohta, E. (1993). Endogenous pine wood nematocidal substances in pines, *Pinus massoniana*, *P. strobus* and *P. palustris*. *Phytochemistry*, 33(6), 1395-1401.
- Suprun, A. R., Ogneva, Z. V., Dubrovina, A. S., & Kiselev, K. V. (2020). Effect of spruce PjSTS1a, PjSTS2, or PjSTS3 gene overexpression on stilbene biosynthesis in callus cultures of *Vitis amurensis* Rupr. *Biotechnol Appl Biochem*, 67(2):234-239.
- Tanaka, T., Iliya, I., Ito T, Furusawa, M., Nakaya, KI., Iinuma, M., Shirataki, Y., Matsuura, N., Ubukata, M., Murata, J., Simozono, F., & Hirain, K. (2001). Stilbenoids in lianas of *Gnetum parvifolium*. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin* (Tokyo), 49(7):858-62.
- Taylor, R. J., & Shaw, D. C. (1983). Allelopathic effects of Engelmann spruce bark stilbenes and tannin-stilbene combinations on seed germination and seedling growth of selected conifers. *Canadian Journal of Botany*, 61(1), 279-289.
- Torres Morales, P., Avila, J., Vivar, A., García-Bores, A., Marín, J., Aranda, E., & Cespedes-Acuña, C. L. (2003). Antioxidant and insect growth regulatory activities of stilbenes and extracts from *Yucca perculosa*. *Phytochemistry*, 64, 463-473.
- Tropf, S., Lanz, T., Rensing, S., Schröder, J., & Schröder, G. (1994). Evidence that stilbene synthases have developed from chalcone synthases several times in the course of evolution. *Journal of molecular evolution*, 38, 610-618.
- Tucker Serniak, L. (2016). Comparison of the allelopathic effects and uptake of *Fallopia japonica* phytochemicals by *Raphanus sativus*. *Weed Research*, 56(2), 97-101.
- Tyunin, A., & Kiselev, K. (2017). Influence of increased expression of VaMyb1 transcription factor on biosynthesis of resveratrol in the cells of Amur grape (*Vitis amurensis*). *Russian Journal of Plant Physiology*, 64, 41-47.
- Väisänen, E., Takahashi, J., Obudulu, O., Bygdell, J., Karhunen, P., Blokhina, O., Laitinen, T., Teeri, T., Wingsle, G., Fagerstedt, K., & Kärkönen, A. (2020). Hunting monolignol transporters: membrane proteomics and biochemical transport assays with membrane vesicles of Norway spruce. *Journal of Experimental Botany*, 71(20), 6379-6395.
- Valletta, A., Iozia, L. M., & Leonelli, F. (2021). Impact of Environmental Factors on Stilbene Biosynthesis. *Plants*, 10(1), 90.
- van Der Kaaden, J. E., Hemscheidt, T. K., & Mooberry, S. L. (2001). Mappain, a new cytotoxic prenylated stilbene from *Macaranga mappia*. *Journal of Natural Products*, 64(1), 103-105.
- Vanholme, R., Demedts, B., Morreel, K., Ralph, J., & Boerjan, W. (2010). Lignin biosynthesis and structure. *Plant Physiology*, 153(3), 895-905.
- Vannozzi, A., Dry, I. B., Fasoli, M., Zenoni, S., & Lucchin, M. (2012). Genome-wide analysis of the grapevine stilbene synthase multigenic family : Genomic organization and expression profiles upon biotic and abiotic stresses. *BMC Plant Biology*, 12(1), 130.
- Vannozzi, A., Wong, D. C. J., Höll, J., Hmam, I., Matus, J. T., Bogs, J., Ziegler, T., Dry, I., Barcaccia, G., & Lucchin, M. (2018). Combinatorial Regulation of Stilbene Synthase Genes by WRKY and MYB Transcription Factors in Grapevine (*Vitis vinifera* L.). *Plant and Cell Physiology*, 59(5), 1043-1059.
- Vezzulli, S.; Malacarne, G.; Masuero, D.; Vecchione, A.; Dolzani, C.; Goremykin, V.; Mehari, Z.H.; Banchi, E.; Velasco, R.; Stefanini, M.; et al. The Rpv3-3 haplotype and stilbenoid induction mediate downy mildew resistance in a grapevine interspecific population. *Frontier in Plant Science*. 2019, 10, 1–23.
- Virjamo, V., Julkunen-Tiitto, R., Henttonen, H., Hiltunen, E., Karjalainen, R., Korhonen, J., & Huitu, O. (2013). Differences in vole preference, secondary chemistry and nutrient levels between naturally regenerated and planted Norway spruce seedlings. *Journal of Chemical Ecology*, 39(10), 1322-1334.
- Vogt, T. (2010). Phenylpropanoid Biosynthesis. *Molecular Plant*, 3(1), 2-20.
- Vogt, T., & Jones, P. (2000). Glycosyltransferases in plant natural product synthesis : Characterization of a supergene family. *Trends in Plant Science*, 5(9), 380-386.
- von Reuss, S. H., & König, W. A. (2004). Corsifurans A-C, 2-arylbenzofurans of presumed stilbenoid origin from *Corsinia coriandrina* (Hepaticae). *Phytochemistry*, 65(23):3113-8.
- Vrchotová, N., & Šerá, B. (2008). Allelopathic properties of knotweed rhizome extracts. *Plant, Soil and Environment*, 54(7), 301-303.
- Wadke, N., Kandasamy, D., Vogel, H., Lah, L., Wingfield, B. D., Paetz, C., Wright, L. P., Gershenzon, J., & Hammerbacher, A. (2016). The Bark-Beetle-Associated Fungus, *Endoconidiophora polonica*, Utilizes the Phenolic Defense Compounds of Its Host as a Carbon Source. *Plant Physiol*, 171(2):914-31.
- Wallis, C. M. (2020). Grapevine (*Vitis* spp.) rootstock stilbenoid associations with host resistance to and induction by root knot nematodes, *Meloidogyne incognita*. *BMC Research Notes*, 13(1), 360.
- Wang, C., Zhi, S., Liu, C., Xu, F., Zhao, A., Wang, X., Ren, Y., Li, Z., & Yu, M. (2017). Characterization of Stilbene Synthase Genes in Mulberry (*Morus atropurpurea*) and Metabolic Engineering for the Production of Resveratrol in *Escherichia coli*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 65(8), 1659-1668.
- Wang, D., Jiang, C., Li, R., & Wang, Y. (2019). VqbZIP1 isolated from Chinese wild *Vitis quinqueangularis* is involved in the ABA signaling pathway and regulates stilbene synthesis. *Plant Science*, 287, 110202.
- Wang, D., Jiang, C., Liu, W., & Wang, Y. (2020). The WRKY53 transcription factor enhances stilbene synthesis and disease resistance by interacting with MYB14 and MYB15 in Chinese wild grape. *Journal of Experimental Botany*, 71(10), 3211-3226. 97
- Wang, L., & Wang, Y. (2019). Transcription factor VqERF114 regulates stilbene synthesis in Chinese wild *Vitis quinqueangularis* by interacting with VqMYB35. *Plant Cell Reports*, 38(10), 1347-1360.
- Wang, W., Tang, K., Yang, H.-R., Wen, P.-F., Zhang, P., Wang, H.-L., & Huang, W.-D. (2010). Distribution of resveratrol and stilbene synthase in young grape plants (*Vitis vinifera* L. cv. Cabernet Sauvignon) and the effect of UV-C on its accumulation. *Plant Physiology and Biochemistry*, 48(2-3), 142-152.

- Wang, X., Wang, Y., Zhang, C., & Zhang, J. (2007). Isolation and characterization of cDNA encoding stilbene synthases from Chinese wild *Vitis pseudoreticulata*. *VITIS - Journal of Grapevine Research*, 46(3), Article 3.
- Warren, R. L., Keeling, C. I., Yuen, M. M. S., Raymond, A., Taylor, G. A., Vandervalk, B. P., Mohamadi, H., Paulino, D., Chiu, R., Jackman, S. D., Robertson, G., Yang, C., Boyle, B., Hoffmann, M., Weigel, D., Nelson, D. R., Ritland, C., Isabel, N., Jaquish, B., ... Bohlmann, J. (2015). Improved white spruce (*Picea glauca*) genome assemblies and annotation of large gene families of conifer terpenoid and phenolic defense metabolism. *The Plant Journal*, 83(2), 189-212.
- Wong, D. C. J., Schlechter, R., Vannozzi, A., Höll, J., Hmam, I., Bogs, J., Tornielli, G. B., Castellarin, S. D., & Matus, J. T. (2016). A systems-oriented analysis of the grapevine R2R3-MYB transcription factor family uncovers new insights into the regulation of stilbene accumulation. *DNA Research: An International Journal for Rapid Publication of Reports on Genes and Genomes*, 23(5), 451-466.
- Woods, J. A., Hadfield, J. A., Pettit, G. R., Fox, B. W., & McGown, A. T. (1995). The interaction with tubulin of a series of stilbenes based on combretastatin A-4. *British Journal of Cancer*, 71(4), 705-711.
- Xia, N., Daiber, A., F€orstermann, U., and Li, H. (2017). Antioxidant effects of resveratrol in the cardiovascular system. *British Journal of Pharmacology*, 174: 1633–1646.
- Xu, Z., Yu, X., Zhang, X., Deng, R., Kong, Q., & Ren, X. (2021). Critical role of the trans-scirpusin A Hydroxylase (SAH), A Cyt P450 enzyme, involved in trans-scirpusin A biosynthesis in *Vitis vinifera*. *Scientia Horticulturae*, 288, 110319.
- Yamazaki, Y., Suh, D. Y., Sitthithaworn, W., Ishiguro, K., Kobayashi, Y., Shibuya, M., Ebizuka, Y., & Sankawa, U. (2001). Diverse chalcone synthase superfamily enzymes from the most primitive vascular plant, *Psilotum nudum*. *Planta*, 214(1), 75-84.
- Yan, C., Yang, N., Li, R., Wang, X., Xu, Y., Zhang, C., Wang, X., & Wang, Y. (2023). Alfin-like transcription factor VqAL4 regulates a stilbene synthase to enhance powdery mildew resistance in grapevine. *Molecular Plant Pathology*, 24(2), 123-141.
- Yang, Y., Mao, L., Jittayasothorn, Y., Kang, Y., Jiao, C., Fei, Z., & Zhong, G. Y. (2015). Messenger RNA exchange between scions and rootstocks in grafted grapevines. *BMC Plant Biol*, 15:251.
- Yang, T., Fang, L., Rimando, A. M., Sobolev, V., Mockaitis, K., & Medina-Bolivar, F. (2016). A Stilbenoid-Specific Prenyltransferase Utilizes Dimethylallyl Pyrophosphate from the Plastidic Terpenoid Pathway. *Plant Physiology*, 171(4), 2483-2498.
- Yang, T., Fang, L., Sanders, S., Jayanthi, S., Rajan, G., Podicheti, R., Thallapuranam, S. K., Mockaitis, K., & Medina-Bolivar, F. (2018). Stilbenoid prenyltransferases define key steps in the diversification of peanut phytoalexins. *The Journal of Biological Chemistry*, 293(1), 28-46.
- Yin, X., Singer, S. D., Qiao, H., Liu, Y., Jiao, C., Wang, H., Li, Z., Fei, Z., Wang, Y., Fan, C., & Wang, X. (2016). Insights into the Mechanisms Underlying Ultraviolet-C Induced Resveratrol Metabolism in Grapevine (*V. amurensis* Rupr.) cv. "Tonghua-3". *Frontiers in Plant Science*, 7.
- Yonekura-Sakakibara, K., Higashi, Y., & Nakabayashi, R. (2019). The Origin and Evolution of Plant Flavonoid Metabolism. *Front Plant Sci*, 10:943.
- Youn, H.D., Hah, Y. C., & Kang, S.-O. (1995). Role of laccase in lignin degradation by white-rot fungi. *FEMS Microbiology Letters*, 132(3), 183-188.
- Yu, C. K. Y., Lam, C. N. W., Springob, K., Schmidt, J., Chu, I. K., & Lo, C. (2006). Constitutive Accumulation of cis -piceid in Transgenic Arabidopsis Overexpressing a Sorghum Stilbene Synthase Gene. *Plant and Cell Physiology*, 47(7), 1017-1021.
- Yu, C. K. Y., Springob, K., Schmidt, J., Nicholson, R. L., Chu, I. K., Yip, W. K., & Lo, C. (2005). A stilbene synthase gene (SbSTS1) is involved in host and nonhost defense responses in sorghum. *Plant Physiology*, 138(1), 393-401.
- Zamora-Ros, R., Andres-Lacueva, C., Lamuela-Raventós, R. M., Berenguer, T., Jakszyn, P., Martínez, C., Sánchez, M. J., Navarro, C., Chirlaque, M. D., Tormo, M.-J., Quirós, J. R., Amiano, P., Dorronsoro, M., Larrañaga, N., Barricarte, A., Ardanaz, E., & González, C. A. (2008). Concentrations of resveratrol and derivatives in foods and estimation of dietary intake in a Spanish population : European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC)-Spain cohort. *The British Journal of Nutrition*, 100(1), 188-196.
- Zhou, J., Li, S., Wang, W., Guo, X., Lu, X., Yan, X., Huang, D., Wei, B., & Cao, L. (2013). Variations in the Levels of Mulberroside A, Oxyresveratrol, and Resveratrol in Mulberries in Different Seasons and during Growth. *The Scientific World Journal*, 2013, e380692.
- Zhu, F., Han, J., Liu, S., Chen, X., Varshney, R. K., & Liang, X. (2014). Cloning, Expression Pattern Analysis and Subcellular Localization of Resveratrol Synthase Gene in Peanut (*Arachis hypogaea* L.). *American Journal of Plant Sciences*, 5(24), Article 24.
- Zubek, S., Kapusta, P., Stanek, M., Woch, M. W., Błaszowski, J., & Stefanowicz, A. M. (2022). Reynoutria japonica invasion negatively affects arbuscular mycorrhizal fungi communities regardless of the season and soil conditions. *Appl. Soil Ecol*, 169, 104152.

3. Les maladies du bois de la vigne

3.1. Généralités

La viticulture est une activité majeure de l'économie française qui représente 500 000 emplois directs et indirects (CNIV, <https://www.intervin.fr/etudes-et-economie-de-la-filiere/>). Grâce à leur succès à l'exportation (9 à 12 milliards d'euros par an), les vins contribuent à l'image d'excellence de la France dans le monde entier. La vigne est néanmoins affectée par différentes maladies fongiques, dont certaines peuvent être contrôlées par des traitements phytosanitaires. Cela fait de la viticulture l'une des activités agricoles les plus consommatrices de produits phytosanitaires en France. En revanche, pour les maladies du bois à l'origine d'un dépérissement préoccupant des vignobles, aucun traitement n'est actuellement disponible. Le terme « maladies du bois de la vigne » (MDB) désigne plusieurs maladies liées à différents pathogènes fongiques qui ont la particularité de coloniser le bois, causant des nécroses, la formation d'amadou et l'obstruction des vaisseaux conducteurs de la sève, ce qui peut à terme conduire à la mort du pied de vigne. Les trois principales MDB sont : l'eutypiose, l'esca et le dépérissement à *Botryosphaeria* ou bras mort noir (Black Dead Arm) (Bertsch et al., 2013).

3.2. Une épidémie très ancienne

Les premières traces évoquant la présence des MDB remontent à l'antiquité. En effet, au 4^{ème} siècle avant J.C en Grèce antique, Théophraste a rapporté des dépérissements importants de certains vignobles. Toutefois le manque de précision dans les descriptions des symptômes ne permet pas d'affirmer que ces dépérissements soient effectivement liés à ce que l'on considère aujourd'hui comme les MDB (Larignon, 2016a). Durant le Moyen-Age d'autres écrits témoignent de vignes « desséchées », « privées de sèves ». Ces phénomènes de dessèchements apparaissant généralement de façon brutale, ils peuvent être reliés au phénomène d'apoplexie, stade final des MDB, où l'obstruction des vaisseaux conducteurs empêche la sève de circuler, conduisant à un rapide dessèchement et à la mort du pied de vigne. A partir du 19^{ème} siècle, les MDB ont commencé à être mieux documentées. Toutefois, l'importance de ces maladies restait relativement faible en comparaison à l'oïdium ou au mildiou, notamment en raison de l'utilisation intensive durant le 20^{ème} siècle de l'arsénite de sodium, très efficace pour lutter contre ces maladies (Songy et al., 2019b). Toutefois, à partir de 2003, l'Union Européenne a interdit l'utilisation en viticulture de l'arsénite de sodium, du carbendazime et du bénomyl, 3 molécules efficaces pour lutter contre ces maladies, en raison de leur toxicité pour la santé humaine (Spinosi et al, 2009). Le changement climatique constitue un facteur aggravant ces maladies. Une chaleur excessive et un stress hydrique intense constituent

deux facteurs qui augmentent le risque d'apparition et la sévérité des symptômes de ces maladies (Songy et al., 2019a). Or, les récentes années ont montré que la fréquence d'occurrence de ces phénomènes extrêmes ne fait qu'augmenter (Songy et al., 2019a). Tout cela a conduit à une augmentation sensible des dommages causés par ces maladies ces dernières années. On considère qu'au moins 12 % du vignoble français est improductif en raison de ces maladies, entraînant un coup économique annuel d'un milliard d'euros en France (Gramaje et al., 2018).

3.3. Les principales maladies du bois de la vigne

Le terme « maladies du bois de la vigne » désigne en fait un groupe de plusieurs maladies, dont les 3 principales que je vais détailler sont l'eutypiose, l'esca et le dépérissement à *Botryosphaeriaceae* – également appelé Black Dead Arm (BDA) -. La maladie du Pied Noir, la maladie de Pétri – toutes deux touchant plutôt les jeunes pieds – et le dépérissement dû à *Phomopsis viticola* sont parfois également regroupés sous ce terme (Gramaje et al., 2018).

3.3.1. L'eutypiose

L'eutypiose doit son nom à *Eutypa lata*, l'espèce fongique majoritaire responsable de cette maladie. Cette espèce n'est pas inféodée à la vigne et a par ailleurs été isolée à partir d'autres espèces ligneuses (Mahoney et al., 2003). Toutefois, au moins 24 espèces fongiques de la famille des *Diatrypaceae* seraient impliquées dans l'eutypiose (Gramaje et al., 2018).

Les symptômes de l'eutypiose peuvent apparaître dès le début du printemps sous la forme de rameaux rabougris en raison d'entre-nœuds plus courts (Figure 4 A). Les inflorescences et les grappes peuvent également être touchées, entraînant un dessèchement et un millerandage des baies (Figure 4 B) (Larignon, 2016a). On note également le développement de chloroses et de nécroses marginales sur les feuilles, dues aux toxines produites par *E. lata* transportées du bois vers les feuilles (Guan et al., 2022). D'une année à l'autre, les symptômes foliaires peuvent varier (Gramaje et al., 2018).

En ce qui concerne les tissus ligneux, on observe que certains bras peuvent mourir, et la coupe du tronc montre la présence de nécroses sectorielles dures. Une particularité de cette maladie est la présence de boursouflures noirâtres sur le tronc, appelées périthèces, et qui correspondent à la forme

de reproduction sexuée du champignon (Figure 4 D) (Source : <https://ephytia.inra.fr/fr/C/6980/Vigne-Description-du-champignon>).

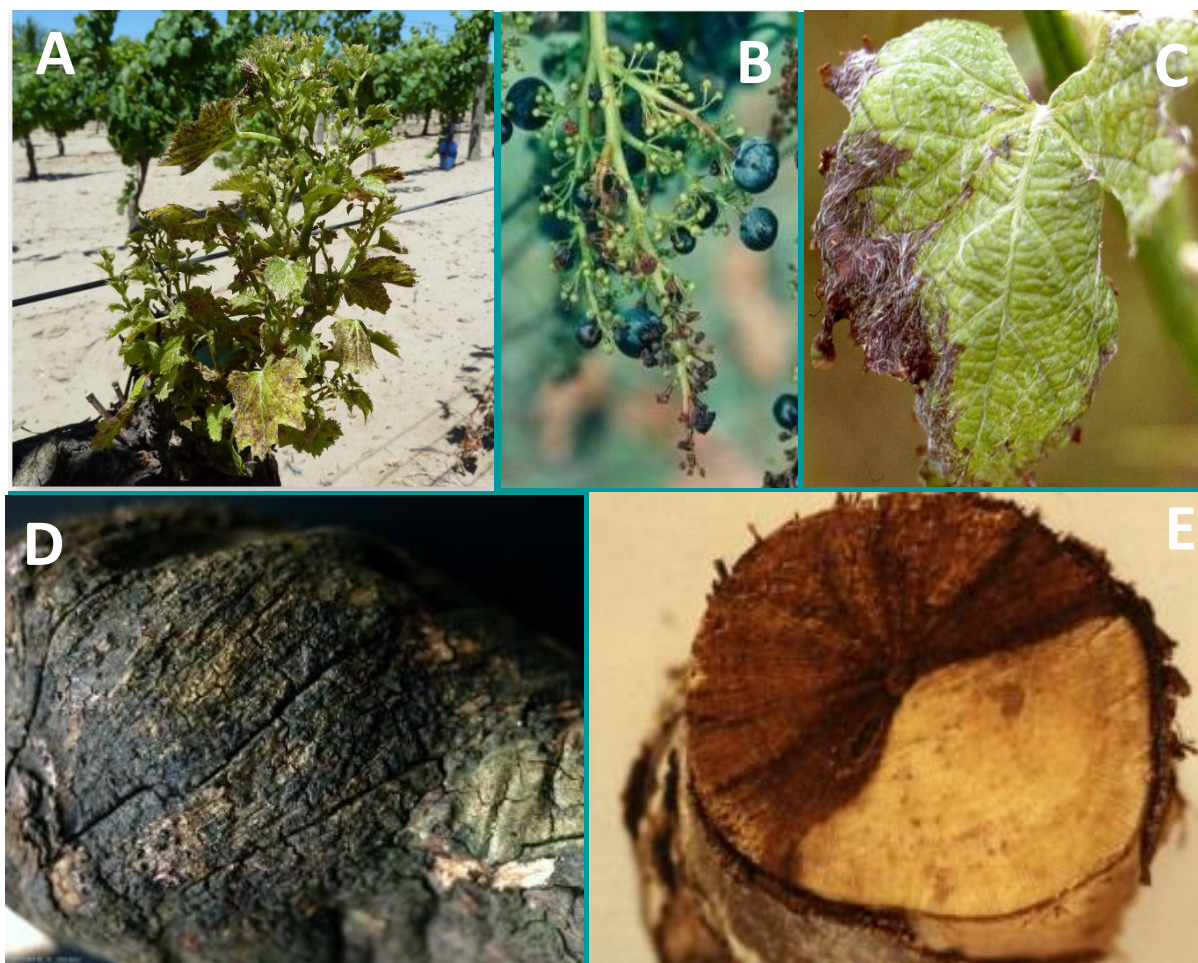


Figure 4 : Symptômes observés sur des vignes atteintes par l'Eutypiose : rameaux courts et rabougris (A), grappes aux baies millerandées (B), feuilles nécrosées (C), boursouflures noirâtres sur le tronc (D) et nécroses sectorielles dans le tronc du pied de vigne (E). Crédit photo : Philippe Larignon et Pascal Lecomte.

3.3.2. L'esca

Tout comme l'eutypiose, l'esca est caractérisé par la présence de plusieurs espèces fongiques, dont les 3 principales sont *Phaeomoniella chlamydospora*, *Phaeoacremonium minimum* et *Fomitiporia mediterranea* (Surico, 2009). D'autres espèces, plus rarement décrites, seraient également impliquées, telles que *Sarocladium strictum* et des espèces du genre *Phaeoacremonium* (Arzanlou et al., 2013).

Le terme esca proviendrait du dialecte provençal ou languedocien et signifie « amadou » ou « pourriture blanche ». En effet, il s'agit d'un symptôme typique observé au niveau du tronc lorsque les pieds de vignes sont coupés (Figure 5 B). Ces pourritures sont l'un des symptômes typiques de la forme lente de l'esca et seraient dues à l'action de *F. mediterranea*. En plus de l'amadou, on peut également observer des nécroses brunes ponctuelles et sectorielles au niveau des troncs. Au niveau des feuilles, la forme lente de l'esca se traduit par des digitations jaunes voire rouges autour des nervures qui restent vertes (Figure 5 A).

Ces taches peuvent n'être présentes que sur quelques rameaux et disparaître d'une année à l'autre. Les symptômes foliaires ne seraient pas dus à la présence du mycélium dans les feuilles, mais à la translocation des toxines produites sur les lieux de dégradation du bois (Mugnai et al., 1999). Des symptômes sur baies peuvent également se manifester sous forme de taches violettes, de même que des retards de maturité, voire des flétrissements (Figure 5 C). La forme dite apoplectique se manifeste principalement durant l'été et se traduit par un dessèchement foudroyant et mortel du pied qui conserve néanmoins ses feuilles (Figure 5 D) (Larignon et al., 2009). Les raisons de l'apparition de



Figure 5 : Symptômes observés sur des vignes atteintes par l'esca. Symptômes associés à la forme lente au niveau des feuilles (A), du tronc (B) et des baies (C). Forme apoplectique conduisant à la mort du pied (D). Crédit photo : Philippe Larignon et Pascal Lecomte.

l'une ou l'autre forme sont peu connues, toutefois la forme apoplectique serait favorisée par les sécheresses, tandis que la forme lente serait favorisée par un temps humide et doux (Surico et al., 2000).

3.3.3. Dépérissements à Botryosphaeriaceae

Les dépérissements à *Botryosphaeriaceae* également appelés « Black Dead Arm » (BDA) ont été décrits pour la première fois en 1974 en Hongrie (Larignon & Dubos, 2001). Ils sont causés par des champignons de la famille des *Botryosphaeriaceae*. Plusieurs dizaines d'espèces du genre *Botryosphaeria*, *Diplodia*, *Neofusicoccum* et *Lasiodiplodia* ont été identifiées comme impliquées dans les BDA, mais les plus connus sont *Diplodia seriata*, *Diplodia mutila* et *Neofusicoccum parvum* (Gramaje et al., 2018).

Les symptômes du BDA sont similaires à ceux de l'esca, de sorte que ces deux maladies sont souvent confondues. Ils divergent néanmoins par leur moment d'apparition (*Source* : vignevin-occitanie.com), car les symptômes du BDA apparaissent dès la floraison. Tout comme l'esca, le BDA se traduit par des symptômes foliaires qui sont les premiers symptômes visibles. Dans sa forme lente, les feuilles présentent des marbrures brunes/rouges, entourant les nervures qui restent vertes (Figure 6 A) avant de tomber. Il n'y a pas de présence de tâches jaunes, ce qui permet de différencier le BDA de l'esca. Ces symptômes foliaires peuvent ne pas se renouveler d'une année sur l'autre (*Source* : vignevin-occitanie.com). Au niveau du tronc, on peut observer des bandes brunes de nécroses sous l'écorce (Figure 6 C). En coupe, le bois peut présenter des nécroses sectorielles brunes-grises (Figure 6 B).

Le BDA peut également prendre une forme apoplectique conduisant à la mort du pied après un dessèchement rapide de tous les organes (Figure 6 D). À la différence de l'esca, le pied perd ses feuilles. Cette forme apoplectique semble favorisée par les périodes de sécheresse.



Figure 6 : Symptômes observés sur des vignes atteintes par le BDA. Symptômes foliaires (A). Nécrose du bois en coupe longitudinale (B) et sous l'écorce du tronc (C). Forme apoplectique de la maladie conduisant à la mort du pied (D). Crédit photo : Philippe Larignon et Pascal Lecomte.

N. parvum est l'une des nombreuses espèces fongiques associées aux maladies du bois de la vigne. Comme beaucoup d'entre-eux, il semble que celui-ci pénètre dans la vigne à partir des plaies de taille. Cette espèce présente une grande virulence, provoquant rapidement des nécroses, ce qui en fait un candidat de choix pour l'étude des MDB sur de courtes périodes, de l'ordre de quelques jours (Massonnet et al., 2017). *N. parvum* produit de nombreuses toxines de nature phénolique telles que l'hydroxymelléine (1), l'isosclérone (2) et le tyrosol (3) (Figure 7), probablement à l'origine des symptômes foliaires suite à leur translocation du bois vers les parties aériennes (Andolfi et al., 2011). *N. parvum* sécrèterait également des exopolysaccharides responsables de l'occlusion des vaisseaux conducteurs de sève et provoquant le phénomène d'apoplexie.

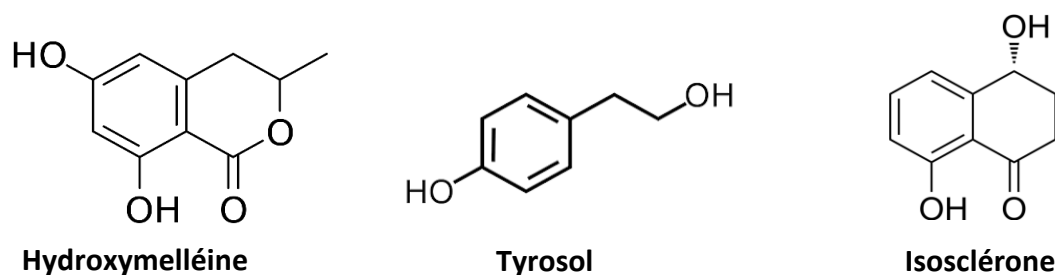


Figure 7 : Structure chimique de différentes toxines produites par *N. parvum*.

3.4. La lutte contre les maladies du bois de la vigne

3.4.1. Traitements curatifs

a. Produits phytosanitaires

Au 20^{ème} siècle, les pieds de vigne atteints par les MDB ont été traités par de l'arsénite de sodium, un produit phytosanitaire utilisé en agriculture dès le 18^{ème} siècle en agriculture pour son rôle insecticide, puis pour son rôle d'herbicide avant d'être adopté en tant que fongicide efficace contre les champignons associés à l'esca et au dépérissement à *Botryosphaeracés* (Larignon & Fontaine, 2018). Toutefois, en raison de sa toxicité pour la santé humaine, son utilisation a été interdite à partir du début du 21^{ème} siècle. Dès lors, des programmes de recherche ont été mis en place afin de comprendre le mécanisme d'action de l'arsénite de sodium sur les champignons, et d'identifier de nouveaux composés antifongiques efficaces, qu'ils soient d'origine naturelle ou synthétique. De nombreuses molécules ont été testées, notamment des triazoles, strobilurines et benzimidazoles qui sont déjà utilisés dans le traitement d'autres maladies (mildiou, oïdium, pourritures etc..) (Mondello et al., 2018). Seul le tiophonate méthyle (benzimidazole) avait montré une activité antifongique satisfaisante sur les MDB, et il avait fait l'objet d'une commercialisation avant son retrait du marché en 2021 en raison de sa toxicité. Des produits de biocontrôle ont également été testés, dont deux se sont révélés efficaces :

- *Trichoderma atroviride*, un champignon qui entrerait en compétition avec les champignons responsables des MDB et empêcherait leur installation (Pollard-Flamand et al., 2022).
- *Bacillus subtilis* qui stimulerait les défenses de la plante et permettrait de détoxifier les composés toxiques sécrétés par *N. parvum* (Trotel-Aziz et al., 2019).

D'autres composés comme les huiles essentielles à pulvériser (Kenfaoui et al., 2023), des extraits alcooliques d'ail, la vanilline ou encore des chitosanes ont également montré des activités antifongiques (Cobos et al., 2015). Toutefois, ces solutions ne montrent pas une efficacité équivalente à l'arsénite de sodium, et leur application à grande échelle est souvent coûteuses.

b. Traitements mécaniques

Les trois principaux traitements curatifs mécaniques sont le **curetage**, le **recépage** et le **regreffage** (Figure 8) (Larignon & Yobégrat, 2016).

Le curetage est une technique très ancienne qui doit être mise en place le plus tôt possible et qui consiste à retirer les tissus dégradés par les champignons pour ne laisser que les tissus sains. Dans 85 % des cas, les pieds de vigne ne présentent plus de symptômes foliaires l'année suivant le curetage, ce taux descendant à 39 % sept ans après l'opération (Lecomte et al., 2022).

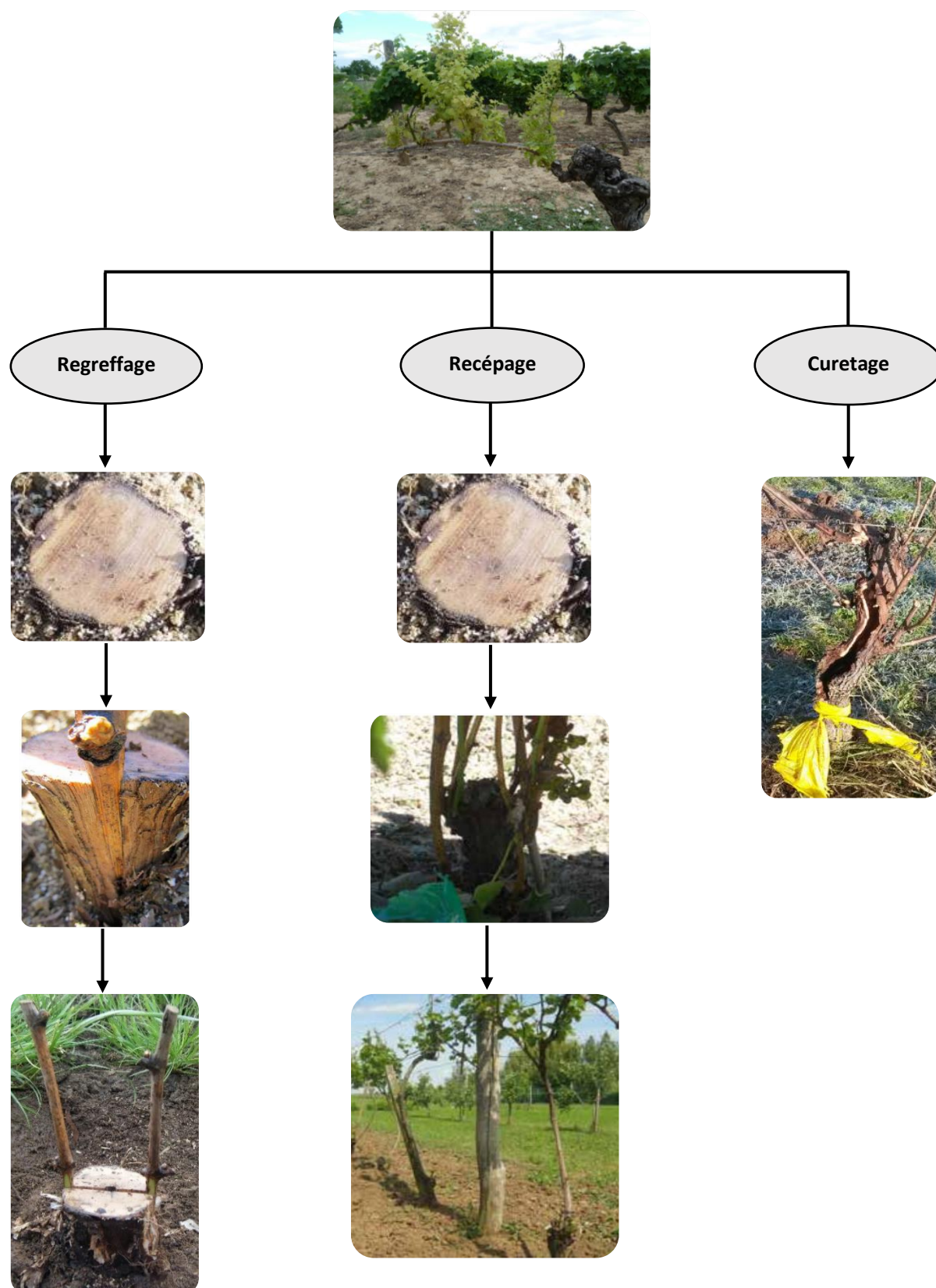


Figure 8 : Traitements curatifs mécaniques utilisés en viticulture pour lutter contre les MDB.

Les techniques de recépage et de greffage sont similaires et ne peuvent être réalisées que si le porte-greffe n'est pas touché. Le greffage consiste à couper la totalité du tronc jusqu'au point de soudure porte-greffe/greffon. Un ou deux greffons sont ensuite insérés dans une fente préalablement taillée dans le porte-greffe (Source : https://www.plan-deperissement-vigne.fr/sites/default/files/2021-10/Regreffage-Francois-Dal-SICAVAC_BDef.pdf). Le taux d'échec de cette technique peut monter jusqu'à 50 %, toutefois, en cas de réussite, le taux de réapparition des symptômes après 3 ans n'est que de 12 % (Dewasme et al., 2023). Pour le recépage, le pied est coupé, puis un pampre, c'est à dire un gourmand qui pousse depuis la souche, est alors sélectionné et tuteuré afin qu'il forme un nouveau tronc (Larignon & Yobrégat., 2016). Ces techniques permettent d'obtenir un pied de vigne productif en seulement 2 ans grâce à la conservation d'un système racinaire déjà mature.

3.4.2. Pratiques culturelles

A défaut de disposer de traitements phytosanitaires efficaces contre les MDB, de nombreuses recommandations ont été émises afin de limiter la propagation de ces maladies dans les vignobles (Tableau 1) (Gramaje et al., 2018 ; Larignon et al., 2009 ; Larignon & Yobrégat, 2016). Ces recommandations concernent principalement l'entretien du vignoble et les procédures réalisées en pépinière. En effet, les porte-greffes et greffons peuvent être porteurs de certains champignons associés à l'esca et au BDA avant même de rejoindre le vignoble. Les étapes d'hydratation et de stratification sont les plus susceptibles de contaminer le bois (Larignon et al., 2006).

Tableau 1 : Pratiques culturales recommandées pour limiter les risques de contamination par les MDB.

<u>En pépinière</u>	<u>Au vignoble</u>
Traiter à l'eau chaude le matériel végétal	Détruire le bois mort
	Eviter la taille en conditions humides
	Tailler plus tardivement
Désinfecter le matériel de greffage	Protéger les plaies de taille
	Réduire le nombre et la surface des plaies de taille
Désinfecter régulièrement les salles de forçage, de stockage et les bains d'hydratation	Désinfecter les outils de taille
	Privilégier la taille Guyot
	Contrôler l'enherbement

3.5. Obtention de variétés de vigne plus tolérantes aux MDB

La création variétale est au cœur de la lutte contre l'oïdium et le mildiou. Des espèces sauvages de vigne telles que *Muscadinia rotundifolia* et *Vitis amurensis* montrent une résistance naturelle à ces maladies. L'identification des régions chromosomiques à l'origine de ces résistances a permis la mise en place de programmes de création variétale comme le programme Resdur conduisant à la commercialisation de nouvelles variétés de vigne ayant une résistance naturelle durable à l'oïdium et au mildiou (Schneider et al., 2019). Ces nouvelles variétés de vigne qui permettent une réduction de 80 à 90 % des traitements fongicides rencontrent un grand succès auprès des viticulteurs. Par exemple, 700 ha de la variété résistante Floreal ont été plantés en France ces cinq dernières années (www.pleinchamp.com/actualite/mildiou-oidium-les-cepages-resistants-gagnent-du-terrain).

Toutefois, dans le cas des MDB, aucun cépage actuellement cultivé ni aucune espèce du genre *Vitis* ne présente de résistance totale à l'une de ces maladies. Les expériences en serres et les rapports de surveillance au vignoble montrent également une forte variabilité de la sensibilité des cépages, avec par exemple le Pinot Noir et le Merlot qui semblent être relativement tolérants, tandis que le Cabernet Sauvignon et le Sauvignon Blanc apparaissent plus sensibles (Figure 9). Le Riesling (Ri) et le Gewurztraminer (Gw) montrent également une légère différence de sensibilité, le Ri étant moins sensible que le Gw. De plus, des expérimentations *in vitro* montrent qu'un cépage comme le Moscatel, tolérant *N. parvum* est en revanche sensible à *D. seriata*, compliquant encore plus la recherche d'un cépage tolérant à toutes les maladies (Langa-Lomba et al., 2023).

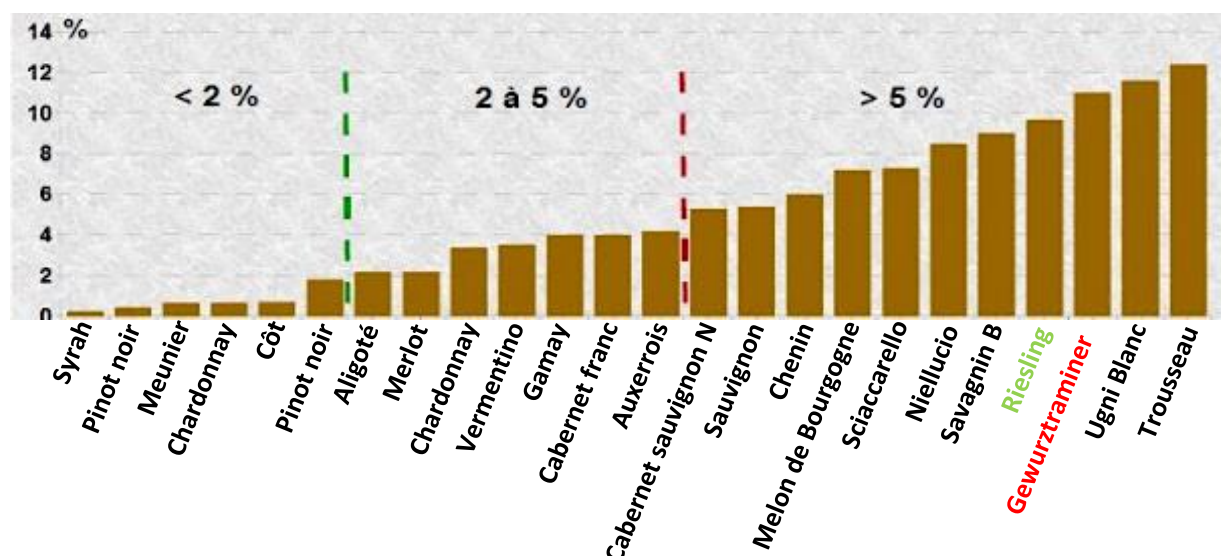


Figure 9 : Prévalence de l'expression des symptômes de l'esca et du BDA entre 2012 et 2015, dans les vignobles français selon les cépages (Source : Compte rendu des journées maladie du bois 2015).

Des études sur des variétés sauvages ont montré que *Vitis vinifera* subsp. *sylvestris*, l'ancêtre sauvage de la vigne cultivée (*Vitis vinifera*), montre une tolérance accrue par rapport aux cépages cultivés (Guan et al., 2016). Des croisements entre variétés sauvages (*Vitis rupestris*, *Vitis labrusca* et *Vitis amurensis*) et *Vitis vinifera* montrent également une tolérance accrue aux MDB (Csótó et al., 2023). Cependant, les bases génétiques expliquant cette variabilité n'ont pas encore été élucidées. A l'heure actuelle un seul locus de caractère quantitatif (QTL) à faible effet lié à la sensibilité à l'esca et nommé *ENS1* a été identifié chez le Gw (Arnold et al., 2023). Ce QTL, localisé sur le chromosome (chr) 1 a été identifié en mesurant l'aire des nécroses présentes sur les ceps d'une population issue du croisement entre les cépages Ri et Gw, ce QTL étant également corrélé avec la vigueur du cep.

Ainsi, en l'absence d'analyse poussée du déterminisme génétique de la tolérance aux MDB, il est pour l'instant difficile d'initier des programmes de création variétale dans l'optique d'obtenir des cépages plus tolérants à ces maladies. Ce constat a motivé la création du projet VitEst, financé par la Région Grand Est, dont l'un des objectifs est l'étude des bases génétiques de la différence de tolérance aux MDB entre les cépages Ri et Gw. Les résultats obtenus dans le cadre de ce projet seront présentés dans la seconde partie de cette thèse.

4. Objectifs de la thèse

Les extractibles du bois de vigne présentent une vaste diversité chimique en composés solubles issus du métabolisme primaire et spécialisé (Goufo et al., 2020). Cependant, le déterminisme de la composition chimique du bois de la vigne est relativement mal connu, un seul article rapportant la mise en évidence des QTLs liés à la composition du bois, sans qu'aucun gène impliqué n'ait été caractérisé (Teh et al, 2019). Une meilleure connaissance du déterminisme de la composition du bois de la vigne semble néanmoins nécessaire, car elle pourrait influencer la sensibilité à certaines maladies comme les MDB de la vigne (Fontaine et al, 2016).

Ainsi, le premier objectif de cette thèse est de mieux comprendre le déterminisme de la composition du bois, en réalisant une analyse génétique de la composition des extractibles au sein d'une population issue d'un croisement entre les cépages Riesling et Gewurztraminer (Ri x Gw), en suivant les étapes suivantes :

- Analyses métabolomiques des extractibles du bois de vigne sain d'une population Ri x Gw.
- Recherche de loci de caractères quantitatifs liés aux teneurs en métabolites (mQTLs), c'est-à-dire de région chromosomiques responsables de la variation quantitative d'un ou de plusieurs métabolites.
- Analyse des mQTLs reproductible pour identifier des gènes candidats responsables du phénotype observé
- Caractérisation fonctionnelle des gènes les plus prometteurs.

Parallèlement, le projet de recherche VitEst, mené conjointement entre l'UMR 1131 Santé de la Vigne et Qualité du Vin de Colmar, l'Université de Haute-Alsace (UHA), l'Université de Reims Champagne-Ardenne (URCA), l'Institut de Biologie Moléculaire des Plantes (IBMP) et l'UMR1136 Interactions Arbres/Microorganismes (IAM) de Nancy, a pour objectif de mieux comprendre l'étiologie des maladies du bois, dans le but de développer des traitements et d'analyser les bases génétiques de la tolérance aux maladies du bois chez la vigne. En effet, des observations dans le vignoble Alsacien ont montré que le Ri est généralement plus tolérant que le Gw (Abidon, 2016). Au sein de ce projet, le second objectif de ma thèse est d'étudier les bases génétiques de la différence de tolérance des cépages Ri et Gw aux MDB, grâce à la stratégie suivante :

- Phénotypage de la population Ri x Gw pour la réponse de nécrose à l'infection par *N. parvum*.

- Analyse du métabolome du bois de la population Ri x Gw infectée par *N. parvum*.
- Recherche de QTL(s) sur la base des données de phénotypage de la nécrose et des analyses métabolomiques du bois malade.

Finalement, les différents résultats QTL seront comparés afin de mettre en évidence une potentielle implication du métabolome dans la plus grande tolérance ou la plus grande sensibilité du Ri et du Gw aux MDB.

Matériels et méthodes

1. Matériel végétal

1.1. Population d'étude Ri x Gw

La population d'étude de 383 individus (Ri x Gw) est issue du croisement direct entre deux cultivars : le Ri clone 49 et le Gw clone 643 (Figure 10). Ce croisement fut initialement développé par l'équipe de génétique et amélioration de la vigne (GAV), afin d'étudier les caractères phénologiques, physicochimiques des baies, ainsi que les caractéristiques aromatiques notablement différentes entre ces deux cépages. Toutefois, dans le cadre d'études sur la tolérance des cépages alsaciens aux maladies du bois, des différences de sensibilité entre ces deux cépages ont été mises en évidence (Figure 9). Chaque génotype a été greffé sur le porte-greffe Couderc 161-49 et trois plants par génotype ont été plantés dans un vignoble expérimental à Bergheim (48°210 N, 7°340 E) en 2006.

1.2. Prélèvement des sarments

Il existe des différences phénologiques entre les deux cépages, le Gw présentant un débourrement plus précoce que le Ri. Ainsi, les sarments ont été prélevés lors de la taille hivernale (entre fin janvier et début février) de chaque année de l'étude, lorsque les pieds de vigne sont en dormance. Les génotypes prélevés ont été sélectionnés au préalable selon l'état sanitaire apparent du pied, ce qui explique les variations du nombre et des génotypes d'une année sur l'autre. Afin d'éviter la dégradation du bois, les sarments ont été stockés dans une chambre froide à 4 °C et à l'abri de la lumière jusqu'à leur échantillonnage (Figure 11).

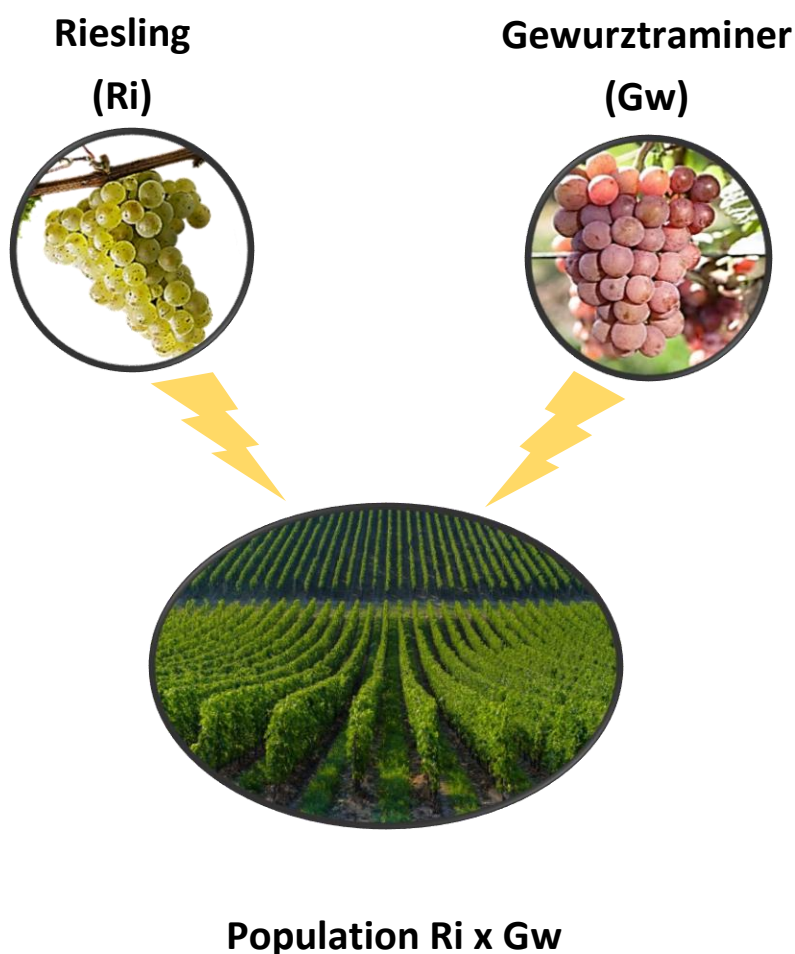


Figure 10 : Population d'étude issue du croisement Ri x Gw et localisée dans le vignoble de Bergheim (Haut-Rhin, Alsace, France).

Une partie des sarments a également été transférée à l'Université de Haute-Alsace (UHA) et l'Université de Reims Champagne-Ardenne (URCA), afin de réaliser des expériences dans le cadre du projet inter-régional VitEst sur l'étude de la population Ri x Gw aux maladies du bois de la vigne.

La parcelle correspondant à la population Ri x Gw a été arrachée en 2022, pour être replantée en 2023. Ceci a permis de prélèvement du bois des ceps, en plus du bois des sarments prélevés les années précédentes. Pour le prélèvement des troncs en avril 2022, ils ont tout d'abord été tronçonnés longitudinalement par un prestataire externe, afin de réaliser des notations de nécrose et de densité du bois. Nous avons ensuite utilisé une perceuse pour réaliser des trous et échantillonner la sciure de bois sur les 3 individus de chaque génotype. Les génotypes présentant des troncs trop fins ou trop fragiles pour subir ce protocole n'ont pas été échantillonnés. Les échantillons ont ensuite été conservés au congélateur à -20 °C.



2020/2021/2022



Taille



Sarments



Entre-nœuds



2022



Coupe longitudinale



Perçage



Sciure

Figure 11 : Illustration du protocole d'échantillonnage des sarments et des troncs de vigne.

2. Phénotypage de la sensibilité de la population à *N. parvum*

2.1. Contexte

Ces expériences ont été réalisées sur 3 années successives (2020, 2021 et 2022), en collaboration avec l'UHA et l'URCA qui se sont occupés du protocole d'inoculation des sarments et de mesures de la nécrose des sarments. En 2020, première année du projet et de la mise en place du protocole, seuls 30 génotypes ont été inoculés, puis 94 en 2021 et enfin 104 génotypes en 2022.

2.2. Inoculation par *N. parvum*

Des spores de la souche Bt-67 du champignon pathogène *Neofusicoccum parvum* ont été mises en culture sur une gélose PDA (potato-dextrose agar), dans le noir à 28 °C. Des entre-nœuds d'au moins

7 mm de diamètre ont été prélevés sur les sarments provenant de la population Ri x Gw. Un trou de 5 mm de diamètre et 3 mm de profondeur a été réalisé au centre de chaque entre-nœud, et un disque de gélose de même diamètre sur lequel a poussé *N. parvum* (infectés) ou stérile (témoins) a été déposé dans ce trou avant d'être recouvert de Parafilm. Les entre-nœuds ont été incubés dans le noir à 28 °C et un taux d'humidité de 100 % pendant 7 jours. Pour chaque génotype, 5 entre-nœuds inoculés et 2 entre-nœuds témoins ont été préparés.

2.3. Mesure de la nécrose

La mesure de l'aire de nécrose a été réalisée sur chaque entre-nœud, même ceux n'ayant été inoculés qu'avec de la gélose saine. Une photo de chaque entre-nœud a été prise en prenant soin d'y mettre un étalon et toutes les photos ont été traitées avec le logiciel ImageJ. Pour chaque génotype l'aire des entre-nœuds inoculés avec le pathogène a été normalisée par la moyenne de l'aire de nécrose de deux témoins inoculés avec la gélose saine. La nécrose est ensuite exprimée en pourcentage de l'aire totale de l'entre-nœud.

3. Traitement des échantillons en vues des analyses métabolomiques

3.1. Broyages

3.1.1. Sarments sains

Pour chaque génotype, plusieurs entre-nœuds ont été découpés puis plongés dans de l'azote liquide avant d'être conservés au congélateur à une température de -20 °C, afin de prévenir toute altération des métabolites et risques de moisissure. À la suite de cela ils sont lyophilisés et stockés au réfrigérateur à 4 °C à l'abri de la lumière, toujours pour prévenir de l'altération du bois. Afin d'obtenir une fine poudre de bois nécessaire à une bonne homogénéisation, les entre-nœuds ont subi un double broyage (Figure 12). Tout d'abord, un broyage grossier a été effectué à l'aide d'un moulin à café standard jusqu'à obtention de fragments de l'ordre de quelques millimètres. Un second broyage plus fin a été réalisé à l'aide d'un broyeur à billes jusqu'à obtenir une fine poudre homogène conservée à 4 °C et toujours à l'abri de la lumière.

3.1.2. Troncs

Tout comme les sarments, les copeaux de bois conservés à -20 °C ont été lyophilisés. Ils ont ensuite été finement broyés en une seule étape à l'aide d'un broyeur à bille jusqu'à obtention d'une fine poudre homogène conservée à 4 °C à l'abri de la lumière.

3.1.3. Entre-nœuds inoculés

Après avoir mesuré l'aire nécrosée de chaque entre-nœud inoculé, nous les avons découpés sur une portion de 1.5 cm de part et d'autre du point d'inoculation, puis plongés dans de l'azote liquide avant d'être conservés au congélateur à une température de -20 °C. Le reste du protocole est alors identique à celui appliqué pour les sarments sains dans la section 3.1.1, durant lequel les entre-nœuds lyophilisés vont subir un double broyage.

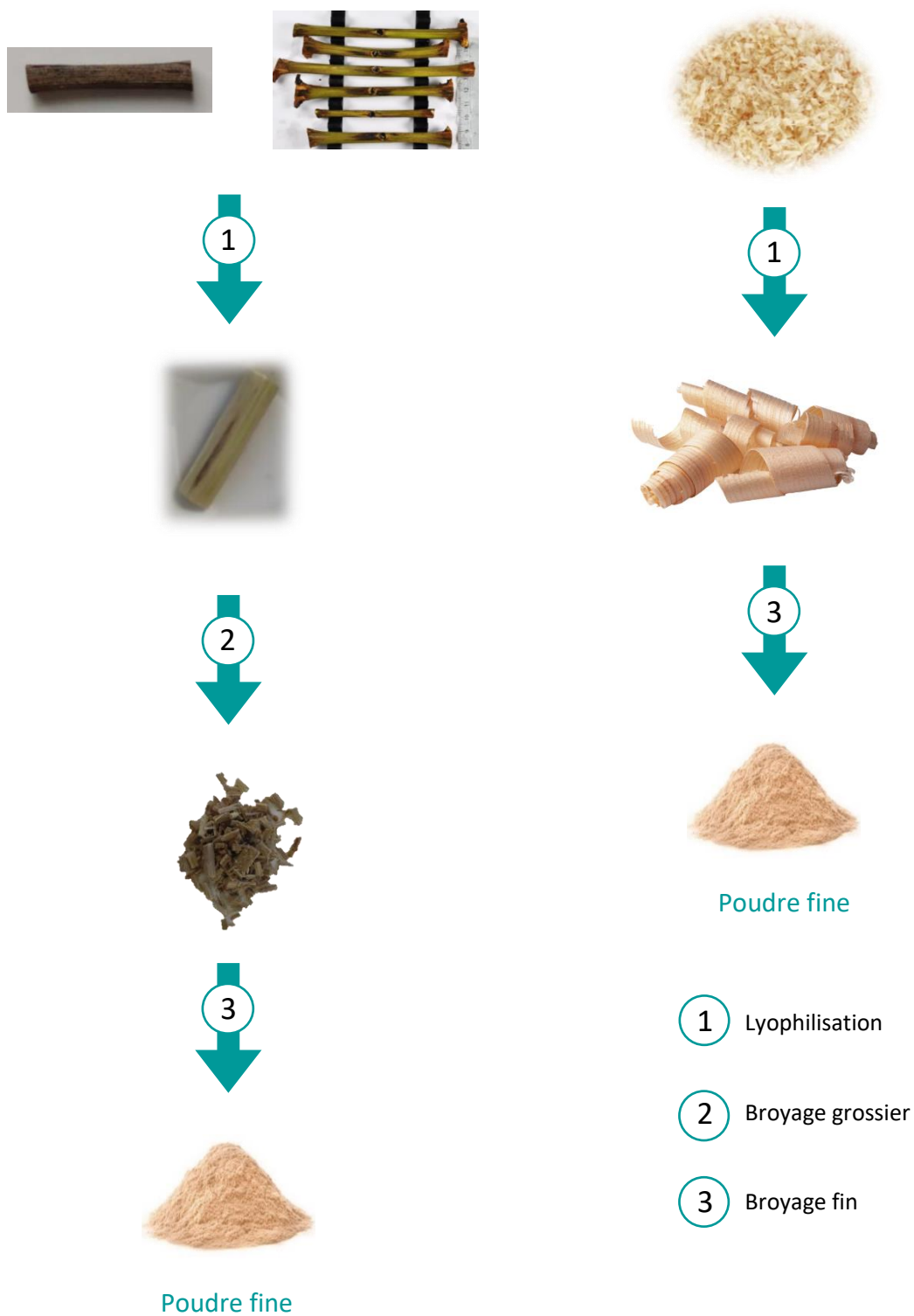


Figure 12 : Protocole de broyage des sarments et de la sciure de bois.

3.2. Extraction des échantillons de poudre de bois pour les analyses en chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse

L'extraction des métabolites secondaires des échantillons à partir de la poudre de sarments et de troncs a été réalisée via une extraction assistée aux micro-ondes, selon un protocole développé au sein du laboratoire (Louis et al., 2024). En effet, la paroi cellulaire épaisse entourant les cellules du bois est un frein à une extraction efficace des composés présents à l'intérieur des cellules. Les micro-ondes vont, en chauffant faiblement le solvant peu polaire, provoquer la rupture des parois cellulaires via l'augmentation de la pression du milieu intra-cellulaire, entraînant ainsi la libération du contenu de ce dernier dans le solvant d'extraction. Pour chaque génotype, 5 mg de poudre de bois ont été pesés dans un Eppendorf de 1.5 mL. L'extraction est ensuite réalisée en 2 étapes. Lors de la première étape, la poudre est mise en suspension avec 200 μ L de méthanol contenant du chloramphénicol (1 mg.L^{-1}) qui sert de standard interne durant les analyses en chromatographie liquide. L'échantillon est ensuite extrait avec l'assistance d'un micro-ondes durant 30 s à 450 W, puis les échantillons sont agités durant 10 min à 300 RPM. Ils sont ensuite centrifugés à 4 °C et 11 000 g durant 10 min, avant de récupérer le surnageant. La deuxième étape d'extraction suit le même protocole que la première, à l'exception prêt que les échantillons ne passent plus aux micro-ondes. Pour chaque échantillon les deux surnageants sont regroupés afin d'avoir un volume final de 400 μ L. Une dernière étape de centrifugation est réalisée (4 °C, 4 min, 11 000 g) afin de faire précipiter les éventuels débris qui auraient été prélevés avec le surnageant. Un QC a également été réalisé provenant d'un mélange de la poudre du bois d'une trentaine de génotypes différents et extrait avec les autres échantillons.

4. Analyses métabolomiques de la population de croisement Ri x Gw

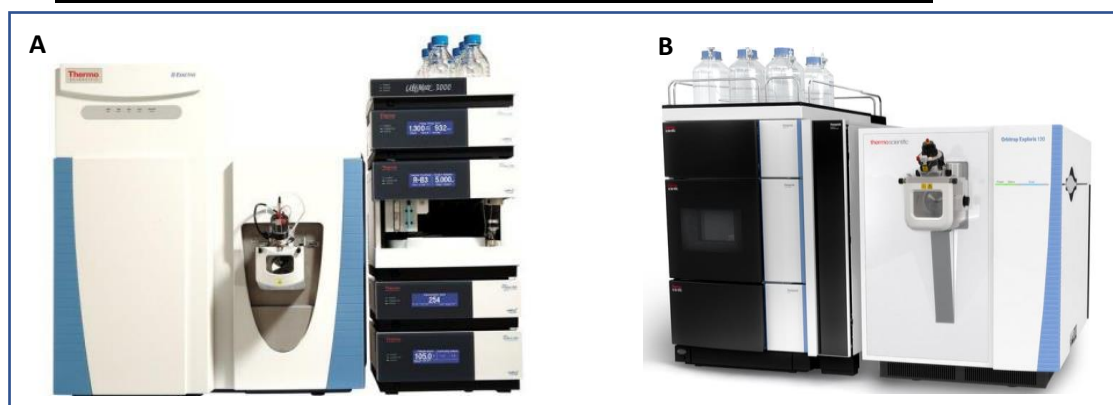


Figure 13 : Chaînes analytiques utilisées au cours de la thèse. (A) : système Dionex Ultimate 3000 couplé au spectromètre de masse Exactive Orbitrap. (B) : système Vanquish couplé au spectromètre de masse Orbitrap Exploris 120.

4.1. Matériel analytique pour l'analyse métabolomiques du bois

4.1.1. Chromatographie liquide

Lors de la première année de thèse, les analyses ont été réalisées sur un système de chromatographie liquide à ultra-haute performance (UHPLC) Dionex Ultimate 3000. Au cours de l'année 2022, ce système a été remplacé par une chromatographie liquide à ultra-haute performance (UHPLC) Vanquish. La colonne utilisée pour les analyses est une colonne Nucleodur C18 PolarTech C18 (Macherey-Nagel, 150 x 2 mm diamètre interne, particules de 1,8 μm de diamètre) maintenue à une température de 30 °C et utilisant les solvants suivants : acétonitrile/acide formique (0,1 %, v/v ; éluant A) et eau/acide formique (0,1 %, v/v ; éluant B), à un débit constant de 0.4 mL.min⁻¹. La méthode d'élution, identique à toutes les analyses réalisées sur du bois est la suivante : 0 – 1 min, 80 % B ; 1 - 4 min, 80 - 70 % B ; 4 - 5 min, 70-50 % B ; 6.5 - 8.5 min, 50 - 1 % B ; 10-11 min, 1 - 80 % B. Le volume d'échantillon injecté est de 1 μL . Du fait des propriétés de la colonne C18, les composés polaires tels que les sucres vont présenter une faible affinité pour la phase stationnaire de la colonne et vont être rapidement élués par la phase mobile riche en eau. Les composés apolaires eux vont être retenus plus longtemps et sortiront d'autant plus tard qu'ils sont apolaires. L'acide formique (0,1 %) ajouté au solvant permet d'ajuster le pH, stabilisant les temps de rétention entre échantillons, mais facilitant également l'ionisation dans le spectromètre de masse. La chromatographie liquide possède également un détecteur UV, dont les longueurs d'ondes de détection sont réglées à 280 et 330 nm, correspondant à l'absorption des composés phénoliques.

4.1.2. Spectrométrie de masse

Le système de chromatographie en phase liquide Dionex Ultimate 3000 est couplé à un spectromètre de masse simple Exactive Orbitrap (Thermo Fisher Scientific), tandis que le système Vanquish est couplé à spectromètre de masses en tandem Orbitrap Exploris 120 (Figure 13). Le spectromètre de masse permet l'identification et la quantification des molécules présentes dans un mélange complexe en ionisant les composés, puis en mesurant leur masse et leur abondance. Les métabolites provenant du chromatographe en phase liquide entrent dans la sonde ESI dans un état de charge équilibrée. Ainsi, lorsque le solvant quitte la sonde ESI, il porte une charge ionique nette. Pour que l'ESI fonctionne en continu, la solution doit être chargée par des réactions électrochimiques au cours desquelles les électrons sont transférés sur une surface conductrice faisant office d'électrode.

Ce processus peut entraîner, entre autres, des variations d'acidité. On suppose qu'en mode positif, les gouttelettes chargées positivement quittent le nébuliseur et que les électrons sont captés par l'électrode (oxydation). Le procédé inverse serait observé en mode négatif. De nombreux facteurs influent sur la réaction, comme la surface de l'électrode électroactive, l'intensité du courant, ainsi que la nature des espèces chimiques et leurs potentiels d'électrode.

La température du nébuliseur a été fixée à 320 °C et les gaz maintenus à 40 et 10 unités arbitraires pour le gaz gaine et le gaz auxiliaire. Après la source, l'on retrouve plusieurs lentilles de focalisation et flatapôles permettant de focaliser le flux d'ions et d'éliminer les composés non-ionisés avant de les transmettre au quadrupôle. Celui-ci permet de filtrer les ions selon la gamme de masse m/z établie, entre 90 et 1200 a.m.u pour nos analyses. Les ions vont ensuite passer dans un C-trap qui va transférer les ions dans la cellule Orbitrap, composée d'une électrode en fuseau entouré de deux électrodes en forme de cloche (Figure 14). Ici, les ions vont entamer un mouvement oscillato-rotatoire autour de l'électrode central. Le mouvement décrit étant dépendant du rapport m/z de l'ion, la cellule va pouvoir analyser ce mouvement et fournir une masse à l'ion. L'avantage principal de cette technologie est la grande précision en masse de l'ordre de la partie par million (ppm) des composés détectés, facilitant leur identification. Dans le spectromètre de masse en tandem, une cellule de collision est ajoutée après la C-trap. Celle-ci permet de sélectionner des ions et de les fragmenter. Les fragments sont ensuite analysés dans la cellule Orbitrap, fournissant un spectre de masse spécifique à chaque molécule, facilitant l'identification de composés. La température du capillaire de transfert d'ions a été fixé à 360 °C avec un voltage de 3500 V. Pour le système Exactive Orbitrap, l'étalonnage en mode positive et négative sont fait à l'aide de solutions de calibration externes fournies par le constructeur. Le système est également étalonné en interne en ESI (+) en utilisant du phtalate de dibutyle comme lockmass ($m/z = 279,1591$), permettant une précision de masse inférieure à 1 ppm. Pour le système Orbitrap Exploris 120, le système est également étalonné à l'aide de solutions de calibrations externes fournies par le constructeur et une calibration interne est réalisée par le système EASY-IC, permettant une précision inférieure à 1 ppm pour les deux modes d'ionisation.

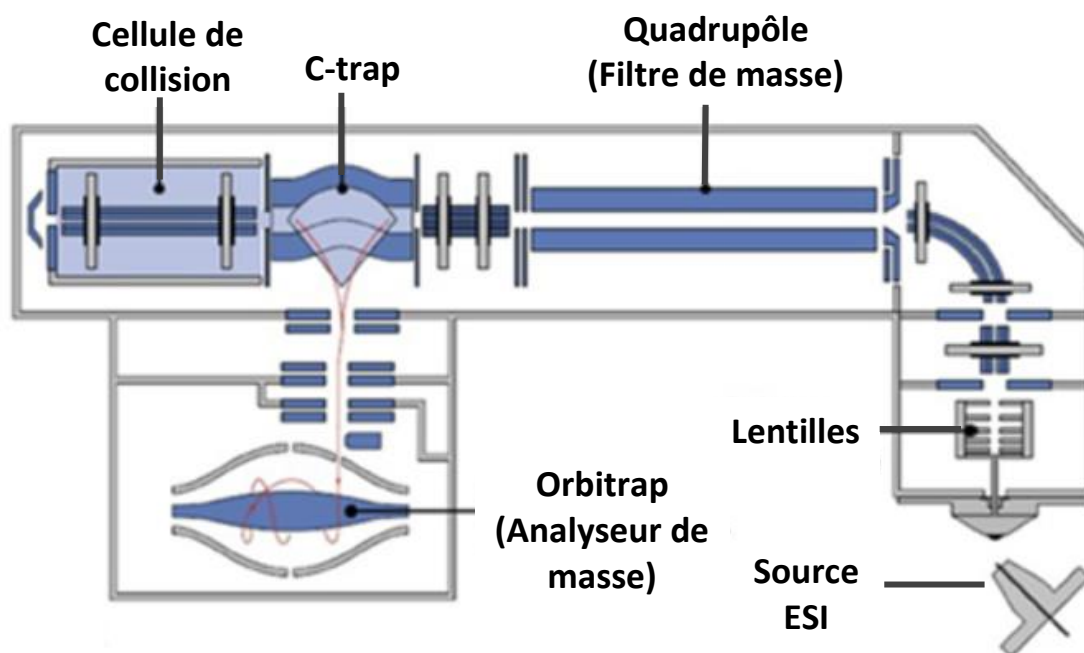


Figure 14 : Schéma détaillé du spectromètre de masse Exactive Orbitrap.

4.2. Traitement des données d'UHPLC-HRMS et UHPLC-HRMS/MS

4.2.1. Traitement des données en approche non-ciblée

Les données brutes issues des analyses en UHPLC-HRMS et UHPLC-HRMS/MS ont été retraitées à l'aide logiciel Compound-Discoverer (Version 3.3.0.550) fourni par le constructeur Thermo Fisher Scientific. De nombreuses combinaisons de paramètres ont été testées afin d'extraire le maximum d'informations de qualité. Les paramètres optimaux pour la détection des composés les paramètres ont été fixés à un rapport signal/bruit (S/N) > 1.5, une intensité du pic > 10 000 et une tolérance de masse de 5 ppm. L'alignement des temps de rétention a été réalisée sur les valeurs d'un échantillon de contrôle qualité (QC). Pour l'annotation de la composition chimique, la tolérance de masse a été fixée à 5 ppm. Un filtrage sur la qualité des pics a également été appliqué. En fin d'analyse, entre 1 500 et 3 100 ions ont été quantifiés selon les années, le type de bois (sarments ou troncs) et le mode d'ionisation.

Pour chaque ion une identité a été donnée sous la forme MxxxTxx où M est le rapport m/z de l'ion et T est son temps de rétention en seconde. En raison du changement d'outil analytique, le temps de rétention d'un même ion varie dans une certaine mesure entre les analyses de 2020/2021 et celles de 2022. Cependant, les comparaisons entre ions peuvent se baser sur la reproductibilité du rapport m/z et grâce à la grande précision de l'orbitrap (<1 ppm).

4.2.2. Traitement des données en approche ciblée

a. Mode d'ionisation

Les analyses en métabolomique ciblée ont été réalisées sur les données obtenues dans les deux modes d'ionisation, ESI (+) et ESI (-), les deux modes sont complémentaires. Ainsi, les acides aminés sont mieux ionisés en mode positif, tandis que le mode d'ionisation négatif convient mieux à l'observation des flavonoïdes et stilbènes, notamment leur forme glycosylée. Dans le cas où un métabolite s'ioniserait dans les deux modes, le mode d'ionisation qui permet la meilleure résolution du pic est sélectionné.

b. Standards

Un certain nombre de standards disponibles au laboratoire ont été utilisés. Leur analyse en UHPLC-HRMSMS, en utilisant les mêmes conditions analytiques que pour les analyses du bois de vigne, a permis de simplifier l'identification de plusieurs dizaines de composés présents dans nos extraits (Tableau 2).

Tableau 2 : Liste des standards analysés en chromatographie liquide.

Nom	Formule chimique	Masse moléculaire (g/mol)	Classe chimique
Acide glutamique	C ₅ H ₉ NO ₄	147.1	Acide aminé
Acide aspartique	C ₄ H ₇ NO ₄	133.1	Acide aminé
Arginine	C ₆ H ₁₄ N ₄ O ₂	174.2	Acide aminé
Asparagine	C ₄ H ₈ N ₂ O ₃	132.12	Acide aminé
Cystéine	C ₃ H ₇ NO ₂ S	121.16	Acide aminé
Glutamine	C ₅ H ₁₀ N ₂ O ₃	146.1	Acide aminé
Histidine	C ₆ H ₉ N ₃ O ₂	155.15	Acide aminé
Hydroxyproline	C ₅ H ₉ NO ₃	131.13	Acide aminé
Isoleucine/Leucine	C ₆ H ₁₃ NO ₂	131.17	Acide aminé
Lysine	C ₆ H ₁₄ N ₂ O ₂	146.2	Acide aminé
Méthionine	C ₅ H ₁₁ NO ₂ S	149.2	Acide aminé
Phénylalanine	C ₉ H ₁₁ NO ₂	165.2	Acide aminé
Proline	C ₅ H ₉ NO ₂	115.13	Acide aminé
Thréonine	C ₄ H ₉ NO ₃	119.12	Acide aminé
Tryptophane	C ₁₁ H ₁₂ N ₂ O ₂	204.23	Acide aminé
Tyrosine	C ₉ H ₁₁ NO ₃	181.19	Acide aminé
Sérine	C ₃ H ₇ NO ₃	105.1	Acide aminé
Valine	C ₅ H ₁₁ NO ₂	117,15	Acide aminé
Acide anthranilique	C ₇ H ₇ NO ₂	137.14	Acide aminé
Acide caféique	C ₉ H ₈ O ₄	180.16	Acide hydroxycinnamique
Acide cinnamique	C ₉ H ₈ O ₂	148.16	Acide hydroxycinnamique
Acide chlorogénique	C ₁₆ H ₁₈ O ₉	354.3	Acide hydroxycinnamique
Acide fertarique	C ₁₄ H ₁₄ O ₉	326.26	Acide hydroxycinnamique

Alcool sinapylique	C ₁₁ H ₁₄ O ₄	210.22	Acide hydroxycinnamique
Acide benzoïque	C ₇ H ₆ O ₂	122.12	Acide organique
Acide citramalique	C ₅ H ₈ O ₅	148.11	Acide organique
Acide coumarique	C ₉ H ₈ O ₃	164.05	Acide organique
Acide dihydroxybenzoïque	C ₇ H ₆ O ₄	154.12	Acide organique
Acide ellagique	C ₁₄ H ₆ O ₈	302.2	Acide organique
Acide galacturonique	C ₆ H ₁₀ O ₇	194.14	Acide organique
Acide gallique	C ₇ H ₆ O ₅	170.12	Acide organique
Acide gluconique	C ₆ H ₁₂ O ₇	196.16	Acide organique
Acide protocatéchique	C ₇ H ₆ O ₄	154.12	Acide organique
Acide quinique	C ₇ H ₁₂ O ₆	192.17	Acide organique
Acide succinique	C ₄ H ₆ O ₄	118.1	Acide organique
Acide tartarique	C ₄ H ₆ O ₆	150.08	Acide organique
Propyl-gallate	C ₁₀ H ₁₂ O ₅	212.2	Acide organique
Vanilline	C ₈ H ₈ O ₃	152.15	Acide organique
Apigénine glucoside	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₀	432.38	Flavonoïde
Diosmétine	C ₁₆ H ₁₂ O ₆	300.26	Flavonoïde
Epicatéchine	C ₁₅ H ₁₄ O ₆	290.26	Flavonoïde
Epicatéchine gallate	C ₂₂ H ₁₈ O ₁₀	442.37	Flavonoïde
Epigallocatechine gallate	C ₂₂ H ₁₈ O ₁₁	458.37	Flavonoïde
Gallocatechine	C ₁₅ H ₁₄ O ₇	306.27	Flavonoïde
Isorhamnétine	C ₁₆ H ₁₂ O ₇	316.26	Flavonoïde
Isorhamnétine rutinoside	C ₂₈ H ₃₂ O ₁₆	624.54	Flavonoïde
Kaempférol	C ₁₅ H ₁₀ O ₆	286.24	Flavonoïde
Kaempférol-glucoside	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₁	448.38	Flavonoïde
Kaempférol rutinoside	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₅	594.52	Flavonoïde
Lutéoline	C ₁₅ H ₁₀ O ₆	286.24	Flavonoïde
Myricétine	C ₁₅ H ₁₀ O ₈	318.23	Flavonoïde
Myricitrine	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₂	464.37	Flavonoïde
Naringénine	C ₁₅ H ₁₂ O ₅	272.26	Flavonoïde
Orientine	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₁	448.37	Flavonoïde
Procyanidine C	C ₄₅ H ₃₈ O ₁₈	866.77	Flavonoïde
Quercétine	C ₁₅ H ₁₀ O ₇	302.24	Flavonoïde
Quercétine glucoside	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₂	464.38	Flavonoïde
Quercétine glucuronide	C ₂₁ H ₁₈ O ₁₃	478.36	Flavonoïde
Quercétine rhamnoside	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₁	448.38	Flavonoïde
Quercétine rutinoside	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₆	610.52	Flavonoïde
Trihydroxyflavone	C ₁₅ H ₁₀ O ₅	270.24	Flavonoïde
Acide salicylique	C ₇ H ₆ O ₃	132.12	Phytohormone
Méthyl jasmonate	C ₁₃ H ₂₀ O ₃	224.3	Phytohormone
ε-Viniférine	C ₂₈ H ₂₂ O ₆	454.48	Stilbène
Ptérostilbene	C ₁₆ H ₁₆ O ₃	256.29	Stilbène
trans-Picéide	C ₂₀ H ₂₂ O ₈	390.39	Stilbène
trans-Resvératrol	C ₁₄ H ₁₂ O ₃	228.25	Stilbène
Citronellol	C ₁₀ H ₂₀ O	156.27	Terpène
Géraniol	C ₁₀ H ₁₈ O	154.25	Terpène
Nérol	C ₁₀ H ₁₈ O	154.25	Terpène

c. Classes de métabolites recherchés

Les métabolites recherchés dans les analyses ciblées sont basés sur une liste très complète des différentes classes chimiques qui composent le bois (Goufo et al., 2020). De par leur implication potentielle dans la défense de la vigne, une attention toute particulière a été portée sur les stilbènes.

5. Analyses génétiques sur la population Ri x Gw

5.1. Cartes génétiques SNPs

5.1.1. Principe général

Sur les 383 individus composant la population Ri x Gw, 252 ont été génotypés. Les marqueurs de type « single nucleotide polymorphism » (SNP), qui sont des variations nucléotidiques ponctuelles par rapport à un génome de référence (PN40024). Ces SNP ont été détectés par la technique du *génotypage par séquençage* ou « *genotyping by sequencing* » (GBS), *après séquençage de l'ADN par Illumina HiSeq 2000*. Sur la base de ces marqueurs SNP, 4 cartes génétiques ont pu être construites à l'aide du logiciel LepMap3 : 2 cartes parentales (Ri et Gw) et 2 cartes consensus ou cartes moyennes. Contrairement aux cartes utilisant des marqueurs génétiques de type microsatellites (SSR), les cartes SNPs ont une densité de marqueurs très importante, permettant de définir des intervalles de confiance plus étroits pour les QTL. Toutefois, la détermination de l'haplotype responsable du phénotype d'intérêt est plus complexe.

5.1.2. Carte génétique du Ri

La carte parentale correspondant au parent femelle, le Ri, est composée de 9 449 marqueurs SNP couvrant une distance de 1239.7 cM répartis sur 19 chromosomes (Figure 15, Tableau 3). En moyenne, l'espacement entre deux marqueurs est de 0.1 cM, et la distance maximale entre deux marqueurs est comprise entre 2.4 et 12.6 cM selon le chr.

Tableau 3 : Informations générales sur la carte génétique du Ri.

Chr	Nombres marqueurs SNP	Taille (cM)	Distance moyenne entre marqueurs (cM)	Distance maximale entre marqueurs (cM)
Chr 1	595	76.6	0.1	3.6
Chr 2	413	56.8	0.1	6.8
Chr 3	274	71.9	0.3	7.2
Chr 4	608	67.5	0.1	5.6
Chr 5	592	72.9	0.1	12.1
Chr 6	606	58.7	0.1	2.4
Chr 7	678	90.1	0.1	5.6
Chr 8	635	69.1	0.1	4.0
Chr 9	409	64.3	0.2	4.4
Chr 10	395	35.3	0.1	3.6
Chr 11	552	66.3	0.1	3.6
Chr 12	406	50.4	0.1	3.6
Chr 13	454	72.5	0.2	12.6
Chr 14	843	79.4	0.1	3.6
Chr 15	355	57.2	0.2	2.8
Chr 16	361	52.8	0.1	4.4
Chr 17	365	62.8	0.2	7.6
Chr 18	629	91.0	0.1	6.4
Chr 19	279	44.1	0.2	2.8
Total	9449	1239.7	0.1	12.6

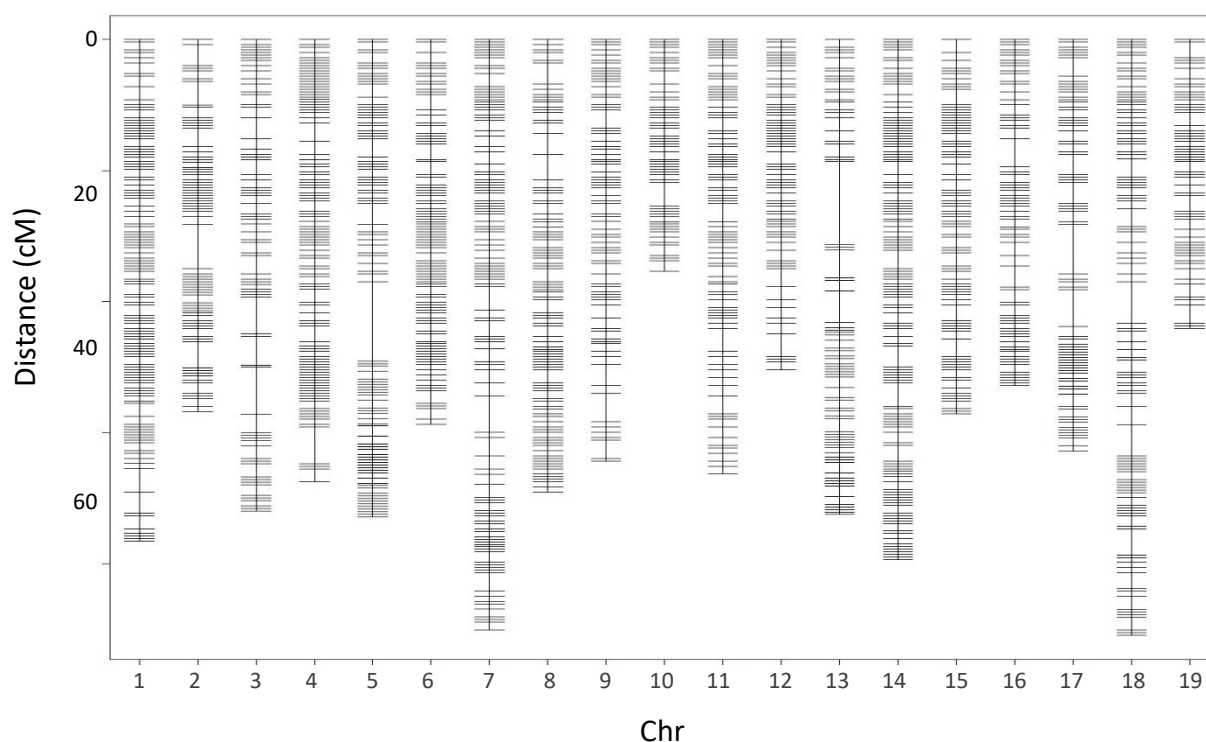


Figure 15 : Localisation des marqueurs SNP sur la carte génétique du Ri.

5.1.3. Carte génétique du Gw

La deuxième carte parentale correspondant au parent mâle, le Gw, est composée de 9 425 marqueurs SNP et couvre une distance totale de 1175.1 cM sur 19 chromosomes (Figure 16, Tableau 4). En moyenne, l'espacement entre deux marqueurs est de 0.1 cM, et la distance maximale entre deux marqueurs est comprise entre 2.0 et 12.6 cM.

Tableau 4 : Informations générales sur la carte génétique du Gw.

Chr	Nombres marqueurs SNP	Taille (cM)	Distance moyenne entre marqueurs (cM)	Distance maximale entre marqueurs (cM)
Chr 1	690	74.2	0.1	3.6
Chr 2	261	33.0	0.1	5.6
Chr 3	430	54.4	0.1	3.2
Chr 4	653	72.3	0.1	5.6
Chr 5	363	86.2	0.2	8.0
Chr 6	569	63.5	0.1	2.0
Chr 7	725	91.3	0.1	6.4
Chr 8	618	63.1	0.1	3.2
Chr 9	383	54.0	0.1	7.2
Chr 10	537	55.2	0.1	2.8
Chr 11	335	58.4	0.2	7.6
Chr 12	537	53.2	0.1	2.8
Chr 13	366	60.4	0.2	6.8
Chr 14	653	63.1	0.1	3.2
Chr 15	374	51.2	0.1	2.8
Chr 16	498	54.0	0.1	4.8
Chr 17	329	50.3	0.2	12.6
Chr 18	724	90.1	0.1	4.4
Chr 19	380	47.2	0.1	2.0
Total	9425	1175.1	0.1	12.6

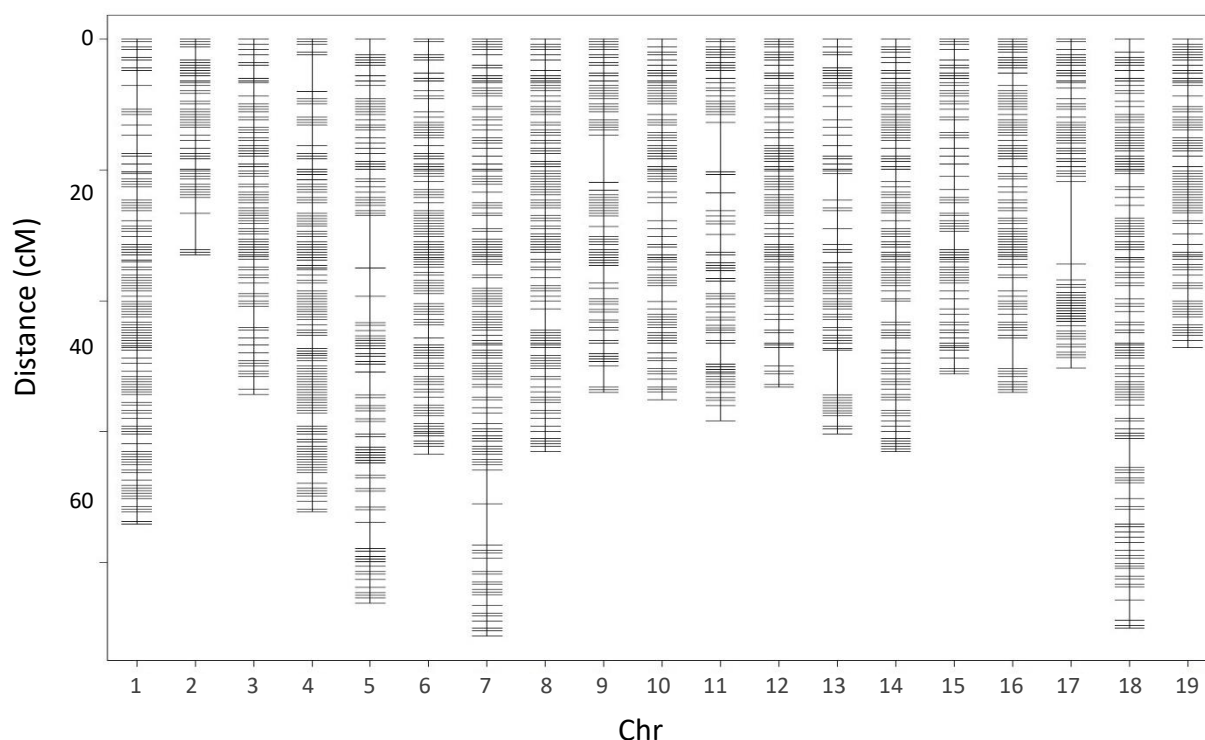


Figure 16 : Localisation des marqueurs SNP sur la carte génétique du Gw.

5.1.4. Cartes génétiques consensus

Deux cartes génétiques consensus différentes ont été réalisées, en fusionnant les données des cartes parentales, augmentant le nombre de marqueurs SNP et donc la précision des intervalles de QTLs. Ces deux cartes diffèrent par leur façon de coder les marqueurs SNP, avec un format « AA, AB, BB » et un format « 1, 2, 3, 4 », où 1 correspond au codage AA, 2 au codage AB, 3 au codage BA et 4 au codage BB. Ces deux cartes, composés de 14 428 marqueurs couvrent 1234.6 cM sur 19 chromosomes (Figure 17). La distance moyenne entre marqueurs est de 0.1 cM et la distance maximale observés entre 2 marqueurs est de 10.3 cM (Tableau 5).

Tableau 5 : Informations générales sur les cartes génétiques consensus.

Chr	Nombres marqueurs SNP	Taille (cM)	Distance moyenne entre marqueurs (cM)	Distance maximale entre marqueurs (cM)
Chr 1	1020	73.0	0.1	1.8
Chr 2	532	44.1	0.1	6.2
Chr 3	499	63.0	0.1	6.4
Chr 4	1018	70.2	0.1	3.0
Chr 5	772	77.8	0.1	6.0
Chr 6	824	60.7	0.1	1.6
Chr 7	1047	89.1	0.1	6.0
Chr 8	971	65.1	0.1	2.2
Chr 9	481	57.4	0.1	4.0

Chr 10	841	68.0	0.1	13.6
Chr 11	716	60.1	0.1	3.8
Chr 12	786	57.4	0.1	7.0
Chr 13	581	82.1	0.1	10.3
Chr 14	1097	69.4	0.1	2.2
Chr 15	621	53.6	0.1	1.6
Chr 16	600	52.8	0.1	3.4
Chr 17	555	54.9	0.1	8.2
Chr 18	906	86.3	0.1	3.0
Chr 19	561	49.6	0.1	2.4
Total	14428	1234.6	0.1	13.6

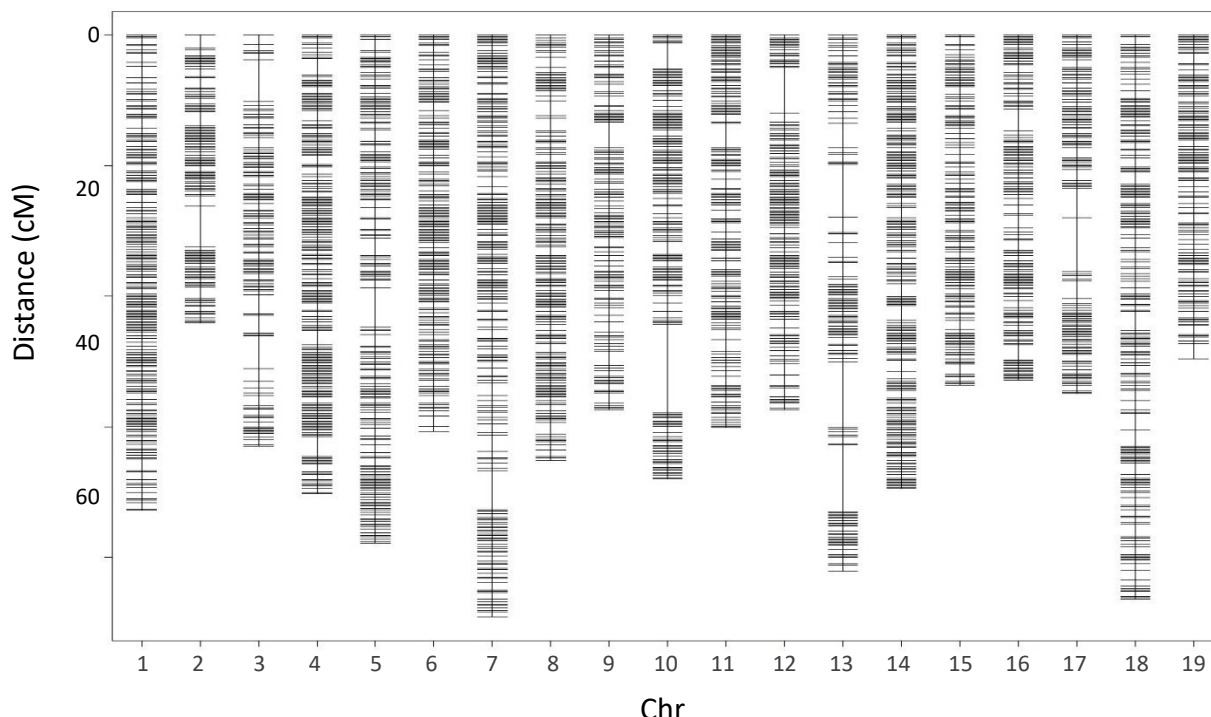


Figure 17 : Localisation des marqueurs SNP sur la carte génétique consensus Avrg1234.

5.2. Recherche de métabolite Quantitative Trait Loci (mQTLs)

La détection des mQTLs a été effectuée avec le package R/qlt du logiciel R sur la base des données de métabolomique ciblée et non-ciblée obtenues sur le bois de sarments et troncs en 2020, 2021 et 2022.

Les modèles de QTL ont été construits pas à pas après l'affinage de la position des QTL (refineqtl), la recherche de QTL supplémentaires (addqtl) et la recherche d'interactions entre QTL (addint). Le score LOD et le pourcentage de variance expliqué par un QTL dans un modèle QTL ont été évalués par analyse de variance en utilisant des sommes de carrés de type III (fitqtl). Les intervalles de confiance des QTL ont été calculés en intervalles de confiance bayésiens (bayesesint) avec une probabilité de 95 %. Comme la position des marqueurs SNP est incluse dans les noms des marqueurs, l'option « expand to marker = true » permettait un accès direct aux positions physiques des intervalles

de confiance dans l'ensemble du génome de référence PN40024 (v4.2). La probabilité (p_{value}) que cette valeur soit due au hasard a été déterminée en réalisant 1000 permutations aléatoires du jeu de données, et est représentée par le score LOD.

6. Clonage et validation fonctionnelle des gènes candidats

6.1. Identification de gènes candidats liés aux mQTLs.

6.1.1. Outils à disposition

L'identification des gènes candidats se fait à l'aide de 3 outils principaux : Jbrowse, Jbrowse 2 et GREAT. Les 2 premiers outils sont des navigateurs de génomes, tandis que GREAT permet de visualiser le profil d'expression des gènes.

a. Explorateur du génome de référence : Jbrowse

Ce logiciel est un explorateur de génome, permettant de naviguer dans le génome de référence le plus récent, PN40024 (v4_2), chromosome par chromosome, afin de visualiser les gènes et d'obtenir des informations sur leur fonction potentielle. Initialement décrit comme issu de 9 autofécondations successives du Pinot Noir (Jaillon et al., 2007), PN40024 aurait en réalité pour parent l'Helfensteiner, un cépage lui-même issu du croisement entre du Pinot Noir précoce et du Schiava grossa (Velt et al., 2023). Ces autofécondations ont conduit le génome de PN40024 à être fortement homozygote (~ 93 %). Le génome de PN40024 (v4.2) fait 463 Mb, répartis sur 19 chromosomes, et comprend 35 230 gènes codant pour des protéines. Sur l'ensemble de ces gènes, 98,7 % semblent être complets et au moins une annotation automatique a pu être fournie pour 87 % d'entre eux. Grâce à des efforts de curation manuelle, le pourcentage de gènes complets a pu être porté à 99,2 %.

b. Explorateur du génome Ri/Gw : Jbrowse 2

Ce logiciel, interne à l'INRAE de Colmar, permet d'explorer le génome du Ri et du Gw, les parents de notre population d'étude. Les génomes de ces deux cépages ont été séquencés grâce à la technologie Pacific Biosciences (PacBio) et assemblés au sein du laboratoire. Cet outil nous permet notamment d'obtenir des informations sur le statut allélique des gènes, et d'extraire les différents allèles d'un gène. Il reste néanmoins un certain nombre de régions du génome de ces deux cépages

qui n'ont pas été ou qui sont mal annotées, notamment dans le cas de cluster de gènes. Une deuxième version du Jbrowse2, basée sur des données de séquences PacBio High Fidelity (HiFi), sera prochainement disponible et devrait améliorer la qualité d'assemblage grâce à l'obtention de « reads » plus longs avec un niveau de précision élevé.

c. Expression génique : GREAT

Les données brutes publiques de RNAseq ont été analysées à l'aide de l'outil GREAT (GRapeExpression ATlas ; <https://great.colmar.inrae.fr/>) pour les analyses transcriptomiques comparatives et les heatmaps ont été générées sur Rstudio, à l'aide de la fonction ggplot2. Ainsi, il est possible d'observer et d'extraire le profil d'expression d'une liste précise de gènes ou bien de gènes contenus dans un intervalle chromosomique simultanément sur un grand nombre de cépages différents et dans des conditions variées. Les baies et les feuilles constituent la plus grande part des données, néanmoins des données sur les organes lignifiés comme les tiges, les sarments ou bien les racines sont également disponibles.

6.1.2. Choix des gènes

Le choix des gènes candidats est l'étape la plus importante, car elle conditionnera le travail de plusieurs mois, un mauvais choix entraînant une perte de temps certaine. Dans un premier temps, nous avons obtenu les séquences nucléotidiques aux bornes des QTLs d'intérêt sur le génome PN40024 (v4.2) sur le Jbrowse, afin d'aligner ces séquences sur le génome du Ri et du Gw grâce à un « nblast » et donc d'avoir l'intervalle du QTL sur le génome de chacun des parents. Nous avons ensuite exploré le génome des parents sur le Jbrowse2, et dressé la liste des gènes avec leur fonction et leur statut allélique. Grâce au logiciel GREAT, il est alors possible d'étudier le profil d'expression des gènes, candidats dans les cépages, les tissus et selon les conditions souhaitées. Sur la base des informations obtenues précédemment, nous avons effectué un tri pour ne conserver que les gènes répondant aux critères suivants :

- Gènes exprimés dans les tissus/cépages d'intérêt,
- Fonction du gène cohérente avec le/les métabolites liés au mQTL,
- Gène hétérozygote chez le parent où le QTL a été identifié, dont au moins 1 allèle diffère entre le Ri et le Gw.

6.2. Clonage et caractérisation fonctionnelle.

6.2.1. Synthèse des gènes d'intérêt

Les gènes d'intérêt ont été synthétisés et directement clonés dans le vecteur d'expression pET22b par la société GENEWIZ (Azenta Life Sciences), selon les conseils de Fabrice Neiers et Mathieu Schwartz (CSGA, Dijon, France).

6.2.2. Expression et validation fonctionnelles *in vitro* des UGTs

Des bactéries *E. coli* (souche ArcticExpress DE3) compétentes sont transformées avec les plasmides contenant les gènes d'intérêt par choc thermique, puis déposées sur un LB contenant les antibiotiques adéquats pour sélectionner les bactéries ayant incorporé le plasmide. Enfin, les bactéries sont mises à pousser à 37 °C pendant une nuit. Pour chaque construction, une colonie est repiquée sur un nouveau milieu gélosé et mise à pousser toute la nuit. 2 mL de milieu LB liquide contenant de l'ampicilline et de la gentamycine (1 mM) sontensemencés, puis incubés une nuit à 37 °C sous agitation (180 RPM). 500 µL de cette culture serviront à ensemencer 25 mL de milieu LB contenant les antibiotiques et du glycérol à 1 %, puis la culture est mise en place à 37 °C jusqu'à l'obtention d'une densité optique (DO) à 600 nm comprise entre 0,4 et 0,6. Une fois cette valeur atteinte, la synthèse de protéines recombinantes est induite par l'ajout de 0,5 mM d'IPTG (Isopropyl-1-thio-β-D-galactopyranoside), après quoi la culture est placée à 37 °C sous agitation pendant 4 heures. La culture est ensuite centrifugée et les bactéries sont mises au congélateur à -20 °C jusqu'à utilisation.

Pour l'extraction des protéines, les culots ont été décongelés sur glace avec 2 mL de tampon (50 mM d'HEPES, 1 mM MgCl₂, 1 mM β-mercaptoéthanol, 1 µg.µL⁻¹ de sérum d'albumine bovine, pH = 7) et remis en suspension. Les cellules sont lysées jusqu'à ce que le surnageant devienne clair, puis les protéines contenues dans l'extrait brut sont séparées des débris cellulaires par centrifugation (10 min, 13 000 g).

L'affinité des UGTs pour plusieurs composés phénoliques (kaempférol, quercétine, *trans*-resvératrol) ainsi qu'un terpène (nérol) a été mesurée. Le contenu des milieux réactionnels est présenté dans le tableau 6.

Tableau 6 : Composition du milieu réactionnel des tests enzymatiques des UGTs.

Extrait brut	Substrat	UDP-glucose (200 μ M)	Tampon
50 μ L	Variable	0.5 μ L	QSP 100 μ L

En parallèle, des témoins négatifs sont réalisés avec des extraits de bactéries transformées avec le plasmide mais non-induites + substrat + UDP-glucose, ainsi que sans extrait brut afin de s'assurer que ni le milieu réactionnel, ni les protéines constitutives de la bactérie ne soit responsable de la glycosylation.

Les incubations ont été réalisées à 30 °C, pendant 30 min, sous agitation constante à 1000 RPM, et les réactions ont été arrêtées en ajoutant 100 μ L de méthanol additionné à 1 mg.L⁻¹ de chloramphénicol et en chauffant le milieu réactionnel à 90 °C pendant 5 min. Le milieu réactionnel est ensuite centrifugé pour précipiter les protéines, le surnageant a été conservé pour les analyses en chromatographie liquide.

Les constantes de Michaelis (K_m) ont été déterminées à l'aide de la représentation de Lineweaver-Burk sur le logiciel Igor Pro 7. Les concentrations d'enzymes nécessaires à la détermination des constantes catalytiques (K_{cat}) ont été déduites de l'intensité de la bande de protéines solubles sur les gels de SDS-PAGE, en utilisant des solutions de concentrations croissantes de BSA comme gamme étalon.

Chapitre 1 : Étude du déterminisme génétique de la composition des extractibles du bois de vigne dans la population Ri x Gw

1. Introduction

Le premier objectif de cette thèse est de mieux comprendre le déterminisme de la composition du bois de vigne, en réalisant une analyse génétique de la composition des extractibles au sein d'une population issue d'un croisement entre les cépages Ri et Gw (Ri x Gw). Ces travaux sont réalisés dans le cadre d'une collaboration étroite entre les équipes de Génomique et Métabolisme de la Vigne (GMV) et Génétique et Amélioration de la Vigne (GAV) de l'unité SVQV.

Nous avons ainsi réalisé des analyses en métabolomique non-ciblée par UHPLC-HRMS-MS sur les sarments de la population Ri x Gw prélevés en hiver. Ces analyses ont été réalisées durant trois années successives de 2020 à 2022, et ont été complétées par l'analyse de bois issu des troncs en 2022. Les données métabolomiques ont été utilisées pour recherche des mQTLs, c'est-à-dire des régions chromosomiques expliquant les différences d'accumulation de certains métabolites au sein de la population Ri x Gw. La sélection des mQTLs les plus intéressants nous a amené à nous focaliser sur deux régions. La première région est impliquée dans la biosynthèse du picéide, un stilbène issu de la glycosylation du resvératrol, et dont la fonction putative serait associée au stockage et au transport du resvératrol dans la plante. Grâce à une approche de génomique fonctionnelle, nous avons identifié et caractérisé un gène clé gouvernant la biosynthèse du picéide dans le bois de vigne. Ces travaux sont détaillés dans le manuscrit d'un article scientifique présenté dans les pages qui suivent. Pour ce travail, j'ai réalisé les analyses métabolomiques, les analyses génétiques, les analyses génomiques pour la recherche de gènes candidats, ainsi que l'expression hétérologue et la caractérisation fonctionnelle des protéines recombinantes, après avoir été formé par les chercheurs et ingénieurs spécialistes de ces différentes approches dans les équipes GMV et GAV. La modélisation et l'analyse des structures protéiques ont été réalisées par Stéphane Réty (ENS Lyon). Enfin, des analyses évolutives actuellement en cours sont réalisées par Catarina Araújo Branco et Raquel Tavares de l'Université de Porto (Portugal).

La seconde région d'intérêt est impliquée dans la biosynthèse d'oligomères de stilbènes, très abondants dans la vigne. Les travaux concernant cette région sont présentés dans une seconde partie de ce chapitre, ils sont cependant à un stade moins avancé, notamment concernant la validation fonctionnelle.

2. Article 2: Genetic analysis of grapevine (*Vitis vinifera* L.) wood composition identifies UDP-glycosyltransferases involved in the biosynthesis of stilbene glycosides

Genetic analysis of grapevine (*Vitis vinifera* L.) wood composition identifies UDP-glycosyltransferases involved in the biosynthesis of stilbene glycosides

Chepca H¹, Réty S², Araújo Branco CI³, Chich JF¹, Riveill G¹, Arnold G¹, Butterlin G¹, Dumas V¹, Lahaye M¹, Velt A¹, Duchêne E¹, Avia K¹, Tavares R^{3,4}, Rustenholz C¹, Maïa-Grondard A^{1#} and Hugueney P^{1#}

¹ Santé de la Vigne et Qualité du Vin (SVQV), INRAE, Université de Strasbourg, Colmar, France.

² Laboratoire de Biologie et Modélisation de la Cellule, École Normale Supérieure de Lyon, CNRS, UMR 5239, INSERM U1293, Université Claude Bernard Lyon 1, Lyon, France.

³ CIBIO, Centro de Investigação em Biodiversidade e Recursos Genéticos, InBIO, Laboratório Associado, Campus de Vairão, Universidade do Porto, 4485-661 Vairão, Portugal.

⁴ Laboratoire Biométrie et Biologie Evolutive (LBBE), CNRS / Univ. Lyon 1, Campus de la Doua, Villeurbanne, France.

Corresponding authors

ABSTRACT

Although wood extractives may play important roles in defense against pathogens, few studies have explored the genetic determinism of their accumulation. In this work, we have used a non-targeted metabolomic approach to perform a genetic analysis of grapevine (*Vitis vinifera*) wood extractive composition in a progeny from a cross between Riesling and Gewurztraminer. Metabolic quantitative traits loci (mQTL) analyses of cane and trunk wood extractives revealed 37 stable mQTLs. Analysis of one of these mQTL led to the identification of a UDP glycosyltransferase (UGT) gene cluster linked to the accumulation of resveratrol-glucoside (piceid) in both canes and trunks. Detailed biochemical and structural characterization of the proteins corresponding to the six UGT genes of this cluster highlighted one UGT gene as a key determinant of the constitutive accumulation of piceid in lignified grapevine tissues.

INTRODUCTION

Wood is a complex chemical assembly of the sugar polymers cellulose and hemicellulose with the phenolic polymers lignin (Tarasov et al., 2018). This dense network also contains non-structural components named extractives, that include compounds such as terpenoids, phenolic compounds and alkaloids, which are often constitutively produced as defense against biotic and abiotic stresses. For example, a wide array of molecules isolated from extractives in different plant species exhibit antifungal properties (Valette et al., 2017). Grapevine wood is known to be a rich source of polyphenols, reaching up to 114 g/kg of dried stems (Goufo et al., 2020). Every year, vineyard pruning produce approximately 2 tons of canes per hectare, most of which are burned or composted (Loupit et al., 2020). These wastes have recently gained in interest by nutraceutical, cosmetic and food industries. Indeed, stilbenes and flavonoids present in grapevine cane have health-promoting and antioxidant properties, making them good candidates to replace synthetic preservatives in food and beverages (Baroi et al., 2022; Fan et al., 2022; Meng et al., 2020).

Stilbenes are well known phenolic compounds in grapevine and numerous studies have investigated their functions in defense against pathogens (Chong et al., 2009). Stilbenes can be constitutively accumulated, and therefore considered as phytoanticipins, or synthesized *de novo* in response to biotic or abiotic stresses, and are then designated as phytoalexins (VanEtten et al., 1994). Vine canes are known to accumulate significant quantities of stilbenes, up to 10 g/kg dry weight (DW), whereas healthy leaves contain less than 0.5 g/kg of DW (Pavela et al., 2017). However, upon pathogen infection, higher and faster accumulation of stilbenes such as viniferins, resveratrol or piceid in leaves has been associated with increased resistance to *Plasmopara viticola* (downy mildew) and *Erysiphe necator* (powdery mildew) (Mijailovic et al., 2022; Schnee et al., 2008). Similarly, canes from *Vitis sylvestris*, which are tolerant to the dieback-associated fungus *Neofusicoccum parvum* accumulated more stilbenes oligomers in response to fungal infection than *Vitis vinifera* canes, indicating that wood stilbenes may participate in defenses against wood decay fungi (Labois et al., 2020; Stempien et al., 2017).

Although wood extractives may play important roles in grapevine defense against pathogens, few studies have explored the genetic determinism of their accumulation. Among them, a metabolic quantitative trait loci (mQTL) analysis in an interspecies cross between *V. riparia* and *V. vinifera* has identified two major loci linked to the accumulation of stilbene dimers and trimers on chromosome 18, albeit without functional analysis of the potential candidate genes (Teh et al., 2019). The aim of this study was therefore to investigate further the genetic basis of grapevine wood extractive composition, using a progeny from a cross between Riesling and Gewurztraminer (Ri x Gw). To this

end, we performed an untargeted metabolic profiling of extractives from canes and trunks in the Ri x Gw progeny over 3 years. Metabolic quantitative traits loci (mQTL) analyses led to the identification of 37 stable mQTLs corresponding to different metabolites, some of which have been identified. In depth, analysis of a major mQTL linked to the accumulation of resveratrol glucoside led to the identification of a cluster of six genes encoding uridine diphosphate glycosyltransferases (UGTs). Combined biochemical and structural characterization of the corresponding proteins highlighted one of them as a major determinant of the constitutive accumulation of piceid in grapevine canes and trunk.

RESULTS

Untargeted metabolomic analysis of grapevine wood extractives

Canes from a segregating population resulting from a cross between *V. vinifera* cv Riesling (Ri) and Gewurztraminer (Gw) were sampled over 3 years (2020, 2021 and 2022) and trunks from the corresponding genotypes were collected in 2022.

Metabolic profiling of canes using ultra-high performance liquid chromatography coupled to high-resolution mass spectrometry (UHPLC-HRMS) yielded between 1459 to 3079 compounds with unique retention time and mass to charge ratio (m/z), depending on the year and the type of wood. These unknown metabolites were named MxxxTyyy, xxx corresponding to the m/z ratio and yyy to the retention time in seconds. The distribution of metabolite amounts varied widely across the genotypes, with coefficients of variation exceeding 50% in a majority (62%) of the detected metabolites (**Figure 1**). This large variation may, in part, be explained by the segregation of genetic factors in the Ri x Gw population, providing the foundations for a mQTL analysis.

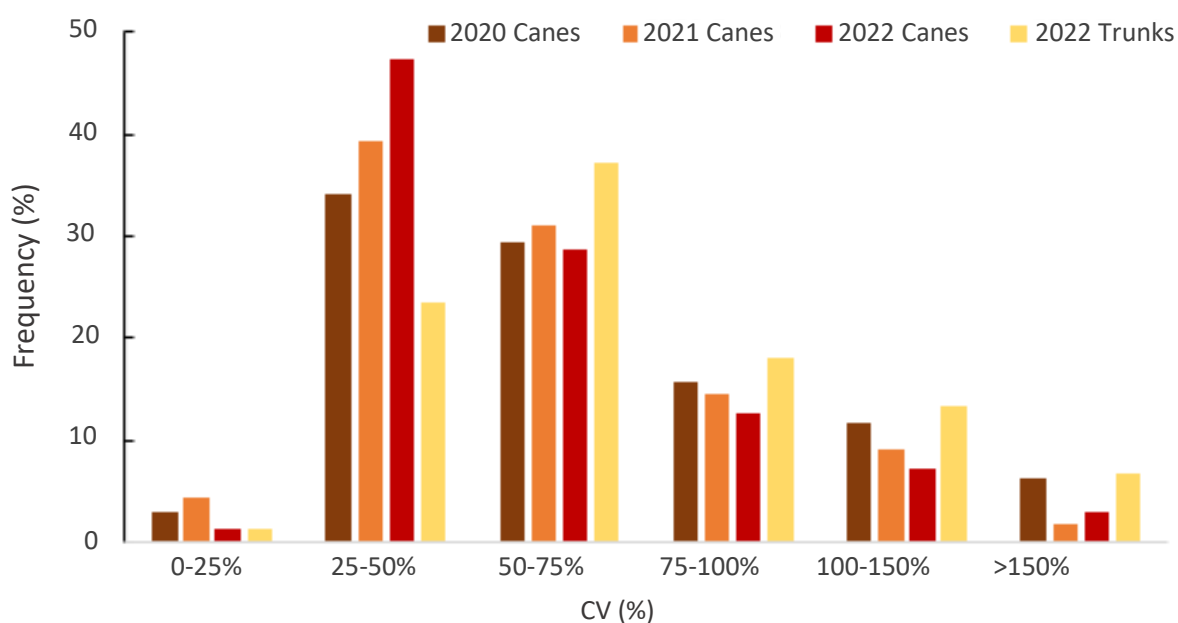


Figure 1. Distribution of metabolites coefficient of variation in canes and trunks of the RI x GW population, over 3 years.

mQTLs analyses and identification of the corresponding metabolites

mQTL analyses were performed using both the consensus and parental genetic maps. The consensus map consisted of 14428 single-nucleotide polymorphism (SNPs) markers covering 1234.6 cM over 19 linkage groups (LGs). Ri and Gw parental maps consisted of 9449 and 9425 SNPs markers respectively, covering 1239 and 1175 cM. Based on the non-targeted metabolomics data, between 339 and 609 compounds significantly mapped with at least one QTL with significant logarithm of the odds ($P_{\text{value}} \leq 0.05$) on the consensus map, this number depending on the year and type of wood.

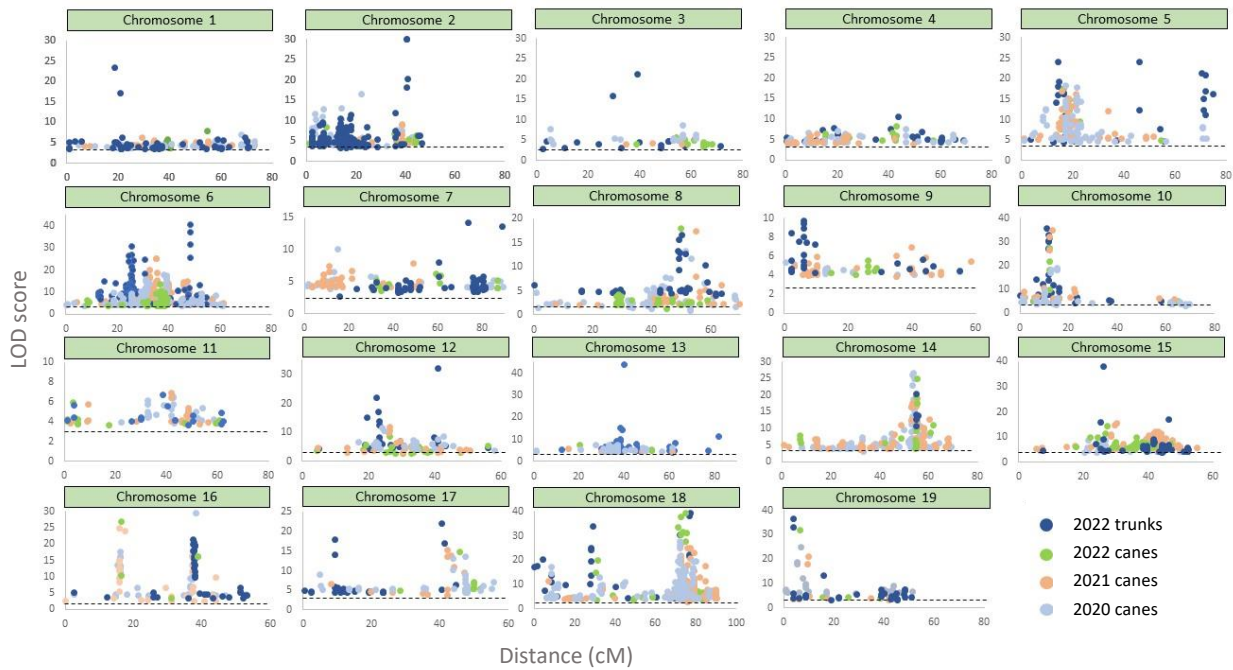


Figure 2. Chromosome-level representation of mQTLs obtained with cane and trunk extracts from Ri x Gw population between 2020 and 2022, based on untargeted metabolomic analyses. Relative quantifications of metabolites from cane and trunk extracts of the Ri x Gw progeny were used to map metabolic QTLs on consensus genetic map, each point corresponding to a significant mQTL ($p < 0.05$). mQTL positions on chromosomes are shown on the horizontal axis and the LOD score of each QTL is indicated on the vertical axis.

Chromosome-level representation of mQTLs (**Figure 2**) highlighted several hotspots identified with both the trunks and canes data sets, these hotspots being characterized by a co-localization of a large number mQTLs at the same chromosomal location. The hotspots on chromosomes 5 (14-25 cM), 8 (56-59 cM), 10 (10-13 cM), 14 (55-65 cM) and 16 (35-40 cM) were among the most notable. Selection of mQTLs common to all data sets identified a total of 37 stables mQTLs, linked to 35 metabolites (**Table S1**). The largest number of distinct mQTLs on a single chromosome was 7 on the chromosome 6. Following detailed analysis of high-resolution mass spectra, putative identification could be obtained for some of these metabolites, which were selected for further investigations.

Four metabolites (M345T195, M480T385, M485T385 and M493T380) mapped to a QTL spanning a 540 Kb region on chromosome 5 (3.51 – 4.05 Mb), linked to an allelic variation in Gw. The metabolites M345T195 and M493T380 (chemical formulas $C_{16}H_{26}O_8$ and $C_{22}H_{38}O_{12}$, respectively) were putatively identified as terpenes glycosides conjugated with formic acid. The identity of these ions was also supported by their retention time and their mass spectra, which showed several fragments frequently found in terpene derivatives (m/z 59.01379; 71.01379; 89.02433; 101.0246; 113, 131.0487) (**Figure S1**) (Godshaw et al., 2019; Hjelmeland et al., 2015).

Table 1: Summary table of the mQTLs for piceid accumulation detected in the Ri x Gw population in 2020-2022 for canes and in 2022 for trunks. Chr: chromosome; LOD: Logarithm of the odds; CM: centimorgans.

Ion	Formula	Putative identity	Tissues	Year	Map	Chr	LOD score	Peak LOD	Physical position of LOD interval (Mbps)	% variance expl
M389T308	C ₂₀ H ₂₂ O ₈	c-Piceid	Trunks	2022	Ri	16	10.7	44.47	18.13 – 19.83	20.2
			Canes	2020	Ri	16	7.1	44.47	16.49 – 21.62	26.5
				2021	Ri	16	5.4	44.47	16.49 – 20.04	19.9
				2022	Ri	16	6.9	44.47	17.34 – 20.04	26.5
M389T225	C ₂₀ H ₂₂ O ₈	t-Piceid	Trunks	2022	Ri	16	16.8	44.47	18.28 – 19.82	29.8
			Canes	2020	Ri	16	17.4	44.47	18.28 – 19.82	53.0
				2021	Ri	16	13.6	44.47	16.49 – 20.04	51.1
				2022	Ri	16	15.9	44.47	18.13 – 21.56	50.8
M227T225	C ₁₄ H ₁₂ O ₃	Resveratrol fragment	Trunks	2022	Ri	16	17.2	44.47	18.13 – 19.83	30.4
			Canes	2020	Ri	16	16.3	44.47	18.28 – 19.9	50.7
				2021	Ri	16	13.4	44.47	18.28 – 20.05	42.4
				2022	Ri	16	16.8	44.47	18.13 – 20.28	52.8

Three ions, M227T225, M389T225 and M389T308 were associated with the same QTL on chromosome 16 on the Ri map, spanning a region of 1.54 Mb (18.28 – 19.82 Mb). For the M389T225 ion, the LOD score ranged between 13.6 to 17.4, explaining 29.8% to 53% of the phenotypic variance, depending on the data set (**Table 1** and **Figure 3A**). For the M389T308 ion, the LOD score ranged from 5.4 to 10.7, explaining 19.9-26.5% of the phenotypic variance. Finally, the LOD scores associated to the M227T225 ranged from 13.4 to 17.2, explaining 30.4 to 52.8% of the phenotypic variance. Chemical formula associated with M389T308 and M389T225 was C₂₀H₂₂O₈, while M227T225 corresponds to C₁₄H₁₂O₃. M389T308/M389T225 were identified as resveratrol 3-β-glucoside (piceid), and M227T225 as a resveratrol fragment resulting from in-source fragmentation of piceid. Proposed identification of these compounds was confirmed using the corresponding commercial standards. By comparing both retention times and MS² spectra, M389T225 and M389T308 were identified as *trans*-piceid and the *cis*-piceid, respectively (**Figure S2**). Segregation of piceid amounts (*trans* + *cis* isomers) in the canes of the Ri x Gw population reveal a continuous variation in 2022 (**Figure 3B**). Comparison of the Ri and Gw parent genotypes, showed that Ri accumulated significantly more piceid than Gw in 2021 and 2022, regardless of the type of wood ($p_{\text{value}} \leq 0.05$). In 2020, however, the difference in piceid accumulation between the two parental varieties was not significant (**Figure 3C**).

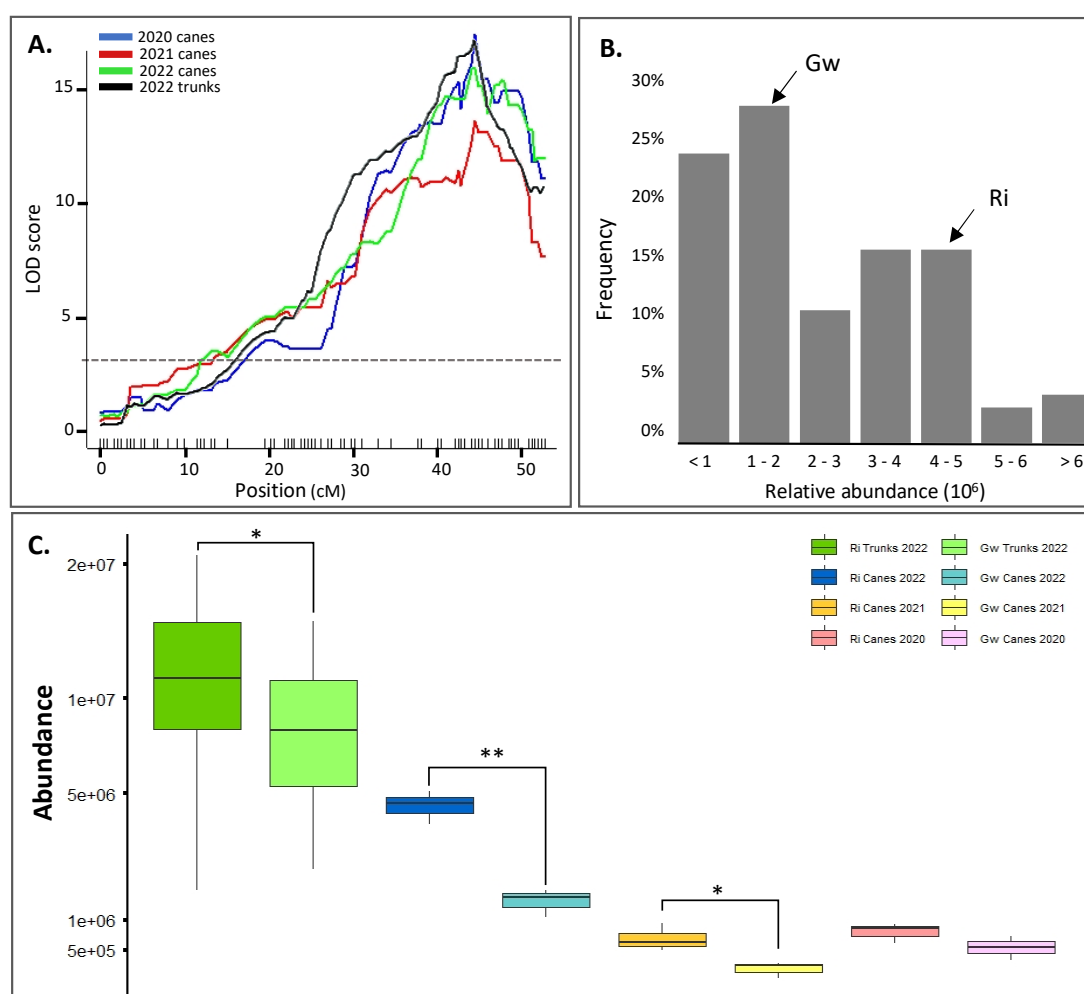


Figure 3. A: LOD score plots for M389T225 QTL detected on chromosome 16 on Ri map (cM) on canes and trunks over 3 years. Dashed gray line shows the threshold of LOD. B: Distribution of relative piceid amounts in 2022 (sum of *trans* and *cis* isomers) in canes of Ri (n = 3), Gw (n = 3) and in the Ri x Gw population (n = 106). C: Relative abundance of piceid (sum of *cis* and *trans* isomers) in trunks and canes of Ri and Gw over the 2020-2022 period, * = $p_{value} < 0.05$; ** = $p_{value} < 0.001$.

Identification of candidate genes potentially involved in piceid biosynthesis

The search for candidate genes was performed within the minimal confidence interval identified on Ri map in trunks and canes, spanning a 1.55 Mbp region on chromosome 16 (18.28-19.82 Mbps). Based on the PN40024.v4 genome sequence (Velt et al., 2023), 141 genes were identified in this region, 98 of which were already annotated. In addition, 25 genes were further annotated by performing Blast searches (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi/>; **Table S3**) and 18 had no annotation. Analysis of the predicted functions of these 141 genes revealed a cluster of six putative uridine diphosphate glycosyltransferase (UGT) genes (*Vitvi16g01142*, *Vitvi16g01143*, *Vitvi16g01149*, *Vitvi16g01150*, *Vitvi16g01943*, *Vitvi16g01946*, **Table S3**, lines 109-114). Plant UGTs have been shown to be involved in the glycosylation of a wide array of metabolites (Vogt and Jones, 2000), which made UGT genes

good candidates for the synthesis of piceid from resveratrol. Although a few grapevine UGTs have been found to exhibit resveratrol glycosyltransferase activity *in vitro* (Hall & De Luca, 2007; Härtl et al., 2017), none of them was identified based on genetic analyses. Therefore, these UGTs were selected for further investigation of their potential role in piceid biosynthesis *in planta*.

This cluster of six putative UGT genes spanned 900 kb (19.09-19.18 Mbps) on chromosome 16, based on the PN40024_v4 genome (**Figure S3**). The sequence of the corresponding genes in Ri were retrieved from the Ri genomic sequence (Zou et al., 2021). All Ri UGT genes shared the same structure composed of a unique exon ranging from 1410 to 1443 pb. Comparison of the corresponding protein sequences showed that these UGTs shared between 52% and 95% identity (**Figure S4** and **Table S1**). *Vitvi16g01142* and *Vitvi16g01943* were the most similar with 95% identity, while *Vitvi16g01143* was the most distant with less than 60% identity with the other UGTs in the cluster. All these proteins shared a conserved motif of 14 amino acids (SVGGEFVTHCGWNS), known to be involved UDP-sugar recognition (Gachon et al., 2005; Offen et al., 2006). The six genes of this cluster appear closely phylogenetically related, as they belong to a single clade in the phylogeny of the grapevine UGT family (Wei et al., 2021).

In order to identify more precisely the causal genes among the six candidates, the expression profiles of these UGTs were compared using the GREAT (Grapevine Expression ATlas) transcriptomic analysis tool. Publicly available RNA seq data sets of interest included healthy shoots from Ri, Chasselas blanc and Chasselas Ciutat. RNA seq data sets from Ri and Gw berries were also selected as comparison and summarized on the heatmap **Figure 4**. Although *Vitvi16g01943*, *Vitvi16g01150* and *Vitvi16g01149* exhibited the highest expression levels in shoot tissues, this gene expression analysis did not highlight a specific gene as the main candidate. Therefore, all six genes were selected for functional characterization, together with the previously characterized bi-functional resveratrol/hydroxycinnamic acid glucosyltransferase VLRSgt from *Vitis labrusca*, as a control (Hall & De Luca, 2007).

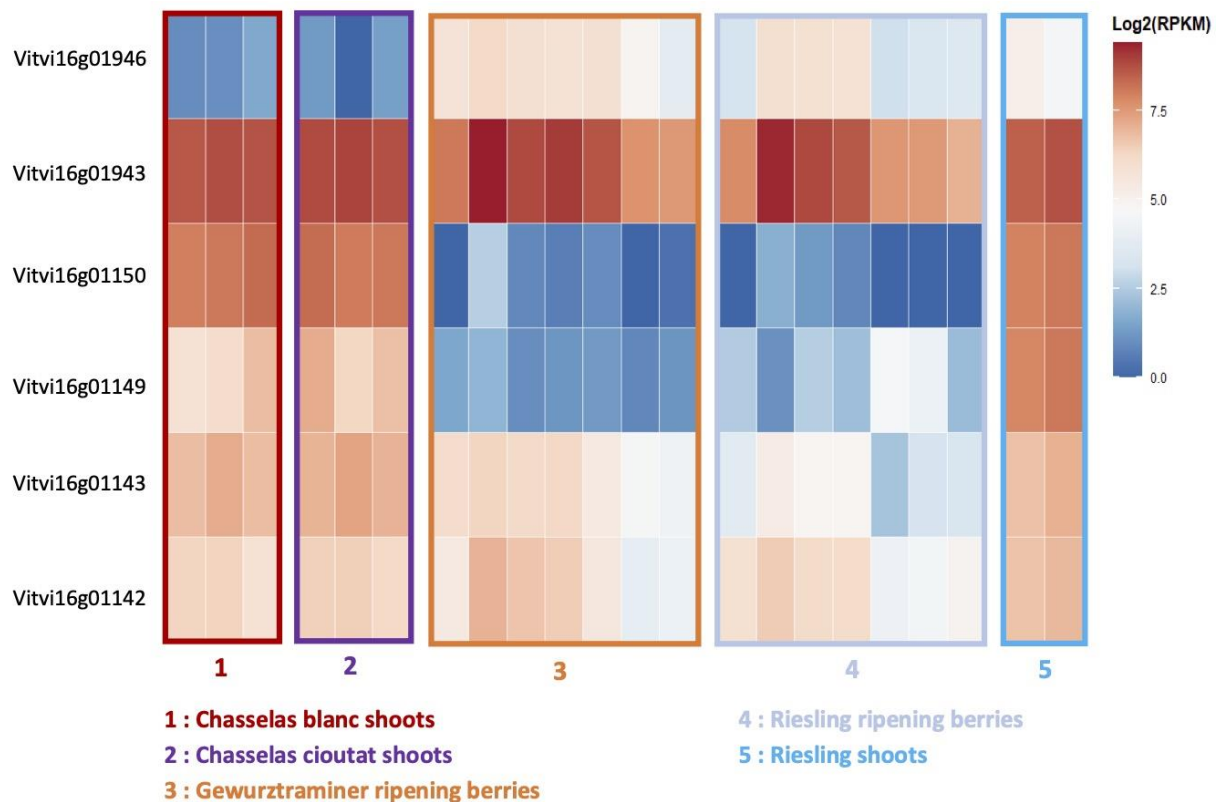


Figure 4. Overview of expression profiles of the six candidates VvUGTs in various tissues from different grape varieties. RPKM = Reads per kilo base per million mapped reads.

Biochemical characterization of UGTs

Kinetic analysis of the recombinant UGTs

The six UGTs from Ri as well as VLRSgt were expressed as recombinant proteins in *Escherichia coli*. Crude IPTG-induced *E. coli* extracts were used for *in vitro* UGT activity assays, and negative controls were performed with non-induced *E. coli* crude extracts. The catalytic properties of the Ri UGTs and VLRSgt were determined using various candidate substrates (Hall & De Luca, 2007). The monoterpene nerol was included as a potential substrate, as the *Vitvi16g01943* UGT from Muscat à Petits Grains Blancs was shown to exhibit terpenol-glucosyltransferase activity (Bönisch et al, 2014). Two of the six UGTs, *Vitvi16g01149* and *Vitvi16g01143* did not display detectable resveratrol glycosyltransferase activity under our conditions, even with longer incubation times. Consequently, these two enzymes have not been included in further assays. Similarly, none of the six UGTs displayed nerol glycosyltransferase activity at any substrate concentration tested (10 - 300 μ M) (data not shown).

Table 2: Kinetic parameters of recombinant VLRSgt, Vitvi16g01142, Vitvi16g01943, Vitvi16g01946 and Vitvi16g01150 with quercetin, kaempferol or resveratrol as substrates, and UDP-glucose as sugar donor. NA = No Activity.

Substrate	K_m (μM)	K_{cat} (s^{-1})	K_{cat}/K_m ($\text{s}^{-1} \mu\text{M}^{-1}$)
VLRSgt			
Quercetin	58.76	2.98	51.3
Kaempferol	65.08	8.55	131.5
Resveratrol	378.5	0.22	0.6
Vitvi16g01943			
Quercetin	329.5	0.21	0.65
Kaempferol	2297.5	1.06	0.46
Resveratrol	71.2	0.72	10.1
Vitvi16g01142			
Quercetin	N.A	N.A	N.A
Kaempferol	N.A	N.A	N.A
Resveratrol	341.4	0.69	2
Vitvi16g01946			
Quercetin	445.9	1.98	4.4
Kaempferol	640.9	1.27	1.99
Resveratrol	21.8	0.225	10.2
Vitvi16g01150			
Quercetin	N.A	N.A	N.A
Kaempferol	N.A	N.A	N.A
Resveratrol	0.12	7.67	63 917

Incubation of VLRSgt with *trans*-resveratrol led to the formation of 3 isomers of resveratrol-glucoside, confirming its resveratrol glycosyltransferase activity. These isomers were identified as *trans* and *cis*-piceid, as well as a third product with a similar fragmentation pattern, which was putatively identified as resveratroloside (**Figure S2**). Nevertheless, VLRSgt displayed higher activity and lower K_m values with the flavonoids kaempferol and quercetin as substrates (**Table 2**). Comparison of the catalytic efficiency (K_{cat}/K_m) values showed that kaempferol was the best substrate for VLRSgt ($131.5 \text{ s}^{-1} \mu\text{M}^{-1}$)

followed by quercetin ($51.3 \text{ s}^{-1} \mu\text{M}^{-1}$) and resveratrol ($0.6 \text{ s}^{-1} \mu\text{M}^{-1}$). *Vitvi16g01943* and *Vitvi16g01142* both glycosylated resveratrol, leading to the formation of a majority of the *cis*-piceid isomer and only low amounts of *trans*-piceid, indicating a marked preference for the *cis*-resveratrol substrate. *Vitvi16g01943* had a higher affinity for resveratrol than *Vitvi16g01142* with respective K_m values of 71 and 341 μM as well a higher catalytic efficiency ($K_{cat}/K_m = 10.1$ vs $2 \text{ s}^{-1} \mu\text{M}^{-1}$). Both enzymes showed little to no activity with the tested flavonoid substrates. Finally, the *Vitvi16g01946* and *Vitvi16g01150* enzymes exhibited the highest resveratrol glycosyltransferase activity among the UGTs in the cluster. *Vitvi16g01946* was capable of producing both *cis* and *trans* isomers of piceid, the ratio between these isomers depending on the *trans/cis*-resveratrol ratio, indicating that this enzyme could use equally the *trans* and *cis* isomers of resveratrol as substrates. Conversely, the *Vitvi16g01150* enzyme produced almost exclusively *trans*-piceid. Its enzymatic parameters were the best of all the enzymes tested, with the lowest K_m for resveratrol and the highest turnover rate. Finally, the *Vitvi16g01150* enzyme did not use the tested flavonoids as substrates.

Competition assays

In order to determine the preferred substrate when different potential substrates are available simultaneously, the UGT proteins have been incubated in the presence of 3 substrates (quercetin, kaempferol and resveratrol, 30 μM each). In these conditions, different glycosylation patterns were observed (**Figure 5**).

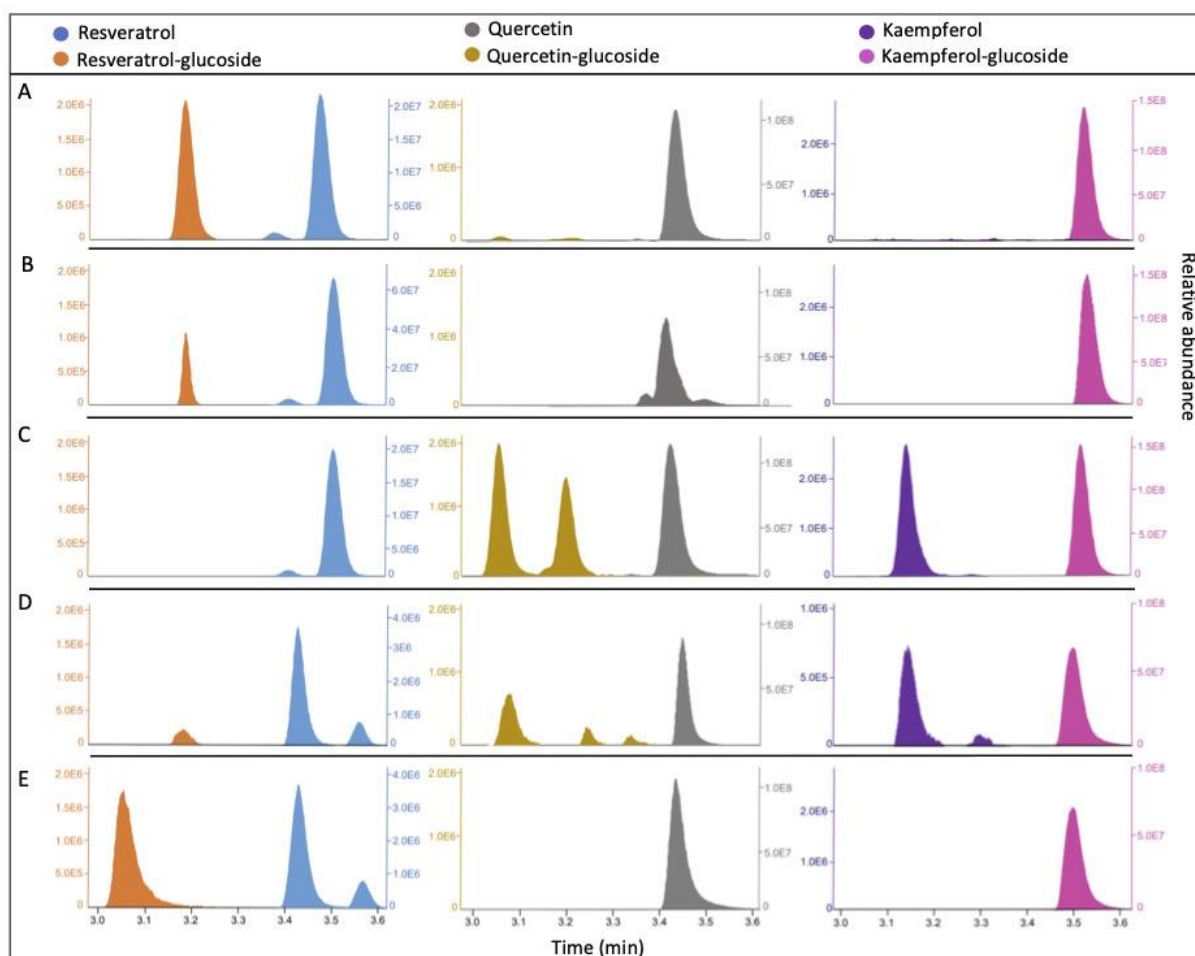


Figure 5. UHPLC–HRMS analysis of reaction products formed by Vitvi16g01943 (A), Vitvi16g01142 (B) and VLRSGt (C), Vitvi16g01946 (D) and Vitvi16g01150 (E), using a mixture of resveratrol, quercetin and kaempferol as substrate (30 μ M), and UDP-glucose as sugar donor.

In the presence of both stilbene and flavonoid substrates, both Vitvi16g01946 and VLRSGt showed a very strong preference for the flavonoid substrates (**Figure 5C-D**). Glycosylation of kaempferol led to the formation of two isomers of kaempferol-glucoside ($R_t = 3.1$ min and $R_t = 3.3$ min). Three quercetin-glucoside isomers were produced with these two UGTs. However, when confronted to both stilbene and flavonoid substrates, no traces of piceid or resveratrolside were observed with VLRSGt, while Vitvi16g01946 gave rise to little amounts *cis*-piceid. Conversely, Vitvi16g01943, Vitvi16g01142 and Vitvi16g01150 did not show flavonoid-UGT activity when incubated with both stilbene and flavonoid substrates. Instead, these UGTs gave rise to *cis*-piceid (Vitvi16g01943, **Figure 5A**; Vitvi16g01142, **Figure 5B**), and *trans*-piceid (Vitvi16g01150, **Figure 5E**).

Molecular modeling-based analysis of UGT substrate specificities

The UGTs Vitvi16g01943, Vitvi16g01946 and Vitvi16g01150 were found to efficiently use resveratrol as substrate. However, they exhibited marked differences in substrate preference for either the *trans* and *cis* isomer of resveratrol, resulting in the specific formation of *cis*-piceid (Vitvi16g01943), *trans*-piceid (Vitvi16g01150) or a mixture of both piceid isomers (Vitvi16g01946). In order to analyze the molecular bases of the regioselectivity and stereospecificity for resveratrol isomers, six Michaelis complexes between these three enzymes, resveratrol (either in *trans* or *cis* configuration) and the sugar donor UDP-glucose (UDPG) were modeled (**Figure 6**).

For the complex of Vitvi16g01943 with *cis*-resveratrol, shorter distances were calculated between resveratrol O3 and N δ (or N ϵ depending on the protonation state of imidazole ring) of the catalytic histidine H14, and between resveratrol O3 and C1 of UDPG. These distances were longer in the complex with *trans*-resveratrol (**Figure 6 A-B**). For Vitvi16g01946 and Vitvi16g01150 the situation was reversed (**Figure 6 C-D, E-F**). Complexes with *trans*-resveratrol exhibited shorter distance between resveratrol O3, UDPG C1 and the catalytic H14. The predicted K_d was also lower for *cis*-resveratrol compared to *trans*-resveratrol (**Table S4**)

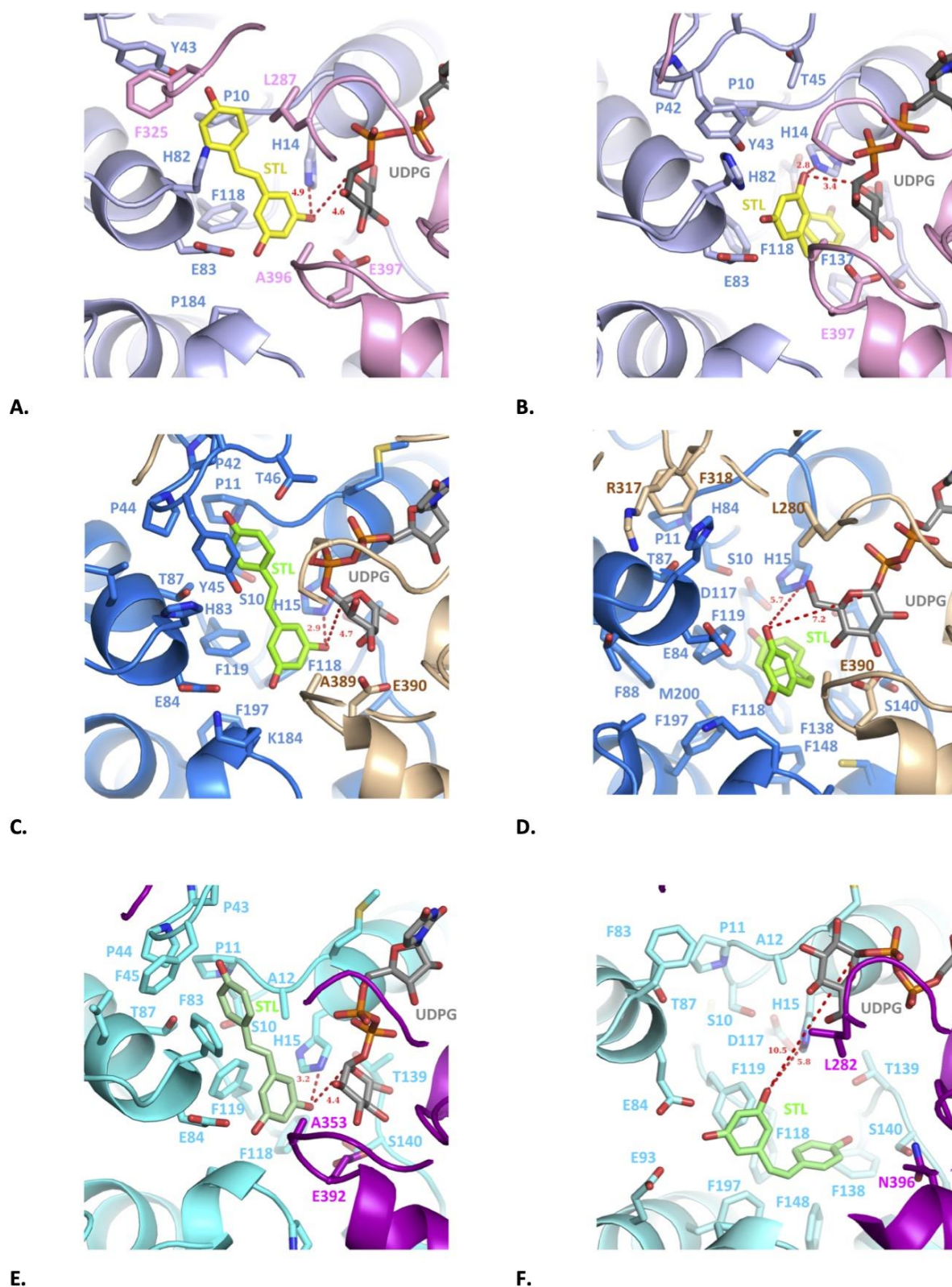


Figure 6. Structural details of the active site of modelled Michaelis complexes between the selected UGT enzymes, resveratrol isomers (STL) and UDP-glucose (UDPG). Vitvi16g01943 enzyme with *trans*-resveratrol (A) and *cis*-resveratrol (B). Vitvi16g01946 with *trans*-resveratrol (C) and *cis*-resveratrol (D). Vitvi16g01150 with *trans*-resveratrol (E) and *cis*-resveratrol (F).

DISCUSSION

Despite the ecological and economic importance of wood chemical components, few studies have explored the genetic bases of wood extractive composition (Stackpole et al., 2011; Ganthaler et al., 2017). As grapevine woody tissues represents a rich source of phenolic compounds (Goufo et al., 2020), we have used a non-targeted metabolomic approach to investigate the genetic bases of grapevine wood extractive composition. Metabolomic analyses were performed on canes of a Ri x Gw progeny for three consecutive years. Analyses of trunk extractives were performed a single year, as the Ri x Gw progeny was ripped out and phenotyped for esca disease damages (Arnold et al., 2023). Nevertheless, analyses of both canes and trunks allowed to focus on the most stable metabolic traits.

Genetic analysis wood extractive composition highlights hotspots of mQTLs on the grapevine genome

The genetic analysis of wood extractive composition in both canes and trunks has highlighted mQTLs distributed on all grapevine chromosomes, some of them with very high LOD scores (**Figure 2**). Several genomic regions impacted the accumulation of large numbers of metabolites and were thus identified as hotspots of mQTLs. For example, the mQTL hotspot identified on chromosome 5 impacted the accumulation of 20 to 56 metabolites, depending on the year and the tissue considered. Many of these metabolites have been identified as terpene derivatives, indicating that this QTL corresponds to the previously characterized 1-deoxy-D-xylose-5-phosphate synthase (DXS) gene (Duchêne et al., 2009; Battilana et al., 2009). Nevertheless, these results indicated that the Gw DXS allele linked to this QTL not only impacted the accumulation of terpenoids in grape berries as shown previously in the Ri x Gw population (Duchêne et al., 2017), but had also major effects on terpenoid profiles in woody tissues. Beside the mQTL hotspots, some mQTLs were linked to very few metabolites, suggesting that the corresponding genomic regions was involved in the specific control of a small number of compounds. Analysis of high-resolution mass spectra identified two metabolites underlying a stable QTL on chromosome 16 as *trans*-piceid and *cis*-piceid. No other glycosylated compounds mapped this genomic region, suggesting that the genes underlying this mQTL were specifically involved in resveratrol metabolism. Although QTLs linked to stilbene derivatives have been described previously on chromosomes 11, 14 and 18 in a F2 population derived from a *V. riparia* hybrid, no functional characterization of related candidate genes has been performed (Teh et al, 2019). Therefore, the mQTL corresponding to piceid was selected for further investigation.

A cluster of putative UDP glycosyltransferases co-localizes with a mQTL of resveratrol glucoside

In *V. vinifera*, chromosome 16 is known for harboring a large cluster of 42 stilbene synthase (*STS*) genes (Parage et al., 2012; Vannozzi et al., 2012). Although *STS* enzymes are involved in the biosynthesis of resveratrol, which is a direct precursor of piceid, the genomic region containing the *STS* gene cluster did not colocalize with the piceid mQTL. In a recent work, two QTL linked to *cis*-piceid and astringin (piceatannol-3- β -glucoside) was reported on chromosome 16, with candidate genes including *MYB* transcription factors and *STS* (Vezzulli et al., 2019). However, the genomic regions underlying these two QTLs did not colocalize the mQTL identified in our work either. On the other hand, the piceid mQTL co-localized with a cluster of six genes encoding putative UDP glycosyltransferases, which were selected as candidate genes. Plant UGTs catalyze sugar transfer from UDP-activated sugar donors to a wide variety of substrates, ranging from endogenous metabolites to xenobiotics, affecting their biological activity, solubility, stability and transport capacities. Grape UGTs constitute a large family of genes, with at least 228 genes in the grapevine genome (Ono et al., 2010; Wei et al., 2021). To date, few UGTs exhibiting resveratrol glycosyltransferase activity *in vitro* have been identified in *Vitis* species. The *VLRSGt* gene was identified following the purification of the corresponding protein from the mesocarp of *Vitis labrusca* berries. The *VLRSGt* enzyme was characterized as a bi-functional resveratrol/hydroxycinnamic acid glucosyltransferase, albeit showing a very significant activity with the flavonoid kaempferol (Hall & De Luca, 2007). *UGT72B27* (*Vitvi15g01623*) has been identified as resveratrol/guaiacol glucosyltransferase involved in the glycosylation of smoke-derived volatiles (Härtl et al., 2017). In the present analysis of wood extractives, neither of these two genes was associated to a piceid mQTL. Nevertheless, *VLRSGt* from *V. vinifera* (*Vitvi03g00557*) was selected as a positive control for resveratrol glycosyltransferase activity *in vitro*.

Vitvi16g01150 is the most likely UGT involved in piceid biosynthesis in grapevine canes and trunks

As gene expression analyses did not point to a particular UGT as the best candidate in the cluster (**Figure 5**), all genes were expressed in *E. coli* for functional characterization of the corresponding proteins. The *Vitvi16g01943* enzyme was previously described as a monoterpenol-glycosyltransferase with a medium affinity for nerol, geraniol and citronellol (Bönisch et al., 2014). However, *Vitvi16g01943* from Ri did not show any glucosyltransferase activity with geraniol or nerol in our experiments, suggesting that the Ri enzyme is not active with monoterpenols. In addition, no monoterpenol-glycoside mQTL was associated with the UGT gene cluster on chromosome 16. This lack

of activity *in vitro* with potential terpenol substrates suggests that the *Vitvi16g01943* gene was not involved in terpenoid metabolism in the canes and woods analyzed in this study. In contrast, the *Vitvi16g01943* enzyme exhibited a good affinity for *trans*-resveratrol, producing both *cis* and *trans*-piceid. Kinetic parameters were relatively closed to those of UGT72B27 ($K_m=36.15\ \mu\text{M}$, $K_{cat}=0.61\ \text{s}^{-1}$ and $K_{cat}/K_m=16.79\ \text{s}^{-1}.\text{mM}^{-1}$) (Härtl et al., 2017). Although *Vitvi16g01142* was very similar to *Vitvi16g01943* (95% sequence identity at the protein level), it displayed a lower affinity, turnover and kinetic efficiency with resveratrol, consistent with the fact that similar UGTs can have different substrate preferences (Maharjan et al., 2020; Yin et al., 2016).

Finally, only the *Vitvi16g01946* and *Vitvi16g01150* enzymes produced a majority of *trans*-piceid from resveratrol, in accordance with the pattern of piceid isomers found in grapevine canes and trunks. The *Vitvi16g01946* enzyme produced both piceid isomers, depending on the abundance of resveratrol isomers. Conversely, the *Vitvi16g01150* enzyme produced almost exclusively *trans*-piceid and did not use the tested flavonoids as substrates. Based in its expression pattern (**Figure 4**) and on the kinetic parameters of the corresponding protein, the *Vitvi16g01150* gene appears as the most likely candidate associated to the biosynthesis of piceid in canes and trunks and allelic variations in Ri may be responsible for differential piceid accumulation in the woody parts of these two varieties.

Molecular modelling supports the involvement of distinct UGTs in the biosynthesis of *cis*- and *trans*-piceid

Grapevine has been shown to accumulate both *cis* and *trans* isomers of piceid, albeit in different amounts depending on tissues and circumstances. For example, various amounts of both *cis*- and *trans*-piceid have been found in wines from different grape varieties (Romero-Perez *et al.*, 1996). Similarly, both *cis*- and *trans*-piceid accumulate in grapevine leaves in response to *Plasmopara viticola* infection, albeit with larger amounts of *trans*-piceid (Chitarrini et al., 2017). In the present work, canes of Ri and Gw contained both *cis*- and *trans*-piceid, with a large predominance of *trans*-piceid. On the other hand, expression of a stilbene synthase gene from sorghum in transgenic *Arabidopsis thaliana* resulted in the exclusive accumulation of *cis*-piceid, indicating a marked preference of Arabidopsis UGTs for *cis*-resveratrol (Yu *et al.*, 2006).

Differential accumulation of *cis* and *trans* isomers of piceid in various tissues of several plant species suggests that different UGTs may be responsible for the biosynthesis of *cis* and *trans*-piceid isomers *in planta*. This hypothesis was supported further by the different substrate and product specificities of some of the UGTs characterized in this work. In order to analyze the molecular bases of the regioselectivity and stereospecificity for resveratrol isomers of the UGTs *Vitvi16g01943*, *Vitvi16g01946*

and Vitvi16g01150, molecular models of these enzymes were confronted to *cis* and *trans*-resveratrol substrates.

Based on these molecular models, calculated distances between the catalytic histidine H14, resveratrol O3 and C1 of UDPG varied significantly depending on the UGT and the resveratrol isomer (**Figure 6**). Shorter distances, compatible with efficient catalysis, were obtained with *cis*-resveratrol for Vitvi16g01943 and with *trans*-resveratrol for Vitvi16g01946 and Vitvi16g01150, in agreement with the *in vitro* substrate and product specificity of these enzymes.

These different substrate binding characteristics may be explained by different structures of the ligand binding pockets in these complexes. Resveratrol was bound in a hydrophobic environment determined by several aromatic residues. The binding pocket was defined by a flexible loop (loop between $\beta 3$ and $\alpha 3$). This flexible loop, which is divergent among UGTs, has been predicted to modulate substrate specificity (Wang, 2009).

In Vitvi16g01946, the B-ring of *trans*-resveratrol stacked on Y45. T46 contributed to a polar environment for binding of resveratrol hydroxyl O4'. Since *cis*-resveratrol is more compact, it was buried deeper in the enzyme binding site, the aromatic residues F118, F119, F138, F148 interacting with the A- and B-rings. In this position, *cis*-resveratrol was firmly bound in an apolar environment. However, the relatively long distances between the substrates and the catalytic histidine H14 did not predict optimal catalysis.

In Vitvi16g01150, binding of resveratrol in *trans* conformation was favored. The B-ring was stabilized by F45, F83 and F119, P11 and A12. F118 interacted with the A-ring and *trans*-resveratrol was therefore stabilized in optimal position for efficient catalysis, with short distances between atoms involved in catalysis. Conversely, the distances calculated with *cis*-resveratrol were very long. Altogether, the contrast between *trans* and *cis*-resveratrol was the highest for Vitvi16g01150, consistent with the marked preference of this enzyme for *trans*-resveratrol *in vitro*.

Sequence analysis showed that both Vitvi16g01946 and Vitvi16g01150 have a Thr residue in helix $\alpha 3$ (T86 and T87 respectively), while Vitvi16g01943 has an Ala. Vitvi16g01150 has also a Ser at position 88, which is replaced by a Phe in other UGTs. This more polar environment, found only in Vitvi16g01946 and Vitvi16g01150 may favor the binding of the *trans* isomer of resveratrol in a position compatible with catalysis.

Globally, kinetic parameters obtained for the two candidate enzymes were similar or better in the case of Vitvi16g01150 than most of stilbene UGTs studied under similar conditions in grapevine and other plant species (Yin et al., 2016, Ono et al., 2010). PaGT2, identified in *Phytolacca americana*, showed high catalytic efficiency with piceatannol although this substrate is not natural to this UGTs due to the fact that this species is not known to synthesize stilbenes (Maharjan et al., 2020). For both Vitvi16g01946 and Vitvi16g01150 UGTs, no significant activity was observed with quercetin and

kaempferol, indicating a high specificity for stilbene substrates. Taken together, the relatively high expression levels of the *Vitvi16g01946* and *Vitvi16g01150* genes in grapevine canes, combined with the high efficiency and specificity for resveratrol of the corresponding enzymes, provides strong evidence in favor of their major role in constitutive piceid biosynthesis grapevine canes and trunk.

CONCLUSION

Despite the role played by wood extractives in defenses against fungal pathogens (Stempien et al., 2018), the genetic determinism of their biosynthesis has been relatively little studied. In this work, a combination of untargeted metabolomic and genetic approaches has led to the identification of various mQTLs involved in metabolite accumulation. Among possible candidate genes, a cluster of six UGTs potentially linked to resveratrol glycosylation has been identified on chromosome 16. Functional characterization of these UGTs has highlighted the *Vitvi16g01150* gene as the major gene involved in the constitutive accumulation of *trans*-piceid, which is the most abundant stilbene glycoside in grapevine canes. Most of the defense-related roles of stilbenes have been investigated in the context of stilbene accumulation in response to biotic or abiotic stresses (Chong et al., 2009). Based on multi-year observations in the vineyards in the Alsace region (France), Ri has been found to be less susceptible to esca and black dead arm wood diseases than Gw (Abidon et al., 2016). Destructive analysis of esca symptoms in the Ri x Gw progeny has led to the discovery of a locus associated with susceptibility to esca dieback. Future work will be aimed at investigating the potential influence of grapevine wood composition on the susceptibility to grapevine wood diseases.

MATERIALS AND METHODS

Plant material

To study the genetic determinism of metabolism in grapevine wood, we used a progeny initially developed by INRAE Colmar to study the genetic determinism of berries composition (Duchêne et al., 2009), resulting from the inter-specific cross of *Vitis vinifera* cv. Ri clone 49 and *Vitis vinifera* cv. Gw clone 643. This F1 population, named RI x GW, was planted in 2006 in an experimental vineyard at Bergheim (48°21'N, 7°34'E).

Between 2020 and 2022, grapevine canes from 103 to 112 offsprings of the Ri x Gw population were collected during winter. Canes were kept at 4°C before cutting internodes that were frozen using liquid nitrogen to prevent oxidation of metabolites. In April 2022, chips from trunks of every living offsprings (n=218) were collected, frozen with liquid nitrogen and kept at -20°C.

Sample preparation and metabolites extraction

Canes and chips were lyophilized for 24 hours. For each offspring, internodes were roughly grounded together with a conventional coffee grinder (Moulinex, L'original grinder), then a finer grind was carried out using a ball mill (TissueLyser II, Qiagen, Courtaboeuf, France). Approximately of 5 mg $\pm$ 0.1 mg of powder was weighted in 2 mL polypropylene microtubes (Eppendorf). A first microwave assisted extraction (Samsung, 450 W, 30s) with 200 μ L of LC–MS grade methanol containing 5 mg.L⁻¹ of chloramphenicol (Sigma-Aldrich) as an internal standard was performed, followed by an ultrasound bath for 2 min (Fisherbrand, FB15050). Samples were centrifuged (11 000 g, 10 min, 20 °C). A second similar extraction without microwaves was performed on the pellet, and both extracts were pooled together.

Ultra-performance liquid chromatography-high resolution mass spectrometry (UHPLC-HRMS)-based untargeted metabolomics

Untargeted metabolomic analysis were carried out on an UHPLC Vanquish coupled to an Orbitrap Exploris 120 mass spectrometer equipped with an electrospray ionization (ESI) source (Thermo Fisher Scientific). The column (Nucleodur C18 PolarTec 150 x 2 mm inner diameter, 1.8 μ m particle size; Macherey-Nagel) was developed at 20 °C with eluent B (water with 0.1% (v/v) formic acid) and eluent A (acetonitrile with 0.1% v/v formic acid) at a flow rate of 0.3 mL min⁻¹. The gradient elution was programmed as follows: 0–1min, 80% B; 1–4min, 80–70% B; 4–5min, 70–50% B; 6.5–8.5min, 50–1% B; 10–11min, 1%–80% B. The sample volume injected was 1 μ L. Mass spectrometer operated in positive and negative mode. Parameters were set at 360°C for the ion transfer capillary temperature and 3,500V for the needle voltages. Nebulization with nitrogen sheath gas and auxiliary gas was maintained at 40 and 10 arbitrary units, respectively, and the nebulizer temperature was maintained at 320°C. The scan modes were full MS within the mass-to-charge ratio (m/z) ranging from 90 to 1,200 atomic mass unit (amu), with a resolution of 60,000 fwhm (at m/z 200) and ddMS2 with a resolution of 60,000 fwhm. The normalized collision energy was 30 V. Internal mass calibration was operated using EASY-IC internal calibration source allowing single mass calibration for full mass range. UV detection was performed at 280 and 330 nm. The instruments were controlled using the Xcalibur software (Thermo Fisher Scientific™).

Raw data were imported to Compound Discoverer 3.3.0.550 (Thermo Scientific) and analyzed with an untargeted metabolomics workflow, which included mapping pathways and searching online databases for metabolite annotation. Retention times were aligned to a QC (Quality Control) sample. For compounds detection, a minimal signal-to-noise (S/N) threshold at 1.5 was set as well as

a minimum peak intensity of 10 000 and a mass tolerance of 5 ppm. For the gap filling, mass tolerance was set 5 ppm and signal-to-noise threshold at 1.5. The peak annotation and metabolic pathways were performed in comparison to online spectral libraries and online pathways, with a mass tolerance set at 5 ppm. Settings used for the composition prediction were a mass tolerance at 5 ppm. A post-processing filtering was applied, removing ions without formula, Δ -ppm above or below 5 ppm and peak-rating < 4 in QC. The generated ions list with areas was exported as a .csv file to Microsoft Excel. Ion identifiers were generated as MxxxTyyy, where xxx is the m/z and yyy the retention time in seconds.

Genetic maps

QTL mapping was carried out using 252 genotypes from the Ri x Gw progeny defined as reference population. Genetic markers consisting of single nucleotide polymorphisms (SNPs) were obtained by a genotyping by sequencing (GBS) as described previously in (Chedid et al, 2023).

QTL analysis

QTL detection was performed on both parental and consensus maps of the population RI x GW with the R/qtl software (Broman et al. 2003) using the one-dimension scan command scanone. LOD (Logarithm of the odds) significances were ensured with permutation tests (1,000 permutations). The percentage of variance explained by a QTL was assessed with analysis of variance using type III sums of squares using the *fitqtl* function. Confidence intervals were calculated as Bayesian credible intervals using *bayesesint* function with a probability of coverage of 0.95.

Identification of candidate genes

The genome of PN40024.v4 (Velt et al., 2023) was explored to search candidate genes. Physical positions of our confidence intervals on PN40024.v4 were given by the physical position associated to SNPs delimiting QTLs confidence intervals on genetic maps. Genes between flanking markers were listed with their automatic annotation, and genes without annotation were blasted on NCBI (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi/>). A list of candidate genes was established based on the correspondence between genes function and metabolites synthesis.

Expression profiles of VvUGTs

RNAseq raw data were obtained from GREAT (GRapeExpression ATlas; <https://great.colmar.inrae.fr/>) and heatmap was generated on Rstudio, using ggplot2 function.

Gene synthesis

VLRSGT sequence were obtained from GenBank (DQ832169) and VvUGTs sequences were obtained from Ri genome (Zou et al., 2021). Full-length VvUGT and VLRSGT coding sequences were synthesized and cloned into the pET22b expression vector by the GENEWIZ gene synthesis service (GENEWIZ Germany GmbH, Leipzig, Germany), after codon optimization for expression in *E. coli*.

Characterization of recombinant VvUGTs Proteins

Full-length UGTs were cloned into pDONR201 Gateway-compatible vector (Invitrogen™) to generate entry clones. These entry clones were digested and genes underwent PCR to verify that they have been correctly introduced. Genes were then transferred into the pHNGWA destination vector (accession no. EU680842; Busso et al., 2005) by using LR clonase (Invitrogen) according to the manufacturer's protocol. pHNGWA-UGTs plasmids were transformed into ArcticExpress BL21 (DE3) *E. coli* cells (Agilent) harboring a plasmid which encodes two cold-adapted chaperonins under constitutive expression. Overnight cultures (2 mL) were inoculated into 50 mL of LB medium containing 1% (v/v) glycerol (Acros Organics) and grown at 37°C to an OD_{600 nm} of 1.0, prior to induction with 1mM isopropyl thio-β-D-galactoside (IPTG; Euromedex). Cultures were then grown further for 3h at 37°C. After harvesting the cells by centrifugation (10 min at 6,000g), the pellet was resuspended in 3 mL of buffer (50 mM HEPES pH7, 1 mM MgCl₂, 1 mM β-mercaptoethanol, 1 μg μL⁻¹ bovine serum albumin) and cell lysis was carried out by sonication (10 rounds of 15 sec, cool in ice for 30s between rounds). Non-soluble parts were removed by centrifugation (10 min at 13,000g).

Enzyme assays

For the determination of kinetic parameters, 50 μL of raw extracts were incubated with geraniol, *trans*-resveratrol, kaempferol or quercetin in different concentrations and with 200 μM of UDP-glucose. Incubation buffer was added (50 mM HEPES pH7, 1 mM MgCl₂, 1 mM β-mercaptoethanol, 1 μg.μL⁻¹ bovine serum albumin) to a final volume of 100 μL. Incubations were carried out at 30°C for 30 minutes under shaken (Eppendorf Thermomixer 5436, 1000 rpm). Reactions were stopped by addition of 100 μL of LC-MS grade methanol with 5 mg.L⁻¹ of chloramphenicol, followed by vigorous vortexing and centrifugation (10 min at 13,000g). The organic phase containing reaction products, and the non-transformed substrate was transferred into a new tube. K_m were calculated from Lineweaver-Burk plots using the Igor Pro 7 software. For substrate specificity studies, 50 μL of raw extracts containing UGTs were incubated with kaempferol, quercetin and *trans*-resveratrol at a final concentration of 30 μM in the presence of 200 μM UDP-glucose in incubation buffer in a final volume of 100 μL for 30 min

at 30°C. Reaction products were extracted as described above and analyzed by UHPLC-HRMS. $V_{\max}$ were determined using a standard range of piceid, quercetin-glucoside and kaempferol glucoside (Sigma-Aldrich) and protein concentrations were estimated from SDS-page gels of crude extracts and a standard range of BSA (0.1 to 4 mg.mL⁻¹).

Molecular modelling

UGTs were modeled based on solved crystal structure of Michaelis complexes of VvGT1-UDP-2FGlc Kaempferol (PDB 2C1Z) and PaGT2 UDP-2FGlc resveratrol (PDB 6JEM) (Offen et al., 2006; Maharjan et al., 2020). The UGTs enzyme structures were predicted by AlphaFold2 (Jumper *et al.*, 2021). The ligands were manually positioned on the basis of the known Michaelis complexes structures. The modelled complexes were then subjected to molecular simulation. After energy minimization, the complexes were submitted to molecular dynamics during 100 ns with Gromacs (version 2023.1) and the trajectory were analyzed with tools provided by Gromacs (Abraham et al., 2015). In order to control convergence of the simulations, the position of the ligands was analyzed by root-mean-square-displacement analysis (RMSD) from the molecular dynamics trajectory. The binding energy was estimated by free energy calculation using Prodigy-Lig, based on the contacts between the protein and the ligand (Vangone *et al.*, 2019).

Funding

This work was supported in part by the Grand Est region (France) through the VitEst project. HC was supported by a fellowship from the French Ministry of Research and Higher Education. The funders had no role in study design, data collection and analysis or preparation of the manuscript.

Acknowledgments

We are grateful to our colleagues of the Unité Expérimentale Agronomique et Viticole (UEAV) at INRAE-Colmar (France) for maintaining the vineyard plots. We thank Fabrice Neiers and Mathieu Schwartz (CSGA, Dijon, France) for valuable advice about optimization of the gene synthesis and cloning procedure into the pET22b vector.

Author contributions

HC, AMG and PH designed the research, interpreted the data and wrote the manuscript, with input from all authors. HC, GR and AMG performed wood sampling and metabolomic analyses; HC, GB, VD, GA, KA and ED conducted genetic analyses; HC, ML, AV and CR performed genomic analyses; SR conducted protein modeling analyses; HC, JFC and PH performed enzyme kinetics experiments; CIAB and RT conducted evolutionary analyses; PH supervised the study and the acquisition of fundings.

Supplementary data:

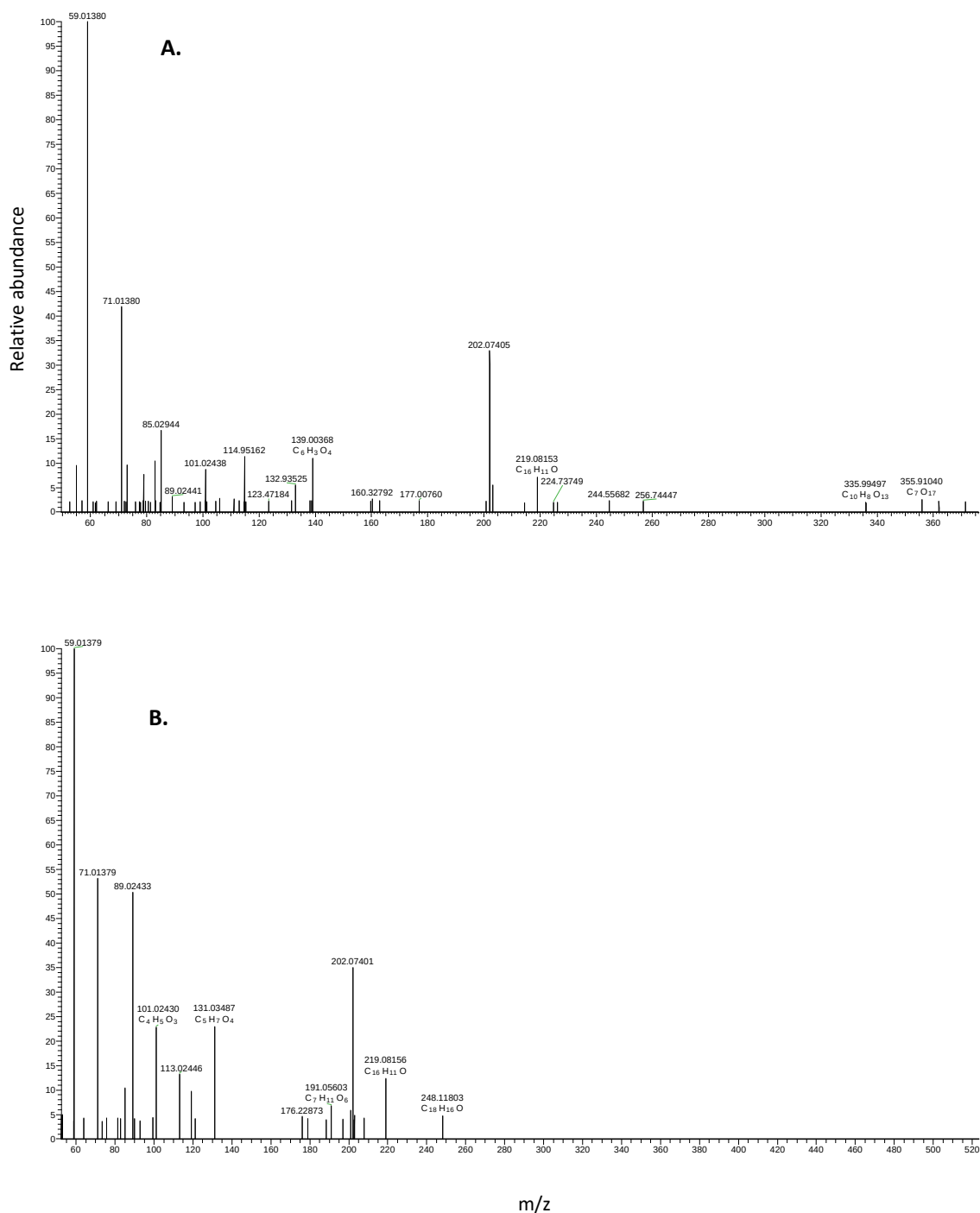


Figure S1: MS/MS spectra of M345T195 (A) and M493T380 (B) in negative ionization mode.

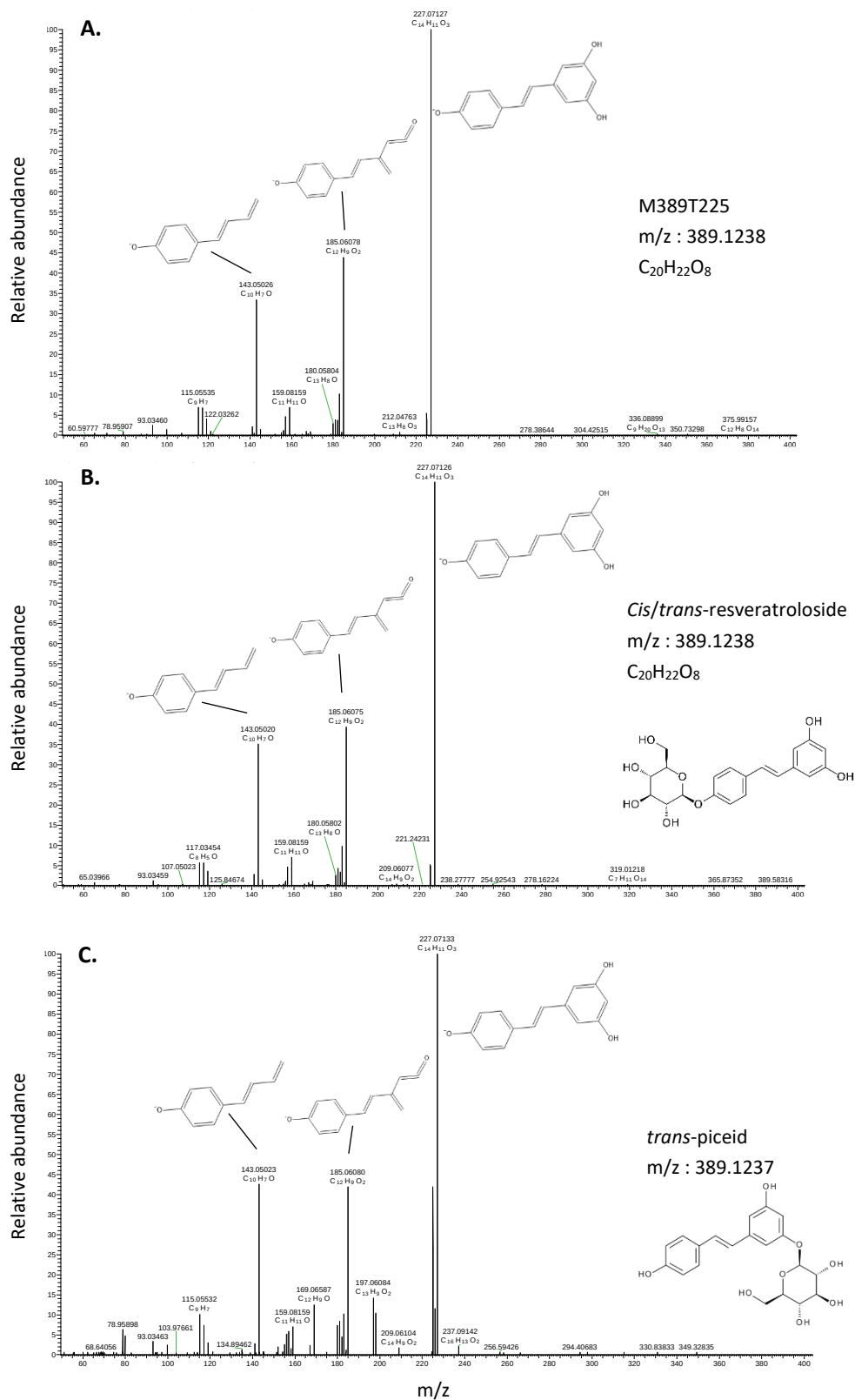


Figure S2: MS/MS spectra of M389T225 (A), putative resveratrolside (B) and *trans*-piceid standard (C) in negative ionization mode.

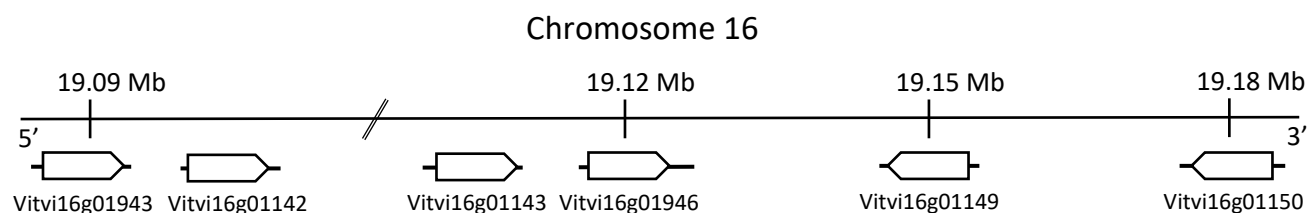


Figure S3: Genomic structure of the UGT gene cluster on chromosome 16, based on the PN40024_v4 genome. Boxes indicate the coding sequences of the indicated genes.

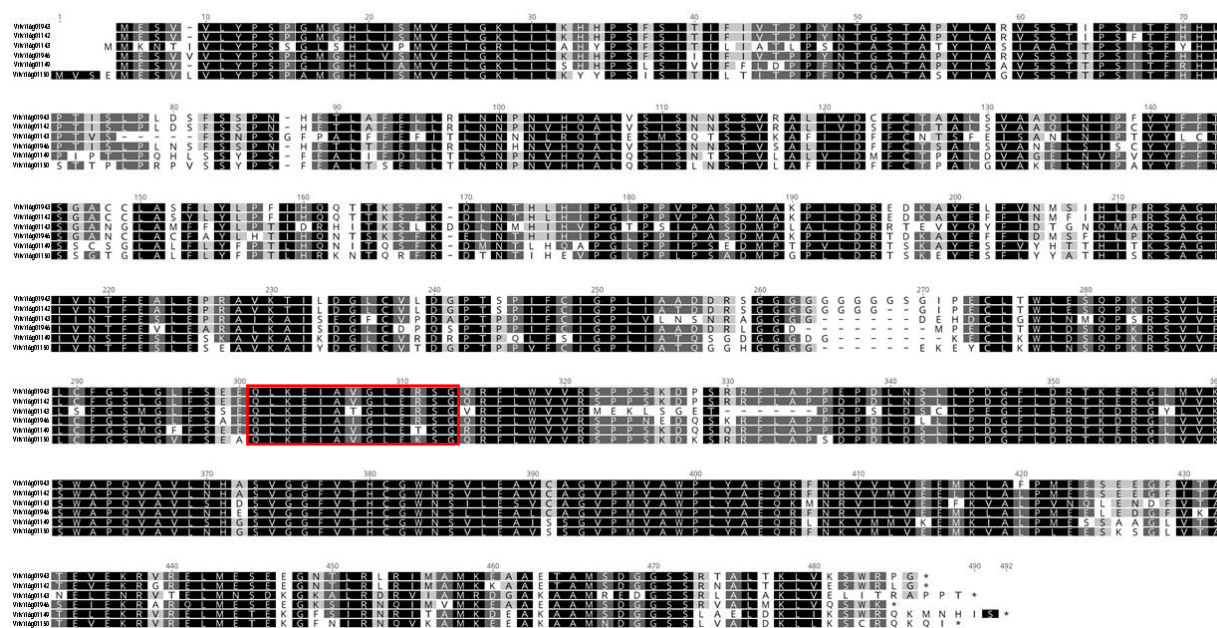


Figure S4: Alignment of the amino acid sequences of the six putative UGTs based on Ri genome sequence. Red square highlights the conserved domain involved in UDP-glucose recognition. The black and gray shading represents identical and similar amino acids, respectively.

Chapitre 1 : Étude du déterminisme génétique de la composition des extractibles du bois de vigne

Table S1 : reproducible mQTLs on non-targeted metabolomics analyses of vine shoots and wood from the Ri x Gw population for the years 2020, 2021 and 2022.

Identifier	Formula	Putative annotations	Tissues	Year	Map	Chr	LOD score	Peak LOD (cM)	LOD interval (cM)	Physical position of LOD interval (Mbps)
M345T195	C16H26O8	Picrocrocinic acid	Trunk	2022	GW	5	19,2	15,08	15.1 - 17.5	3.51 - 4.05
			Cane	2020			11	16,67	15.1 - 19.1	3.51 - 4.44
			Cane	2021			11,8	16,67	15.1 - 19.1	3.51 - 4.44
			Cane	2022			9	15,88	13.5 - 17.5	3.44 - 4.05
M493T380	C22H38O12	Acuminoside + formic acid	Trunk	2022	GW	5	8,5	17,46	12.3 - 19.1	3 - 4.44
			Cane	2020			7	16,67	9.5 - 19.1	1.91 - 4.44
			Cane	2021			8,4	16,67	9.5 - 39.4	1.91 - 6.6
			Cane	2022			11,9	15,88	15.1 - 17.5	3.51 - 4.05
M480T385	C21H37NO11	N.A	Trunk	2022	GW	5	16,4	15,88	15.1 - 17.5	3.53 - 4.05
			Cane	2020			7,5	19,85	9.5 - 22.6	1.91 - 5.52
			Cane	2021			13,8	19,85	9.5 - 19.8	1.91 - 4.80
			Cane	2022			10,7	15,08	15.1 - 17.5	3.53 - 4.05
M485T385	N.A	N.A	Trunk	2022	GW	5	16,6	15,88	13.9 - 16.7	3.36 - 4.03
			Cane	2020			10,2	16,67	15.1 - 19.8	3.51 - 4.8
			Cane	2021			15,25	19,85	9.1 - 19.8	2.26 - 4.8
			Cane	2022			8,93	15,08	10.3 - 17.5	2.77 - 4.05
M257T91	C13H20O5	N.A	Trunk	2022	RI	6	15,7	29,37	27 - 31	6.75 - 8.06
			Cane	2020			6,3	31,75	29.4 - 44.8	7.44 - 17.34
			Cane	2021			6,3	37,31	32.5 - 49.2	8.58 - 18.59
			Cane	2022			6,4	31,36	27.4 - 33.7	6.78 - 9.06
M589T535	C30H32O10	Pierotin A	Trunk	2022	RI	6	9,5	31,36	28.2 - 40.1	7.14 - 14.03
			Cane	2020			3,2	29,37	18.3 - 43.3	4.57 - 17.31
			Cane	2021			12,1	39,29	31.4 - 46	8.1 - 17.68
			Cane	2022			6	29,77	25.8 - 35.3	6.28 - 10.73
M699T530	C39H38O12	Dadahol A	Trunk	2022	RI	6	5,7	29,77	22.6 - 42.5	4.57 - 16.64
			Cane	2020			29,4	31,75	18.3 - 43.3	4.57 - 17.31
			Cane	2021			8,1	38,9	15.9 - 43.3	3.86 - 17.31
			Cane	2022			3,9	31,36	25.8 - 35.3	6.28 - 10.73
M463T92	C20H32O12	N.A	Trunk	2022	RI	6	14,4	31,36	28.6 - 33.7	7.28 - 9.06
			Cane	2020			8,3	37,71	28.6 - 44.5	7.28 - 17.45
			Cane	2021			4,5	36,52	31.4 - 43.3	8.1 - 17.31
			Cane	2022			4,8	31,36	18.3 - 33.7	4.57 - 9.06
M525T116	C25H34O12	N.A	Trunk	2022	RI	6	10,1	31,36	27.8 - 35.3	7.07 - 10.55
			Cane	2020			5,5	29,37	22.2 - 43.3	5.27 - 17.31
			Cane	2021			3,2	36,91	23.4 - 43.3	5.56 - 17.31
			Cane	2022			3,2	36,91	23.4 - 43.3	5.56 - 17.31
M729T534	C40H42O13	threo-carolignan E	Trunk	2022	RI	6	8,6	39,29	31 - 47.2	8.07 - 17.94
			Cane	2020			3,1	25,01	0 - 46.4	0.8 - 17.75
			Cane	2021			11,4	39,9	20.6 - 40.5	5.02 - 14.42
			Cane	2022			5,6	31,36	22.2 - 33.7	5.27 - 9.06
M745T534	C40H42O14	N.A	Trunk	2022	RI	6	8,8	30,96	25.8 - 33.7	6.28 - 9.06

Chapitre 1 : Étude du déterminisme génétique de la composition des extractibles du bois de vigne

			Cane	2020			4,4	31,75	18.3 - 46.8	4.71 - 17.79
			Cane	2021			8,1	46,44	30.2 - 46.8	7.92 - 17.79
			Cane	2022			3	32,55	15.9 - 39.3	3.86 - 13.81
M331T195	C19H22O5	Gibberellin A5/A7	Trunk	2022	RI	8	13,4	54,79	52.4 - 58.4	16.7 - 18.14
			Cane	2020			6,8	46,06	34.5 - 50.4	11.6 - 16.42
			Cane	2021			4,2	43,67	39.7 - 48.4	12.54 - 15.75
			Cane	2022			3,1	53,2	41.7 - 63.9	13.32 - 19.96
			Trunk	2022			10,9	56,37	52.4 - 60.7	16.7 - 18.80
M585T387	C31H38O11	Baccatin III	Cane	2020	RI	8	7,2	50,42	45.3 - 55.2	14.59 - 17.41
			Cane	2021			5,7	45,26	39.7 - 56	12.54 - 17.59
			Cane	2022			3,8	65,1	43.7 - 68.3	14.55 - 21.44
			Trunk	2022			21,6	57,56	56 - 59.2	17.59 - 18.22
M571T324	C30H36O11	N.A	Cane	2020	RI	8	13	55,18	53.6 - 57.6	16.93 - 18.01
			Cane	2021			16	55,18	54.8 - 57.2	17.4 - 17.87
			Cane	2022			20	56,37	52.4 - 57.2	16.7 - 17.87
			Trunk	2022			15,9	57,17	54.8 - 57.6	17.4 - 18.01
M567T198	C27H36O13	N.A	Cane	2020	RI	8	6,1	55,98	46.1 - 57.2	14.62 - 17.87
			Cane	2021			5,2	45,26	39.7 - 50.4	12.54 - 16.42
			Cane	2022			4,7	53,2	43.7 - 59.9	14.55 - 18.67
			Trunk	2022			6,3	8,73	6.7 - 12.7	2.37 - 5.53
M325T97	C15H20N2O6	N.A	Cane	2020	RI	10	5,6	10,32	0.8 - 18.7	0.25 - 8.03
			Cane	2021			13,7	10,32	6.7 - 12.7	2.37 - 5.53
			Cane	2022			12,8	8,73	6.7 - 10.7	2.37 - 4.56
			Trunk	2022			7,66	8,73	2.4 - 9.9	1.63 - 4.54
M325T97	C15H20N2O6	N.A	Cane	2020	GW	10	6,05	7,54	5.6 - 9.9	2.43 - 4.54
			Cane	2021			3,18	7,94	0 - 9.9	1.05 - 4.54
			Cane	2022			3,66	5,16	0 - 18.3	1.05 - 6.08
			Trunk	2022			6,4	9,92	2 - 11.5	0.37 - 5.01
M485T97	C21H30N2O11	N.A	Cane	2020	RI	10	5,1	15,08	2 - 16.3	0.37 - 6.56
			Cane	2021			13,3	45,26	6.7 - 13.1	2.37 - 5.92
			Cane	2022			12,1	8,73	4.8 - 9.1	1.58 - 3.82
			Trunk	2022			3,9	78,2	64.3 - 79.4	25.93 - 30.75
M247T113	C6H15O8P	Glycerophosphoglycerol	Cane	2020	RI	14	4,4	52,39	31 - 61.9	13.27 - 25.8
			Cane	2021			6,2	64,31	52.4 - 79.4	22.41 - 30.75
			Cane	2022			4,5	65,5	46.8 - 67.5	21.95 - 26.72
			Trunk	2022			4,2	67,48	59.9 - 73.8	25.49 - 29.57
M423T97	C18H32O11	N.A	Cane	2020	RI	14	12	64,7	64.3 - 66.3	25.93 - 26.57
			Cane	2021			10,4	67,48	66.3 - 69.9	26.57 - 27.74
			Cane	2022			17,9	66,29	61.9 - 66.7	25.7 - 26.61
			Trunk	2022			4,8	70,26	59.1 - 73.8	25.47 - 29.57
M449T192	C29H34O11	N.A	Cane	2020	RI	14	6,7	65,1	64.3 - 66.7	25.93 - 26.61
			Cane	2021			4,6	68,67	61.5 - 79.4	25.67 - 30.75
			Cane	2022			8,9	66,29	56 - 66.7	24.06 - 26.61
			Trunk	2022			13,5	28,98	26.6 - 34.9	16 - 18.17
M373T66	C16H22O10	Scologonate	Trunk	2022	GW	15				

Chapitre 1 : Étude du déterminisme génétique de la composition des extractibles du bois de vigne

			Cane	2020			6,2	27	23 - 29.4	14.85 - 19.9
			Cane	2021			5,4	28,89	26.6 - 29.4	16 - 20.04
			Cane	2022			7,4	28,89	26.6 - 42.1	16 - 20.1
M197T93	C10H12O4	Cantharidine	Trunk	2022	GW	15	7,8	24,61	19.1 - 29.4	13.75 - 16.37
			Cane	2020			7,9	26,99	23 - 28.6	14.85 - 16.28
			Cane	2021			8,7	27,78	25 - 28.6	15.8 - 16.28
			Cane	2022			7,5	24,61	23 - 32.55	14.85 - 16.6
			Trunk	2022			4,5	25,01	21 - 38.5	14.47 - 19.76
M227T94	C11H14O5	Genipin/ 3,4,5 Trimethoxyphenylacetic acid	Cane	2020	GW	15	4,7	26,99	19.1 - 29.4	13.75 - 16.37
			Cane	2021			3,3	28,18	23 - 38.5	14.85 - 19.76
			Cane	2022			5,2	26,59	24.6 - 42.1	15.7 - 20.1
			Trunk	2022			16,8	44,47	42.5 - 45.3	18.28 - 19.82
M389T225	C20H22O8	Piceid	Cane	2020	RI	16	17,4	44,47	42.5 - 46.1	18.28 - 19.9
			Cane	2021			13,6	44,47	35.3 - 43.9	16.49 - 20.04
			Cane	2022			15,9	44,47	42.1 - 48.8	18.13 - 21.56
			Trunk	2022			17,2	44,47	42.1 - 44.9	18.13 - 19.82
M227T225	C14H12O3	Resveratrol	Cane	2020	RI	16	16,3	44,47	42.5 - 46.1	18.28 - 19.9
			Cane	2021			13,4	44,47	42.5 - 47.2	18.28 - 20.05
			Cane	2022			16,8	44,47	42.1 - 47.6	18.13 - 20.28
			Trunk	2022			5,9	47,71	43.7 - 62.8	1.65 - 5.39
M567T199	C27H36O13	Iariciresinol 4-O-glucoside + Formic acid	Cane	2020	RI	17	14,2	52,87	52.87 - 54.1	11.25 - 11.58
			Cane	2021			8,7	52,87	45.3 - 54.1	8.51 - 11.58
			Cane	2022			13,1	45,3	45.3 - 51.7	8.51 - 11
			Trunk	2022			14,3	67,48	60.3 - 71.8	14.2 - 23.5
M435T334	C21H24O10	Phloridzin	Cane	2020	GW	18	14,1	71,85	70.3 - 75.4	22.83 - 26.46
			Cane	2021			9,1	71,85	70.3 - 71.8	22.83 - 23.5
			Cane	2022			16,4	74,63	71.5 - 75.4	23.26 - 26.46
			Trunk	2022			64,4	36,1	35.7 - 36.1	7.89 - 8.16
M435T98	C20H36O10	Ellagic acid xylopyranoside	Cane	2020	GW	18	9,9	37,31	33.3 - 46.4	7.52 - 10.1
			Cane	2021			9,3	36,51	32.1 - 41.7	7.31 - 9.42
			Cane	2022			19,6	36,12	34.9 - 36.5	7.67 - 8.25
			Trunk	2022			23,9	35,72	34.9 - 36.1	7.67 - 8.16
M433T136	C20H34O10	N.A	Cane	2020	GW	18	9,2	36,51	33.3 - 36.5	7.52 - 8.25
			Cane	2021			8,4	34,93	33.3 - 46.4	7.52 - 10.1
			Cane	2022			13	36,12	35.7 - 36.5	7.89 - 8.25
			Trunk	2022			3,7	78,2	60.3 - 90.1	14.2 - 34.84
M329T95	C14H18O9	1-O-vanilloyl- β -D-glucose	Cane	2020	GW	18	8	77,01	74.2 - 78.2	23.79 - 29.92
			Cane	2021			3,8	78,99	76.2 - 89.7	26.95 - 34.64
			Cane	2022			4,9	90,1	76.2 - 90.1	26.95 - 34.84
			Trunk	2022			32,6	78,2	77 - 78.2	27.67 - 29.92
M329T116	C14H18O9	1-O-vanilloyl- β -D-glucose	Cane	2020	GW	18	3,1	82,57	22.6 - 85.7	4.42 - 33.79
			Cane	2021			4,8	71,85	70.3 - 82.2	22.83 - 31.52
			Cane	2022			6,6	77	71.5 - 80.2	23.26 - 31.52
			Trunk	2022			9,8	4,76	0 - 6.4	0.34 - 1.41
M525T97	C24H30O13	Inumakilactone A glycoside	Trunk	2022	GW	18				

Chapitre 1 : Étude du déterminisme génétique de la composition des extractibles du bois de vigne

			Cane	2020			5,8	5,95	0 - 12.3	0.34 - 2.19
			Cane	2021			4,9	2,78	0 - 20.6	0.34 - 4.2
			Cane	2022			5,3	2,78	0 - 24.2	0.34 - 4.62
M435T334	C21H24O10	Phloridzin	Trunk	2022	RI	18	12,1	79,04	78.6 - 80.6	29.51 - 30.54
			Cane	2020			3,1	78,65	48.9 - 90.2	12.18 - 34.69
			Cane	2021			3,5	84,2	63.6 - 90.6	19.84 - 34.77
			Cane	2022			4,9	67,92	54 - 74.7	13.61 - 28.36
			Trunk	2022			15,2	4,76	0 - 4.8	0 - 1.64
M525T97	C24H30O13	Inumakilactone A glycoside	Cane	2020	RI	18	7,6	4,76	0 - 7.9	0 - 2.32
			Cane	2021			5,3	1,19	0 - 14.3	0 - 4.05
			Cane	2022			5,5	0	0 - 6	0 - 1.78
			Trunk	2022			9,1	71,1	68.3 - 74.7	22.97 - 28.36
M471T286	C28H22O7	Scirpusin A	Cane	2020	RI	18	3,1	71,1	65.9 - 91	22.24 - 34.89
			Cane	2021			5,9	72,68	65.5 - 88.2	21.66 - 33.92
			Cane	2022			11,7	71,1	68.3 - 74.7	22.97 - 28.36
			Trunk	2022			5,8	5,96	0 - 11.1	1.65 - 5.39
M429T300	C18H22O12	N.A	Cane	2020	RI	19	5	0,4	0 - 8.7	1.65 - 3.98
			Cane	2021			3,7	0,4	0 - 8.7	1.65 - 3.98
			Cane	2022			3,1	2,78	0 - 30.2	2.34 - 9.97
			Trunk	2022			5,8	5,96	0 - 11.1	1.65 - 5.39

Table S2: Protein identity between the six UGTs sequences using MUSCLE alignment

	Vitvi16g01943	Vitvi16g01142	Vitvi16g01143	Vitvi16g01946	Vitvi16g01946	Vitvi16g01946
Vitvi16g01943	100%	95%	56%	81%	68%	69%
Vitvi16g01142	95%	100%	56%	81%	68%	69%
Vitvi16g01143	56%	56%	100%	57%	52%	54%
Vitvi16g01946	81%	81%	57%	100%	68%	69%
Vitvi16g01149	68%	68%	52%	68%	100%	77%
Vitvi16g01150	69%	69%	54%	69%	77%	100%

Table S3 : Genes identifier and functional annotation located in the QTL identified by piceid on Riesling chromosome 16

PN40024.v4.2ID	V1_ID	Refseq_ID	Functional_annotation	Best_arabidopsis_match
Vitvi16g01163	VIT_16s0050g01850	LOC100257581	AAA-type ATPase	AT5G52882
Vitvi16g01957	VIT_16s0050g01830	LOC100252698	AAA-type ATPase	AT5G52882
Vitvi16g01144	VIT_16s0050g01620	LOC100245835	ABC transporter G member 14	AT5G52860
Vitvi16g01979	VIT_16s0050g02220	LOC100233088	Acidic endochitinase (CHIB1)	AT5G24090
Vitvi16g01082	VIT_16s0050g00870	LOC100243942	Acyltransferase	AT5G23940
Vitvi16g01123	VIT_16s0050g01380	NA	Ankyrin repeat protein	NA
Vitvi16g01915	VIT_16s0050g00930	LOC100268149	AnthoMATE1, anthocyanin permease AM1	AT4G25640
Vitvi16g01911	VIT_16s0050g00900	LOC100256121	AnthoMATE3, anthocyanin permease AM3	AT4G25640
Vitvi16g01978	VIT_16s0050g02200	LOC100263797	ARM repeat protein-like protein	NA
Vitvi16g01073	VIT_16s0050g00780	LOC100259320	Arsenite transport protein (ArsB)	AT1G02260
Vitvi16g01916	VIT_16s0050g01010	LOC100259304	ATP binding protein	AT5G52545
Vitvi16g01099	VIT_16s0050g01090	LOC100268009	Beta-carotene hydroxylase	AT5G52570
Vitvi16g01078	VIT_16s0050g00830	LOC100249245	Beta-ketoacyl-CoA synthase	AT5G23940
Vitvi16g01161	VIT_16s0050g01790	LOC100262972	BTI3 (VIRB2- interacting protein 3)	AT2G46170
Vitvi16g01080	VIT_16s0050g00850	LOC100249100	C2 domain-containing protein	AT1G75350
Vitvi16g01928	VIT_16s0050g01300	LOC100242355	C2 domain-containing protein	AT5G23950
Vitvi16g01929	VIT_16s0050g01310	LOC100852496	C2 domain-containing protein	AT5G23950
Vitvi16g01932	VIT_16s0050g01400	LOC104882216	C2 domain-containing protein	AT3G16510
Vitvi16g01166	VIT_16s0050g01870	LOC100254162	CAAX amino terminal protease	AT5G60750
Vitvi16g01197	VIT_16s0050g02360	LOC100246753	Carrier protein CGI-69, Mitochondrial	AT4G27940
Vitvi16g01973	VIT_16s0050g02050	NA	Casein kinase II subunit beta'	AT4G17640
Vitvi16g01980	VIT_16s0050g02230	LOC100251796	Chitinase [<i>Vitis vinifera</i>]	AT5G24090
Vitvi16g01126	VIT_16s0050g01420	LOC100257712	Coiled-coil domain-containing protein 111	AT5G52800
Vitvi16g01965	VIT_16s0050g01960	NA	Curculin (mannose-binding) lectin	AT5G24080
Vitvi16g01964	VIT_16s0050g01950	LOC100247451	Disease resistance family protein / LRR family	AT2G34930
Vitvi16g01970	VIT_16s0050g02010	LOC100853108	EIX receptor 1	AT2G34930
Vitvi16g01967	VIT_16s0050g01980	LOC100254307	EIX receptor 2	AT2G34930
Vitvi16g01969	GSVIVT00037814001	LOC100256083	EIX receptor 2	AT2G34930
Vitvi16g01076	VIT_16s0050g00820	LOC100254343	EMB1691 (embryo defective 1691)	AT4G09980
Vitvi16g01135	VIT_16s0050g01500	LOC100254325	EMB2261 (embryo defective 2261)	AT5G52850
Vitvi16g01162	VIT_16s0050g01810	LOC100257844	F-box protein	AT5G52880
Vitvi16g01090	VIT_16s0050g00980	LOC100252447	ferric reduction oxidase 2	AT1G01580
Vitvi16g01091	VIT_16s0050g00990	LOC100247332	ferric reduction oxidase 4	AT5G23980
Vitvi16g01102	VIT_16s0050g01140	LOC104877401	Glutamine cyclotransferase	AT4G25720
Vitvi16g01938	VIT_16s0050g01530	LOC100266393	HcrVf2 protein	AT2G34930
Vitvi16g01940	VIT_16s0050g01550	NA	HcrVf2 protein	AT2G34930
Vitvi16g01103	VIT_16s0050g01150	LOC100257736	Heat shock protein 90-1	AT5G52640
Vitvi16g01926	VIT_16s0050g01240	LOC100252599	Heavy-metal-associated domain-containing protein	AT1G01490
Vitvi16g01074	VIT_16s0050g00790	LOC100264629	Hydroxyproline-rich glycoprotein	AT4G25620
Vitvi16g01199	VIT_16s0050g02370	LOC100258742	Inorganic phosphate transporter 1-3	AT5G43360
Vitvi16g01175	VIT_16s0050g02090	NA	Kinesin motor	NA
Vitvi16g01914	VIT_16s0050g00920	LOC104882194	MATE efflux family protein	AT4G00350
Vitvi16g01915	VIT_16s0050g00910	LOC100250967	MATE efflux family protein	AT4G25640
Vitvi16g01923	VIT_16s0050g01190	LOC100247478	Metal ion binding	AT1G01490
Vitvi16g01113	VIT_16s0050g01290	LOC100256110	Metal transporter CNM4 (Cyclin-M4)	AT5G52790
Vitvi16g01097	VIT_16s0050g01070	LOC100245692	MIND (accumulation and replication of chloroplast 11)	AT5G24020
Vitvi16g01188	VIT_16s0050g02280	LOC100260363	Multidrug resistance-associated protein 14	AT3G59140
Vitvi16g01106	VIT_16s0050g01180	LOC100252586	Myb family	AT5G52660
Vitvi16g01108	NA	LOC100854849	Unknown	NA
Vitvi16g01117	NA	LOC104882189	NF-kappa-B inhibitor cactus-like isoform X1	NA
Vitvi16g01141	NA	LOC100256100	Leucine-rich repeat receptor-like protein kinase PXL1	NA
Vitvi16g01151	NA	NA	Late embryogenesis abundant protein	NA
Vitvi16g01159	NA	LOC104882207	Late embryogenesis abundant protein	NA
Vitvi16g01198	NA	LOC104882171	Mavicyanin-like	NA
Vitvi16g01908	NA	LOC100264493	short-chain dehydrogenase TIC 32, chloroplastic	NA
Vitvi16g01910	NA	LOC104882220	B3 domain-containing protein	NA
Vitvi16g01921	NA	LOC100255958	probable polygalacturonase	NA

Chapitre 1 : Étude du déterminisme génétique de la composition des extractibles du bois de vigne

Vitvi16g01922	NA	LOC100250814	probable polygalacturonase	NA
Vitvi16g01930	NA	LOC104882218	Unknown	NA
Vitvi16g01935	NA	LOC104882214	Protein SRC2	NA
Vitvi16g01936	NA	LOC104882187	Protein SRC2	NA
Vitvi16g01937	NA	LOC100249228	LRR receptor-like serine/threonine-protein kinase FLS2	NA
Vitvi16g01948	NA	LOC104882210	Unknown	NA
Vitvi16g01953	NA	LOC104882182	Late embryogenesis abundant protein	NA
Vitvi16g01959	NA	LOC100252455	Putative membrane-associated kinase regulator 6	NA
Vitvi16g01134	VIT_16s0050g01490	LOC100249252	NADH dehydrogenase (ubiquinone) 1 alpha subcomplex 5	AT5G52840
Vitvi16g01191	VIT_16s0050g02310	LOC100263802	Arabinogalactan peptide 20	NA
Vitvi16g01912	GSVIVT01028884001	LOC104882193	Protein detoxification 35	NA
Vitvi16g01924	VIT_16s0050g01210	NA	Unknown	NA
Vitvi16g01152	GSVIVT00037782001	LOC100250793	Nodulin MtN21 family	AT5G64700
Vitvi16g01958	VIT_16s0050g01840	LOC100247304	Nucleoside triphosphatase	AT5G52882
Vitvi16g01127	VIT_16s0050g01430	LOC100259461	Ornithine cyclodeaminase	AT5G52810
Vitvi16g01184	VIT_16s0050g02250	LOC100248393	Pentatricopeptide (PPR) repeat	AT3G49140
Vitvi16g01129	VIT_16s0050g01450	LOC100247467	Pentatricopeptide (PPR) repeat-containing protein	AT4G21190
Vitvi16g01173	VIT_16s0050g02070	NA	Pentatricopeptide repeat-containing protein	NA
Vitvi16g01100	VIT_16s0050g01120	NA	Polygalacturonase GH28	AT3G61490
Vitvi16g01920	VIT_16s0050g01110	LOC100262858	Polygalacturonase GH28	AT3G48950
Vitvi16g01087	VIT_16s0050g00960	LOC100262997	Prolyl-tRNA synthetase	AT5G52520
Vitvi16g01094	VIT_16s0050g01020	LOC100254190	Protein kinase family	AT5G24010
Vitvi16g01182	VIT_16s0050g02180	LOC100262029	Pyruvate kinase isozyme G, chloroplast precursor	AT5G52920
Vitvi16g01167	VIT_16s0050g01880	LOC100243904	Receptor kinase homolog LRK10	AT5G24080
Vitvi16g04412	VIT_16s0050g02060	LOC100250224	Receptor kinase homolog LRK10	AT1G66920
Vitvi16g01192	VIT_16s0050g02320	LOC100244982	Regulator of nonsense transcripts 1	AT1G65810
Vitvi16g01193	VIT_16s0050g02330	LOC100267290	Regulator of nonsense transcripts 1	AT1G65810
Vitvi16g01194	VIT_16s0050g02340	LOC104882173	Regulator of nonsense transcripts 1	AT1G65810
Vitvi16g01195	VIT_16s0050g02350	LOC100257019	Regulator of nonsense transcripts 1	AT1G65810
Vitvi16g01118	VIT_16s0050g01330	LOC100252438	Retrovirus Pol polyprotein from transposon TNT 1-94	AT3G29785
Vitvi16g01119	VIT_16s0050g01340	LOC100242184	Retrovirus Pol polyprotein from transposon TNT 1-94	AT3G29785
Vitvi16g01081	VIT_16s0050g00860	LOC100261205	Ribosomal protein L31	NA
Vitvi16g01104	VIT_16s0050g01160	LOC100257720	Ribosomal protein S10 (RPS10C) 40S	NA
Vitvi16g01083	VIT_16s0050g00880	LOC100266267	RRNA 2'-O-methyltransferase fibrillarin	AT5G52470
Vitvi16g01086	VIT_16s0050g00950	LOC100261057	Scarecrow-like transcription factor 8	AT5G52510
Vitvi16g01909	VIT_16s0050g00800	LOC100254207	Sec-independent protein translocase protein Tata	AT5G52440
Vitvi16g01966	VIT_16s0050g01970	NA	Serine/threonine protein kinase LRK19	NA
Vitvi16g01101	VIT_16s0050g01130	LOC100267993	Serine/threonine-protein kinase	AT1G01540
Vitvi16g01950	VIT_16s0050g01740	LOC100249217	Serine-threonine protein kinase, plant-type	NA
Vitvi16g01136	VIT_16s0050g01510	LOC100244083	SGT1-2	AT4G11260
Vitvi16g01907	VIT_16s0050g00750	LOC100242214	Short-chain dehydrogenase/reductase	AT4G23420
Vitvi16g01070	VIT_16s0050g00760	LOC100247484	Short-chain dehydrogenase/reductase	AT4G23420
Vitvi16g01164	VIT_16s0050g01860	LOC100242167	SLAH3 (SLAC1 Homologue 3)	AT5G24030
Vitvi16g01963	VIT_16s0050g01940	NA	S-locus lectin protein kinase	NA
Vitvi16g01931	VIT_16s0050g01390	LOC104882217	SRC2/SRC2 (soybean gene regulated BY cold-2)	NA
Vitvi16g01942	VIT_16s0050g01570	LOC100266422	Synbindin TRAPPC1	AT1G51160
Vitvi16g01181	VIT_16s0050g02160	LOC100246656	Timeless ATIM	AT5G52910
Vitvi16g01130	VIT_16s0050g01460	LOC100254350	Translocation protein SEC63	AT1G79940
Vitvi16g01075	VIT_16s0050g00810	LOC104882195	Ubiquitin-protein ligase	NA
Vitvi16g01149	VIT_16s0050g01660	LOC100254171	UDP-glucuronosyl/UDP-glucosyl transferase UGT88A1	NA
Vitvi16g01142	VIT_16s0050g01590	LOC100256130	UDP-glucose: anthocyanidin 5,3-O-glucosyltransferase	AT3G16520
Vitvi16g01150	VIT_16s0050g01680	LOC100268157	UDP-glucose: anthocyanidin 5,3-O-glucosyltransferase	AT3G16520

Vitvi16g01943	VIT_16s0050g01580	LOC100261214	UDP-glucose: anthocyanidin 5,3-O-glucosyltransferase	AT3G16520
Vitvi16g01143	VIT_16s0050g01600	LOC100247310	UDP-glycosyltransferase 88A4	AT3G16520
Vitvi16g01946	VIT_16s0050g01610	LOC100250976	UDP-glycosyltransferase 88A4	AT3G16520
Vitvi16g01089	VIT_16s0050g00970	LOC104882192	Unknown	NA
Vitvi16g01098	VIT_16s0050g01080	LOC100855090	UDP-N-acetylmuramate-L-alanine ligase	NA
Vitvi16g01105	VIT_16s0050g01170	LOC104882190	Unknown	NA
Vitvi16g01112	VIT_16s0050g01260	LOC100266405	unknown	AT5G52780
Vitvi16g01121	VIT_16s0050g01350	LOC104882188	Unknown	NA
Vitvi16g01146	VIT_16s0050g01650	LOC104882184	Late embryogenesis abundant protein	NA
Vitvi16g01183	VIT_16s0050g02190	LOC100241527	Unknown	NA
Vitvi16g01941	VIT_16s0050g01560	LOC100262982	trafficking protein particle complex subunit 1 isoform X1	NA
Vitvi16g01951	VIT_16s0050g01750	LOC104882183	Late embryogenesis abundant protein	NA
Vitvi16g01952	VIT_16s0050g01760	LOC104882208	Late embryogenesis abundant protein	NA
Vitvi16g01954	VIT_16s0050g01770	LOC104882181	Late embryogenesis abundant protein	NA
Vitvi16g01960	VIT_16s0050g01890	NA	Unknown	NA
Vitvi16g01968	VIT_16s0050g01990	LOC100854653	Unknown	NA
Vitvi16g01982	VIT_16s0050g02300	NA	Unknown	NA
Vitvi16g01079	VIT_16s0050g00840	LOC100244074	Unknown protein	AT3G49070
Vitvi16g01093	VIT_16s0050g01000	LOC100264478	membrane protein Yjcl	AT5G52540
Vitvi16g01095	VIT_16s0050g01050	LOC100255969	deSI-like protein At4g17486	AT4G25660
Vitvi16g01096	VIT_16s0050g01060	LOC100250830	Unknown protein	AT4G25670
Vitvi16g01128	VIT_16s0050g01440	LOC100252576	Unknown protein	AT3G49140
Vitvi16g01131	VIT_16s0050g01470	LOC100242331	Unknown protein	AT5G62650
Vitvi16g01185	VIT_16s0050g02260	LOC100243267	Unknown protein	AT5G52950
Vitvi16g01187	VIT_16s0050g02270	LOC100241531	Unknown protein	AT5G52960
Vitvi16g01190	VIT_16s0050g02290	LOC100255280	Unknown protein	AT5G53220
Vitvi16g01981	VIT_16s0050g02240	LOC100246662	protein CURVATURE THYLAKOID 1A	AT4G01150
Vitvi16g01171	VIT_16s0050g02000	LOC100261168	WD40	NA
Vitvi16g01132	VIT_16s0050g01480	LOC104882213	WRKY DNA-binding protein 27	NA
Vitvi16g01133	GSVIT00037762001	LOC104882212	WRKY DNA-binding protein 27	AT5G52830
Vitvi16g01071	VIT_16s0050g00770	LOC100242348	YDA (YODA)	AT1G63700
Vitvi16g01919	VIT_16s0050g01100	NA	Zinc finger (C2H2 type) family	AT1G72050

Table S4 : Kd (μM) calculated from the molecular dynamics trajectories.

	Vitvi16g01943	Vitvi16g01946	Vitvi16g01150
trans-Resvératrol	1.14 ± 0.22	1.11 ± 0.36	0.78 ± 0.14
cis-Resvératrol	0.86 ± 0.16	2.04 ± 0.31	2.17 ± 0.22

REFERENCES

- Abidon C. Les maladies du bois Esca et BDA en Alsace : bilan 2003-2016 du réseau d'observation. *Vins Alsace* 2016; 12: 14–16.
- Abraham, M.J., Murtola, T., Schulz, R., Páll, S., Smith, J.C., Hess, B., & Lindahl, E. (2015). GROMACS: High performance molecular simulations through multi-level parallelism from laptops to supercomputers. *SoftwareX*, 1–2 19–25.
- Arnold, G., Prado, E., Vincent, D., Butterlin, G., Duchêne, E., Avia, K., Merdinoglu, D. (2023). Discovery of a locus associated with susceptibility to esca dieback in grapevine. *10.20.563213*.
- Baroi, A. M., Popitiu, M., Fierascu, I., Sărdărescu, I.-D., & Fierascu, R. C. (2022). Grapevine Wastes : A Rich Source of Antioxidants and Other Biologically Active Compounds. *Antioxidants*, 11(2), Article 2.
- Battilana, J., Costantini, L., Emanuelli, F., Sevini, F., Segala, C., Moser, S., Velasco, R., Versini, G., & Grando, M. S. (2009). The 1-deoxy-d-xylulose 5-phosphate synthase gene co-localizes with a major QTL affecting monoterpene content in grapevine. *Theoretical and Applied Genetics*, 118(4), 653-669.
- Bönisch, F., Frotscher, J., Stanitzek, S., Rühl, E., Wüst, M., Bitz, O., & Schwab, W. (2014). A UDP-Glucose:Monoterpenol Glucosyltransferase Adds to the Chemical Diversity of the Grapevine Metabolome. *Plant Physiology*, 165(2), 561-581.
- Broman, KW., Wu, H., Sen, S., Churchill, GA. (2003). R/qtl: QTL mapping in experimental crosses. *Bioinformatics*, 19: 889–890
- Chedid, E., Avia, K., Dumas, V., Ley, L., Reibel, N., Butterlin, G., Soma, M0, Lopez-Lozano, R0, Baret, F., Merdinoglu, D., Duchêne, É. (2023). LiDAR Is Effective in Characterizing Vine Growth and Detecting Associated Genetic Loci. *Plant Phenomics*, 5:0116.
- Chitarrini, G., Soini, E., Riccadonna, S., Franceschi, P., Zulini, L., Masuero, D., Vecchione, A., Stefanini, M., Di Gaspero, G., Mattivi, F., & Vrhovsek, U. (2017). Identification of Biomarkers for Defense Response to Plasmopara viticola in a Resistant Grape Variety. *Front. Plant Sci*, 8:1524.
- Chong, J., Poutaraud, A., & Huguency, P. (2009). Metabolism and roles of stilbenes in plants. *Plant Science*, 177(3), 143-155.
- Duchêne, E., Butterlin, G., Claudel, P., Dumas, V., Jaegli, N., & Merdinoglu, D. (2009). A grapevine (*Vitis vinifera* L.) deoxy-d-xylulose synthase gene colocates with a major quantitative trait loci for terpenol content. *Theoretical and Applied Genetics*, 118(3), 541-552.
- Duchêne, E., Butterlin, G., Claudel, P., Dumas, V., Jaegli, N., Huguency, P., Arnold, G., Merdinoglu, D. (2017). Genetic determinism of the 'Muscat' flavour in grapevine (*Vitis vinifera* L.) cultivars. *Acta Horticulturae*, 1157: 87-92.
- Fan, X., Fan, Z., Yang, Z., Huang, T., Tong, Y., Yang, D., Mao, X., & Yang, M. (2022). Flavonoids—Natural Gifts to Promote Health and Longevity. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(4), 2176.
- Gachon, C. M., M. Langlois-Meurinne and P. Saindrenan. (2005). Plant secondary metabolism glycosyltransferases: the emerging functional analysis. *Trends Plant Sci*, 10: 542–549.
- Ganthaler, A., Stöggel, W., Mayr, S., Kranner, I., Schüller, S., Wischnitzki, E., Sehr, E.M., Fluch, S., Trujillo-Moya, C. (2017). Association genetics of phenolic needle compounds in Norway spruce with variable susceptibility to needle bladder rust. *Plant Mol. Biol.* 94, 229–251.
- Godshaw, J., Hjelmeland, A. K., Zweigenbaum, J., & Ebeler, S. E. (2019). Changes in glycosylation patterns of monoterpenes during grape berry maturation in six cultivars of *Vitis vinifera*. *Food Chemistry*, 297, 124921.
- Goufo, P., Singh, R. K., & Cortez, I. (2020). A Reference List of Phenolic Compounds (Including Stilbenes) in Grapevine (*Vitis vinifera* L.) Roots, Woods, Canes, Stems, and Leaves. *Antioxidants*, 9(5), 398.
- Hall, D., & De Luca, V. (2007). Mesocarp localization of a bifunctional resveratrol/hydroxycinnamic acid glucosyltransferase of Concord grape (*Vitis labrusca*). *The Plant Journal: For Cell and Molecular Biology*, 49(4), 579-591.
- Härtl, K., Huang, F.-C., Giri, A. P., Franz-Oberdorf, K., Frotscher, J., Shao, Y., Hoffmann, T., & Schwab, W. (2017). Glucosylation of Smoke-Derived Volatiles in Grapevine (*Vitis vinifera*) is Catalyzed by a Promiscuous Resveratrol/Guaiacol Glucosyltransferase. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 65(28), 5681-5689.
- Hjelmeland, A. K., Zweigenbaum, J., & Ebeler, S. E. (2015). Profiling monoterpene glycoconjugation in *Vitis vinifera* L. cv. Muscat of Alexandria using a novel putative compound database approach, high resolution mass spectrometry and collision induced dissociation fragmentation analysis. *Analytica Chimica Acta*, 887, 138-147.
- Jumper, J. et al (2021). Highly accurate protein structure prediction with AlphaFold. *Nature*, 596, 583–589.
- Labois, C., Wilhelm, K., Laloue, H., Tarnus, C., Bertsch, C., Goddard, M.-L., & Chong, J. (2020). Wood Metabolomic Responses of Wild and Cultivated Grapevine to Infection with *Neofusicoccum parvum*, a Trunk Disease Pathogen. *Metabolites*, 10(6), 232.
- Loupit, G., Prigent, S., Franc, C., De Revel, G., Richard, T., Cookson, S. J., & Fonayet, J. V. (2020). Polyphenol Profiles of Just Pruned Grapevine Canes from Wild *Vitis* Accessions and *Vitis vinifera* Cultivars. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 68(47), 13397-13407.
- Maharjan, R., Fukuda, Y., Shimomura, N., Nakayama, T., Okimoto, Y., Kawakami, K., Nakayama, T., Hamada, H., Inoue, T., & Ozaki, S. (2020). An Ambidextrous Polyphenol Glycosyltransferase PaGT2 from *Phytolacca americana*. *Biochemistry*, 59(27), 2551-2561.

- Meng, X., Zhou, J., Zhao, C.-N., Gan, R.-Y., & Li, H.-B. (2020). Health Benefits and Molecular Mechanisms of Resveratrol : A Narrative Review. *Foods (Basel, Switzerland)*, 9(3), 340.
- Mijailovic, N., Nesler, A., Perazzolli, M., Aziz, A., & Essaid, A. B. (2022). Foliar Application of a Tagatose-Based Product Reduces Downy Mildew Symptoms through Induction of Grapevine Resistance and Anti-Oomycete Action. *Agronomy*, 12.
- Offen, W., C. Martinez-Fleites, M. Yang, E. Kiat-Lim, B. G. Davis, C. A. Tarling, C. M. Ford, D. J. Bowles and G. J. Davies. (2006). Structure of a flavonoid glucosyltransferase reveals the basis for plant natural product modification. *EMBO J*, 25: 1396–1405.
- Ono, E., Homma, Y., Horikawa, M., Kunikane-Doi, S., Imai, H., Takahashi, S., Kawai, Y., Ishiguro, M., Fukui, Y., & Nakayama, T. (2010). Functional Differentiation of the Glycosyltransferases That Contribute to the Chemical Diversity of Bioactive Flavonol Glycosides in Grapevines (*Vitis vinifera*). *The Plant Cell*, 22(8), 2856-2871.
- Parage, C., Tavares, R., Réty, S., Baltenweck-Guyot, R., Poutaraud, A., Renault, L., Heintz, D., Lugan, R., Marais, G. A. B., Aubourg, S., & Huguene, P. (2012). Structural, Functional, and Evolutionary Analysis of the Unusually Large Stilbene Synthase Gene Family in Grapevine. *Plant Physiology*, 160(3), 1407-1419.
- Pavela, R., Waffo-Teguo, P., Biais, B., Richard, T., & Méillon, J.-M. (2017). *Vitis vinifera* canes, a source of stilbenoids against Spodoptera littoralis larvae. *Journal of Pest Science*, 90(3), 961-970.
- Romero-Perez, A. I.; Lamuela-Raventos, R. M.; Buxaderas, S.; de la Torre-Boronat, R. C. (1996). Resveratrol and piceid as varietal markers of white wines. *Agric. Food Chem*, 44, 1975- 1978.
- Schnee, S., Viret, O., & Gindro, K. (2008). Role of stilbenes in the resistance of grapevine to powdery mildew. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 72(4), 128-133. 7
- Stackpole, DJ., Vaillancourt, RE., Alves, A., Rodrigues, J., Potts, B.M. (2011). Genetic Variation in the Chemical Components of Eucalyptus globulus Wood. *G3: Genes Genomes Genetics*, 1(2):151-9.
- Stempien, E., Goddard, M.-L., Leva, Y., Bénard-Gellon, M., Laloue, H., Farine, S., Kieffer-Mazet, F., Tarnus, C., Bertsch, C., & Chong, J. (2018). Secreted proteins produced by fungi associated with Botryosphaeria dieback trigger distinct defense responses in *Vitis vinifera* and *Vitis rupestris* cells. *Protoplasma*, 255(2), 613-628.
- Stempien, E., Goddard, M.-L., Wilhelm, K., Tarnus, C., Bertsch, C., & Chong, J. (2017). Grapevine Botryosphaeria dieback fungi have specific aggressiveness factor repertoire involved in wood decay and stilbene metabolism. *PLOS ONE*, 12(12), e0188766.
- Tarasov, D., Leitch, M., & Fatehi, P. (2018). Lignin-carbohydrate complexes : Properties, applications, analyses, and methods of extraction: a review. *Biotechnology for Biofuels*, 11(1), 269.
- Teh, S. L., Rostandy, B., Awale, M., Luby, J. J., Fennell, A., & Hegeman, A. D. (2019). Genetic analysis of stilbenoid profiles in grapevine stems reveals a major mQTL hotspot on chromosome 18 associated with disease-resistance motifs. *Horticulture Research*, 6(1), Article 1.
- Vannozzi, A., Dry, I.B., Fasoli, M. et al. (2012). Genome-wide analysis of the grapevine stilbene synthase multigenic family: genomic organization and expression profiles upon biotic and abiotic stresses. *BMC Plant Biol* 12, 130.
- Valette, N., Perrot, T., Sormani, R., Gelhaye, E., & Morel-Rouhier, M. (2017). Antifungal activities of wood extractives. *Fungal Biology Reviews*, 31(3), 113-123.
- VanEtten, H. D., Mansfield, J. W., Bailey, J. A., & Farmer, E. E. (1994). Two Classes of Plant Antibiotics : Phytoalexins versus « Phytoanticipins ». *The Plant Cell*, 6(9), 1191-1192.
- Vangone A, Schaarschmidt J, Koukos P, Geng C, Citro N, Trellet M, Xue L, Bonvin A. (2019). Large-scale prediction of binding affinity in protein–small ligand complexes: the PRODIGY-LIG web server. *Bioinformatics* 35, 1585–1587
- Velt, A., Frommer, B., Blanc, S., Holtgräwe, D., Duchêne, É., Dumas, V., Grimplet, J., Huguene, P., Kim, C., Lahaye, M., Matus, J. T., Navarro-Payá, D., Orduña, L., Tello-Ruiz, M. K., Vitulo, N., Ware, D., & Rustenholz, C. (2023). An improved reference of the grapevine genome reasserts the origin of the PN40024 highly homozygous genotype. *G3 (Bethesda, Md.)*, 13(5).
- Vezzulli, S., Malacarne, G., Masuero, D., Vecchione, A., Dolzani, C., Goremykin, V., Mehari, Z. H., Banchi, E., Velasco, R., Stefanini, M., Vrhovsek, U., Zulini, L., Franceschi, P., & Moser, C. (2019). The Rpv3-3 Haplotype and Stilbenoid Induction Mediate Downy Mildew Resistance in a Grapevine Interspecific Population. *Frontiers in Plant Science*, 10.
- Vogt, T.; Jones, P. (2000). Glycosyltransferases in plant natural product synthesis: Characterization of a supergene family. *Trends Plant Sci*, 5, 380–386.
- Wang, X. (2009) Structure, mechanism and engineering of plant natural product glycosyltransferases. *FEBS Lett*, 583, 3303-3309.
- Wei,Y.;Mu,H.;Xu,G.; Wang, Y.; Li, Y.; Li, S.; Wang, L. (2021). Genome-Wide Analysis and Functional Characterization of the UDP-Glycosyltransferase Family in Grapes. *Horticulturae*, 7, 204.
- Yin, Q., Shen, G., Chang, Z., Tang, Y., Gao, H., & Pang, Y. (2016). Involvement of three putative glucosyltransferases from the UGT72 family in flavonol glucoside/rhamnoside biosynthesis in *Lotus japonicus* seeds. *Journal of experimental botany*, 68.
- Yu, C., Lam, C., Springob, K., Schmidt, J., Chu, I., Lo, C. (2006). Constitutive accumulation of cis-piceid in transgenic Arabidopsis overexpressing a sorghum stilbene synthase gene. *Plant Cell Physiol*, 47: 1017-1021.
- Zou C, Massonnet M, Minio A, Patel S, Llaca V, Karn A, Gouker F, Cadle-Davidson L, Reisch B, Fennell A, Cantu D, Sun Q, Londo JP. (2021). Multiple independent recombinations led to hermaphroditism in grapevine. *Proceed Nat Acad Sci*, 118(15).

3. Déterminisme génétique de la biosynthèse des oligomères de stilbènes

3.1. Introduction

Précédemment, nous avons mis en évidence l'efficacité de la recherche de QTLs sur la base de données de métabolomique non-ciblée. Cela nous a permis de mettre en évidence de nombreux hotspots de mQTLs, indiquant autant de régions chromosomiques contrôlant la biosynthèse et l'accumulation de ces ions. Nous nous sommes ainsi intéressés à l'une d'entre elle, impliquée dans la biosynthèse du *trans*-picéide, et avons réussi à caractériser le gène gouvernant ce phénotype. De nombreux autres hotspots restent néanmoins à étudier, dont l'un d'entre eux, localisé sur le chr 18 autour de la position 70 cM a retenu notre attention. Cette région semble contrôler la biosynthèse et l'accumulation d'un nombre important de métabolites compte tenu du nombre très élevé d'ions colocalisant à ce niveau. De plus, les importants LOD scores suggèrent qu'elle a un rôle très important dans la variabilité des phénotypes.

Ce chapitre va donc s'atteler à l'exploration préliminaire de cette région chromosomique. Dans un premier temps, nous identifierons les métabolites ou familles de métabolites dont l'accumulation est contrôlée par cette région chromosomique à l'aide des données de métabolomique non ciblée obtenues sur les sarments en 2020, 2021 et 2022. Nous analyserons ensuite les gènes présents dans l'intervalle de confiance du QTL afin de dresser une liste des gènes candidats les plus probables selon leur fonction.

3.2. Résultats et discussion

3.2.1. Identification des métabolites colocalisant un hotspot sur le chr 18

La recherche de mQTLs sur les données analytiques de 2020 met en évidence la colocalisation de 105 ions, en mode d'ionisation négative et positive confondus, au niveau d'une région chromosomique comprise entre 70 et 90 cM sur la carte génétique du Ri, avec un LOD score maximum de 19.1 (Figure 18). En 2021, 108 ions colocalisent avec un LOD score maximum de 25.3 et enfin en 2022, 61 ions colocalisent avec un LOD score maximum de 39.1. Bien qu'un certain nombre d'ions soient situés entre 80 et 90 cM, leur intervalle de confiance englobe également la région autour des 70 cM, indiquant qu'il s'agit bien d'un unique hotspot.

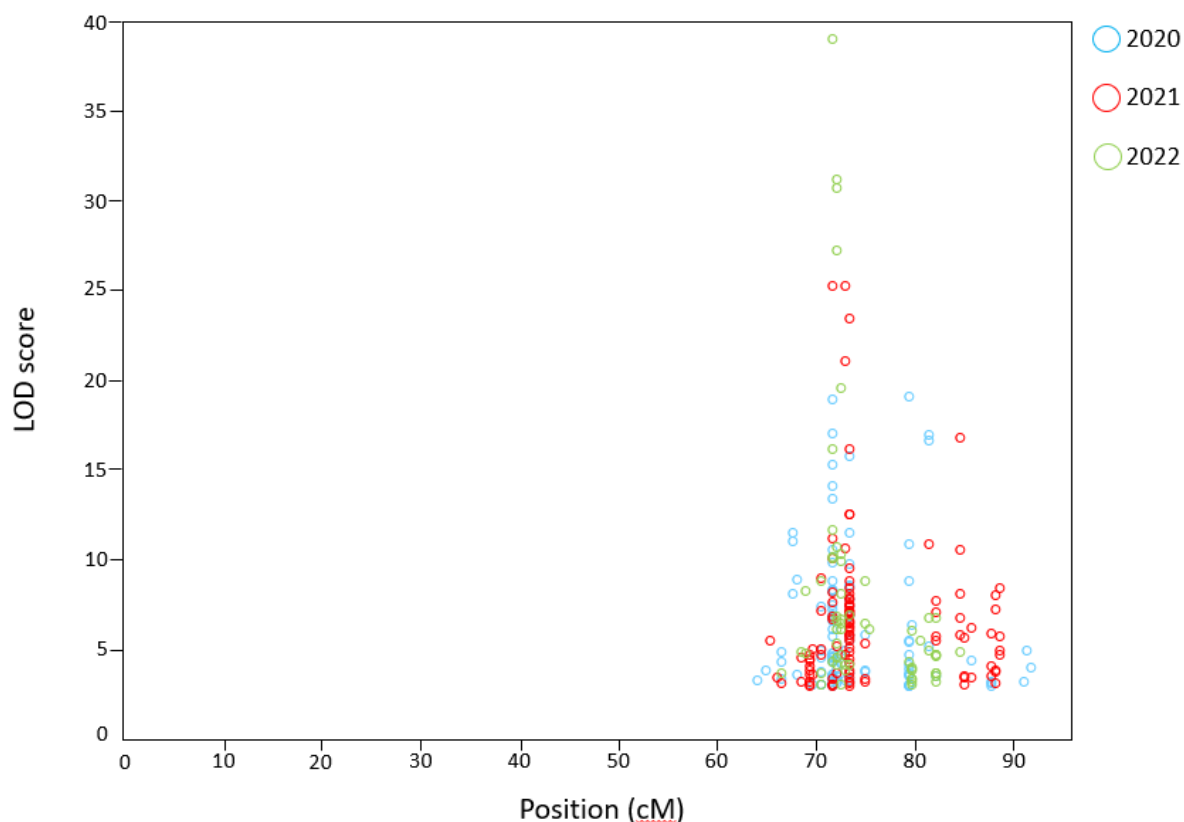


Figure 18 : mQTLs détecté sur le chr 18 avec la carte génétique du Ri, sur les données de métabolomique globale des sarments de la population Ri x Gw en 2020, 2021 et 2022 ($p_{value} \leq 0.05$). Chaque point représente un ion.

Nous avons mené une identification de ces composés, dont beaucoup semblent être des adduits formés lors de l'ionisation, tels que des adduits sodium, chlore ou encore formiate, fréquents avec une source ESI. Le tableau 7 présente les métabolites identifiés sur les trois années d'analyses. Pour chaque métabolite, les caractéristiques du QTL associées ont été choisies en fonction de l'année et du mode d'ionisation ayant le LOD score le plus élevé. Nous avons pu identifier treize stilbènes différents reproductibles sur les trois années de l'étude, tous étant des oligomères dont les structures sont présentées sur la figure 19.

Tableau 7 : Métabolites identifiés parmi les ions colocalisant le QTL sur le chr 18 de la carte génétique du Ri ($p_{\text{value}} \leq 0.05$).

Formule chimique	m/z	Identification putative / Famille chimique	Position génétique (cM)	Position pic QTL	LOD
[C ₄₂ H ₃₂ O ₉ + H] ⁺	681.211	<i>cis</i> -Miyabénol C	69.9 – 81.4	71.9	10
[C ₄₂ H ₃₂ O ₉ + H] ⁺	681.211	<i>trans</i> -Miyabénol C	71.1 – 71.9	71.5	31.3
[C ₄₂ H ₃₀ O ₉ + H] ⁺	679.1959	α -Viniférine	71.1 – 72.3	72.3	25.4
[C ₅₆ H ₄₂ O ₁₂ + H] ⁺	907.2743	Vitisine A	71.1 – 81.4	74.7	6.21
[C ₅₆ H ₄₄ O ₁₃ - H] ⁻	923.2726	Viniférol E	64 – 72.7	68.72	4.6
[C ₅₆ H ₄₂ O ₁₃ + H] ⁺	923.2703	Dimère de viniféfurane	69.1 – 78.6	71.5	10.8
[C ₂₈ H ₂₂ O ₇ + H] ⁺	471.1437	Caraphénol B	68.3 – 74.7	71.1	11.7
[C ₂₈ H ₂₂ O ₇ + H] ⁺	471.1437	Ampélopsine A	67.9 – 78.6	71.1	10.2
[C ₂₉ H ₂₆ O ₇ + H] ⁺	487.1751	Viniféréther	65.9 – 78.6	69.9	5
[C ₂₈ H ₂₀ O ₇ - H] ⁻	467.1140	Malibatol A	63.6 – 85	71.5	6.2
[C ₂₈ H ₁₈ O ₇ + H] ⁺	467.1124	Hopéafurane	67.1 – 79.8	71.5	6.9
[C ₂₈ H ₂₀ O ₆ + H] ⁺	453.1329	Amurensine H	65.5 – 81.4	72.7	6.3
[C ₄₂ H ₃₂ O ₁₀ - H] ⁻	697.2090	Trimère	71.1 – 74.7	71.9	19.7

Les ions ayant les LOD scores les plus élevés ont été identifiés comme étant des trimères de resvératrol, dont les structures chimiques sont présentées sur la figure 19. Deux trimères de formule C₄₂H₃₂O₉ ont pu être identifiés. Les principaux fragments de leur spectre de masse (Annexe 1) indiquent qu'il s'agirait du *trans*-miyabénol C et du *cis*-miyabénol C. Un troisième trimère, de formule C₄₂H₃₀O₉ correspond vraisemblablement à l' α -viniférine. Enfin, le quatrième trimère de formule chimique C₄₂H₃₂O₁₀ n'a jamais été identifié chez la vigne. Sa formule chimique pourrait correspondre à plusieurs stilbènes, comme le gnémonol A ou la gnétine J. Ainsi, la structure attribuée pour ce métabolite reste putative et l'identité de l'ion nécessiterait confirmation. Deux tétramères de stilbènes ont également pu être identifiés à l'aide de leur spectre de masse. Le premier, de formule C₅₆H₄₂O₁₂ correspond probablement à de la vitisine A, tandis que le second, de formule C₅₆H₄₄O₁₃ à du viniférol E. Les autres stilbènes identifiés correspondent à des dimères de resvératrol, déjà tous identifiés chez la vigne (Goufo et al., 2020), à l'exception d'un dimère de formule C₂₈H₁₈O₇. Ce stilbène, qui n'a pas été identifié chez la vigne, pourrait correspondre à de l'hopéafurane, présent dans le bois d'*Hopea utilis* (Tanaka et al., 2001).

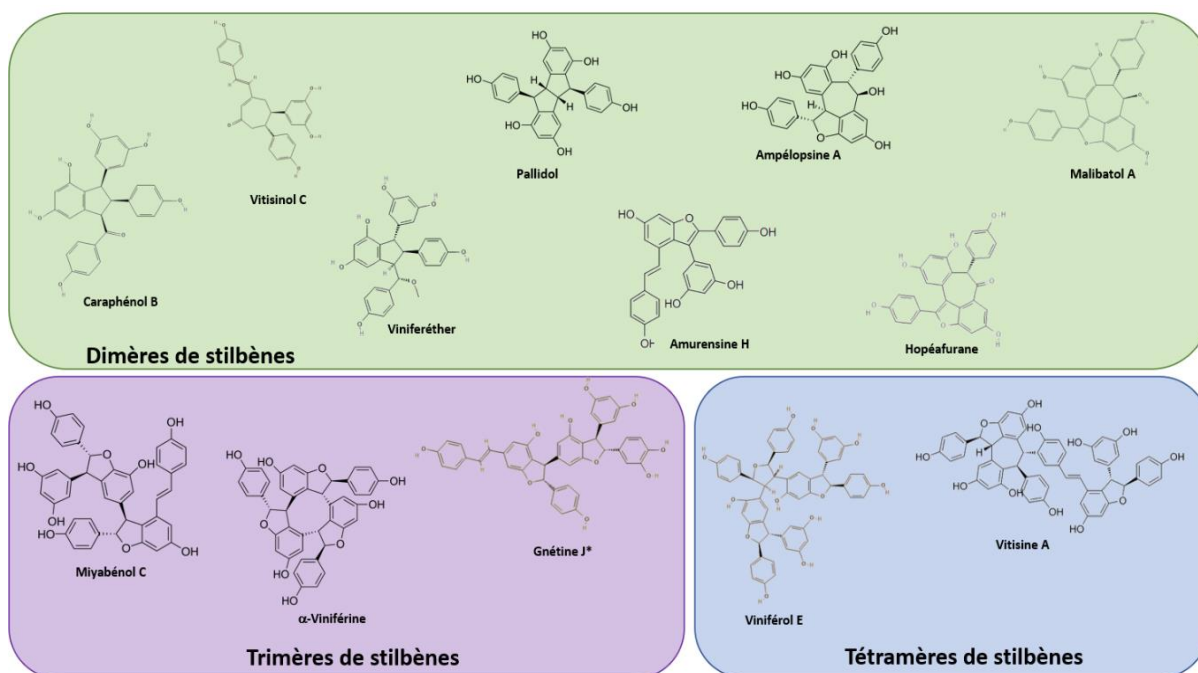


Figure 19 : Structure des composés identifiés et colocalisant le hotspot de mQTLs identifiés sur le chr 18. Les molécules annotées par un astérisque (*) sont des structures putatives non-validées par MS².

L'ensemble des molécules identifiées suggère que la région chromosomique située autour de la position 70 cM sur le chr 18 de la carte génétique du Ri est impliquée dans la régulation de la biosynthèse et de l'accumulation d'oligomères de stilbènes. Cette région est relativement peu étendue (0.9 Mb), comprise entre [25 – 25.9] Mb, avec un pic à 25.07 Mb (Tableau 8).

Tableau 8 : Intervalle du QTL identifié sur le chr 18 avec la carte génétique du Ri et lié à la présence d'oligomères de stilbènes.

Carte génétique	Position génétique (cM)	Intervalle de confiance (cM)	Position physique	Intervalle de confiance (Mb)
Ri	71.1	71.1 – 71.9	25,074,013	25 – 25.9

Les oligomères de stilbènes sont très abondants dans les parties lignifiées de la vigne, pouvant atteindre plusieurs g par kg de biomasse (Gabaston et al., 2019). Leurs fonctions restent mal connues, néanmoins, ils sont régulièrement présentés comme des métabolites de défense de la vigne en réponse aux stress biotiques et abiotiques. Les premières études menées sur ces composés ont d'ailleurs mis en évidence une relation entre la concentration en ε-viniférine et en α-viniférine dans des feuilles infectées par *Botrytis cinerea* avec la taille des lésions observées sur ces feuilles (Langcake, 1981). Plus récemment des essais *in vitro* réalisés sur des pathogènes de la vigne comme le mildiou ou les champignons responsables de MDB montrent également un effet inhibiteur de certains oligomères

sur la croissance fongique (Lambert et al., 2012 ; Richard et al., 2016). Toutefois, certains dimères de stilbène seraient issus de l'activité de laccase de *Botrytis cinerea*, enzymes impliquées dans la détoxification de leur environnement, et donc n'aurait pas d'effet antifongique accru par rapport aux monomères de stilbènes (Pezet, 1998).

3.2.2. Identification des gènes candidats

Plusieurs centaines d'oligomères de stilbènes ont été caractérisés à ce jour, que ce soit chez la vigne, mais également chez d'autres espèces du genre *Hopea* et *Shorea* par exemple (Keylor et al., 2015). Toutefois, et bien que plusieurs pistes aient été évoquées, leur biosynthèse reste à ce jour très mal connue.

Par le passé, le chr 18 de *Vitis vinifera* a déjà été associé à l'accumulation d'oligomères de stilbène. En 2019, Vezzulli et al. ont identifié une région autour de la position 21.4 Mb, en amont du QTL que nous avons identifié, contrôlant l'accumulation de *cis-ε*-viniférine (Vezzulli et al., 2019). Ils ont identifié deux laccases candidates, mais n'ont pas validé leur fonction. Une seconde région du chromosome 18, située entre les positions 28 et 33 Mb, a été identifiée comme étant liée à l'accumulation de resvératrol et de plusieurs oligomères de stilbènes. Située très en aval de notre QTL, la recherche de gènes candidats a mené à l'identification d'un cluster de gènes de résistance NBS-LRR, mais aucune validation fonctionnelle n'a été réalisée (Teh et al., 2019).

La région chromosomique de 900 kb est relativement peu dense en gènes, puisque seuls 50 gènes sont annotés sur le génome de PN40024.v4_2. Parmi ces 50 gènes, 8 sont annotés en tant que laccases. Aucun gène connu de la biosynthèse des phénylpropanoïdes, ni de facteurs de transcription identifiés dans la régulation de la biosynthèse des stilbènes (MYB, WRKY, ZIP, AP2/ERF) n'est annoté dans cette région, renforçant la position des laccases comme gènes candidats de choix potentiellement impliqués dans l'oligomérisation des stilbènes.

La figure 20 présente l'abondance relative des deux trimères de resvératrol associés au QTL sur le chr 18. L'on observe que les sarments de Ri sont significativement plus riches en ces stilbènes que ceux du Gw, et cela pour les trois années de notre étude.

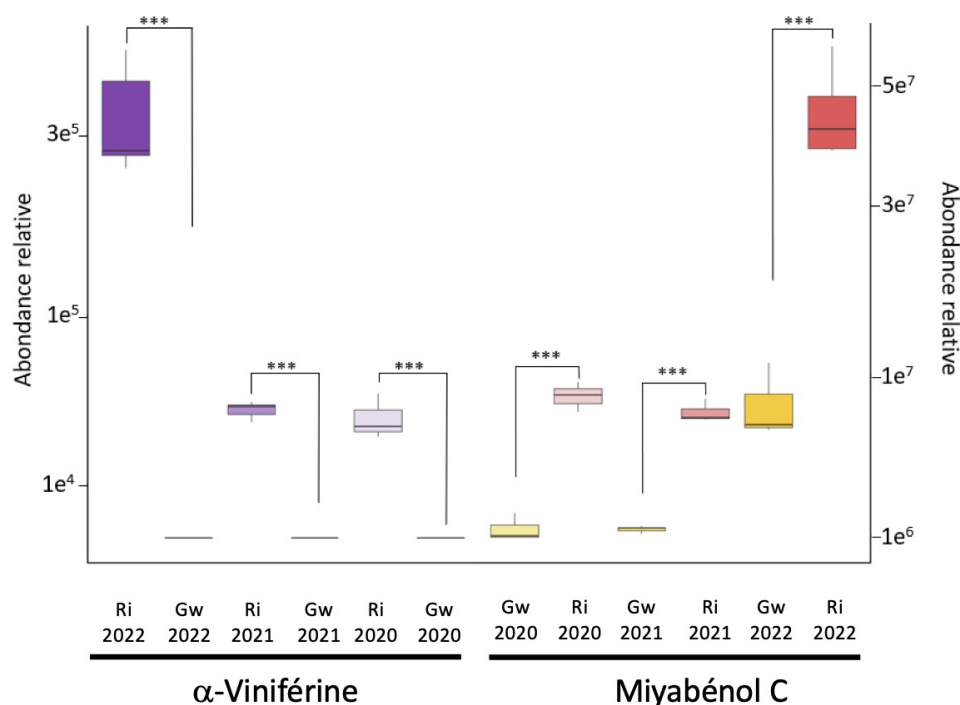


Figure 20 : Quantité relative d' α -viniférine et de miyabénol C dans les sarments de vigne de Ri et de Gw pour les années 2020, 2021 et 2022. *** : $p_{value} \leq 0.001$.

3.3. Conclusion et perspectives

À ce jour, aucun gène impliqué dans la biosynthèse des oligomères de stilbènes, pourtant abondants dans les tissus lignifiés de la vigne, n'a été formellement identifié, bien que l'implication de laccases ait été proposée (Vezzulli et al., 2019). Nous avons identifié sur le chr 18 de la carte génétique du Ri un hotspot majeur de mQTLs lié à des dimères, trimères et tétramères de stilbènes, significativement plus abondants dans le Ri que le Gw. L'étude de la région génomique associée à ce QTL dans le génome de référence PN40024.v4.2 révèle la présence d'un cluster de gènes codant pour des laccases putatives. L'analyse de données transcriptomiques (RNAseq) de bois de Ri et de Gw actuellement en cours d'acquisition permettra d'affiner le choix des meilleurs gènes candidats au sein de ce cluster. La caractérisation fonctionnelle des candidats sélectionnés permettra d'étudier en détail leur rôle potentiel dans la biosynthèse des oligomères de stilbènes présents dans le bois de vigne.

4. Conclusion

Ce travail constitue la première étude du déterminisme génétique de la composition des extractibles du bois de vigne qui, organe relativement peu étudié malgré sa richesse en composés solubles aux propriétés antimicrobiennes. Une approche combinée de métabolomique non-ciblée par UHPLC-HRMS-MS, et de génétique quantitative à l'aide de cartes génétiques à haute densité de marqueurs SNP a permis de découvrir de nombreuses régions chromosomiques impliquées dans le contrôle du métabolome constitutif du bois de vigne (mQTLs). L'approche pluriannuelle sur deux types de bois différents, sarments et ceps, permet de confirmer la présence et l'importance de ces mQTLs.

Parmi les mQTLs découverts, certains ont déjà été identifiés lors de travaux préalables à notre analyse portant sur d'autres organes de la vigne, comme sur le chr 5, où plusieurs dizaines de terpènes ont colocalisé une région chromosomique. Cette région chromosomique est connue pour la présence d'un gène codant pour la 1-deoxy-D-xylulose-5-phosphate synthase déjà caractérisé pour son rôle dans l'accumulation des terpènes dans les baies de Gw. Plusieurs autres régions majeures régulant l'accumulation de plusieurs dizaines d'ions quantifiés dans le bois de vigne ont été identifiées, dont un certain nombre de façon reproductible sur les chromosomes 8, 10, 14, 16 ou encore 18.

Nous avons initialement focalisé notre intérêt sur une région chromosomique identifiée sur le chr 16 du Riesling, en raison de sa taille restreinte, de la famille chimique du métabolite régulé, et du fort effet observé sur le phénotype. Ce QTL régule la biosynthèse du *trans* et du *cis*-picéide, les formes glycosylées du *trans* et *cis*-resvératrol, très abondantes dans les tissus lignifiés de la vigne. L'exploration de cette région chromosomique a révélé la présence d'un cluster de six gènes codants pour des UDP-glycosyltransferase (UGTs) putatives, qui ont été sélectionnés comme meilleurs gènes candidats. Nous avons réalisé la caractérisation fonctionnelle de ces UGTs, dont l'une d'entre, *Vitvi16g01150*, présente une excellente affinité et activité enzymatique avec le *trans*-resvératrol, conduisant à la synthèse de *trans*-picéide, l'isomère majoritaire du picéide dans nos analyses. Des travaux de modélisation de la structure de certaines UGTs du cluster ont apporté une confirmation structurale des caractéristiques cinétiques mesurées, et ont permis d'identifier plusieurs acides aminés dont la présence semble essentielle à l'interaction avec le *trans*-resvératrol. La caractérisation de tous les gènes du cluster a révélé une diversité fonctionnelle inattendue au sein de cette petite famille de gènes très probablement paralogues (Wei et al., 2021). En effet, certains gènes codent pour des UGTs ayant une préférence pour les flavonoïdes, tandis que d'autres codent pour des UGTs ayant une préférence pour les stilbènes. Cette diversité fonctionnelle pose la question de l'évolution de ce cluster de gènes et de l'émergence d'UGTs ayant une spécificité marquée pour les stilbènes. Cet aspect fait

actuellement l'objet d'analyses évolutives en collaboration avec Catarina Araújo Branco et Raquel Tavares, spécialistes en génomique évolutive à l'université de Porto (Portugal).

La seconde région chromosomique ayant retenu notre attention est impliquée dans la biosynthèse d'un nombre plus important de métabolites, car plusieurs centaines de mQTLs colocalisent au niveau de cette région. L'analyse détaillée des ions associés à ces mQTLs a montré que tous ces métabolites sont des oligomères de stilbènes. Bien que cette hypothèse ne soit pas démontrée, la formation des oligomères de stilbène pourrait faire intervenir des oxydoréductases telles que les laccases chez la vigne. Plusieurs gènes codants pour des laccases putatives étant présents dans l'intervalle d'intérêt, ceux-ci constituent les candidats les plus prometteurs. De futures analyses de transcriptomique prévues sur le bois de Ri et de Gw permettront, à l'avenir, de réduire le nombre de gènes candidats afin de sélectionner certains d'entre eux pour une caractérisation fonctionnelle.

Chapitre 2 : Étude du déterminisme génétique de la tolérance aux maladies du bois de vigne

1. Contexte

Les maladies du bois (MDB) sont un ensemble de maladies affectant la vigne, déjà décrites dès l'Antiquité. L'un des symptômes caractéristiques de ces maladies est l'apparition de nécroses dans les tissus lignifiés (Larignon, 2016) qui peuvent provoquer la mort du pied de vigne par l'obstruction des vaisseaux conducteurs. Traitées dès le 20^{ème} siècle avec de l'arsénite de sodium, les MDB sont aujourd'hui en pleine résurgence en raison de l'interdiction en 2003 par l'Union européenne du seul traitement efficace. Elles sont particulièrement délétères pour la filière viticole, et on estime aujourd'hui qu'elles affectent au moins 12 % du vignoble français, engendrant un coût annuel estimée à 1 milliard d'euros en raison des pertes de rendement et du remplacement des pieds de vigne malades.

Aucun cépage totalement résistant aux MDB n'a été identifié à ce jour. Cependant, des observations réalisées dans les vignobles ont montré une sensibilité variable entre cépages, suggérant l'existence d'une base génétique pour la tolérance aux MDB (Compte rendu journée maladie du bois 2018). Parmi les cépages étudiés, le Gw est généralement plus touché par les MDB que le Ri (Figure 9) (Abidon (2016)). Nous avons donc décidé d'étudier les origines de cette différence de sensibilité entre ces deux cépages à l'aide d'une population issue de leur croisement, population dont le centre INRAE Grand-Est Colmar dispose actuellement.

Cette étude a été réalisée dans le cadre du projet régional VitEst entre 2019 - 2022. Il s'agit d'une collaboration entre l'unité mixte de recherche SVQV du centre INRAE Grand Est Colmar, l'équipe Résistance Induite et Bioprotection des Plantes (RIBP) de l'Université de Reims Champagne-Ardenne (URCA) et le Laboratoire Vigne, Biotechnologies et Environnement (LVBE) de l'Université de Haute-Alsace (UHA), le laboratoire Interactions Arbres-Microorganismes (IAM) de Nancy et l'Institut de Biologie Moléculaire des Plantes (IBMP) de Strasbourg, dont l'un des objectifs est d'étudier les bases génétiques de la tolérance aux MDB. Pour ce faire, nous avons utilisé la population biparentale issue du croisement entre Ri et Gw et le champignon phytopathogène *Neofusicoccum parvum*, impliqué dans les dépérissements à *Botryosphaeria*, l'une des principales MDB.

2. Analyse génétique de la tolérance à *N. parvum* par phénotypage de la nécrose sur bois détaché

2.1. Introduction

L'équipe de Génétique et Amélioration de la Vigne (GAV) de l'UMR1131 a fourni au LVBE et à l'équipe RIBP des sarments âgés d'un an, issus de la population Ri x Gw plantée au vignoble de Bergheim. Ils ont été prélevés par Vincent Dumas (équipe GAV) lors de la taille hivernale, au début des années 2020, 2021 et 2022. La première année visait à étudier la variabilité de la sensibilité de la population Ri x Gw à *N. parvum* sur un sous-ensemble de génotypes. Les deux années suivantes étudient un nombre plus important de génotypes afin de pouvoir analyser les déterminants génétiques de la sensibilité/tolérance à ce pathogène, et de confirmer la reproductibilité de ces déterminants génétiques. Le phénotypage a ainsi porté sur **30** génotypes différents en 2020, **94** en 2021 et **105** en 2022. Lors de la première année, seul le LVBE a réalisé les expérimentations, puis pour les années 2021 et 2022 le matériel végétal a été réparti entre le LVBE et le RIBP en raison du nombre important de génotypes.

Le protocole d'inoculation est présenté dans la figure 21. Des entre-nœuds ont été découpés à partir du bois de taille de l'hiver, prélevé au début des années 2020, 2021 et 2022. Pour chaque génotypes, 5 entre-nœuds ont été inoculés avec la souche Bt76 de *N. parvum* fournie par l'UHA et commune aux expérimentations réalisées par le LVBE et le RIBP. Le champignon ayant poussé sur un milieu gélosé (Potato Dextrose Agar), un carré de gélose a été découpé et déposé dans un trou préalablement réalisé à l'aide d'une perceuse au centre du sarment. Les sarments sont ensuite incubés dans le noir à 28 °C pendant 7 jours, dans une atmosphère saturée en humidité. Pour chaque génotype, deux témoins sont également réalisés, inoculés uniquement avec de la gélose saine. À la fin de la période d'incubation, l'écorce des entre-nœuds a été enlevée, puis l'aire nécrosée de chaque entre-nœud a été mesurée. Ces données de quantification de nécrose ont été utilisées par Éric Duchêne (équipe GAV) et par moi-même afin de rechercher de potentielles régions chromosomiques (QTL) impliquées dans la tolérance/sensibilité à *N. parvum* à l'aide de cartes génétiques développées par Komlan Avia (équipe GAV).

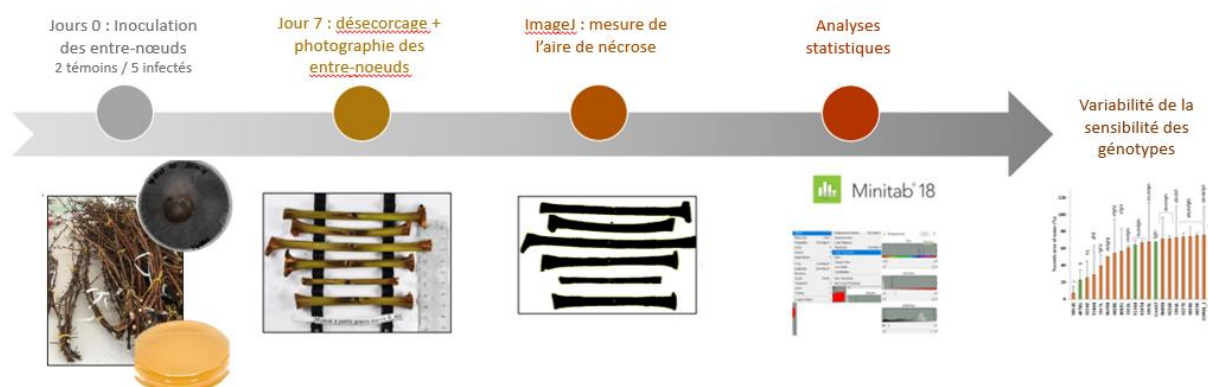


Figure 21 : Protocole des essais sur bois détachés dans le cadre de l'étude de la tolérance à *N. parvum* de la population Ri x Gw.

2.2. Variabilité de la réaction de nécrose au sein de la population Ri x Gw

2.2.1. Première année : 2020

En 2020, seuls 30 génotypes de la population Ri x Gw ainsi que les parents Ri et Gw ont été phénotypés pour leur tolérance à *N. parvum* par l'équipe LVBE de l'UHA (Figure 21). Cette première expérimentation vise à mettre en évidence une éventuelle variabilité génétique de la réponse à *N. parvum* au sein de la population d'étude, variabilité que nous chercherons à identifier par la suite.

On peut observer que la population ne présente pas la même sensibilité à *N. parvum*, avec une variation continue de la nécrose, allant de 2 % à 80 % de l'aire de l'entre-nœud (Figure 22 A). Deux génotypes se distinguent nettement. Le premier, 0057E, semble très peu sensible avec une nécrose moyenne de 3% et un faible coefficient de variation entre les répétitions (23 %). À l'inverse, le génotype 4094G est le plus sensible à *N. parvum* avec une nécrose moyenne de 45 % et un fort coefficient de variation entre les répétitions (82 %). À l'exception de ces deux génotypes, les valeurs moyennes de nécroses sont comprises entre 5 et 27 %. Les deux parents, le Ri et le Gw présentent quant à eux une sensibilité intermédiaire, le Ri étant plus tolérant que le Gw. L'analyse statistique sur ces deux cépages confirme que le Ri est significativement plus tolérant à *N. parvum* que le Gw, avec des valeurs moyennes de nécrose respectivement de 10 % et 24 % (Figure 22 B).

La distribution de la sensibilité à *N. parvum* de la population Ri x Gw montre qu'il s'agit d'un caractère quantitatif, toutefois le test de Shapiro-Wilk ne permet pas de conclure à la

normalité de la distribution des niveaux de nécrose. La valeur d'héritabilité (H^2) de ce trait phénotypique est quant à elle de 0.47 (Figure 22 C).

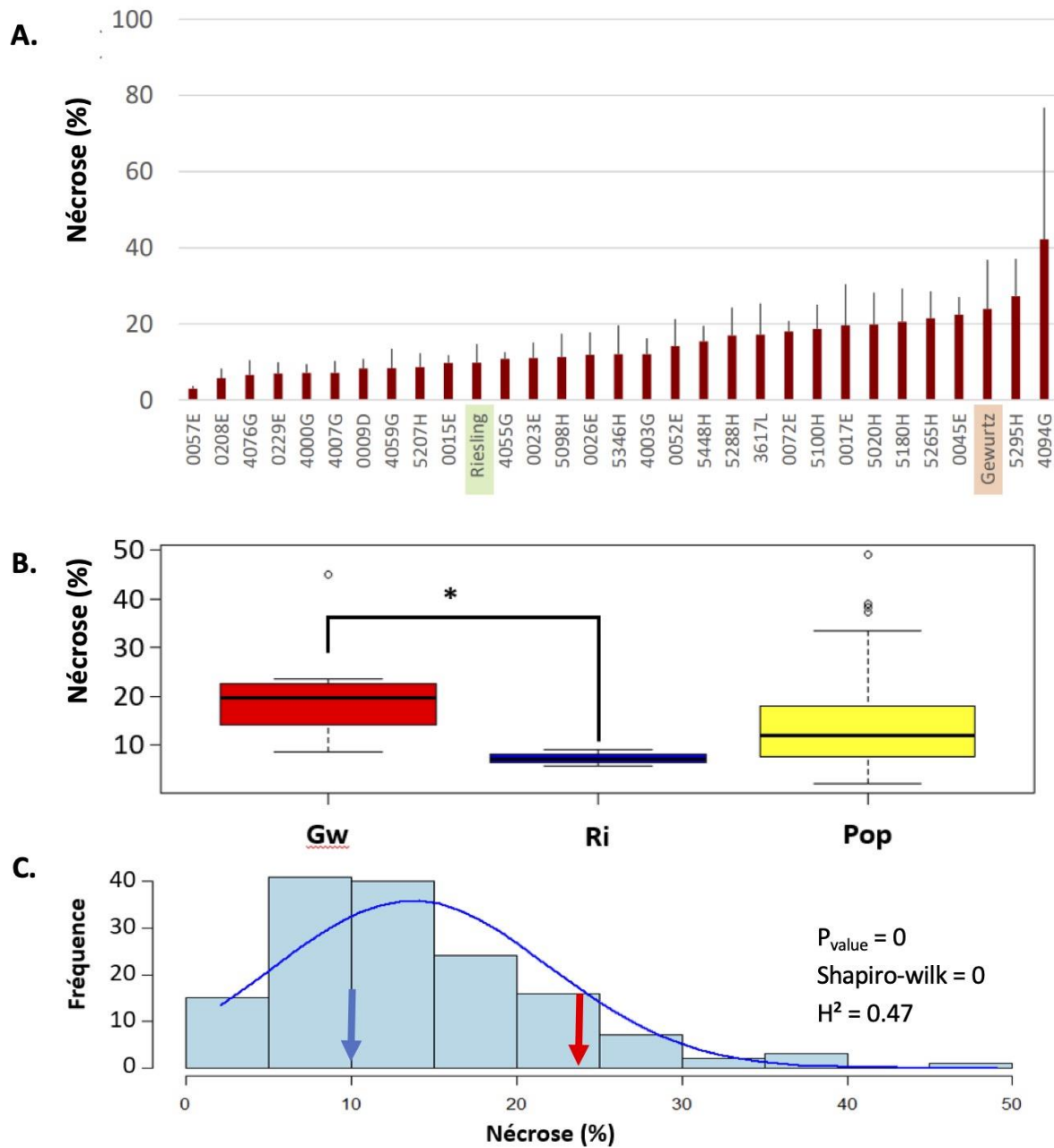


Figure 22 : Distribution de la nécrose superficielle des entre-nœuds pour chacun des 30 génotypes ainsi que des parents de la population Ri x Gw en 2020 (A) (Crédit : Samuele Moretti/Laura Gérard). Analyse de la nécrose des entre-nœuds chez les parents et les descendants (B). Analyse de l'héritabilité de la nécrose au sein de la population Ri x Gw (C). Les flèches bleue et rouge indiquent la valeur moyenne du Ri et du Gw respectivement.

2.2.2. Seconde année : 2021

En 2021, 94 génotypes ont été phénotypés pour leur tolérance à *N. parvum*, partagés entre l'UHA et l'URCA. L'objectif de cette seconde expérimentation est de reproduire les résultats obtenus en 2020, et de fournir un jeu de données plus importants pour réaliser la recherche de QTL de tolérance à *N. parvum*.

On peut à nouveau observer une ségrégation et un effet du génotype sur la taille des nécroses cette année-là, bien que la réaction de nécrose soit globalement beaucoup plus forte qu'en 2020, avec une moyenne de 94 % de la surface de l'entre-nœud qui est nécrosée, et 45 génotypes dont la valeur moyenne de nécrose pour les 5 entre-nœuds infectés par *N. parvum* est de 100 % (Figure 23 A). Dans certains cas, la valeur mesurée dépassent les 100 %. Cela est dû au fait que la nécrose n'a été mesurée que sur une portion de 5 cm de long de l'entre-nœuds afin de normaliser la variabilité de longueur entre les entre-nœuds. Or, dans certains cas, la nécrose allait au-delà des 5 cm, expliquant ces valeurs. Seulement 6 génotypes ont une valeur moyenne de nécrose inférieure à 50 %. Le test de normalité confirme qu'en 2021 la distribution de la nécrose ne suit pas une loi normale (Figure 23 C). La valeur d'héritabilité du trait phénotypique, quant à elle est de 0.68. Les deux parents montrent également une grande sensibilité à *N. parvum* en 2021, avec une aire nécrosée moyenne des entre-nœuds de 91.8 % chez le Gw, contre 80 % chez le Ri, une différence n'étant statistiquement pas significative (Figure 23 B).

Ces résultats sont extrêmement différents de ceux obtenus en 2020, notamment par le fait que nous ne retrouvons plus de différence significative entre les deux cépages, ce qui constituait notre postulat initial, confirmé par nos premiers résultats. Plusieurs explications, non-exclusives, pourrait expliquer les différences que nous observons entre ces deux années. La première pourrait être liée à un changement de virulence de la souche de *N. parvum*, plus forte en 2021. Ainsi, une forte virulence entraînerait un développement accru du pathogène, et à l'apparition plus rapide de la nécrose, touchant la totalité de la surface de l'entre-nœud, avant même la fin des 7 jours d'incubation. Une seconde explication pourrait résider dans l'impact des conditions climatiques particulières de l'année 2020, années durant laquelle ont grandi les sarments utilisés pour les expériences de 2021. Les conditions de cette année, très sèche, ont pu impacter la croissance et la composition du bois, aboutissant à des bois plus sensibles à *N. parvum*. Pour finir, l'année 2020 a été marquée par l'épidémie de Covid, ayant limité le nombre d'intervention dans le vignoble, diminuant le nombre de traitement sanitaire et pouvant également impacter le choix des génotypes. Qu'elles qu'en soient les raisons, la faible variabilité de la réponse de nécrose au sein de la population Ri x Gw en 2021 risque de nuire à la qualité des analyses génétiques.

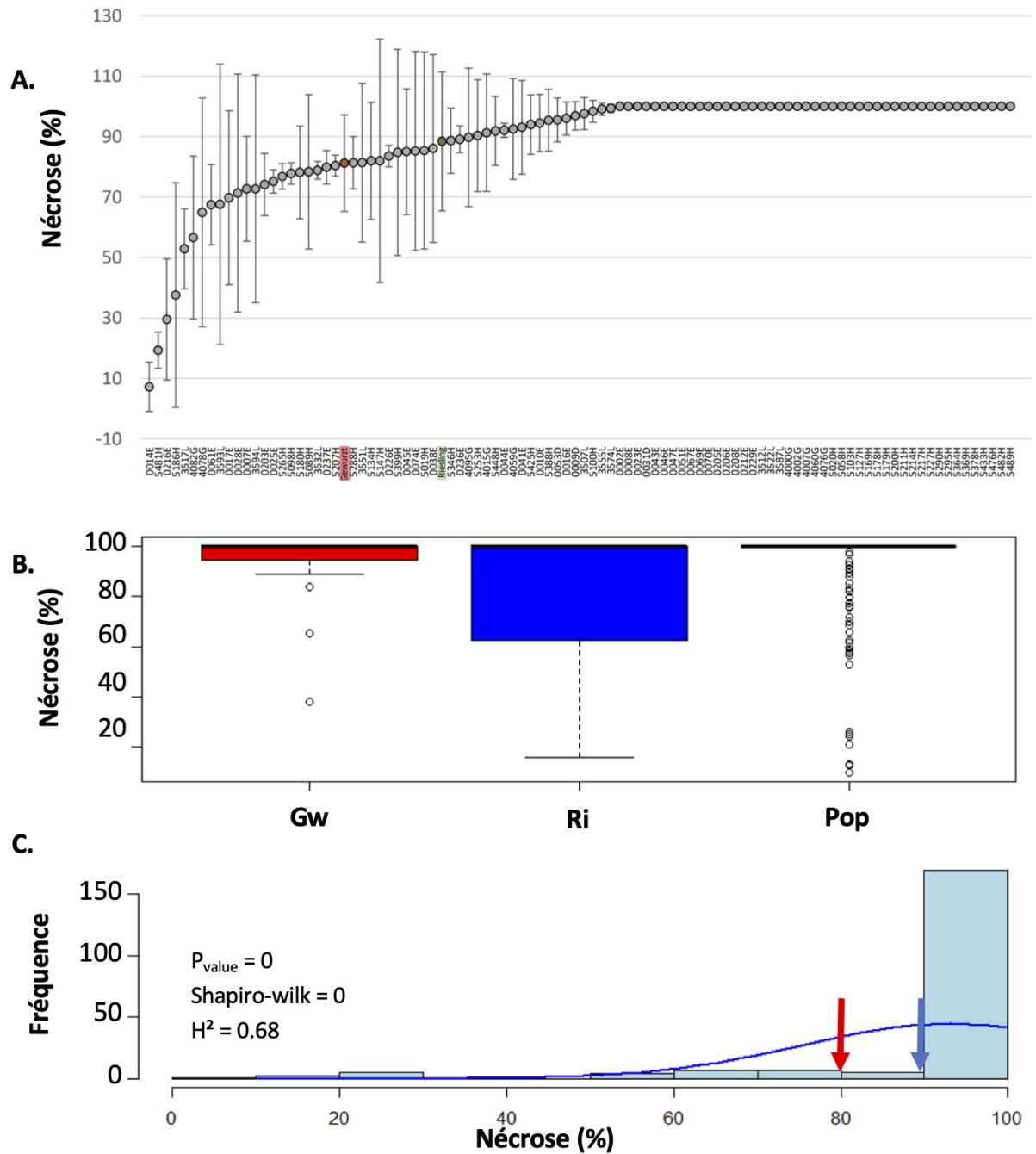


Figure 23 : Distribution de la nécrose superficielle des entre-nœuds des 96 génotypes et des parents de la population Ri x Gw en 2021 (A) (Crédit : Samuele Moretti/Laura Gérard). Analyse de la nécrose moyenne des entre-nœuds chez les parents et les descendants (B). Analyse de l'héritabilité de la nécrose au sein de la population Ri x Gw (C). Les flèches bleue et rouge indiquent la valeur moyenne du Ri et du Gw respectivement.

2.2.3. Troisième année : 2022

Lors de la troisième et dernière année d'expérimentation, 105 génotypes ont été phénotypés vis-à-vis de leur sensibilité à *N. parvum*. Le niveau global de nécrose est plus faible qu'en 2021, avec une moyenne située à 49 %. On observe une ségrégation et un effet génotype sur la taille des nécroses à un niveau intermédiaire entre l'année 2020, marquée par de faibles niveaux de nécrose, et l'année 2021, marquée par un niveau de nécrose très élevé (Figure 24A). Cependant, on note d'importants coefficients de variation entre les répétitions d'un même génotype. Il est peu probable que cela provienne du matériel végétal, les entre-nœuds étant issus d'un nombre limité de sarments. L'origine de cette variation pourrait provenir d'un manque de reproductibilité lors de l'inoculation du pathogène dans les entre-nœuds. Comme lors des deux années précédentes, la distribution de la nécrose au sein de la population ne suit pas une loi normale, et l'héritabilité de ce trait de caractère est de 0.64 (Figure 24 C).

Les deux parents présentent une sensibilité similaire à *N. parvum*, avec une nécrose moyenne chez le Gw de 54.9 %, contre 51 % chez le Ri, qui n'est pas statistiquement significative (Figure 24 B). Il est intéressant de noter que cette année des entre-nœuds de *Vitis vinifera* subsp. *sylvestris* ont également été inoculés, cette sous-espèce de vigne ayant récemment montré une meilleure tolérance à *N. parvum* (Guan et al., 2016). Cependant, le pourcentage de nécrose moyen mesuré ici pour cette sous espèce est de 48 % et n'est pas significativement différent du Ri et du Gw (Figure 24 B).

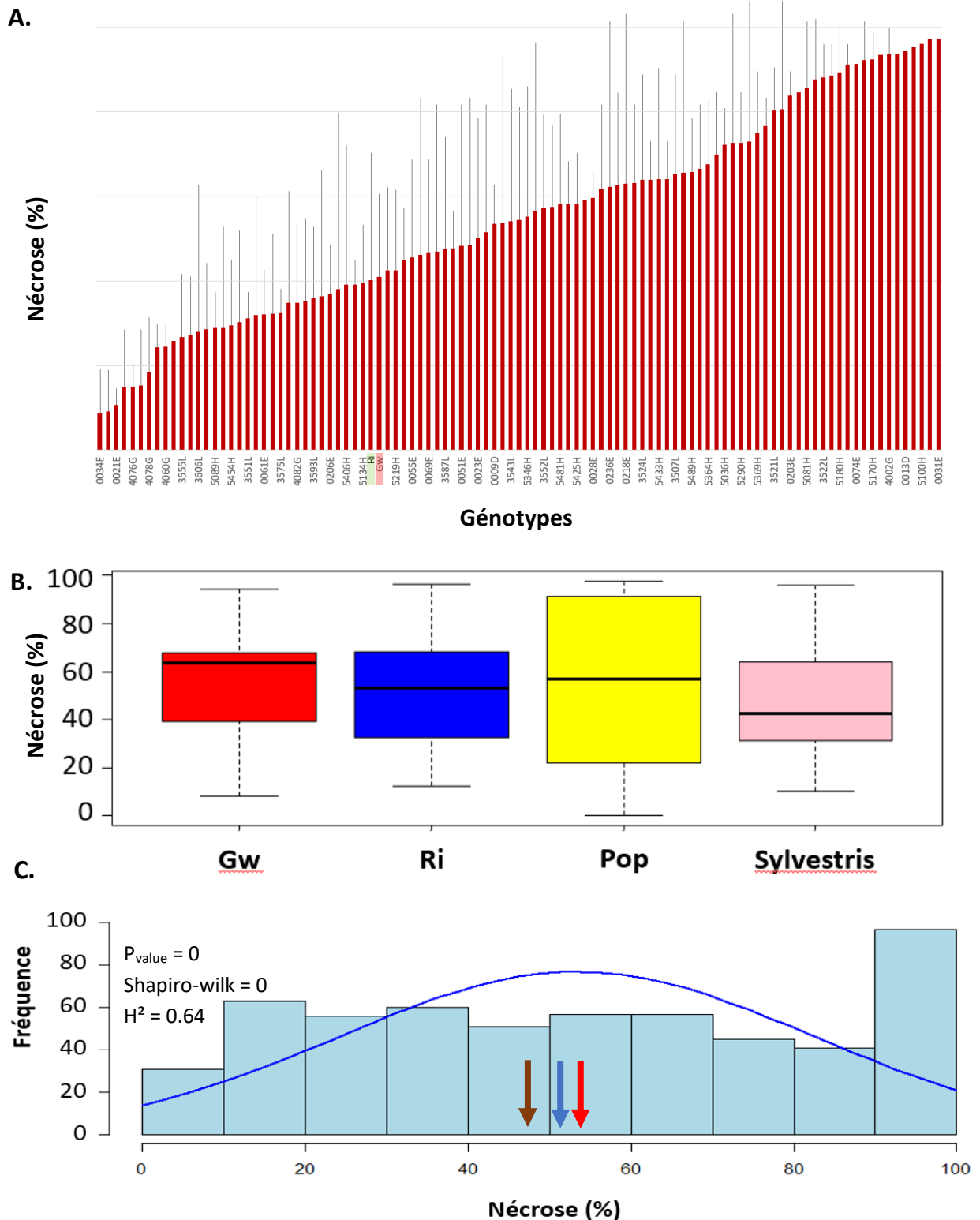


Figure 224 : Distribution de la nécrose superficielle des entre-nœuds pour chacun des 105 génotypes et des parents de la population Ri x Gw en 2022 (A). Analyse de la nécrose moyenne des entre-nœuds chez les parents, les descendants ainsi que chez *Vitis vinifera* sp *sylvestris* (B). Analyse de l'héritabilité de la nécrose au sein de la population Ri x Gw (C). Les flèches brune, bleue et rouge indiquent la valeur moyenne de nécrose pour le Sylvestris, Ri et Gw respectivement.

Bien que des observations pluriannuelles au vignoble décrivent le Ri comme plus tolérant que le Gw aux MDB (Abidon, 2016), les tests *in vitro* ne sont pas parvenus à mettre en évidence une sensibilité à *N. parvum* significativement différente sur les 3 années d'étude. Il faut noter que les observations en vignoble sont réalisées sur les symptômes visuels sur feuilles, très similaires entre toutes les MDB, et ne font donc pas la différence entre Esca et Black Dead Arm, qui bien que regroupées sous le terme générique de MDB, n'ont pas la même étiologie. L'esca est principalement causé par des champignons du genre *Phaeomoniella* et *Fomitoporia*, alors que les espèces fongiques régulièrement associées au BDA sont issues des genres *Botryosphaeria*, *Neofusicoccum* et *Diplodia* (Gramaje et al., 2018). En l'absence d'informations précises sur les souches fongiques associées aux dépérissements observés dans les vignobles, il est alors délicat de les comparer à des expériences *in vitro*, car un même cépage peut présenter des sensibilités très différentes vis-à-vis de deux souches fongiques de la même famille (Langa-Lomba et al., 2023). La vigne sauvage *Vitis vinifera* var. *sylvestris*, ancêtre de la vigne cultivée (*Vitis vinifera* var. *vinifera*), est réputée plus tolérante à *N. parvum* que des cépages cultivés, une résistance corrélée avec l'expression plus précoce et plus forte de facteurs de résistance et de gènes impliqués dans la biosynthèse des stilbènes (Guan et al., 2016). Néanmoins en 2022 les inoculations d'entre-nœuds de trois accessions différentes de *Vitis vinifera* var. *sylvestris* (Ke74, Ke84 et Ke95) n'ont pas montré de tolérance accrue de ces accessions en comparaison du Ri et du Gw, ce qui souligne les aléas de cette méthode de phénotypage.

2.3. Analyse des bases génétiques de la tolérance ou la sensibilité à *N. parvum*

À partir des données de phénotypage collectées en 2020, 2021 et 2022 ainsi que des cartes génétiques, une analyse QTL a été réalisée afin de mettre en évidence des régions chromosomiques pouvant être responsables d'une plus grande tolérance ou d'une plus grande sensibilité à *N. parvum* (Figure 25 et Tableau 9). Trois cartes génétiques différentes ont été utilisées, deux cartes parentales (Ri et Gw) ainsi qu'une carte consensus. Pour chaque génotype, la moyenne du pourcentage d'aire d'entre-nœuds nécrosés issus des 5 répétitions a été réalisée.

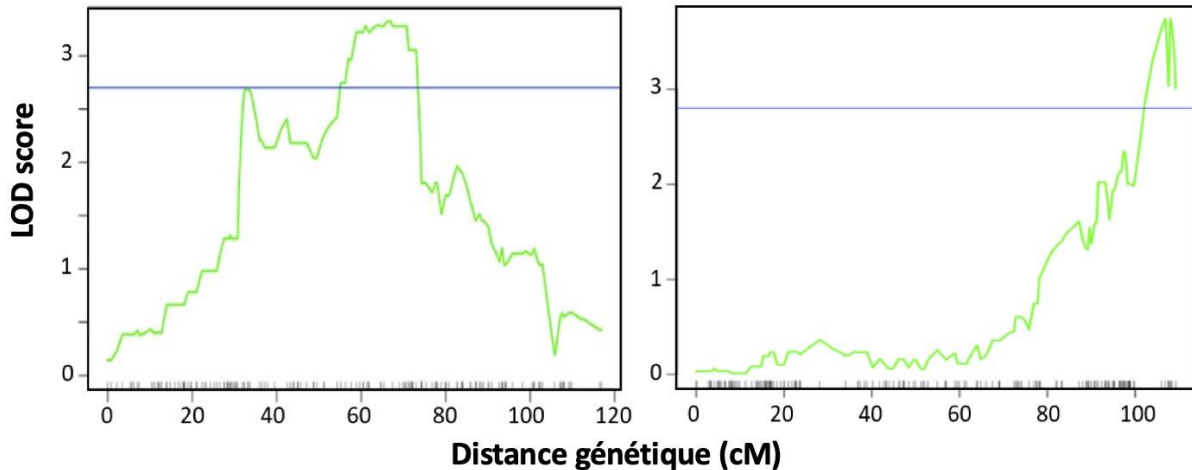


Figure 25 : QTLs détectés sur la base des données nécrose obtenues en 2021 sur le chr 4 de la carte génétique Gw (à gauche) et en 2022 (à droite) sur le chr 4 de la carte génétique Ri. La ligne bleue indique le seuil de significativité du QTL.

En 2020, aucun QTL significatif n'a été mis en évidence, bien que les données de phénotypage aient révélé une variation continue au sein de la population de cette dernière. Cela est probablement dû au faible nombre de génotypes phénotypés cette année, car l'objectif initial était de valider le protocole, et de mettre en évidence la variabilité de sensibilité de la population d'étude au pathogène sur un sous-ensemble de génotypes. Or, une recherche QTL nécessite un nombre important de génotypes afin d'avoir une large gamme phénotypique et génétique, ce nombre devant être d'autant plus grand que le QTL a un faible effet (Vales et al., 2005).

En 2021, un QTL a été identifié au seuil de 5 %, sur le chr 4 de la carte génétique du Gw (Figure 25). Il présente un LOD score maximum de 3.25 à la position physique 15,332,691, et explique 14.4 % de la variation phénotypique observée. Son intervalle de confiance fait 14 Mb, compris entre 6 et 20 Mb (Tableau 9). En 2022, un second QTL a été identifié sur le chr 4 de la carte génétique du Ri (Figure 25). L'intervalle de confiance de ce QTL est compris entre 23.3 et 24 Mb, avec un LOD score maximal de 4.35 à 23.7 Mb. Ce QTL explique 17.4 % de la variation phénotypique (Tableau 9). Bien que localisés sur le même chr, ces deux QTLs sont différents en raison de l'absence de colocalisation de leurs intervalles de confiance.

Tableau 9 : Paramètres des QTL identifiés sur la base des données de nécrose en 2021 et 2022.

<u>Année</u>	<u>Chr</u>	<u>Carte</u> <u>génétique</u>	<u>Position</u> <u>(Mb)</u>	<u>Intervalle</u> <u>confiance (Mb)</u>	<u>LOD</u> <u>score</u>	<u>Pourcentage variation</u> <u>expliqué</u>
2021	4	Gw	15.3	6 – 20	3.25	14.4
2022	4	Ri	23.7	23.3 – 24	4.35	17.4

Le faible nombre de QTLs identifiés et leur absence de reproductibilité entre les années peuvent s'expliquer par différents facteurs. Tout d'abord, l'année 2021 est une année particulièrement délicate à analyser en raison de la plus faible variabilité phénotypique. Combiné à un nombre de génotypes limités, il est alors difficile de mettre en évidence des QTLs si ceux-ci ont un faible effet. Pour l'année 2022, bien qu'elle présente une meilleure variabilité phénotypique, nous avons pointé une faible reproductibilité entre les répétitions d'un même génotype. Cette situation est problématique pour la recherche de QTL, car une seule valeur de nécrose doit être associée à chaque génotype. Cette valeur est généralement obtenue en faisant la moyenne des valeurs des cinq entre-nœuds infectés par génotype, cependant les forts coefficients de variation observés entre les répétitions biologiques au sein d'un même génotype peut sensiblement impacter la moyenne, ajoutant de l'imprécision à la mesure. Pour pallier à cela, nous avons également effectué des analyses QTL avec la valeur médiane, la valeur de nécrose minimale ou maximale pour chaque génotype, cependant sans plus de succès.

Pour finir, il est également possible que les bases génétiques de la tolérance à *N. parvum* au sein de la population Ri x Gw soient dues à une combinaison de plusieurs QTLs de très faible effet, et ne soit pas détectables en raison du faible nombre de génotypes analysés (Mackay, 2001; Vales et al., 2005).

2.4. Conclusion

Nous n'avons pas identifié de base génétique expliquant la tolérance ou la sensibilité à *N. parvum* sur les données de phénotypage de la nécrose superficielle des entre-nœuds. Nous avons vu que de nombreux facteurs peuvent l'expliquer, notamment le faible nombre de génotypes analysés, les problèmes de reproductibilité des résultats entre les années et au sein même des répétitions biologiques d'une même année. Plusieurs modifications pourraient être apportées à l'avenir afin d'améliorer les expérimentations basées sur la notation des nécroses. Tout d'abord, nous avons constaté que 5 répétitions biologiques par génotype n'apportaient pas à des résultats plus cohérents. Il pourrait donc être intéressant de réduire ce nombre à trois répétitions par génotype, ce qui

permettrait d'augmenter le nombre de génotypes sans augmenter le nombre final d'entre-nœuds analysés. Un plus grand nombre de génotypes permettrait ainsi d'améliorer la détection de QTLs.

Enfin, nous pouvons noter que la mesure de l'aire de nécrose superficielle sur bois détachés n'est peut-être pas la méthode la plus adaptée pour phénotyper la sensibilité à *N. parvum* dans une population où les écarts de sensibilité sont globalement faibles. D'autres approches de phénotypage pourraient être testées. Tout d'abord, le champignon ayant été inoculé en profondeur de la baguette, un phénotypage superficiel ne prend pas en compte la propagation tridimensionnelle du champignon. D'autres travaux portant sur les MDB et également basés sur les mesures de la nécrose ont pris en compte ce paramètre en réalisant des coupes longitudinales (Arnold et al., 2024 ; Maher et al., 2012). D'autres techniques de quantification du pathogène pourraient être envisagées comme la PCR quantitative (Simeng et al., 2015) ou la quantification de marqueurs spécifiques du champignon comme les lipides (Negrel et al., 2018).

3. Analyse génétique de la réponse du bois à l'infection par *N. parvum* par une approche de métabolomique non-ciblée.

3.1. Introduction

L'utilisation d'un phénotypage de la nécrose du bois suite à l'infection par *N. parvum* n'a pas permis de mettre en évidence une base génétique claire de la tolérance ou de la sensibilité de la population Ri x Gw à *N. parvum*. Toutefois la nécrose n'est qu'un des nombreux symptômes observables suite à l'infection par un pathogène. Des mécanismes de défense entrent également en jeu et pourraient être quantifiés, comme la mise en place de barrières physiques (lignine, subérine, tylose) limitant la propagation du pathogène, ou la production de phytoalexines, des composés antimicrobiens visant à freiner la progression du pathogène (Patel et al., 2020). Nous avons donc décidé de réaliser des analyses génétiques comparatives entre les sarments témoins, non infectés, et les sarments infectés par *N. parvum*, sur la base des données métabolomiques globales. En raison du faible nombre de génotypes en 2020 et de la forte nécrose observée sur la quasi-totalité des génotypes en 2021, les analyses suivantes n'ont porté que sur les expérimentations de 2022. Le logiciel Compound Discoverer 3.3 a été utilisé afin de quantifier les ions de manière non ciblée, en suivant un workflow similaire à celui décrit dans le manuscrit présenté au deuxième chapitre (Chepca et al., 2024). Comme précédemment, un identifiant unique a été attribué à chaque ion, suivant le modèle MxxxTyyy où xxx désigne le rapport m/z de l'ion en Da et yyy désigne le temps de rétention en secondes. Afin de n'identifier que les régions chromosomiques impliquées dans la réponse à l'infection par *N. parvum*,

et non à la blessure infligée par le protocole d'inoculation, la recherche de mQTLs a été réalisée séparément pour les données obtenues pour les bois témoins, blessés et celles obtenues pour les bois infectés avec le pathogène. L'analyse génétique a été réalisée avec les 3 cartes génétiques SNPs (Ri, Gw et consensus).

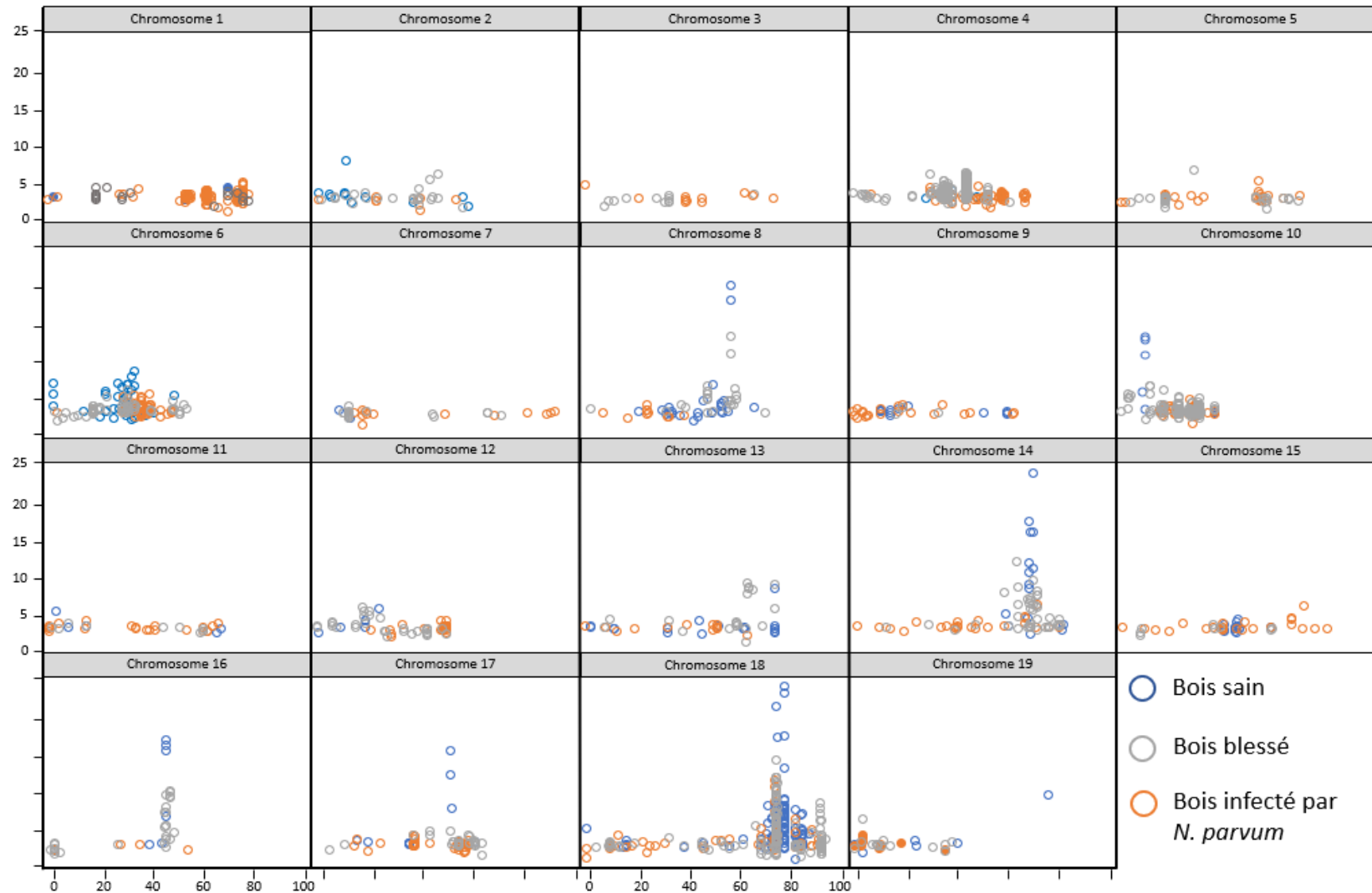


Figure 26 : Détection de QTLs à l'échelle du génome entier sur la carte génétique du Gw sur la base des données de métabolomique non-ciblée de 2022 (ESI + et ESI -) des sarments sains et infectés par *N. parvum* ($p_{\text{val}} < 0.05$). Chaque point correspond à un ion, les points bleus correspondant à ce provenant du bois sain, les points gris aux bois blessés, et les oranges aux bois infectés par *N. parvum*

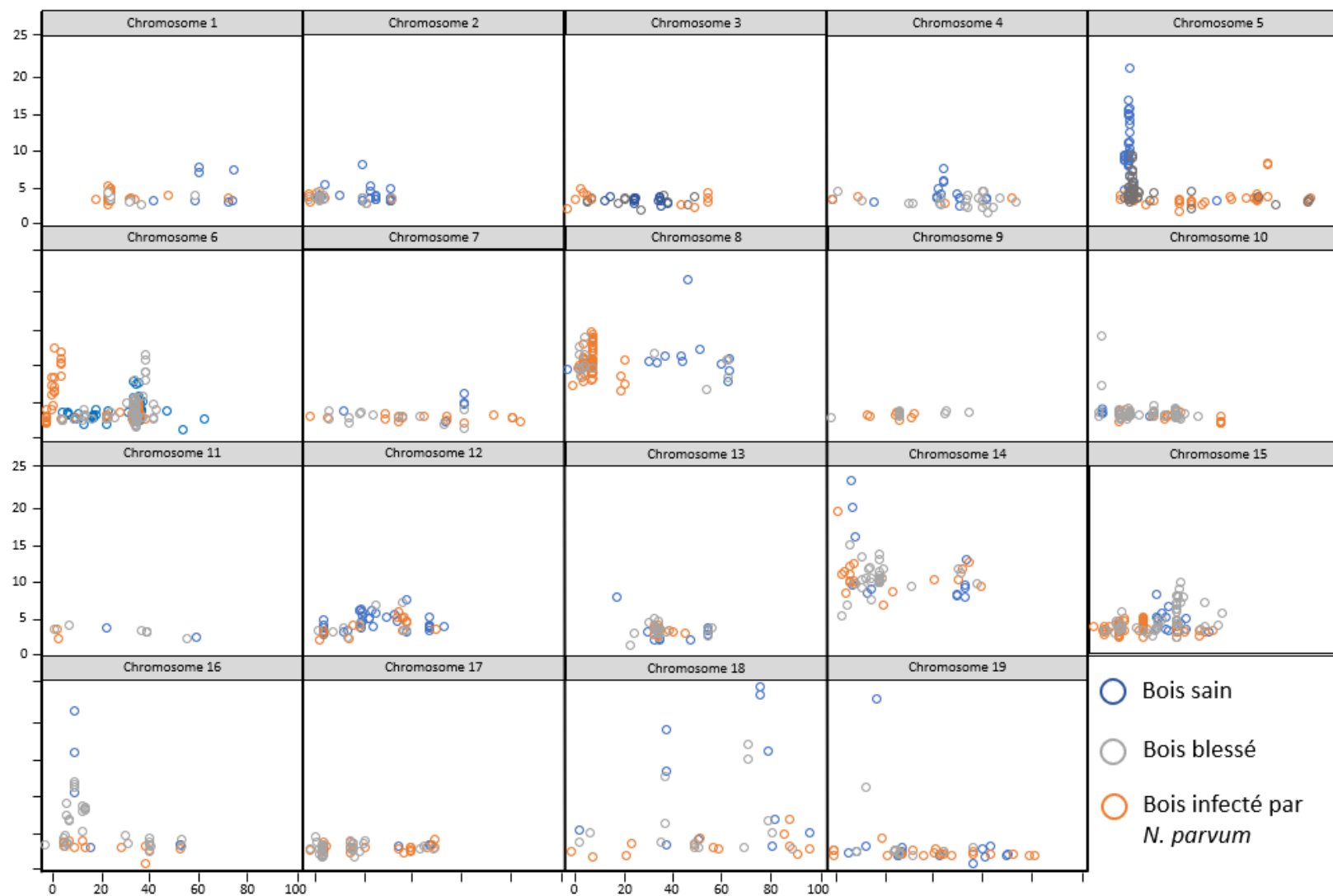


Figure 27 : Détection de QTLs à l'échelle du génome entier sur la carte génétique du Ri sur la base des données de métabolomique non-ciblée de 2022 (ESI + et ESI -) des sarments sains et infectés par *N. parvum* ($p_{val} < 0.05$). Chaque point correspond à un ion, les points bleus correspondant à ce provenant du bois sain, les points gris aux bois blessés, et les oranges aux bois infectés par *N. parvum*.

3.2. Résultats et discussion

Au total, 4 234 ions en ESI (-) et 2 935 en ESI (+) ont été quantifiés à la suite de l'analyse non ciblée par UHPLC-HRMS, soit 7 169 ions au total. Le nombre réel de métabolites est inférieur à ce total, car celui-ci inclut des fragments et des adduits, ainsi que des métabolites détectés dans les deux modes d'ionisation. Pour la recherche QTL, les deux jeux de données (ESI + et ESI -) ont été traités ensemble. Nous avons détecté plusieurs centaines de mQTL sur chacune des deux cartes parentales (Tableau 10).

*Tableau 10 : Nombre de QTLs détectés et nombre d'ions correspondants identifiés par UHPLC-HRMS dans les sarments infectés par *N. parvum* en fonction des cartes génétiques ($p_{value} \leq 0.05$).*

<u>Carte génétique</u>	<u>ESI (-)</u>		<u>ESI (+)</u>	
	Nbr ions	Nbr QTLs	Nbr ions	Nbr QTLs
Ri	355	366	357	365
Gw	287	303	148	162

Afin de visualiser efficacement les régions chromosomiques impactées par l'infection, nous avons représenté pour chacune des deux cartes génétiques les mQTLs détectés sur la base des données de métabolomiques non ciblée pour les sarments infectés par *N. parvum* en 2022 et les sarments sains de la même année (Figure 26 et 27). Ces figures montrent à l'échelle du génome entier des « hotspots », correspondant à des régions chromosomiques où colocalisent de nombreux mQTLs.

Plusieurs régions ou « hotspots » ont été identifiées sur les chromosomes 1 de la carte génétique du Ri, et sur les chromosomes 1, 6 et 8 de la carte génétique du Gw. On peut observer que les LOD scores des QTLs pour les sarments infectés sont plus faibles avec une valeur maximale de 12, tandis que ceux du bois sain atteignent un LOD score de 25, voire dépassent ces valeurs. Cette différence s'explique car durant les expérimentations sur *N. parvum* en 2022, le nombre de génotypes était plus faible (60) que pour les analyses sur les sarments sains (104). De plus, afin de réaliser une recherche QTL, pour chaque génotype, une seule valeur phénotypique doit être attribuée. Or, nous avons 5 entre-nœuds infectés par génotype durant les expérimentations VitEst, répétitions techniques qui présentaient parfois des variations importantes dans les quantités de métabolites. Ainsi, pour chaque métabolite, nous avons donc dû faire une moyenne des valeurs 5 répétitions réduisant la précision de la mesure et impactant très probablement la qualité de l'analyse QTL.

3.2.1. Analyse du « hotspot » de mQTLs identifié sur le chr 1 de la carte Ri

Deux hotspots de QTLs semblent coexister sur le chr 1 de la carte génétique du Ri (Figure 28), localisés autour de la position 60 cM et 75 cM. Toutefois une analyse plus approfondie des intervalles de confiance révèle que les 135 ions colocalisant ces deux régions se chevauchent, ne formant qu'un unique hotspot.

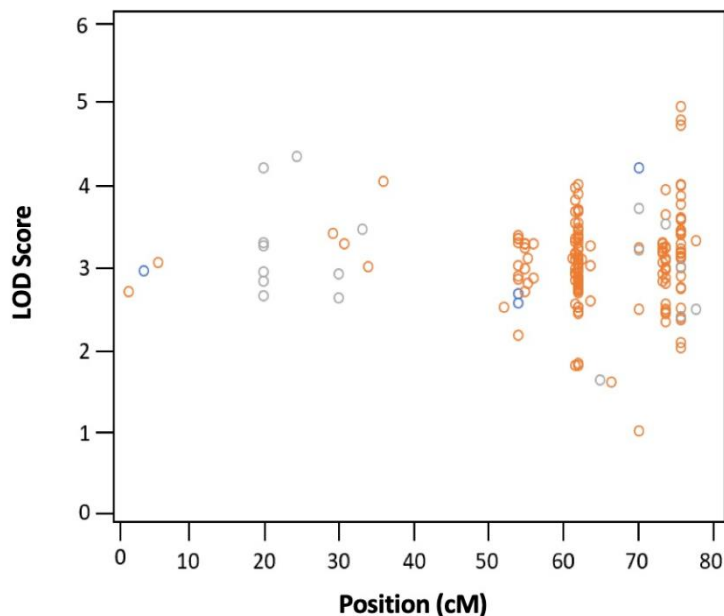


Figure 28 : mQTL détectés avec les données UHPLC-HRMS des sarments sains (ronds bleus), blessés (ronds gris) et infectés par *N. parvum* (ronds oranges) sur le chr 1 de la carte Ri ($p_{value} \leq 0.05$).

L'intervalle de confiance englobant les ions est compris entre [50.4 ; 74.6] cM, ce qui correspond en coordonnées physiques à [13.4 ; 23.9] Mb, avec une valeur maximale de LOD score de

4.99. Nous avons pu proposer une formule chimique ou une identification pour un certain nombre d'ions, présentés dans le tableau 11. Nous avons ainsi pu identifier des métabolites primaires et spécialisés synthétisés par la vigne, comme des stilbènes et des sucres, mais également des métabolites fongiques comme des lipides et des toxines. L'origine fongique de ces métabolites a pu être établie sur la base de données de littérature (Abou-Mansour et al., 2015; Schilling et al., 2023), mais également grâce à l'analyse par chromatographie liquide d'un morceau de mycélium de la souche Bt76 de *N. parvum* cultivé sur milieu gélosé et fournie par l'UHA.

Tableau 11 : Liste des ions colocalisant le QTL sur le chr 1 de la carte Ri ($p_{\text{value}} \leq 0.05$), pour lesquels une formule chimique ou une identité putative a pu être proposée.

Formule chimique	m/z	Identification putative / Famille chimique	Position génétique (cM)	Position pic QTL	LOD
[C ₇ H ₈ O ₄ + H] +	157.04954	Sphaéropsidone	61.12	34.5 – 74.6	2.98
[C ₈ H ₉ O ₅ N – H] -	198.0408	Acide clavulanique	60.72	34.5 – 74.6	2.7
[C ₈ H ₈ O ₃ – H] -	151.04004	Méthyl salicylate	61.12	31 – 76.6	3.02
[C ₃₀ H ₅₅ N ₅ O ₅ – H] -	564.4124	Toxine fongique	61.12	48.4 – 76.2	3.51
[C ₂₉ H ₅₃ N ₅ O ₅ + Cl] -	586.08413	Toxine fongique	53.98	34.5 – 74.6	2.85
[C ₂₆ H ₄₂ O ₈ – H] -	481.28064	Toxine fongique	61.12	34.5 – 72.6	2.59
[C ₁₈ H ₃₆ O ₃ – H] -	299.25918	Lipide fongique	74.62	50.4 – 74.6	3.51
[C ₁₇ H ₃₂ O ₃ – H] -	283.22792	Lipide fongique	74.62	51.6 – 75.8	3.53
[C ₁₅ H ₃₀ O ₃ – H] -	257.21226	Lipide fongique	74.62	50.4 – 75.8	3.3
[C ₂₁ H ₄₀ O ₄ + H] +	315.23176	Lipide fongique	61.12	50.4 – 74.6	3.8
[C ₁₈ H ₃₀ O ₃ – H] -	293.21223	Lipide fongique	74.62	31 – 76.6	2.89
[C ₁₇ H ₃₀ O ₃ – H] -	281.21222	Lipide fongique	74.62	50.4 – 76.6	3.7
[C ₁₆ H ₂₈ O ₃ – H] -	267.19661	Lipide fongique	74.62	52 – 76.6	3.96
[C ₁₇ H ₃₀ O ₄ – H] -	297.20712	Lipide fongique	72.64	34.5 – 76.6	2.5
[C ₁₆ H ₃₂ O ₅ – H] -	351.21751	Lipide fongique	69.06	29.8 – 74.6	2.64
[C ₂₈ H ₂₂ O ₆ + H] +	455.1490	Dimère de stilbène	53.18	48.4 – 74.6	3.03
[C ₃₄ H ₃₂ O ₁₁ – H] -	615.18726	Glucoside de stilbène	72.64	52 – 75.8	3.23
[C ₁₅ H ₁₂ O ₇ + H] +	305.0655	Astilbine (fragment)	69.06	52 – 75.8	3.6
[C ₂₁ H ₂₀ O ₇ + H] +	243.1018	Pinostilbène	72.64	50.4 – 75.8	3.21
[C ₅₂ H ₆₂ O ₂₈ – H] -	1133.3388	Stilbène	72.24	52 – 74.6	3.41
[C ₄₂ H ₃₂ O ₁₂ – H] -	727.1812	Stilbène	61.12	34.5 – 74.6	3.34
[C ₅₆ H ₄₃ O ₁₂ – H] -	906.7692	Dimère de viniférine	72.24	48.4 – 74.6	3.19
[C ₆ H ₁₂ O ₅ + H] +	165.07567	Sucre	61.12	52 – 74.6	2.84

Ainsi le métabolite de formule chimique $C_7H_8O_4$ identifié à la fois en mode d'ionisation (+) et (-), absent du bois sain mais très abondant dans le bois infecté par *N. parvum*, pourrait correspondre à deux métabolites d'origine fongique : la terremutine ou de la sphaéropsidone (Abou-Mansour et al., 2015). Son spectre de masse (Annexe 2) correspond mieux à de la sphaéropsidone en raison d'un fragment majoritaire lié à la perte d'un méthyl (CH_3), plus facile lorsque le méthyl est lié à l'oxygène en C6 (sphaéropsidone) que lié au carbone C5 (terremutine). Cette toxine a été identifiée pour la première fois chez l'espèce d'ascomycète *Sphaeropsis sapinea* - *Diplodia sapinea* –, qui s'attaque au bois de pins (Evidente et al., 1998). Appliquée sur des tiges provenant de plusieurs espèces de conifères, cette toxine peut induire la formation de nécroses. Le métabolite de formule chimique $C_8H_8O_3$ a pu être formellement identifié comme étant du méthyl salicylate, grâce à son standard commercial. Ce métabolite intervient dans la voie de biosynthèse de la terremutine, et en raison de la proximité structurelle forte entre la terremutine et la sphaéropsidone, il est probable qu'il soit également un précurseur de la sphaéropsidone (Guo et al., 2014).

L'origine biosynthétique de quatre autres métabolites de formule $C_{30}H_{55}N_5O_5$, $C_{29}H_{53}N_5O_5$, $C_{26}H_{42}O_8$, et $C_8H_9O_5N$, a pu être attribuée à *N. parvum* grâce à l'analyse du mycélium, bien que ces composés n'aient été identifiés dans aucune littérature concernant ce pathogène. Les métabolites de formule $C_{30}H_{55}N_5O_5$ et $C_{29}H_{53}N_5O_5$ pourraient correspondre à deux peptides cycliques, précédemment identifiés chez le phytopathogène *Cophinforma mamane*, également connu sous le nom *Botryosphaeria mamane*. Ce pathogène, infectant plusieurs espèces ligneuses des genres *Eucalyptus*, *Acacia* ou encore *Pinus*, et est phylogénétiquement proche de *N. parvum*, puisque tous deux font partie de la famille des *Botryosphaeriaceae* (Pacheco-Tapia, 2021). Les cyclopeptides sont des toxines très étudiées pour leur activité cytotoxique sur des lignées cancéreuses, néanmoins leur rôle dans les interactions plantes-pathogènes n'est pas clair. S'ils peuvent provoquer des nécroses dans les tissus infectés par le pathogène, ils ne sont pas responsables à eux seuls de la virulence du pathogène (Herrman et al., 1996). Ils ne semblent pas non plus avoir d'activité antifongique qui permettrait au pathogène les sécrétant d'inhiber une potentielle concurrence (Li et al., 2016). La formule $C_8H_9O_5N$ pourrait correspondre à un métabolite que l'on retrouve fréquemment décrit dans les bactéries sous le nom d'acide clavulanique. Connue pour son rôle d'antibiotique en inhibant la β -lactamase (Drawz & Bonomo, 2010), il n'a à ce jour jamais été décrit dans des champignons pathogènes de plantes, où son rôle demeure inconnu. Pour finir, l'identité du métabolite de $C_{26}H_{42}O_8$ pourrait être attribuée à la fusicoccine H, un terpène glycosylé. La fusicoccine A, de formule $C_{36}H_{56}O_{12}$, est très proche de la fusicoccine H. Or, elle a fait l'objet d'une récente étude dans l'interaction entre *N. parvum* et des cultures cellulaires de *Vitis rupestris*. Cette toxine, sécrétée par le pathogène, active de nombreux mécanismes de défense, dont la mort cellulaire programmée (Khattab et al., 2021).

Nous avons ensuite quantifié l'abondance relative de quatre de ces métabolites fongiques (Figure 29), ainsi que deux stilbènes de la vigne, entre les individus présentant une forte nécrose (> 90% de la surface de l'entre-nœud), et ceux plus faiblement nécrosés (> 10% de la surface de l'entre-nœud). Cette analyse a été réalisée sur tous les entre-nœuds, mêmes ceux du Ri et du Gw, présentant des aires de nécrose superficielle inférieures à 10 % de la surface totale de l'entre-nœud, soit 29 échantillons, que nous considérons comme peu nécrosés (N), ainsi que sur les entre-nœuds dont les aires de nécrose superficielle sont ≥ 90 % de la surface totale de l'entre-nœud, soit 83 échantillons, et considérés comme très nécrosés (N++). Nous avons également utilisé les valeurs des entre-nœuds blessés, mais non infectés par *N. parvum* comme témoins (T). Ainsi, la quantification de certains métabolites d'origine fongique pourrait servir de marqueurs du niveau d'infection du bois, comme alternative à la notation de la nécrose superficielle.

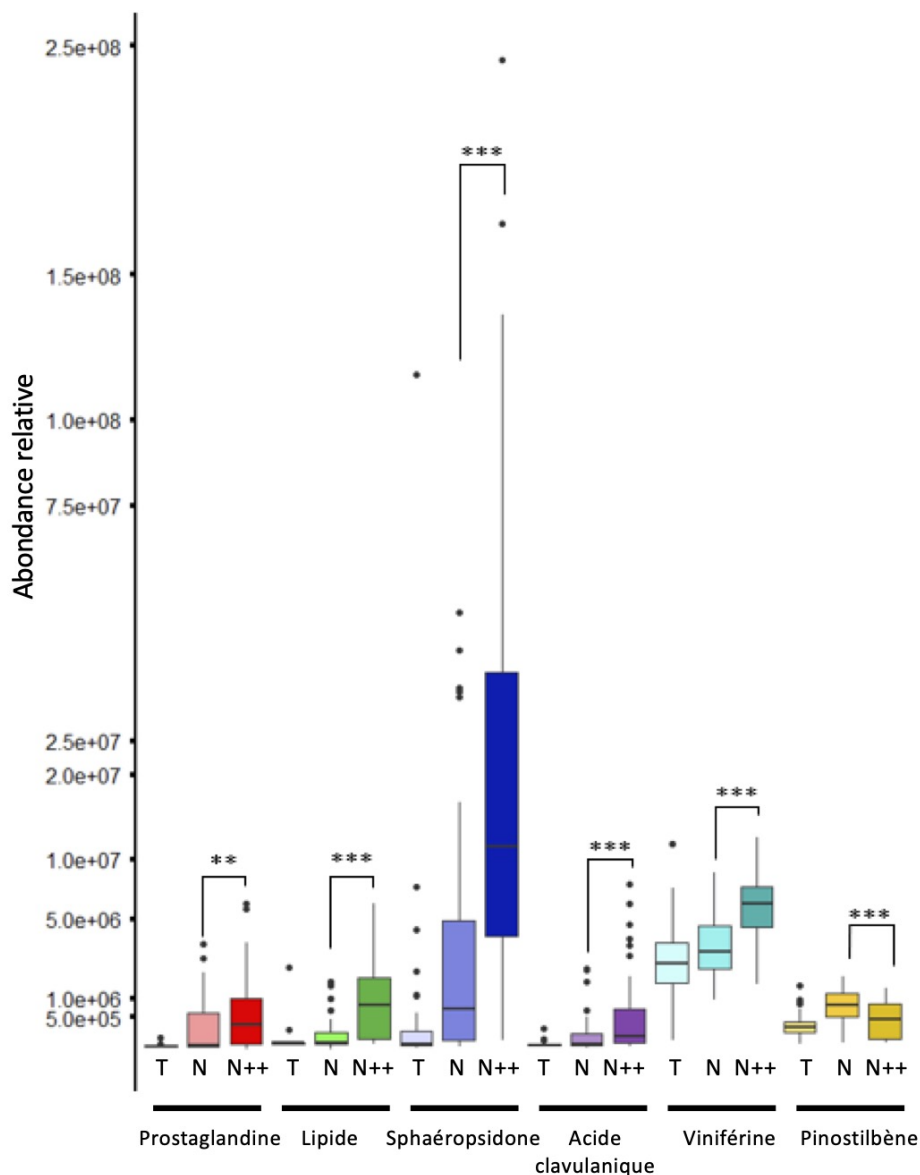


Figure 29 : Abondance relative de deux lipides, deux toxines et deux stilbènes identifiés dans le hotspot de mQTLs du chr 1 du Ri, au sein des entre-nœuds témoins (T) non infectés par *N. parvum*, et ceux présentant une faible nécrose (N) ou une forte nécrose (N++).

Plusieurs stilbènes ont été identifiés parmi les ions colocalisant ce QTL. Une viniférine, isomère de l' ϵ -viniférine, est significativement plus abondante chez les individus sensibles à *N. parvum* que ceux plus tolérants. Bien qu'également synthétisé par la vigne, l'origine de ce métabolite pourrait être due à la dimérisation du resvératrol sous l'action de laccases fongiques dont *N. parvum* dispose (Labois et al., 2021), ce qui expliquerait son abondance accrue au sein des génotypes plus sensibles au pathogène. En revanche, le pinostilbène (resvératrol monométhyl-ether), est plus accumulé chez les génotypes les moins sensibles à *N. parvum* que chez les individus les plus sensibles, ce qui pourrait suggérer un effet protecteur de ce métabolite. Toutefois, les données sur une potentielle activité

antifongique de ce stilbène sont rares et portent sur des espèces fongiques n'affectant pas la vigne, et donc n'ayant pas le matériel enzymatique adapté à la détoxification des stilbènes (Kunova et al., 2024). Il n'est donc pas possible de conclure sur son rôle dans notre expérimentation.

Si l'on considère les métabolites fongiques comme des marqueurs de l'infection, alors nous pouvons dire que cette région chromosomique impacte la tolérance ou la sensibilité des individus de la population Ri x Gw, à *N. parvum*. Nous avons étudié l'effet allélique sur l'abondance de ces métabolites dans la descendance au niveau du marqueur chr1_21,987,119. Au niveau de ce marqueur le Ri est hétérozygote (allèles notés 0/1), tandis que le Gw est homozygote (allèles notés 0/0). On observe que dans la descendance les individus ayant hérité de l'allèle 1 du Ri, et donc noté 0/1, présentent des quantités significativement plus faibles en métabolites fongiques, indiquant que le Ri est porteur d'un allèle ayant un effet protecteur (Figure 30). En raison de la taille importante de la région correspondant à ce QTL (10 Mb) aucune recherche de gènes candidats n'a été envisagée.

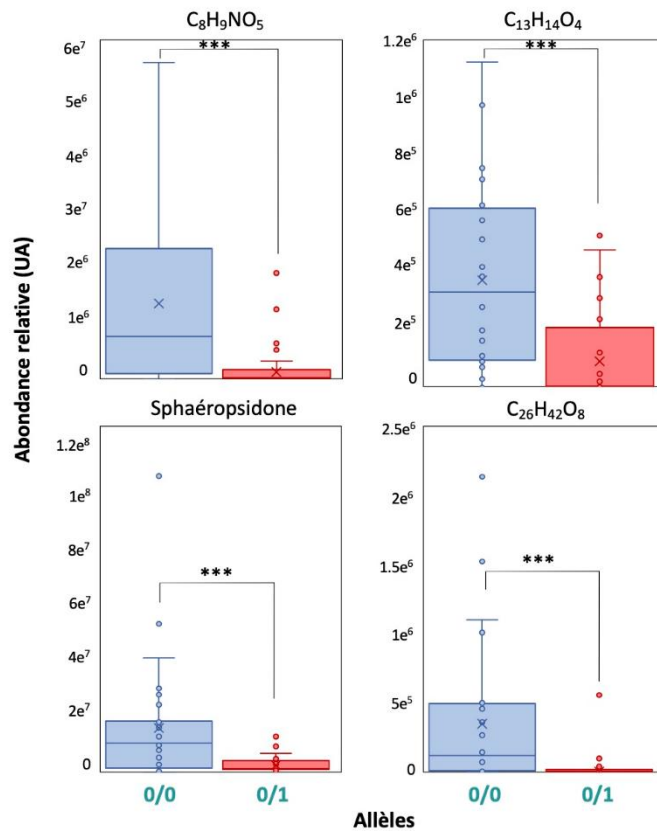


Figure 30 : Quantité relative de sphaéropsidone et de trois autres métabolites fongiques dans la descendance de la population Ri x Gw selon les allèles au marqueur chr1_21,987,119 sur le chr 1, pour les données de l'année 2022. *** : $p_{value} \leq 0.001$.

3.2.2. Analyse du « hotspot » de mQTLs identifié sur le chr 1 de la carte Gw

Un hotspot de QTLs a été identifié sur le chr 1 de la carte génétique du Gw (Figure 31), autour de la position 25 cM, et lié à l'accumulation de 24 ions. Le LOD maximal est de 5, et l'intervalle de confiance est compris entre [22.6 ; 33] cM, ce qui correspond aux positions physiques [4.3 ; 6.2] Mb. Il s'agit donc d'une portion chromosomique différente de celle identifiée avec la carte génétique du Ri. De façon concomitante, l'équipe GAV du centre INRAE de Colmar a identifiée en 2023 un QTL sur le chr 1 de la carte génétique du Gw à partir des notations de nécroses liées à la présence de l'Esca dans le bois de ceps (Arnold et al., 2023). Ce QTL, dont l'intervalle est compris entre [34 ; 55] cM avec un pic de probabilité entre [44 ; 53] cM ne colocalise pas de façon convaincante avec notre hotspot dont l'intervalle le plus étroit est compris entre [10.7 ; 35 cM] avec un pic de probabilité aux alentours des 25 cM.

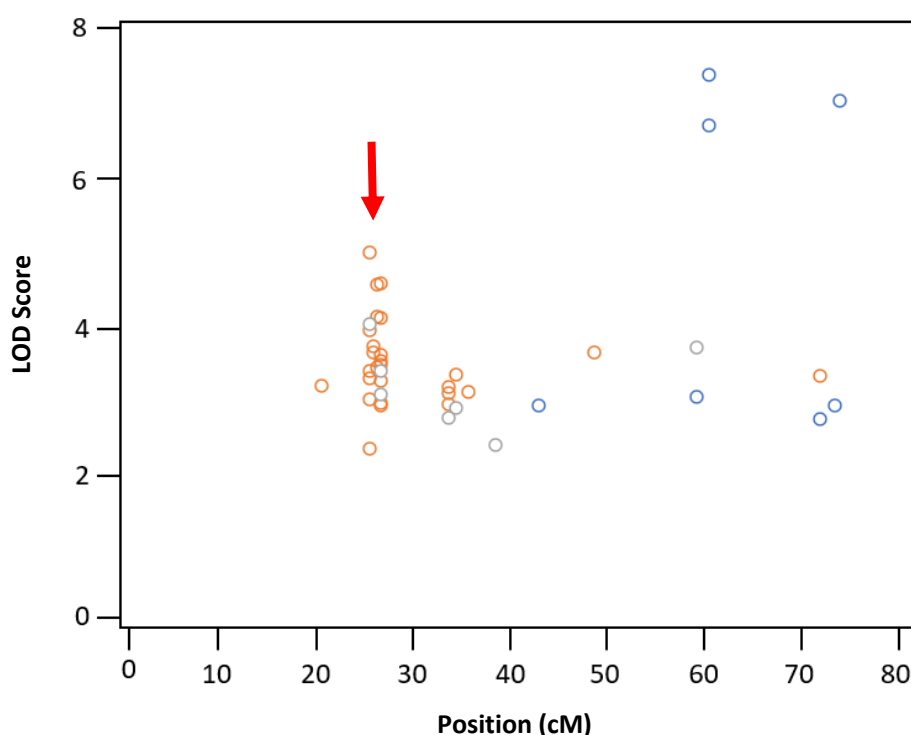


Figure 31 : mQTL détectés avec les données UHPLC-HRMS des sarments sains (ronds bleus), blessés (ronds gris) et infectés par *N. parvum* (ronds oranges) sur le chr 1 de la carte Gw. $p_{value} \leq 0.05$.

Parmi les 24 ions qui colocalisent ce QTL, des formules chimiques ainsi que des identifications putatives ont été proposées pour 20 d'entre eux (Tableau 12). La majorité des composés identifiés appartiennent à la famille des flavonoïdes, notamment des tannins et des précurseurs de tannins. Nous avons également identifié un oligomère de stilbène ($C_{56}H_{48}O_{14}$), vraisemblablement formé par la

dimérisation de restrytol ou du léachianol lors de l'ionisation en raison du temps de rétention identique à celui du dimère de resvératrol.

Tableau 12 : Liste des ions colocalisant le QTL sur le chr 1 de la carte Gw ($p_{\text{value}} \leq 0.05$), pour lesquels une formule chimique ou une identité putative a pu être proposée. N.I. : Non-identifié.

Formule chimique	m/z	Identification putative / Famille chimique	Position génétique (cM)	Position pic QTL	LOD
[C ₁₄ H ₁₂ O ₅ – H] -	259.06119	N.I.	10.7 – 36.9	32.95	3.11
[C ₁₅ H ₁₄ O ₆ + Cl] -	325.04845	Catéchine	10.7 – 40.9	26.21	3.62
[C ₂₈ H ₄₀ O ₁₅ – H] -	615.22965	N.I.	19.1 – 60.3	32.95	3.36
[C ₂₁ H ₃₂ O ₁₂ – H] -	475.18206	N.I.	10.7 – 34.9	25.01	3.41
[C ₁₇ H ₂₈ O ₁₀ – H] -	391.16077	N.I.	10.7 – 36.9	25.01	3.02
[C ₂₁ H ₃₂ O ₁₂ – H] -	475.18204	N.I.	10.7 – 34.9	26.21	2.97
[C ₂₆ H ₃₄ O ₁₁ – H] -	521.20278	N.I.	22.6 – 34.1	26.21	3.54
[C ₅₆ H ₄₈ O ₁₄ – H] -	943.29664	Dimère de Restrytol	1.2 – 60.3	25.01	2.36
[C ₃₇ H ₃₀ O ₁₅ – H] -	713.1511	Fiséтинидол-catechin-3-O-gallate	10.7 – 42.5	26.21	2.94
[C ₅₂ H ₄₀ O ₂₂ – H] -	1015.1936	Cinnamtannin B1 3-gallate	10.7 – 39.3	20.25	3.21
[C ₂₇ H ₁₂ O ₁₄ – H] -	559.0186	N.I.	13.1 – 34.9	25.81	4.14
[C ₂₆ H ₂₀ O ₁₄ – H] -	555.07567	N.I.	13.1 – 37.3	25.81	3.45
[C ₁₅ H ₁₄ O ₁₉ – H] -	497.00208	N.I.	24.6 – 34.9	25.01	5
[C ₂₄ H ₁₆ O ₁₀ – H] -	463.0648	Quercétine-glucoside	19.1 – 33	25.01	3.95
[C ₁₅ H ₁₀ O ₇ – H] -	301.03523	Quercétine	13.1 – 34.9	26.21	3.27
[C ₂₂ H ₁₈ O ₁₀ – H] -	441.08232	Epicatéchine-gallate	19.1 – 33	25.01	3.95
[C ₁₅ H ₁₄ O ₆ – H] -	289.07173	Fragment d'épicatéchine	13.1 – 34.9	26.21	3.27
[C ₇ H ₆ O ₅ – H] -	169.01429	Fragment d'acide gallique	21.8 – 34.1	26.21	4.58
[C ₂₂ H ₁₈ O ₁₁ – H] -	457.07878	Epigallocatechine gallate	19.1 – 37.3	25.01	2.96
[C ₃₄ H ₄₀ O ₁₅ – H] -	687.22951	N.I.	10.7 – 41.3	32.95	3.7

On observe que l'épigallocatechine gallate, l'épicatéchine gallate, la quercétine glucoside, la fisétinidol-catechin-3-O-gallate et le dimère de restrytol sont significativement plus abondants après infection par *N. parvum* (Figure 32). Par ailleurs, à l'exception du fisétinidol-catechin-3-O-gallate, les individus faiblement nécrosés présentent des niveaux de ces composés significativement plus élevés ($p_{\text{value}} \leq 0.10$) que les individus fortement nécrosés.

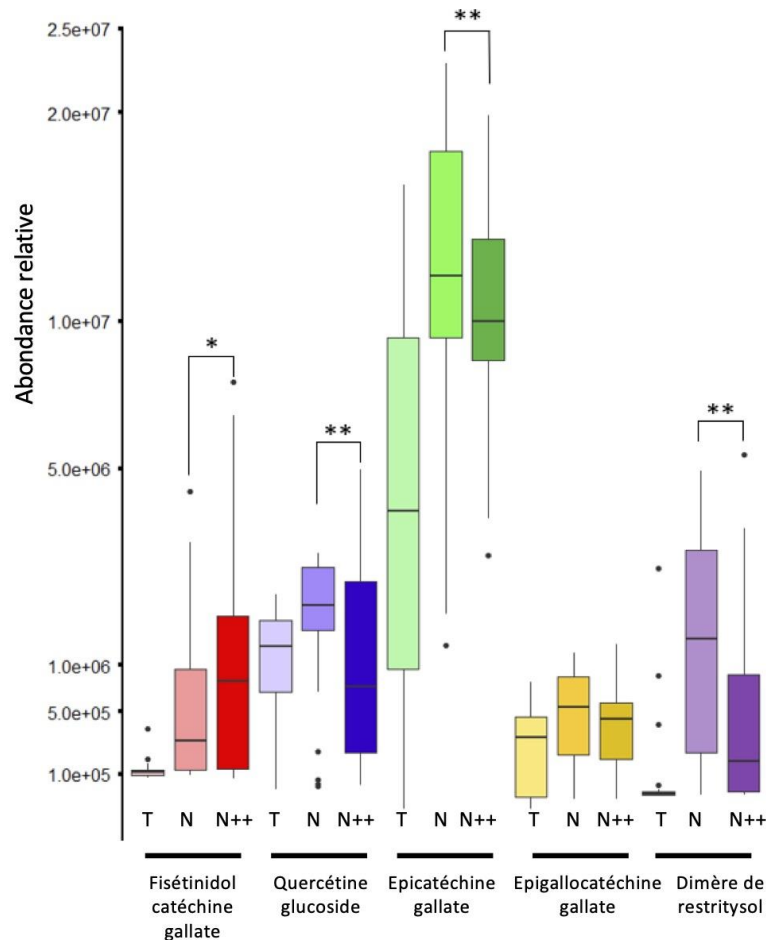


Figure 32 : Abondance relative des flavonoïdes et stilbène identifiés dans le hotspot de mQTLs du chr 1 du Gw, au sein des entre-nœuds témoins (T) non infectés par *N. parvum*, et ceux présentant une faible nécrose (N) ou une forte nécrose (N++). * : $p_{value} \leq 0.1$, ** $p_{value} \leq 0.05$.

L'accumulation de flavonoïdes a déjà été identifiée comme l'une des réponses du bois de vigne à l'infection par des champignons liés aux MDB (Chervin et al., 2022). Cependant, l'impact de ces flavonoïdes sur l'interaction n'est pas connu. Le stilbène de formule $C_{56}H_{48}O_{14}$ a été identifié comme un dimère de restritysol ou de léachianol dont le temps de rétention diffère de ceux des dimères, écartant l'hypothèse d'une oligomérisation lors de l'ionisation en source. Le restritysol et le léachianol ont été initialement décrits comme issus de la biotransformation de monomères sous l'action d'enzymes fongiques, probablement dans le but de détoxifier l'environnement du pathogène (Cichewicz et al., 2000), et ne semblent pas avoir d'effet antifongique sur certains pathogènes de la vigne (Schnee et al., 2022). Ainsi, il est surprenant de voir un oligomère de stilbènes significativement plus abondant chez les individus plus tolérants à *N. parvum*, et il pourrait être intéressant de tester son activité sur ce pathogène.

Ainsi, cette région chromosomique située sur le chr 1 du Gw semble contrôler la biosynthèse de nombreux flavonoïdes et stilbènes en réponse à l'infection par *N. parvum*. Des analyses

complémentaires seraient néanmoins nécessaires pour étudier le rôle potentiel de ces métabolites dans l'interaction.

3.2.3. Analyse du « hotspot » de mQTLs identifié sur le chr 6 de la carte Gw

Un hotspot de QTLs a été identifié sur le chr 6 de la carte génétique du Gw, autour de la position 25 cM, et lié à l'accumulation de 29 ions (Figure 33). Le LOD score maximal est de 12.06, et l'intervalle de confiance est compris entre [3.2 ; 5.2] cM, ce qui correspond à un intervalle de [0.7; 0.82] Mb.

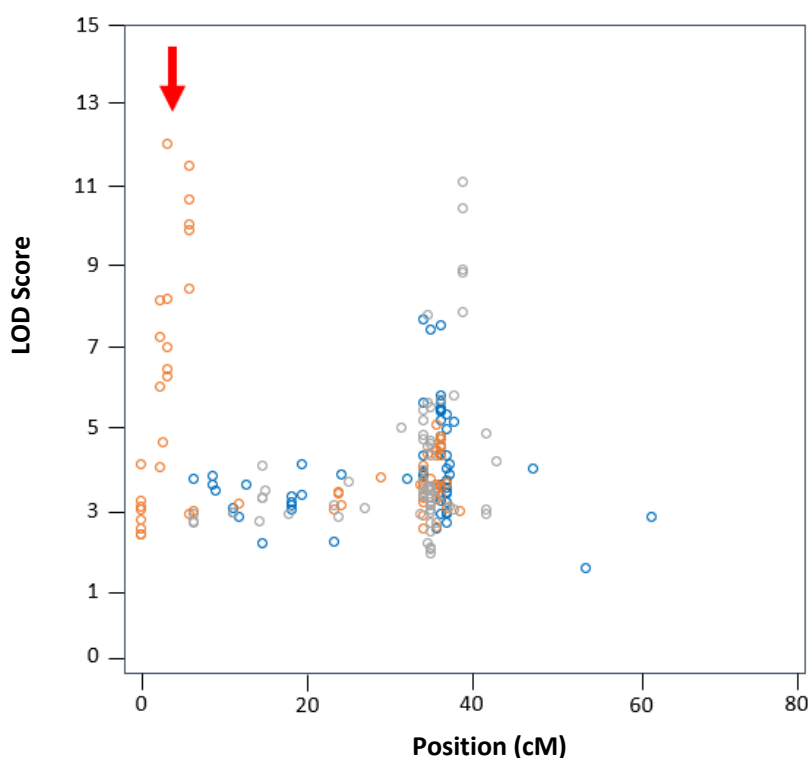


Figure 33 : mQTL détectés avec les données UHPLC-HRMS des sarments sains (ronds bleus), mécaniquement blessés (ronds gris) et infectés par *N. parvum* (ronds oranges) sur le chr 6 de la carte Gw ($p_{\text{valeur}} \leq 0.05$).

Parmi les 24 ions qui colocalisent ce QTL, plusieurs dimères de stilbènes ont pu être identifiés comme étant du viniférifurane, du léachianol/restryisol A, et de l' ϵ -viniférine (Tableau 13). Un stilbène de formule $C_{28}H_{24}O_7$ avait déjà été identifié dans le hotspot du chr 1 sur la carte génétique du Gw. Cependant, le temps de rétention de ces deux métabolites diffère, indiquant qu'il s'agit de deux stilbènes différents. Plusieurs ions correspondant à des adduits de ces stilbènes ont également pu être identifiés, mais n'ont pas été présentés. Nous avons également identifié deux acides phénoliques ainsi qu'un disaccharide synthétisés par la vigne.

Tableau 13 : Liste des ions colocalisant le QTL sur le chr 6 de la carte Gw ($p_{\text{value}} \leq 0.05$), pour lesquels une formule chimique ou une identité putative a pu être associée.

Formule chimique	m/z	Identification putative	Position génétique (cM)	Position pic QTL	LOD
[C ₂₈ H ₂₄ O ₇ – H] -	471.14469	Léachianol / Restrytisol A	2.4 – 6.4	2.38	7.56
[C ₂₈ H ₂₂ O ₆ – H] -	453.1341	Viniférine	2.4 – 6.4	2.38	8.5
[C ₂₈ H ₂₀ O ₆ – H] -	451.11856	Viniférifurane	3.2 – 6.4	2.38	10.7
[C ₇ H ₆ O ₄ – H] -	153.01933	Acide hydroxybenzoïque	0 – 6	0	3.25
[C ₁₂ H ₂₂ O ₁₁ + Cl] -	377.0855	Disaccharide	0 – 23.7	6.35	3
[C ₁₃ H ₁₀ O ₂ + H] +	199.0753	N.I.	2.4 – 6.4	5.96	8.23
[C ₈ H ₈ O ₄ + H] +	169.0495	Acide dihydroxyphénylacétique	0 – 12.7	0.4	3.15

L'étude de l'abondance relative de ces stilbènes selon le degré de nécrose des entre-nœuds ainsi que chez les témoins montre que l'infection induit fortement la synthèse de ces stilbènes (Figure 34). Cette accumulation est d'autant plus forte que le degré de nécrose est élevé, notamment pour le stilbène de formule C₂₈H₂₄O₇, significativement plus abondant chez les individus fortement nécrosés. Ce stilbène, initialement décrit comme issu de l'oligomérisation du resvératrol stilbène sous l'action d'enzymes fongiques (Cichewicz et al., 2000), n'est pas connu pour avoir d'activité antifongique (Schnee et al., 2022), bien que jamais testé contre *N. parvum*.

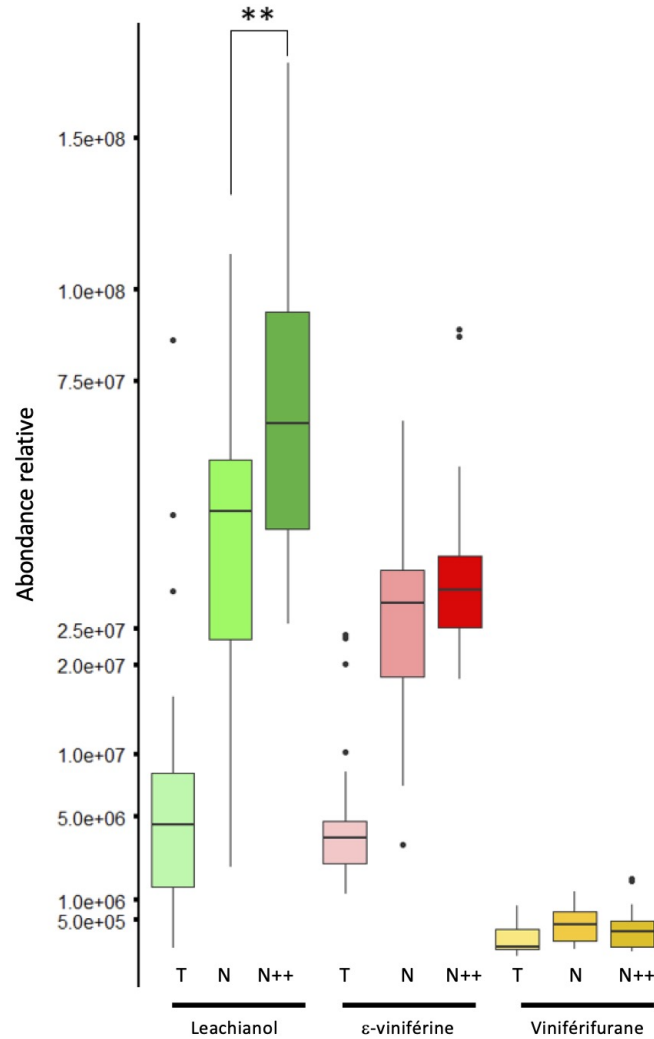


Figure 34 : Abondance relative des flavonoïdes et stilbène identifiés dans le hotspot de mQTLs du chr 6 du Gw, au sein des entre-nœuds témoins (T) non infectés par *N. parvum*, et ceux présentant une faible nécrose (N) ou une forte nécrose (N++). ** $p_{value} \leq 0.05$.

3.2.4. Analyse du « hotspot » de mQTLs identifié sur le chr 8 de la carte Gw

Le dernier hotspot de mQTLs identifié est localisé sur le chr 8 de la carte génétique du Gw, autour de la position 10 cM, et colocalise 50 ions (Figure 35). Le LOD score maximal est de 4.55, et l'intervalle de confiance est compris entre [9.5 ; 17.5] cM, ce qui correspond en coordonnées physiques à l'intervalle [5.5 ; 10.5] Mb.

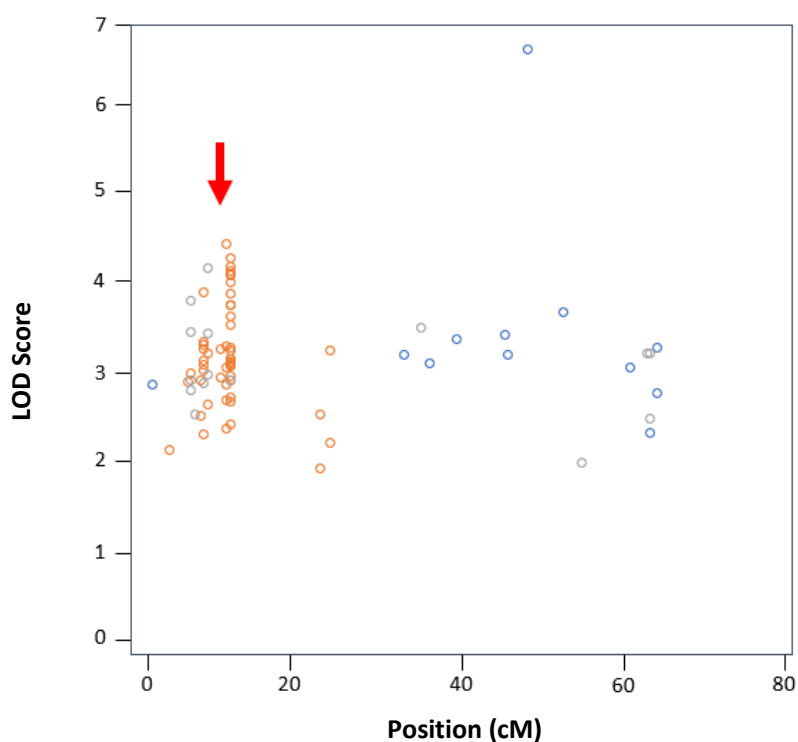


Figure 35 : mQTL détectés avec les données UHPLC-HRMS des sarments sains (ronds bleus), blessés (ronds gris) et infectés par *N. parvum* (ronds oranges) sur le chr 8 de la carte Gw. $p_{value} \leq 0.05$.

Parmi ces 50 ions, nous avons pu proposer un certain nombre d'identifications, présentées dans le tableau 14.

Tableau 14 : Liste des ions colocalisant le QTL sur le chr 8 de la carte Gw ($p_{value} \leq 0.05$), pour lesquels une formule chimique ou une identité putative a pu être proposée.

Formule chimique	m/z	Identification putative / Famille	Position génétique (cM)	Position pic QTL	LOD
[C ₁₈ H ₃₄ O ₅ – H] -	329.2334	Lipide fongique	0 – 63.1	3.18	2.26
[C ₁₆ H ₃₀ O ₄ – H] -	285.2071	Lipide fongique	3.2 – 19.4	10.32	3.42
[C ₁₄ H ₂₄ O ₅ – H] -	271.1551	Toxine fongique	7.5 – 2.4	10.72	3.24
[C ₇ H ₈ O ₄ – H] -	155.0350	Sphaéropsidone	4.8 – 32.5	21.83	2.06
[C ₇ H ₁₀ O ₄ – H] -	157.0506	Toxine fongique	0 – 28.6	10.32	2.5
[C ₁₃ H ₁₄ O ₄ – H] -	233.0819	Toxine fongique	6.7 - 32.5	10.72	2.55
[C ₈ H ₉ NO ₅ – H] -	198.0408	Toxine fongique	4.8 – 27.8	10.72	2.8
[C ₂₂ H ₃₆ O ₁₂ – H] -	491.21338	N.I.	3.2 – 18.7	7.54	3.43
[C ₂₂ H ₃₆ O ₁₂ + H] +	267.12268	Phénol	6.7 – 27.4	10.32	2.99
[C ₂₁ H ₂₀ O ₇ + H] +	385.12827	Lignane	6.7 – 21.8	10.72	3.32

[C ₈ H ₈ O ₄ + H] +	169.04949	Acide 3,4-dihydroxyphénylacétique	6.7 – 32.1	7.54	3.25
[C ₁₀ H ₁₀ O + H] +	153.12737	Terpène	0 – 39.3	7.97	2.77
[C ₂₂ H ₃₆ O ₁₂ – H] -	491.21338	Terpène	3.2 – 18.7	7.54	3.43
[C ₆ H ₁₂ O ₇ – H] -	195.05093	Acide gluconique	3.2 – 23.4	10.72	3.19
[C ₂₄ H ₄₀ O ₂₂ – H] -	679.1938	Polysaccharide	3.2 – 32.5	23.02	3.36

En particulier, de nombreux métabolites colocalisant ce QTL ont pu être identifiés comme des toxines fongiques et lipides synthétisés par *N. parvum*. Nous avons à nouveau identifié la sphaéropsidone, déjà présente dans le hotspot de QTL du chr 1 du Ri, ainsi qu'un composé chimiquement proche de la sphaéropsidone et de formule C₇H₁₀O₄ qui pourrait correspondre à du terredionol (Miller, 1968). La molécule de formule C₁₄H₂₄O₅ quant à elle, pourrait correspondre à une botryosphaérilactone, une lactone notamment produite par la souche fongique *Lasiodiplodia theobromae*, que l'on retrouve parfois dans le bois de vigne atteint par les MDB (Salvatore et al., 2020; Rangel-Montoya et al., 2021). De nombreuses lactones dérivées du γ -butyrolactone sont biosynthétisées dans diverses espèces de champignons pathogènes. Par exemple, *Aspergillus terreus* synthétise de la burytolactine I, une lactone ayant démontrée des propriétés modulatrices du métabolisme secondaire du champignon, de la morphologie du mycélium, ainsi qu'une activité promotrice de la sporulation, des rôles similaires à ceux d'hormones microbiennes (Schimmel et al., 1998). Pour finir, l'identification putative du composé de formule C₁₃H₁₄O₄ pourrait correspondre à de la sclérine, un métabolite initialement identifié chez *Sclerotinia libertiana* et promouvant la croissance de la plante hôte (Satomura & Sato, 1964).

Nous avons étudié l'effet allélique sur l'abondance de quatre métabolites fongiques identifiés comme de potentielles toxines dans la descendance au niveau du marqueur chr8_11,229,218 (Figure 36). À ce marqueur, le Ri est homozygote (allèles 0/0), tandis que le Gw est hétérozygote (allèles 0/1). Dans la descendance les individus ayant hérité de l'allèle du Gw, notés 0/1, présentent des quantités significativement plus importantes en métabolites fongiques, ce qui suggère que le Gw est porteur d'un allèle défavorable pour la résistance de la vigne à ce pathogène.

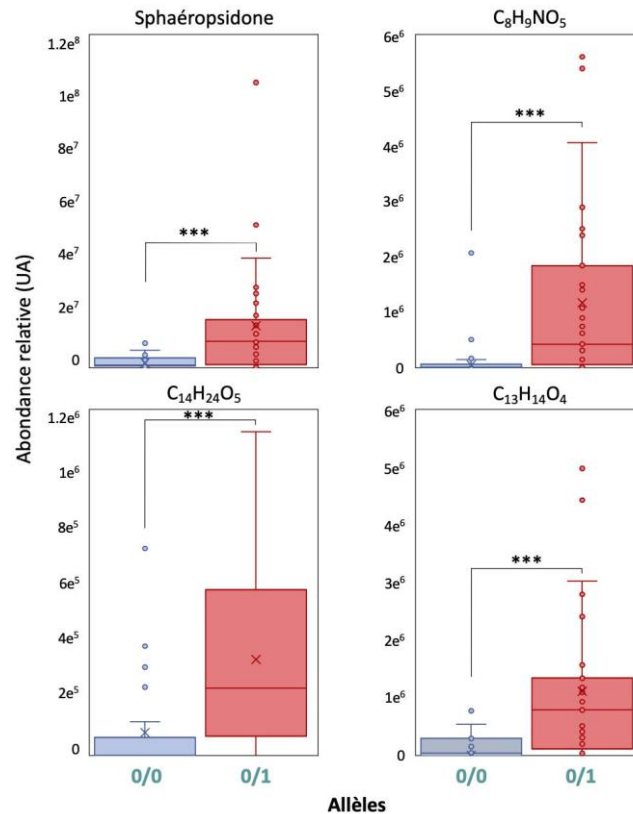


Figure 36 : Quantité relative de sphaéropsidone et de trois autres métabolites fongiques dans la descendance de la population Ri x Gw selon les allèles au marqueur chr8_11,229,218 sur le chr 8, pour les données de l'année 2022. *** : $p_{value} \leq 0.001$.

3.3. Conclusion

L'identification de loci de caractères quantitatifs (QTL) sur la base de données de métabolomique non ciblée s'est révélée performante pour identifier plusieurs régions chromosomiques contrôlant la biosynthèse et l'accumulation de nombreux métabolites en réponse à l'infection par *N. parvum*. Quatre régions importantes ont été identifiées, deux localisées sur le chr 1 avec la carte génétique du Ri et du Gw, et deux sur le chr 6 et le chr 8, respectivement, avec la carte génétique du Gw. L'identification putative des ions sur la base de leur formule brute a permis de caractériser deux grands types de métabolites dont l'accumulation est régulée par ces régions chromosomiques : des métabolites synthétisés par la vigne, notamment des polyphénols (stilbènes, tannins), mais également des métabolites fongiques, présents exclusivement dans le bois infecté par *N. parvum* et dont l'origine fongique a été confirmée par l'analyse en chromatographie liquide de mycélium issu d'une culture *in vitro*. L'identification putative de ces métabolites fongiques suggère qu'il s'agit surtout de lipides et de phytotoxines, toxines qui pourraient notamment être à l'origine des symptômes foliaires observés en vignoble (Abou-Mansour et al., 2015). Dans l'hypothèse où la quantité de métabolites fongiques présents dans le bois est liée au développement plus ou moins

important du pathogène, ces résultats suggèrent que ces régions chromosomiques impactent la tolérance ou la sensibilité à *N. parvum*.

Toutefois, ces résultats nécessitent d'être renforcés par l'analyse d'au moins une année supplémentaire avec une expérimentation dont l'envergure et la qualité des résultats équivaut à celle de 2022. Par la suite, il serait pertinent de rechercher des gènes candidats. Cependant, les régions chromosomiques actuellement identifiées sont de très grande taille, atteignant les 10 Mb, ce qui correspond à environ 1 000 gènes. Nous manquons également de données de transcriptomique sur le bois de Ri et de Gw, en condition saine et suite à l'infection par *N. parvum* afin d'affiner la liste des gènes candidats potentiels.

4. La quantification de toxines fongiques pour l'analyse génétique de la tolérance à *N. parvum*.

4.1. Introduction

Lors des analyses en métabolomique non ciblée, j'ai pu identifier un composé présent uniquement dans les bois infectés par *N. parvum* et absent des témoins blessés. Ce composé de formule chimique $C_7H_8O_4$ pourrait correspondre à plus de 1 400 métabolites différents présents dans la base de données PubChem (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>). Toutefois, son spectre de masse et les données de littérature (Abou-Mansour et al., 2015) ont permis d'identifier cet ion avec une forte probabilité en tant que sphaéropsidone, bien qu'il ne soit pas possible de confirmer cette identification en l'absence de standard commercial. La sphaéropsidone est une toxine synthétisée par de nombreuses espèces fongiques impliquées dans la MDB, dont *N. parvum* (Salvatore et al., 2021). Structuellement très proche de la terremutine, cette dernière peut provoquer des nécroses dans les parties lignifiées de pins (Evidente et al., 1998). Plus de 90 métabolites spécifiquement synthétisés par les champignons du genre *Neofusicoccum* ont été répertoriés, incluant des terpènes, des phénols, des acides gras ou encore des cyclohexénones. Contrairement à la nécrose, qui est aspécifique du stress ou du pathogène, ces métabolites sont directement synthétisés par le champignon et leur abondance peut être corrélée à l'abondance du pathogène (Trotel-Aziz et al., 2022). Ces métabolites fongiques constituent donc de bons candidats pour servir de marqueur quantitatif de l'infection, utilisables pour le phénotypage de la sensibilité à *N. parvum*. Ce genre d'approche a été développé au laboratoire pour la quantification de *Plasmopara viticola*, l'oomycète responsable du mildiou (Negrel et al., 2018). Plusieurs lipides spécifiques de *P. viticola* peuvent être utilisés comme marqueur quantitatif du développement du pathogène dans les feuilles de vigne, avant même l'apparition des symptômes.

Par une approche de métabolomique ciblée basée sur les toxines identifiées chez *N. parvum* (Salvatore et al., 2021), j'ai tenté d'identifier et de quantifier ces métabolites à partir des données des années 2021 et 2022, le nombre de génotype étant trop faible en 2020. J'ai ensuite mené une analyse QTL afin de d'identifier des régions chromosomiques responsables de la variation de l'accumulation de ces métabolites et potentiellement liées à la tolérance/sensibilité à *N. parvum*.

4.2. Résultats et discussion

Parmi les 91 métabolites rapportés par Salvatore et al, quelques-uns ont pu être identifiés dans les entre-nœuds infectés par *N. parvum* (Tableau 15).

Tableau 15 : Métabolites fongiques identifiés dans les entre-nœuds de vigne infectées par *N. parvum*.

Formule chimique	m/z	Identification putative
$[C_8H_8O_3 - H]^-$	151.0401	Acide 6-méthylsalicylique
$[C_8H_8O_3 - H]^-$	151.0401	Acide 4-hydroxyphénylacétique
$[C_7H_8O_4 - H]^-$	155.0350	Sphaéropsidone
$[C_{10}H_{10}O_3 + H]^+$	179.070	Melléine / Isosclérone

Quatre métabolites secondaires potentiellement associés à la présence de *N. parvum* ont été identifiés. Deux toxines, la sphaéropsidone et une seconde dont la formule chimique pourrait correspondre à de la melléine ou de l'isoclérone, toutes deux retrouvées chez des pathogènes associés aux MDB ; l'acide méthylsalicylique, précurseur de la sphaéropsidone (Kong et al., 2018) ; et enfin l'acide 4-hydroxyphénylacétique. Ce dernier, également sécrété par le *N. parvum*, a une structure chimique proche de l'auxine, une phytohormone qui promeut la croissance de la plante, entrant en compétition et inhibant les mécanismes de défense (Flubacher et al., 2023). Le protocole de chromatographie utilisé ayant été développé dans le but d'étudier le métabolisme spécialisé de la vigne, et non de rechercher des marqueurs spécifiques à *N. parvum*, il est difficile de quantifier avec précision les métabolites les moins polaires, ceux-ci étant élués plus tardivement. L'emploi de l'ionisation chimique à pression atmosphérique (APCI) aurait été plus adapté pour ce genre de métabolite, de même que l'utilisation d'un gradient de phase mobile favorisant une élution plus rapide des composés apolaires (Negrel et al., 2018).

Les quantifications des quatre métabolites colocalisant le QTL sur le chr 13 de la carte génétique du Gw montrent que les individus fortement nécrosés (> 90 %) accumulent significativement plus de ces métabolites que les individus faiblement nécrosés (< 10 %). Une analyse corrélative de

l'abondance de ces métabolites et la surface des nécroses révèle un coefficient de corrélation (r^2) compris entre 0.51 et 0.65. Ces coefficients de corrélation ne sont pas très élevés, ce qui peut s'expliquer par le fait que la relation entre la surface de nécrose et le développement du champignon n'est pas clairement établie, et que la mesure de la nécrose est superficielle alors que la quantification des toxines est réalisée de façon globale sur l'entièreté de la profondeur de l'entre-nœud.

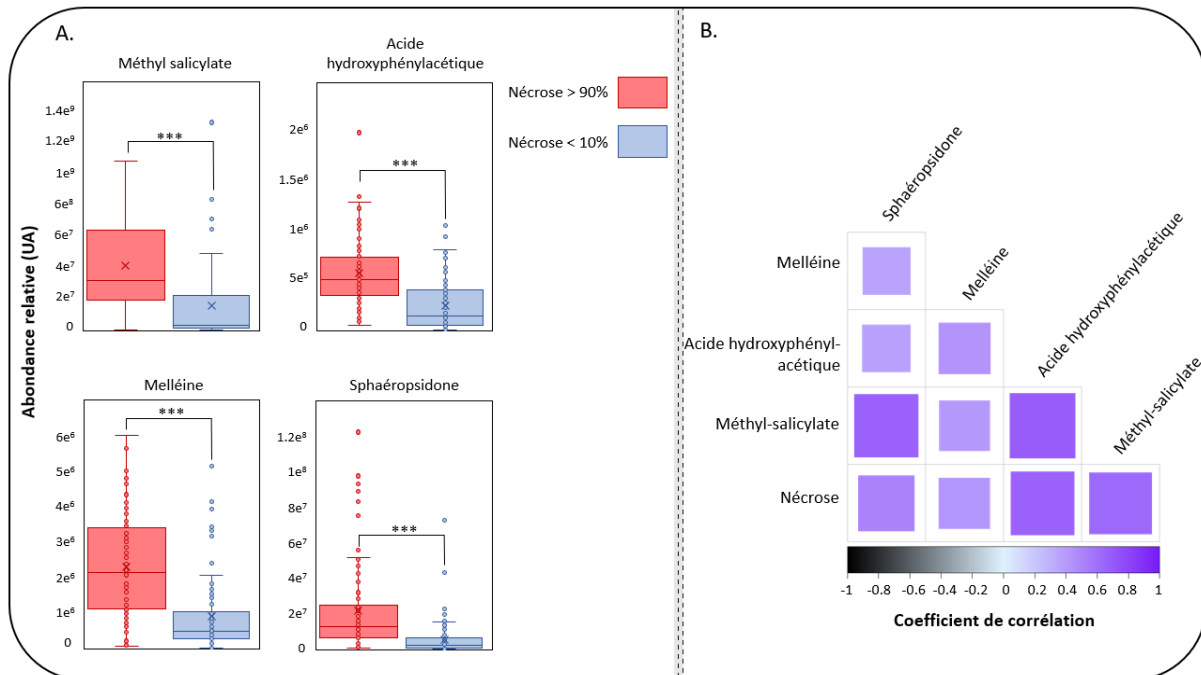


Figure 37 : Abondance relative des quatre métabolites fongiques liés au QTL sur le chr 13, entre les individus faiblement et fortement nécrosés (A), et tableau de corrélation entre ces métabolites et la notation de nécrose (B). *** : $p_{value} \leq 0.001$.

Les recherches de QTL basées sur la quantification de ces toxines en 2022 ont permis de mettre en évidence plusieurs régions chromosomiques impactant significativement leur accumulation, notamment sur les chromosomes 8 de la carte génétique du Gw, et sur le chr 1 de la carte du Ri. Ces deux régions correspondent à celles déjà identifiées précédemment grâce à l'approche de métabolomique non ciblée, bien que pour le hotspot localisé sur le chr 8, aucun ion correspondant à de la melléine n'ait été identifié via l'approche non-ciblée. Les recherches de QTL basées sur les données de 2021 n'ont donné aucun QTL sur le chr 1 et le chr 8, probablement en raison de la faible variabilité de ce jeu de données lié au fort développement du pathogène chez la quasi-totalité des génotypes.

Tableau 16 : mQTLs liés aux toxines fongiques détectées dans les entre-nœuds infectés par *N. parvum* dans la population Ri x Gw ($p_{\text{value}} \leq 0.1$).

<u>Métabolite</u>	<u>Année</u>	<u>Carte</u> <u>génétique</u>	<u>Chr</u>	<u>Position</u> <u>(cM)</u>	<u>Position pic</u> <u>(cM)</u>	<u>LOD</u>	<u>p_{value}</u>
Sphaéropsidone	2022	Gw	8	6.7 – 19.4	9.53	3.3	0.023
Sphaéropsidone	2022	Consensus	13	30.2 – 41.7	31.82	7.02	0.004
Sphaéropsidone	2022	Gw	13	25.8 – 36.1	26.2	6.96	0.02
Melléine	2022	Ri	1	50.4 – 76.6	72.6	3.94	0.018
Acide 6-méthylsalicylique	2022	Gw	8	2.4 – 17.5	7.54	3.43	0.034
Acide 6-méthylsalicylique	2022	Ri	1	31 – 74.6	51.99	3.98	0.013
Sphaéropsidone	2021	Consensus	13	27.9 – 42.3	31.82	5.04	0.058

Un troisième QTL a été identifié sur le chr 13, avec la carte génétique du Gw en 2022. Celui-ci a également été identifié en 2021, uniquement sur la carte génétique consensus, et avec un $p_{\text{value}} < 0.1$. Toutefois, l'intervalle de confiance de ce QTL colocalise fortement avec celui identifié en 2022, suggérant qu'il s'agisse d'un QTL reproductible sur les deux années. Les caractéristiques de ce QTL (Tableau 17) sont un intervalle de confiance minimal compris entre 5.3 et 7.2 Mb sur la carte génétique du Gw, avec un pic à 5.7 Mb. Ce QTL explique 47 % de la variation de l'accumulation de sphaéropsidone en 2022, et 68 % en 2021.

Tableau 17 : Caractéristiques du QTL détecté sur le chr 13 de la carte génétique du Gw et lié à l'accumulation de sphaéropsidone.

Année	Carte génétique	Intervalle (Mb)	Position pic (Mb)	LOD	Pourcentage de variation expliqué	P _{value}
2022	Consensus	5.3 – 7.8	5.7	7.02	47 %	0.004
2022	Gw	5.3 – 7.2	5.7	6.96	47 %	0
2021	Consensus	4.7 – 8.4	5.7	5.04	68 %	0.058

Nous n'avions pas relevé la présence de hotspot sur ce chr lors des analyses en métabolomique non ciblée, en raison des faibles valeur LOD score et de la colocalisation des mQTLs lié à l'infection avec des mQTLs liés au métabolisme constitutif des sarments de vigne. Nous avons toutefois mené une identification des ions correspondant aux mQTLs colocalisant avec le QTL lié à l'accumulation de sphaéropsidone (Tableau 18). Ce sont des métabolites synthétisés par la vigne, et présents de manière constitutive, majoritairement issus de la voie des phénylpropanoïdes (stilbènes, tannin, lignane, lignine). L'intervalle de confiance pour le *trans*-resvératrol colocalise peu avec celui de la sphaéropsidone. Toutefois ceux des deux autres stilbènes identifiés, le *trans*-picéide et le pinostilbène glucoside colocalisent bien avec la sphaéropsidone. Parmi les mQTLs colocalisant avec le QTL lié à l'accumulation de sphaéropsidone certains métabolites sont d'origine fongique. C'est le cas par exemple des composés de formule $C_{14}H_{24}O_5$, $C_{13}H_{14}O_4$, $C_8H_9NO_5$ et $C_{30}H_{55}O_5N_5$, tous les quatre ayant déjà été identifiés sur les hotspots situés sur chr 1 de la carte Ri et le chr 8 de la carte Gw.

Tableau 18 : Liste des ions correspondant aux mQTLs colocalisant avec le QTL sur le chr 13 de la carte Gw ($p_{value} \leq 0.05$), pour lesquels une formule chimique ou une identité putative a pu être associée. AF : Acide formique

Formule chimique	m/z	Identification putative / Famille	Position génétique (cM)	Position pic QTL	LOD
$[C_{14}H_{12}O_3 - H]^-$	227.07138	<i>trans</i> -Resvératrol	34.1 – 56.4	40.89	3.10
$[C_{20}H_{22}O_8 - H]^-$	389.12399	<i>trans</i> -Picéide	29 – 47.6	36.13	2.7
$[C_{21}H_{24}O_8 - H]^-$	403.13971	Pinostilbène-glucoside	20.6 – 47.6	32.16	2.89
$[C_{40}H_{40}O_{12} + AF - H]^-$	747.22159	Lignane	14.7 – 26.2	20.64	3.45
$[C_{49}H_{50}O_{16} - H]^-$	893.30221	Lignine	24.6 – 37.3	26.2	3.16
$2[C_{60}H_{50}O_{14} - H]^-$	1153.2631	Tannin	32.2 – 47.6	39.7	3.48
$[C_3H_6O_4 - H]^-$	105.01931	Sucre	25.8 – 47.6	34.94	3.04
$[C_8H_9NO_5 - H]^-$	198.0408	Toxine fongique	16.3 – 47.6	25.81	2.83
$[C_{15}H_{22}O_9 + AF]^-$	345.11885	Phénol glucoside	26.2 – 47.6	34.15	3.11
$[C_{13}H_{14}O_4 - H]^-$	233.08193	Toxine fongique	10.3 – 47.6	25.81	2.62

[C ₃₀ H ₅₅ O ₅ N ₅ – H] -	564.4126	Toxine fongique	25.8 – 45.3	34.15	3.4
[C ₁₄ H ₂₄ O ₅ – H] -	271.1551	Toxine fongique	20.6 – 40.5	35.4	3.1
[C ₂₉ H ₅₃ N ₅ O ₅ – H] -	550.39718	Toxine fongique	25.8 – 37.3	34.15	3.75

L'étude de l'effet allélique réalisée sur les données de l'année 2022 montre qu'au niveau du marqueur « chr13_5,331,126 », proche du marqueur pour lequel la vraisemblance du QTL est la plus forte, le Ri est homozygote (allèles notés 0/0), tandis que le Gw est hétérozygote (allèles notés 0/1). Les descendants ayant hérité de l'allèle du Gw et noté 0/1 présentent des quantités accrues de sphaéropsidone, suggérant que cet allèle a un effet défavorable, les rendant plus sensibles au pathogène (Figure 38).

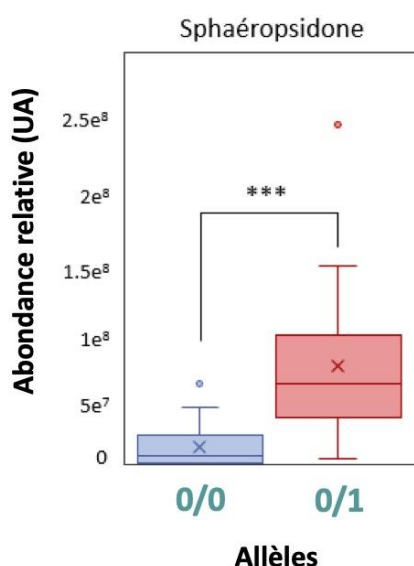


Figure 38 : Quantité relative de sphaéropsidone dans la descendance de la population Ri x Gw selon les allèles au marqueur chr13_5,331,126 sur le chr 13, pour les données de l'année 2022. *** : $p_{\text{value}} \leq 0.001$.

D'après les résultats présentés dans le tableau 18, l'intervalle de confiance du QTL s'étend sur 1.9 Mb. Il contient 170 gènes prédits sur le génome Gw, dont 102 disposent d'une annotation fonctionnelle. Parmi ces 102 gènes, 14 sont homozygotes et ont été retirés. Les fonctions des gènes restants sont très variées, et aucun gène de résistance de type nucleotide-binding site (NBS) et leucine-rich repeats (LRR) n'est présent dans l'intervalle du QTL, gènes qui sont fréquemment identifiés dans les QTLs majeurs de résistance à *P. viticola* (Rpv) (Fu et al., 2020). Avant d'aller plus loin dans la recherche de gènes candidats, il faudra s'assurer de la reproductibilité de ce QTL en réalisant un phénotypage sur une année supplémentaire.

4.3. Conclusion

Sur la base des résultats obtenus pour l'année 2022, la stratégie consistant à utiliser des métabolites fongiques comme marqueurs quantitatifs de l'infection du bois de vigne par *N. parvum* mérite d'être explorée plus avant. Nous avons en effet pu identifier plusieurs régions génomiques sur les chromosomes 1, 8 et 13 associées à une plus ou moins forte accumulation de certaines toxines fongiques dans la population Ri x Gw. Ces toxines ont été identifiées sur la base de leurs spectres de masse avec un bon niveau de confiance, l'identification plus poussée nécessitant l'utilisation de standards commerciaux ou, à minima, l'analyse d'extraits de *N. parvum*.

En partant de l'hypothèse que l'abondance de ces métabolites est proportionnelle au développement du pathogène dans le bois, nous pouvons considérer que nous avons identifié trois régions génomiques de la vigne impactant le développement de *N. parvum* au sein de la population Ri x Gw, l'un de ces QTLs étant reproductible sur deux années. Dans l'hypothèse où la quantité de toxine n'est pas directement proportionnelle au développement du champignon, ces régions sont tout de même intéressantes, car elles impactent la production de toxines fongiques, ce qui peut interférer avec la progression du pathogène.

Même si un phénotypage sur une année supplémentaire confirme la reproductibilité de ces QTLs, l'identification des gènes candidats potentiels reste délicate. En effet, les intervalles de confiance identifiés sont de grande taille et contiennent plusieurs centaines de gènes candidats, dont un grand nombre à la fonction inconnue. La disponibilité de données transcriptomiques sur les bois de Ri et Gw, actuellement en cours d'acquisition, permettra de fournir des pistes supplémentaires pour l'identification de gènes candidats dans les régions d'intérêt.

Conclusion et perspectives

1. Approche génétique pour une meilleure connaissance du métabolome constitutif du bois de vigne

Contrairement au métabolome des baies et des feuilles ayant fait l'objet de larges études en métabolomique à l'aide d'un vaste panel d'outils de chimie analytique, les études sur le métabolisme du bois de vigne sont moins nombreuses, et prennent généralement la forme d'analyses ciblées de quelques dizaines de métabolites, en particulier les stilbènes et les flavonoïdes (Amalfitano et al., 2000; Gabaston et al., 2019; Labois et al., 2020). Récemment, des études utilisant des approches de métabolomique globale ont permis d'élargir notre vision du métabolome du bois de vigne, bien qu'un grand travail, notamment concernant l'identification des métabolites, reste à accomplir (Schilling et al., 2023). Conséquence de ce relatif manque d'informations, l'étude des bases génétiques de la diversité métabolique des extractibles du bois de vigne n'a quasiment jamais été abordée.

Au cours de cette thèse, j'ai étudié le métabolisme des tissus lignifiés de la vigne à travers l'analyse d'extractibles des sarments et des ceps de vigne, en combinant approches de métabolomique ciblée et non ciblée. J'ai ainsi pu constater la singularité du métabolisme du bois. Contrairement aux feuilles et aux baies, généralement pauvres en stilbènes constitutifs, les tissus lignifiés comme les sarments ou les troncs accumulent d'importantes quantités de stilbènes constitutifs, sous des formes très diverses, incluant des dimères, des trimères et des tétramères. À l'inverse, les flavonoïdes libres, très abondants dans les feuilles, sont peu nombreux dans le bois. Dans les tissus lignifiés, les flavonoïdes prennent surtout la forme de tannins condensés, de tannins hydrolysables et de leurs précurseurs. Finalement, nous avons également identifié des métabolites peu décrits dans le bois de vigne, tels que des terpènes, pourtant largement étudiés dans les baies en raison de leurs caractéristiques organoleptiques, mais dont la présence dans le bois n'avait jusqu'alors pas été rapportée, ou bien encore des lignanes. La présence de ces composés dans le bois de vigne pose naturellement la question de leur rôle, ces deux classes de métabolites spécialisés ont été très étudiées chez le bois de conifères où leur potentiel rôle antifongique est largement rapporté (Nagy et al., 2022).

La combinaison des données issues des analyses de métabolomique non ciblée avec des données de cartographie génétique a permis la détection de centaines de mQTLs sur l'ensemble du génome de la vigne. Certaines régions chromosomiques concentrent une forte densité de mQTLs, régions que nous avons nommées « hotspots ». J'ai ainsi pu identifier un hotspot sur le chr 5 du Gw lié à la présence de terpènes. Ce QTL a déjà été identifié et étudié chez les baies de Gw, permettant la caractérisation d'un gène codant pour une 1-deoxy-D-xylulose-5-phosphate synthase (DXS) responsable de la synthèse des terpènes. La reproduction de ce résultat permet de confirmer la validité de notre approche, et montre également que l'impact des variations alléliques du gène *DXS* ne se limite pas aux raisins. En effet, l'allèle *DXS* du Gw lié à l'accumulation massive de terpènes dans les raisins exerce également une influence majeure sur l'accumulation des terpènes dans le bois. L'impact biologique de l'accumulation de terpènes dans le bois

de vigne est encore inconnu. Dans la suite de ce travail, nous avons focalisé notre attention sur deux hotspots reproductibles sur les trois années des analyses de sarments ainsi que sur les analyses sur tronc, liés à l'accumulation de nombreux stilbènes.

Le premier, localisé sur le chr 16 du Ri régule la biosynthèse du *trans* et du *cis*-picéide. Un cluster de six UGTs, des enzymes impliquées dans la glycosylation, a été identifié. Toutes ont fait l'objet d'une caractérisation fonctionnelle dont l'une d'entre elles, *Vitvi16g01150*, présente une très bonne affinité ainsi qu'une forte activité enzymatique pour le *trans*-resvératrol, affinité dont les bases structurales ont pu être étudiées grâce à la modélisation de la structure de la protéine. Les paramètres de liaison enzyme-substrat calculés à partir des modèles structuraux confirment que le gène *Vitvi16g01150* est le meilleur candidat pour expliquer les différences d'accumulation constitutive de picéide entre le Ri et le Gw. L'identification de ce gène et la validation de l'activité de la protéine associée constituent la première caractérisation d'un gène impliqué dans la synthèse des stilbènes grâce à une approche génétique chez la vigne, et d'autres gènes candidats potentiellement associés aux stilbènes sont à l'étude.

En effet, le second hotspot ayant fait l'objet d'une étude approfondie est localisé sur le chr 18 de la carte génétique du Ri, et est impliqué dans la biosynthèse de plusieurs oligomères de stilbènes. J'ai ainsi pu identifier la présence d'un cluster de laccases sous ce QTL. Toutefois, leur grand nombre exclut le clonage et la caractérisation exhaustive de chacune d'entre elle, et des analyses en transcriptomiques sur le bois de Ri et Gw sont prévues, dans l'espoir de réduire le nombre de candidats potentiels.

Au-delà de l'identification des mQTLs et des régions génomiques correspondantes, les étapes de validation de la fonction des gènes candidats ont constitué une étape déterminante de ma thèse. L'identification des gènes candidats a été grandement facilitée par la disponibilité d'une séquence de grande qualité du génome du Ri (Zou et al., 2021), en plus de celle du génome de référence de la vigne PN40024. Ceci a permis de rechercher directement les gènes candidats dans le génome du parent Ri, qui peut être significativement différent du génome de référence pour les familles de gènes d'intérêt. Enfin, dans un souci de gain de temps et d'efficacité pour la caractérisation fonctionnelle d'un nombre significatif de gènes (six UGTs caractérisées individuellement), nous avons décidé de privilégier la synthèse de gènes plutôt que le clonage conventionnel après amplification par PCR. Cette méthode, plus coûteuse à première vue, a permis de faire réaliser la synthèse des gènes et leur clonage dans un vecteur d'expression par un prestataire. Les constructions étant directement prêtes à être utilisées pour la production de protéines recombinantes chez *E. coli*, j'ai donc pu me consacrer à l'optimisation des conditions expérimentales pour la validation fonctionnelle sans perdre de temps dans les étapes de clonage. Cette stratégie s'est révélée payante, car les étapes d'identification et de validation fonctionnelle des gènes candidats ont pu être réalisées dans le temps imparti pour la thèse, malgré le fait que 3 années de phénotypage soient nécessaires pour les approches de génétique.

2. Évolution et rôles des stilbènes constitutifs chez la vigne

Au cours de ce travail, j'ai pu identifier deux régions chromosomiques impliquées dans la synthèse des stilbènes constitutifs chez la vigne. Pourtant, depuis leur identification chez la vigne par Langcake en 1976 (Langcake & Pryce, 1976), le rôle physiologique des stilbènes reste sujet à débat. La fonction la plus souvent évoquée est la défense de la plante contre les stress abiotiques et biotiques, dont les champignons pathogènes. Cette hypothèse repose principalement sur des travaux réalisés *in vitro* pour lesquels les champignons sont cultivés dans des milieux enrichis en stilbènes (Lambert et al., 2012 ; Di Marco et al., 2000). Si les stilbènes montrent certaines activités antifongiques *in vitro*, les preuves de leur implication dans la défense de la vigne *in planta* sont difficiles à obtenir. Lors des essais sur bois détachés réalisés au cours du projet VitEst, nous avons pu observer durant trois années successives que les stilbènes sont d'autant plus abondants que le bois est nécrosé et donc sensible à *N. parvum*, ce qui ne plaide pas en faveur d'un rôle dans la défense contre ce champignon. Une explication pourrait être que chez les champignons pathogènes de la vigne, l'évolution a sélectionné des moyens de détoxifier les stilbènes (Gluck-Thaler et al., 2018).

De manière générale, il est difficile d'étudier le rôle *in planta* des stilbènes, car les plantes qui accumulent ces composés sont des espèces non modèles, pour lesquelles les approches biotechnologiques sont difficiles à mettre en œuvre. Chez *Arabidopsis thaliana*, le mutant *pad3* déficient dans la biosynthèse de la camalexine a été utilisé avec succès pour démontrer l'importance de cette phytoalexine dans la résistance à différents pathogènes (Glazebrook & Ausubel, 1994; Hiruma et al., 2013). Cependant, il n'est pas possible d'envisager ce type d'approche chez la vigne pour deux raisons. Tout d'abord, l'enzyme clé de la biosynthèse des stilbènes, la stilbène synthase, est codée par une famille de 48 gènes dont 32 potentiellement fonctionnels dans le génome de la vigne (Parage et al., 2012), ce qui rend difficile l'inactivation d'un tel ensemble de gènes. De plus, la régénération de plantules à partir de cals embryogènes est un processus complexe chez les plantes ligneuses et en particulier chez la vigne, ce qui rend les approches d'édition des génomes très peu efficaces (Forleo et al., 2021).

Néanmoins, le fait que l'accumulation constitutive de stilbènes ait été sélectionnée chez la vigne comme chez un certain nombre d'espèces végétales suggère que les stilbènes confèrent certains avantages dans les interactions entre les plantes et leur environnement. Ainsi, à défaut d'obtenir des preuves directes des rôles des stilbènes *in planta*, l'analyse de la dynamique évolutive des familles de gènes impliquées dans leur biosynthèse peut nous renseigner indirectement sur les avantages potentiels de l'accumulation de stilbènes.

Des travaux pionniers réalisés il y a plusieurs décennies ont montré que les gènes codant pour les stilbène synthases (*STS*) ont évolué à plusieurs reprises et indépendamment à partir de gènes codant pour des chalcone synthases (*CHS*) dans des genres de plantes non apparentés (Tropf et al., 1994). Plus récemment, l'analyse des pressions de sélection s'exerçant sur la famille des gènes *STS* a révélé que l'évolution de ces gènes était dominée par la sélection purificatrice chez la vigne, sans qu'aucune preuve d'une sélection pour de nouvelles fonctions parmi les copies *STS* n'ait été trouvée, ce qui suggère l'existence d'un avantage sélectif à conserver de nombreux gènes *STS* fonctionnels chez la vigne (Parage et al., 2012). L'émergence des gènes *STS* et de l'activité stilbène synthase s'est probablement accompagnée de la sélection de gènes impliqués dans la modification des stilbènes tels que les resvératrol O-méthyltransférases (*ROMT*) (Schmidlin et al., 2008). Dans ce contexte, on peut également formuler l'hypothèse de l'évolution de glycosyltransférases spécialisées dans la glycosylation des stilbènes.

Des études évolutives basées sur l'analyse du nombre de mutations synonymes et non-synonymes (analyses dN/dS) sont actuellement en cours sur le cluster de gènes UGT que nous avons identifié. Ces études comparatives sur les séquences nucléotidiques des gènes permettent de comparer le taux de mutations non-synonymes (dN), altérant la fonction de la protéine, à celui des mutations synonymes (dS), sans impact. On peut ainsi en déduire si un gène est soumis à une sélection positive ($dN/dS > 1$), négative ($dN/dS < 1$) ou neutre ($dN/dS \approx 1$) (Kyrzhimskiy & Plotkin., 2008).

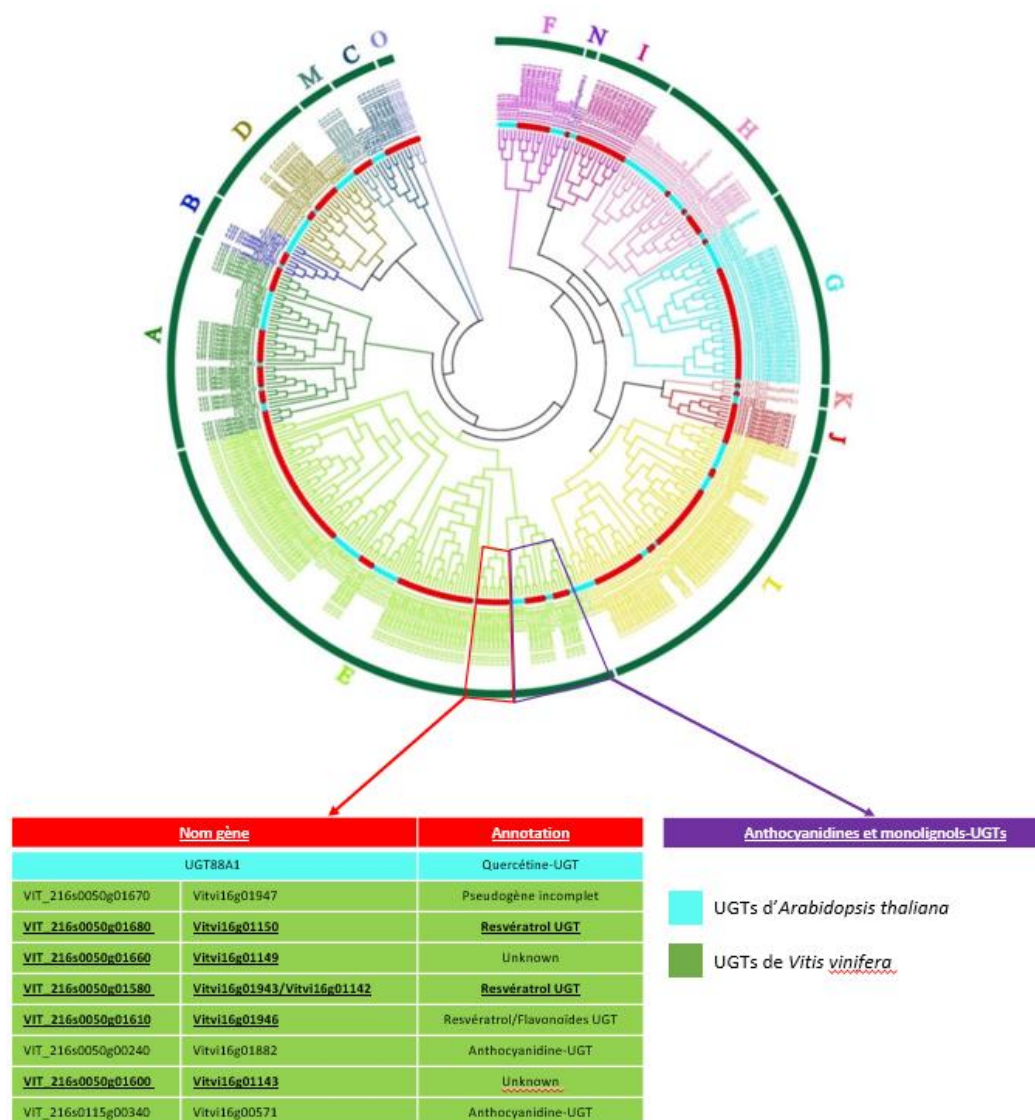


Figure 39 : Analyses phylogénétiques des UGTs putatives de *Vitis vinifera* (points rouges) et d'*Arabidopsis thaliana* (points cyans) (Wei et al, 2021). Un zoom a été réalisé sur le cluster contenant les UGTs identifiées sur le chr 16 du Ri (cadre rouge), ainsi que sur le cluster d'UGTs adjacentes (cadre violet).

Le génome de la vigne contient 228 gènes codant pour des UGTs putatives. L'analyse phylogénétique de cette famille montre que les six UGTs identifiées sur le chr 16 sont apparentées et similaires à une quercétine-glycosyltransférase d'*A. thaliana* (Figure 39) (Wei et al, 2021). De plus, le cluster d'UGTs adjacent comprend des anthocyanidine et monolignol-glycosyltransférases. La caractérisation des gènes du cluster sur le chr 16 du Ri a révélé une large diversité fonctionnelle au sein de cette petite famille de gènes très probablement paralogues, certains gènes codant pour des UGTs ayant une préférence pour les flavonoïdes tandis que d'autres codent pour des UGTs ayant une préférence pour les stilbènes. Les analyses en cours pourront nous renseigner sur la dynamique évolutive des gènes *UGT* de ce cluster et sur les mécanismes ayant conduit à l'évolution d'UGTs spécifiques des stilbènes.

3. Étude du déterminisme génétique de la tolérance de la vigne à *N. parvum* : des marqueurs métaboliques à la rescousse

Au sein du projet VitEst, l'objectif de nos expérimentations était d'étudier des bases génétiques de la différence de tolérance à *N. parvum* entre le Ri et le Gw, grâce à l'analyse de la population Ri x Gw. L'utilisation du modèle d'inoculation sur sarments détachés a montré certaines limites, notamment en ce qui concerne la reproductibilité des résultats d'une année sur l'autre. En particulier, les différences de sensibilité entre le Ri et le Gw se sont révélées difficiles à mettre en évidence de manière reproductible, de même que la moindre sensibilité de *V. sylvestris* décrite précédemment (Guan et al., 2016). Néanmoins, la même population Ri x Gw a été utilisée pour la première mise en évidence d'une base génétique de la tolérance à l'esca (Arnold et al., 2023), ce qui valide le principe de cette approche génétique. Cependant, le phénotypage de la tolérance à l'esca a été réalisé par une approche destructive qui n'est pas applicable pour une analyse sur plusieurs années. Elle a toutefois l'avantage de rendre fidèlement compte du développement de la maladie grâce à l'analyse précise des nécroses internes conduisant à terme à la mort des pieds de vigne.

Pour remédier au manque de reproductibilité de la mesure de surface nécrosée, nous avons tenté de développer une méthode de phénotypage alternative basée sur la quantification de marqueurs métaboliques spécifiques de *N. parvum*. Ce type d'approche déjà développée au laboratoire a permis d'identifier des marqueurs lipidiques spécifiques de *Plasmopara viticola*, l'agent pathogène responsable du mildiou, permettant de quantifier précisément la progression de l'infection avant même l'apparition de premiers symptômes visuels (Negrel et al., 2018).

Grâce aux travaux précédemment réalisés sur le métabolisme spécialisé de *N. parvum* (Salvatore et al., 2021), nous avons pu identifier des marqueurs métaboliques d'origine fongique, notamment une toxine, la sphaéropsidone, dans les sarments de la population Ri x Gw inoculés par *N. parvum*. Une recherche QTL réalisée sur les données de 2020 à 2022 a permis d'identifier un QTL reproductible en 2021 et 2022 impactant l'accumulation de la sphaéropsidone sur le chr 13 de Gw, tandis que deux autres QTL, sur le chr 8 de la carte Gw et sur le chr 1 de la carte Ri ont été identifiés sur la seule année 2022. Parallèlement, la recherche de QTLs sur des données de métabolomique non ciblée a révélé plusieurs régions chromosomiques restreintes qui colocalisent plusieurs dizaines d'ions liés à l'infection par *N. parvum*. Quatre hotspots majeurs ont retenu notre attention, sur les chromosomes 1, 6 et 8 du Gw et sur le chr 1 du Ri. Pour deux de ces hotspots, celui sur le chr 1 du Ri et le chr 8 du Gw, nous avons identifié des métabolites d'origine fongique tels que des lipides et de potentielles toxines, dont la sphaéropsidone déjà identifiée en métabolomique ciblée.

Ces résultats révèlent donc des régions du génome de la vigne qui influencent l'accumulation de métabolites fongiques. Si l'abondance de ces métabolites reflète le développement du pathogène dans le bois, ou au moins son pouvoir pathogène, nous pouvons considérer que nos résultats apportent les premiers indices de l'existence d'une base génétique de la tolérance à *N. parvum* dans la population Ri x Gw, démontrant la pertinence de l'utilisation de métabolites fongiques comme marqueurs de l'infection pour un phénotypage plus performant. Il reste néanmoins nécessaire de réaliser des expérimentations sur une année supplémentaire afin de valider la reproductibilité des QTLs.

L'application de cette stratégie à des populations issues de croisements entre deux cépages présentant une différence de sensibilité plus marquée que celle entre le Ri et le Gw pourrait conduire à l'identification de facteurs génétiques dont l'effet plus marqué pourrait servir de base dans de futurs programmes de création variétale pour obtenir des variétés plus tolérantes aux MDB.

Annexes

(Article 1) Table S1 : Non exhaustive liste of stilbene-accumulating plants

Species	Tissus	References
<i>Passiflora edulis</i>	Seeds	Extract of Passion Fruit (<i>Passiflora edulis</i>) Seed Containing High Amounts of Piceatannol Inhibits Melanogenesis and Promotes Collagen Synthesis
<i>Rheum acuminatum</i>	Roots	Active constituents in <i>Rheum acuminatum</i> and <i>Rheum australe</i> (Polygonaceae) roots: A variation between cultivated and naturally growing plants
<i>Morus nigra</i>	Berries	1. Determination of Trans-Resveratrol Levels in Different Fruits, Vegetables and Their Skin by HPLC 2. Phytochemical Profiles of Different Mulberry (<i>Morus</i> sp.) Species from China
	Roots	1. Resveratrol: a review of plant sources, synthesis, stability, modification and food application 2. Antioxidant Activity and Mechanism of Resveratrol and Polydatin Isolated from Mulberry (<i>Morus alba</i> L.) 3. Phytochemical Profiles of Different Mulberry (<i>Morus</i> sp.) Species from China 4. Composition and Quantitative Analysis of Stilbenoids in Mulberry (<i>Morus alba</i> L.) Leaves and Fruits with DAD/UV HPLC
<i>Morus alba</i>	Leaves	Mulberroside F isolated from the leaves of <i>Morus alba</i> inhibits melanin biosynthesis
	Fruits	Phytochemical Profiles of Different Mulberry (<i>Morus</i> sp.) species from China
	Stems	(Variations in the Levels of Mulberroside A, Oxyresveratrol, and Resveratrol in Mulberries in Different Seasons and during Growth)
	Roots	
	Bark	
	Roots	1. Simultaneous determination of five characteristic stilbene glycosides in root bark of <i>Morus albus</i> L. (Cortex Mori) using high-performance liquid chromatography 2. Antioxidant Activity and Mechanism of Resveratrol and Polydatin Isolated from Mulberry (<i>Morus alba</i> L.) Biotransformation of mulberroside A from <i>Morus alba</i> results in enhancement of tyrosinase inhibition
<i>Morus bombycis</i>	Stems	Tyrosinase Inhibitory Constituents of <i>Morus bombycis</i> Cortex
<i>Morus atropurpurea</i>	Fruits	Phytochemical Profiles of Different Mulberry (<i>Morus</i> sp.) Species from China
	Stems	Variations in the Levels of Mulberroside A, Oxyresveratrol, and Resveratrol in Mulberries in Different Seasons and during Growth
	Bark	
	Roots	
	Pith	
	Tuber	
	Leaves	
<i>Morus latifolia</i>	Leaves	
	Stems	
	Bark	
	Roots	
<i>Morus cathayana</i>	Fruits	Phytochemical Profiles of Different Mulberry (<i>Morus</i> sp.) Species from China
<i>Morus laevigata</i>		
<i>Morus australis</i>	Fruits	Phytochemical Profiles of Different Mulberry (<i>Morus</i> sp.) Species from China
	Wood	Phenolic Constituents from the Wood of <i>Morus australis</i> with Cytotoxic Activity
	Roots	Tyrosinase inhibition constituents from the roots of <i>Morus australis</i>
<i>Morus mulicaulis</i>	Fruits	Phytochemical Profiles of Different Mulberry (<i>Morus</i> sp.) Species from China
<i>Morus rubra</i>	Fruits	
<i>Syzygium cumini</i>	Fruits	
<i>Aeterocarpus heterophyllus</i>	Fruits	
	Fruits	Anti-inflammatory Effects of Phenolic Compounds Isolated from the Fruits of <i>Artocarpus heterophyllus</i>
<i>Morus macroura</i>	Heartwood	Andalasin A, a new stilbene dimer from <i>Morus macroura</i>
	Roots	A stilbene dimer, andalasin B, from the root trunk of <i>Morus macroura</i>
<i>Ziziphus jujuba</i>	Fruits	The physical and chemical properties of the jujube fruits at different maturation stages
<i>Cydonia oblonga</i>	Fruit skin	The UHPLC-QTOF-MS Phenolic Profiling and Activity of <i>Cydonia oblonga</i> Mill. Reveals a Promising Nutraceutical Potential
<i>Vaccinium myrtillus</i>	Berries	The stilbene profile in edible berries
<i>Vaccinium corymbosum</i>	Berries	1. The stilbene profile in edible berries 2. Resveratrol, Pterostilbene, and Piceatannol in <i>Vaccinium</i> Berries
<i>Vaccinium ashei</i> Reade	Berries	1. The stilbene profile in edible berries 2. Resveratrol, Pterostilbene, and Piceatannol in <i>Vaccinium</i> Berries
<i>Vaccinium oxycoccus</i>	Berries	1. The stilbene profile in edible berries 2. Polyphenols, Anthocyanins and Resveratrol in Cranberry
<i>Vaccinium vitis idaea</i>	Berries	1. The stilbene profile in edible berries 2. Resveratrol, Pterostilbene, and Piceatannol in <i>Vaccinium</i> Berries
<i>Vaccinium stamineum</i>	Berries	The stilbene profile in edible berries
<i>Fragaria anassa</i>	Berries	Characterization of Phenolic Profiles of Northern European Berries by Capillary Electrophoresis and Determination of their Antioxidant Activity
<i>Ribes rubrum</i>	Berries	
<i>Vitis chunganensis</i>	Berries	
<i>Vitis wilsonae</i>	Berries	
<i>Vitis amurensis</i>	Berries	
<i>Lycopersicon esculentum</i>	Fruits	
<i>Theobroma cacao</i>	Chocolate	
<i>Achillea millefolium</i>	Whole plant	
<i>Fragaria vesca</i>	Leaves	
<i>Filipendula ulmaria</i>	Whole plant	
<i>Galium verum</i>	Whole plant	Insight into the Presence of Stilbenes in Medicinal Plants Traditionally Used in Croatian Folk Medicine
<i>Geranium robertianum</i>	Whole plant	
<i>Helichrysum italicum</i>	Flowers	
<i>Hypericum perforatum</i>	Whole plant	
<i>Juglans regia</i>	Leaves	
<i>Matricaria chamomilla</i>	Flowers	
<i>Melissa officinalis</i>	Leaves	
<i>Mentha piperita</i>	Leaves	
<i>Ocimum basilicum</i>	Whole plant	
<i>Olea europea</i>	Leaves	
<i>Origanum vulgare</i>	Whole plant	1. Inhibition of wood rotting fungi by stilbenes and other polyphenols in <i>eucalyptus sideroxylon</i> 2. Polyphenols of <i>Eucalyptus sideroxylon</i> wood
<i>Salvia officinalis</i>	Leaves	
<i>Satureja montana</i>	Whole plant	
<i>Thymus serpyllum</i>	Whole plant	
<i>Urtica dioica</i>	Leaves	
<i>Veronica officinalis</i>	Whole plant	
<i>Eucalyptus sideroxylon</i>	Heartwood	
<i>Maclura pomifera</i>	Heartwood	

		2. A stilbene from the heartwood of <i>Maclura pomifera</i>
		Durability of Angiosperm Heartwood: The Importance of Extractives
<i>Maclura cochinchinensis</i>	Heartwood	High-Performance Liquid Chromatography Quantitative Determination of Oxyresveratrol and Morin Contained in <i>Maclura cochinchinensis</i> Extract and Gel Formulation
<i>Glycine max</i>	Seeds	Tempeh & Soybean Seed Coat: The Alternative Sources of Trans-Resveratrol as Neuroprotective Agents
<i>Vaccinium angustifolium</i>	Berries	1. Resveratrol, Pterostilbene, and Piceatannol in <i>Vaccinium</i> Berries
<i>Vaccinium macrocarpon</i>	Berries	2. Polyphenols, Anthocyanins and Resveratrol in Cranberry
<i>Mitchella repens</i>	Berries	Resveratrol, Pterostilbene, and Piceatannol in <i>Vaccinium</i> Berries
<i>Vitis vinifera</i>	Canes	1. Stilbenes in the different organs of <i>Vitis vinifera</i> cv. Merlot grafted on Teleki Kober 5BB rootstock 2. Stilbenes from <i>Vitis vinifera</i> L. waste: a sustainable tool for controlling <i>Plasmopara viticola</i>
	Roots	
	Berry skin	
	Grape stem	
	Wood	
	Seeds	
<i>Pterocarpus marsupium</i>	Bark	Constituents of <i>Pterocarpus marsupium</i> : an ayurvedic crude drug
<i>Hopea parviflora</i>	Stems	Occurrence of C-Glucoside of Resveratrol Oligomers in <i>Hopea parviflora</i>
	Bark	Stilbenoids in the stem bark of <i>Hopea parviflora</i>
<i>Hopea utilis</i>	Stem wood	1. Absolute configuration and conformational analysis of C-glucoside of a resveratrol trimer: Structure of hopeaside E from <i>Hopea utilis</i> 2. Hopeafuran and a C-Glucosyl Resveratrol Isolated from Stem Wood of <i>Hopea utilis</i>
<i>Hopea dryobalanoides</i>	Trunk bark	Cytotoxic Properties of Oligostilbenoids from the Tree Barks of <i>Hopea dryobalanoides</i>
<i>Hopea mengarawan</i>	Trunk bark	Activity of Oligoresveratrols from Stem Bark of <i>Hopea mengarawan</i> (Dipterocarpaceae) as Hydroxyl Radical Scavenger
<i>Hopea malibato</i>	Leaves	HIV-Inhibitory and Cytotoxic Oligostilbenes from the Leaves of <i>Hopea malibato</i>
<i>Hopea ponga</i>	Trunk bark	Isolation and characterization of resveratrol oligomers from the stem bark of <i>Hopea ponga</i> (Dennst.) Mabb. and their antidiabetic effect by modulation of digestive enzymes, protein glycation and glucose uptake in L6 myocytes
<i>Dryobalanops aromatica</i>	Bark	Resveratrol oligomers from the stem bark of <i>Dryobalanops aromatica</i>
<i>Vatica albiramis</i>	Stems	Resveratrol Oligomers from <i>Vatica albiramis</i>
<i>Vatica rassak</i>	Trunk bark	A novel bridged stilbenoid trimer and four highly condensed stilbenoid oligomers in <i>Vatica rassak</i>
<i>Vatica pauciflora</i>	Stem bark	Three New Resveratrol Oligomers from the Stem Bark of <i>Vatica pauciflora</i>
<i>Ampelopsis japonica</i>	Roots	The constituents of the roots of <i>Ampelopsis japonica</i>
<i>Ampelopsis cantoniensis</i>	Stems	Resveratrol from Dietary Supplement to a Drug Candidate: An Assessment of Potential
<i>Pistacia vera</i>	Fruits	
	Pods	
<i>Paeonia suffruticosa</i> Kerner	Seeds	1. cis-Ampelopsin E, a Stilbene Isolated from the Seeds of <i>Paeonia suffruticosa</i> , Inhibits Lipopolysaccharide-Stimulated Nitric Oxide Production in RAW 264.7 Macrophages via Blockade of Nuclear Factor- κ B Signaling Pathway 2. Oligostilbenes from the seeds of <i>Paeonia lactiflora</i> as potent GLP-1 secretagogues targeting TGR5 receptor 3. Resveratrol from Dietary Supplement to a Drug Candidate: An Assessment of Potential 4. Three New Oligostilbenes from the Seeds of <i>Paeonia suffruticosa</i>
<i>Paeonia ostii</i>	Seeds	Simultaneous determination of ten stilbenes in the seeds of <i>paeonia</i> species using HPLC-DAD
<i>Paeonia lactiflora</i>	Seeds	
<i>Paeonia rockii</i>	Seeds	
<i>Paeonia delavayi</i>	Seeds	
<i>Paeonia ludlowii</i>	Seeds	
<i>Paeonia qiui</i>	Seeds	
<i>Paeonia japonica</i>	Seeds	
<i>Belamcanda chinensis</i>	Rhizomes	1. Phenolic Constituents of the Rhizomes of the Thai Medicinal Plant <i>Belamcanda chinensis</i> with Proliferative Activity for Two Breast Cancer Cell Lines 2. A New Stilbene Dimer – Shegansu B from <i>Belamcanda chinensis</i>
<i>Vateria indica</i>	Bark	1. A new resveratrol octamer, vateriaphenol A, in <i>Vateria indica</i> 2. Antitumor effect of stilbenoids from <i>Vateria indica</i> against allografted sarcoma S-180 in animal model
<i>Ananas comosus</i>	Fruits	Resveratrol: a review of plant sources, synthesis, stability, modification and food application
<i>Vaccinium microcarpum</i>	Fruits	Resveratrol as an anti-asthmatic agent: could this stilbenoid help against COVID-19 in any way? A meta-analysis
<i>Gnetum cleistostachyum</i>	Liana	1. Stilbene derivatives from <i>Gnetum cleistostachyum</i> 2. Stilbene from <i>gnetum cleistostachyum</i>
<i>Gnetum montanum</i>	Whole plant	Constituents of <i>Gnetum montanum</i>
	Liana	Stilbene Derivatives from <i>Gnetum montanum</i> Markgr. f. <i>megalocarpum</i> Markgr
<i>Gnetum gnemonoides</i>	Bark de tronc	1. Gneyulins A and B, Stilbene Trimers, and Noidesols A and B, Dihydroflavonol-C-Glucosides, from the Bark of <i>Gnetum gnemonoides</i> 2. High temperature and UV-C treatments affect stilbenoid accumulation and related gene expression levels in <i>Gnetum parvifolium</i> 3. Four new glucosides of stilbene oligomers from the stem of <i>gnetum gnemonoides</i>
<i>Gnetum cuspidatum</i>	Bark	Cuspidans A and B, Two New Stilbenoids from the Bark of <i>Gnetum cuspidatum</i>
<i>Gnetum hainanense</i>	Liane entière	Five New Stilbene Dimers from the Lianas of <i>Gnetum hainanense</i>
<i>Gnetum gnemon</i>	Seeds	Structural Studies on Stilbene Oligomers Isolated from the Seeds of <i>Melinjo</i>
	Roots	Stilbene derivatives from <i>Gnetum gnemon</i> Linn
	Seeds	Stilbenoids Isolated from the Seeds of <i>Melinjo</i> (<i>Gnetum gnemon</i> L.) and Their Biological Activity
<i>Gnetum pendulum</i>	Lianes	Stilbenoids from the lianas of <i>Gnetum pendulum</i>
<i>Gnetum parvifolium</i>	Roots	High temperature and UV-C treatments affect stilbenoid accumulation and related gene expression levels in <i>Gnetum parvifolium</i>
	Stems	
	Stem bark	
<i>Gnetum africanum</i>	Stems	Diastereomeric stilbenoid glucoside dimers from the rhizomes of <i>Gnetum africanum</i>
<i>Veratrum maackii</i>	Aerial parts	Stilbenes from <i>Veratrum maackii</i> Regel protect against ethanol-induced DNA damage in mouse cerebellum and cerebral cortex
<i>Veratrum taliense</i>	Roots and rhizomes	Steroidal Alkaloids and Stilbenoids from <i>Veratrum taliense</i>
<i>Veratrum nigrum</i>	Rhizomes	UPLC-MS/MS Method for the Simultaneous Quantification of Eight Compounds in Rat Plasma and Its Application to a Pharmacokinetic Study after Oral Administration of <i>Veratrum</i> (<i>Veratrum nigrum</i> L.) Extract
<i>Veratrum album</i>	Rhizomes	Insecticidal metabolites from the rhizomes of <i>Veratrum album</i> against adults of Colorado potato beetle, <i>Leptinotarsa decemlineata</i>
<i>Veratrum dahuricum</i>	Roots and rhizomes	1. Two New Chemical Constituents of <i>Veratrum dahuricum</i> (Turcz.) Loes. f. 2. A new stilbene glycoside from the n-butanol fraction of <i>Veratrum dahuricum</i>
<i>Koompassia malaccensis</i>	Bark	Kompasinal A, a New Stilbeno-Phenylpropanoid from the Bark of <i>Koompassia malaccensis</i> (Fabaceae)
<i>Smilax glabra</i>	Rhizomes	1. Chemical Constituents from the Rhizomes of <i>Smilax glabra</i> and Their Antimicrobial Activity 2. A new flavanone isolated from rhizoma <i>smilacis glabrae</i> and the structural requirements of its derivatives for preventing immunological hepatocyte damage
<i>Smilax bracteata</i>	Rhizomes	New Phenolic Constituents from <i>Smilax bracteata</i>
<i>Smilax china</i>	Rhizomes	Simultaneous determination of six major stilbenes and flavonoids in <i>Smilax china</i> by high performance liquid chromatography
<i>Rheum palmatum</i>	Whole plant	Studies on Rhubarb (<i>Rhei rhizoma</i>) Isolation and characterization of stilbene glycosides from chinese rhubarb
<i>Polygonum cuspidatum</i>	Roots	1. Hydroxystilbenes in the roots of <i>Rheum raphaniticum</i> 2. Analysis of selected stilbenes in <i>Polygonum cuspidatum</i> by HPLC coupled with CoulArray detection
<i>Rheum raphaniticum</i>	Roots	Hydroxystilbenes in the roots of <i>Rheum raphaniticum</i>

<i>Rheum rhubarbarum</i>	Rhizomes	1. Study on Anti-Oketsu Activity of Rhubarb II. Anti-allergic Effects of Stilbene Components from <i>Rheum undulati</i> Rhizoma (Dried Rhizome of <i>Rheum undulatum</i> Cultivated in Korea) 2. A New Stilbene Diglycoside from <i>Rheum undulatum</i> 3. Inhibitors from Rhubarb on Lipopolysaccharide-Induced Nitric Oxide Production in Macrophages: Structural Requirements of Stilbenes for the Activity
<i>Rheum australe</i>	Roots	An Unusual Piceatannol Dimer from <i>Rheum australe</i> D. Don with Antioxidant Activity
<i>Rheum maximowiczii</i>	Roots	Phenylbutanoids and stilbene derivatives of <i>Rheum maximowiczii</i>
<i>Rheum ilhasense</i>	Roots	1. New Resveratrol Oligomer Derivatives from the Roots of <i>Rheum ilhasense</i> 2. Stilbenoids isolated from the roots of <i>Rheum ilhasense</i> under the guidance of the acetylcholinesterase inhibition activity
<i>Cenchrus echinatus</i>	Seeds	Resveratrol-derived stilbenoids and biological activity evaluation of seeds extracts of <i>Cenchrus echinatus</i> L.
	Roots	
<i>Caragana sinica</i>	Roots	1. Antioxidative oligostilbenes from <i>Caragana sinica</i> 2. Five novel oligostilbenes from the roots of <i>Caragana sinica</i> 3. Three stilbene tetramers from the roots of <i>Caragana sinica</i> 4. Caragasinin C: a new oligostilbene from the roots of <i>Caragana sinica</i>
	Parties aériennes	1. Three New Compounds from the Aerial Parts of <i>Caragana sinica</i> 2. Two new oligostilbenes from <i>Caragana sinica</i>
<i>Caragana stenophylla</i>	Roots	Oligomeric stilbenes from the root <i>caragana stenophylla</i>
<i>Caragana chamlagu</i>	Roots	Oligomeric stilbenes from <i>caragana chamlagu</i>
<i>Caragana rosea</i>	Parties aériennes	Anti HIV Bioactive stilbene dimers of <i>Caragana rosea</i>
<i>Caragana tibetica</i>	Stems	Antioxidant Constituents of <i>Caragana tibetica</i>
<i>Cyperus eragrostis</i>	Seeds	Chemistry and Pharmacology of Cyperaceae Stilbenoids: A Review
<i>Carex folliculata</i>	Seeds	Identification and Bioactivities of Resveratrol Oligomers and Flavonoids from <i>Carex folliculata</i> Seeds
<i>Carex gynandra</i>	Leaves	Resveratrol Oligomers Isolated from <i>Carex</i> Species Inhibit Growth of Human Colon Tumorigenic Cells Mediated by Cell Cycle Arrest
<i>Carex appressa</i>	Seeds	Cyperaceae Species Are Potential Sources of Natural Mammalian Arginase Inhibitors with Positive Effects on Vascular Function
<i>Carex baccans</i>	Parties aériennes	alpha-Glucosidase and alpha-amylase inhibitory constituent of <i>Carex baccans</i> : Bio-assay guided isolation and quantification by validated RP-HPLC-DAD
<i>Carex distachya</i>	Leaves	1. Potential allelopathic effects of stilbenoids and flavonoids from leaves of <i>Carex distachya</i> Desf. 2. Evaluation of the antioxidant properties of carexanes in AGS cells transfected with the <i>Helicobacter pylori</i> 's protein HspB 3. Carexanes from <i>Carex distachya</i> Desf: revised stereochemistry and characterization of four novel polyhydroxylated prenylstilbenes
	Roots	Structures of bioactive carexanes from the roots of <i>Carex distachya</i> Desf
<i>Carex dimorphopsis</i>	/	Diverse plant extracts and trans-resveratrol inhibit biofilm formation and swarming of <i>Escherichia coli</i> O157:H7
<i>Carex fedia</i>	Roots and rhizomes	New 3,5,4'-Trihydroxystilbene (Resveratrol) Oligomers from <i>Carex fedia</i> Nees var. <i>miyabei</i> (Franchet) T. Koyama (Cyperaceae)
<i>Carex humilis</i>	Roots	In vitro activity of alpha-viniferin isolated from the roots of <i>Carex humilis</i> against <i>Mycobacterium tuberculosis</i>
<i>Carex kobomugi</i>	Roots and rhizomes	1. Oligostilbenes from <i>Carex kobomugi</i> 2. Kobophenol a, a unique tetraarylbenzene from <i>Carex kobomugi</i> ohwi (Cyperaceae)
<i>Carex pendula</i>	Seeds	Identification and ecdysteroid antagonist activity of three oligostilbenes from the seeds of <i>Carex pendula</i> (Cyperaceae)
<i>Carex pumila</i>	Roots and rhizomes	(-)-e-Viniferin and Related Oligostilbenes from <i>Carex pumila</i> Thunb. (Cyperaceae)
<i>Carex vulpinoidea</i>	Seeds	Phenolic Constituents of <i>Carex vulpinoidea</i> Seeds and their Tyrosinase Inhibitory Activities
<i>Carex capillacea</i>	Roots	Isolation, Characterization and Quantification of Stilbenes from Some <i>Carex</i> Species
<i>Carex hirta</i>	Roots	
<i>Carex cuprina</i>	Roots	
<i>Carex glauca</i>	Roots	
<i>Carex buchannani</i>	Roots	
<i>Triadenum fraseri</i>	Leaves	Flavonoids and a stilbene from <i>Triadenum fraseri</i> (Spach) Gleason
<i>Shorea maxwelliana</i> King	Bark	Bioactive oligostilbenoids from <i>Shorea maxwelliana</i> King and their chemotaxonomic significance
<i>Shorea hemsleyana</i>	Bark	Stilbenoids Isolated from Stem Bark of <i>Shorea hemsleyana</i>
<i>Shorea roxburghii</i>	Racine	A new dimeric resveratrol from the roots of <i>Shorea roxburghii</i>
	Bark	Subcritical Water Extraction of Resveratrol from Barks of <i>Shorea roxburghii</i> G. Don.
<i>Shorea uliginosa</i>	Bark	1. Three new resveratrol trimer Di-C-glucosides in <i>Shorea uliginosa</i> 2. Rotational isomerism of a resveratrol tetramer, shoreaketone, in <i>Shorea uliginosa</i>
<i>Shorea acuminatissima</i>	Bark	Resveratrol oligomers from the tree bark of <i>Shorea acuminatissima</i> : Their properties and significance
<i>Shorea acuminata</i>	Bark	Acuminatol and Other Antioxidative Resveratrol Oligomers from the Stem Bark of <i>Shorea acuminata</i>
<i>Shorea ovalis</i>	Bark des Roots	The Isolation of Hopeaphenol, a Tetramer Stilbene, from <i>Shorea ovalis</i> Blume
<i>Convolvulus hystrix</i>	Whole plant	New stilbene carboxylic acid from <i>Convolvulus hystrix</i>
<i>Dryopteris sublaeta</i>	Rhizomes	A new stilbene glycoside from <i>Dryopteris sublaeta</i>
<i>Salacia lehmabacchi</i>	Parties aériennes	Four stilbenes from <i>Salacia lehmabacchi</i>
<i>Upuna borneensis</i>	Roots	Occurrence of Stilbene Glucosides in <i>Upuna borneensis</i>
	Leaves	1. Absolute configuration of resveratrol oligomer glucosides isolated from the leaves of <i>Upuna borneensis</i> 2. Structure elucidation of highly condensed stilbenoids: chiroptical properties and absolute configuration 3. Stilbenoids from leaves of <i>Upuna borneensis</i>
<i>Festuca arundinacea</i>	Seeds	Isolation of resveratrol from <i>Festuca versuta</i> and evidence for the widespread occurrence of this stilbene in the poaceae
<i>Hordeum bogdanii</i>	Fourage	
<i>Hordeum brevisubulatum</i>	Seeds	
<i>Lolium rigidum</i>	Seeds	
<i>Smilax microphylla</i>	Rhizomes	A New Lyoniresinol Derivative from <i>Smilax microphylla</i> Li
<i>Schoenocaulon officinale</i>	Rhizomes	Stilbene and 2-Arylbenzofuran Glucosides from the Rhizomes of <i>Schoenocaulon officinale</i>
<i>Chrysopogon aciculatus</i>	Whole plant	Cytotoxic Apigenin Derivatives from <i>Chrysopogon aciculatus</i>
<i>Anigozanthos flavidus</i>	Rhizomes	HPLC-NMR analysis of phenylphenanones and a stilbene from <i>Anigozanthos flavidus</i>
<i>Musa cavendishii</i>	Rhizomes	A resveratrol dimer from <i>Anigozanthos preissi</i> and <i>Musa cavendishii</i>
<i>Anigozanthos preissi</i>	Roots	
<i>Spirotropis longifolia</i>	Roots	Secondary metabolites from <i>Spirotropis longifolia</i> (DC) Baill and their antifungal activity against human pathogenic fungi
<i>Gnetum venosum</i>	Noyau	Oligostilbenes from <i>Gnetum venosum</i>
<i>Prunus dulcis</i>	Noyau	Characterisation of stilbenes in California almonds (<i>Prunus dulcis</i>) by UHPLC-MS
<i>Caesalpinia latisiliqua</i>	Brindilles	Chemical components from the twigs of <i>Caesalpinia latisiliqua</i> and their antiviral activity
<i>Caesalpinia fufuracea</i>	Brindilles	Isopimarane diterpenes and flavan derivatives from the twigs of <i>Caesalpinia fufuracea</i>
<i>Cassia garrettiana</i>	Heartwood	1. Stilbenoids from <i>Cassia garrettiana</i> 2. HIV-1 protease inhibitory substances from <i>Cassia garrettiana</i> 3. Physiological activities of 3,3',4,5'-tetrahydroxystilbene isolated from the heartwood of <i>Cassia garrettiana</i> CRAIB
<i>Cassia marginata</i>	Heartwood	ISOLATION OF 3,4,3',5'-TETRAHYDROXYSTILBENE (PICEATANNOL) FROM <i>CASSIA MARGINATA</i> HEARTWOOD
<i>Euphorbia lagascae</i>	Seeds	Use of potato disc and brine shrimp bioassays to detect activity and isolate piceatannol as the antileukemic principle from the seeds of <i>Euphorbia lagascae</i>
<i>Eucalyptus wandoo</i>	Heartwood	The Use of Hydroxystilbene Compounds as Taxonomic Tracers in the Genus <i>Eucalyptus</i>
<i>Vouacapoua macroptala</i>	Heartwood	The occurrence of 3,4,3',5'-tetrahydroxystilbene and 3,4,5,3',5'-pentahydroxystilbene in <i>Vouacapoua</i> species
<i>Vouacapoua americana</i>		
<i>Rhodomyrtus tomentosa</i>	Fruit	Piceatannol, a potent bioactive stilbene, as major phenolic component in <i>Rhodomyrtus tomentosa</i>

<i>Glycosmis pentaphylla</i>	Stems	Two new flavanols from <i>Glycosmis pentaphylla</i>
<i>Melaleuca leucadendron</i>	Fruits	Biologically active constituents of <i>Melaleuca leucadendron</i> : Inhibitors of induced histamine release from rat mast cells
<i>Artocarpus lakoocha</i>	Branches	1. <i>Artocarpus lakoocha</i> roxb.: An untapped bioresource of resveratrol from North East India, its extractive separation and antioxidant activity 2. Flavanones from the Twigs and Barks of <i>Artocarpus lakoocha</i> Having Antiplasmodial and Anti-TB Activities
	Heartwood	1. Quantitative Analysis of Oxyresveratrol Content in <i>Artocarpus lakoocha</i> and "Puag-Haad" 2. Biogenic synthesis of cellulose supported Pd(0) nanoparticles using heart wood extract of <i>Artocarpus lakoocha</i> Roxb — A green, efficient and versatile catalyst for Suzuki and Heck coupling in water under microwave heating
	Bark	Flavanones from the Twigs and Barks of <i>Artocarpus lakoocha</i> Having Antiplasmodial and Anti-TB Activities
<i>Cudrania cochinchinensis</i>	Roots	A new flavonoid from <i>Cudrania cochinchinensis</i>
<i>Cudrania tricuspidata</i>	Roots	A new prenylated stilbene derivative from the roots of <i>Cudrania tricuspidata</i>
<i>Carpha glomerata</i>	Whole plant	Antiplasmodial Flavanones and a Stilbene from <i>Carpha glomerata</i>
<i>Dioscorea antaly</i>	Tubers	Clerodane and 19-norclerodane diterpenoids from the tubers of <i>Dioscorea antaly</i>
<i>Cyperus rotundus</i>	Rhizomes	Occurrence of stilbene oligomers in <i>Cyperus</i> rhizomes
<i>Scirpus fluvialis</i>	Rhizomes	The constituent of <i>Scirpus fluvialis</i> A. Gray. I. the structures of two new hydroxystilbene dimers, <i>Scirpusin A</i> and <i>B</i>
<i>Scirpus holoschoenus</i>	Rhizomes	Stilbenes and a New Acetophenone Derivative from <i>Scirpus holoschoenus</i>
<i>Scirpus yagara</i>	Tubers	Bioactive cis-stilbenoids from the tubers of <i>Scirpus yagara</i>
<i>Scirpus maritimus</i>	Seeds	Bioactive stilbenes of <i>Scirpus maritimus</i>
<i>Schoenus nigricans</i>	Rhizomes	Prenylstilbenes and prenylflavanones from <i>Schoenus nigricans</i>
<i>Kobresia nepalensis</i>	Stems	Stilbenoids of <i>Kobresia nepalensis</i> (Cyperaceae) exhibiting DNA topoisomerase II inhibition
<i>Picea mariana</i>	Bark	<i>Picea mariana</i> bark: A new source of trans-resveratrol and other bioactive polyphenols
<i>Pinus sibirica</i>	Bark	Hydroxystilbenes from the bark of <i>pinus sibirica</i>
<i>Pterolobium hexapetalum</i>	Stems	Phenanthrene and stilbenes From <i>pterolobium hexapetalum</i>
<i>Gnetum klossii</i>	Stems	Phenolic Constituents of <i>Gnetum klossii</i>
<i>Macropidia fuliginosa</i>	Flowers	Phytochemical Investigation of the constituents derived from the australian plant
<i>Iris tingitana</i>	Bulbs	Stilbene glucosides from the bulbs of <i>Iris tingitana</i>
<i>Iris halophila</i>	Seeds	Halophilols A and B, two new stilbenes from <i>iris halophila</i>
<i>Amorpha nana</i>	Leaves	Isolation and Identification of a Cannabinoid-Like Compound From <i>Amorpha</i> Species
<i>Cryptocarya idenburgensis</i>	Stem bark	A new type of stilbene related secondary metabolite, idenburgene, from <i>Cryptocarya idenburgensis</i>
<i>Cercis chinensis</i>	Roots	A New Stilbene from <i>Cercis chinensis</i> Bunge
<i>Dalea purpurea</i>	Whole plant	New Geranyl Stilbenes from <i>Dalea purpurea</i> with in Vitro Opioid Receptor Affinity
<i>Macaranga mappa</i>	Leaves	Mappain, a New Cytotoxic Prenylated Stilbene from <i>Macaranga mappa</i>
<i>Macaranga vedeliana</i>	Leaves	Vedelianin, a hexahydroxanthene derivative isolated from <i>Macaranga vedeliana</i>
<i>Macaranga tanarius</i>	Fruit trichome	Cytotoxic Phenolic Compounds from Fruit Glandular Trichomes of <i>Macaranga tanarius</i>
<i>Macaranga alnifolia</i>	Fruit	Antiproliferative Prenylated Stilbenes and Flavonoids from <i>Macaranga alnifolia</i> from the Madagascar Rainforest
<i>Cyperus stoloniferus</i>	Rhizomes	Flavanones and stilbenes from <i>Cyperus stoloniferus</i> Ret
<i>Cyperus longus</i>	Whole plant	Structures of Novel Norstilbene Dimer, Longusone A, and Three New Stilbene Dimers, Longusols A, B, and C, with Antiallergic and Radical Scavenging Activities from Egyptian Natural Medicine <i>Cyperus longus</i>
<i>Cotylelobium melanoxylon</i>	Bark	Antidiabetogenic Constituents from the Thai Traditional Medicine <i>Cotylelobium melanoxylon</i>
<i>Dalea purpurea</i>	Wood	New Geranyl Stilbenes from <i>Dalea purpurea</i> with in Vitro Opioid Receptor Affinity
<i>Dryobalanops lanceolata</i>	Bark	1. Antibacterial and cytotoxic potencies of stilbene oligomers from stem barks of baoti (<i>Dryobalanops lanceolata</i>) growing in Kendari, Indonesia 2. Malaysia B, an oligostilbenoid derivative from <i>Dryobalanops lanceolata</i> 3. A new symmetrical tetramer oligostilbenoid containing tetrahydrofuran ring from the stem bark of <i>Dryobalanops lanceolata</i>
<i>Bagassa guianensis</i>	Heartwood	Secondary metabolites of <i>Bagassa guianensis</i> Aubl. Wood : A study of the chemotaxonomy of the Moraceae family
<i>Artocarpus xanthocarpus</i>	Heartwood	Chemical constituents derived from <i>Artocarpus xanthocarpus</i> as inhibitors of melanin biosynthesis
<i>Macaranga alnifolia</i>	Root bark	Antiproliferative Prenylated Stilbenes and Flavonoids from <i>Macaranga alnifolia</i> from the Madagascar Rainforest
<i>Artocarpus fulvicortex</i>	Heartwood	Cholinesterase inhibitors from heartwood of <i>artocarpus fulvicortex</i> F. M. Jarret (Moraceae)
<i>Yucca gloriosa</i>	Roots	Antiproliferative and pro-apoptotic activity of novel phenolic derivatives of resveratrol
<i>Scilla nervosa</i>	Bulbs	Homoisoflavonoids and stilbenes from the bulbs of <i>Scilla nervosa</i> subsp. <i>Rigidifolia</i>
<i>Scilla scilloides</i>	Bulbs	A New Homostilbene and Two New Homoisoflavones from the Bulbs of <i>Scilla scilloides</i>
<i>Terminalia sericea</i>	Root bark	Isolation of a stilbene glycoside and other constituents of <i>Terminalia sericea</i>
<i>Macaranga balansae</i>	Fruits	New flavonoid and stilbene derivatives from the fruits of <i>Macaranga balansae</i>
<i>Macaranga pruinosa</i>	Feuilles	Phenolic Derivatives with an Irregular Sesquiterpenyl Side Chain from <i>Macaranga pruinosa</i>
<i>Macaranga barteri</i>	Leaves	Bioassay-guided isolation and structure elucidation of cytotoxic stilbenes and flavonols from the leaves of <i>Macaranga barteri</i>
<i>Macaranga schweinfurthii</i>	Leaves	1. Schweinfurthin D, A Cytotoxic Stilbene from <i>Macaranga schweinfurthii</i> 2. Schweinfurthins I and J from <i>Macaranga schweinfurthii</i> 3. Cytotoxic Geranyl Stilbenes from <i>Macaranga schweinfurthii</i>
<i>Lonchocarpus nicou</i>	Roots	Lonchocarpene, a Stilbene, and Lonchocarpusone, an Isoflavone: Two New Pyranopolyphenols from <i>Lonchocarpus nicou</i> Roots
<i>Lonchocarpus chiricanus</i>	Roots	Five New Prenylated Stilbenes from the Root Bark of <i>Lonchocarpus chiricanus</i>
<i>Lonchocarpus utilis</i>	Roots	New Bioactive Flavonoids and Stilbenes in Cube Resin Insecticide
<i>Lonchocarpus uruca</i>	Leaves	1. Two New Stilbenoids from <i>Cajanus cajan</i> 2. Longistylin A a natural stilbene isolated from the leaves of <i>Cajanus cajan</i> exhibits significant anti-MRSA activity 3. Prenylated stilbenes and flavonoids from the leaves of <i>Cajanus cajan</i>
<i>Sophora alopecuroides</i>	Root bark	Chemical constituents isolated from the Mongolian medicinal plant <i>Sophora alopecuroides</i> L. and their inhibitory effects on LPS-induced nitric oxide production in RAW 264.7 macrophage
<i>Maackia amurensis</i>	Roots	1. Six flavonostilbenes and a flavanone in roots of <i>Sophora alopecuroides</i> 2. Interconverting flavonostilbenes with antibacterial activity from <i>Sophora alopecuroides</i>
<i>Cyphostemma crotalarioides</i>	Roots	1. Cyphostemins A-B, two new antifungal oligostilbenes from <i>Cyphostemma crotalarioides</i> (Vitaceae) 2. Cis ϵ -viniferin: A New Antifungal Resveratrol Dehydromer from <i>Cyphostemma crotalarioides</i> Roots
<i>Cissus sicyoides</i>	Aerial parts	Structures of New Flavonoids and Benzofuran-Type Stilbene and Degranulation Inhibitors of Rat Basophilic Leukemia Cells from the Brazilian Herbal Medicine <i>Cissus sicyoides</i>
<i>Parthenocissus laetevirens</i>	Roots	Stilbene Oligomers from <i>Parthenocissus laetevirens</i> : Isolation, Biomimetic Synthesis, Absolute Configuration, and Implication of Antioxidative Defense System in the Plant
<i>Picea abies</i>	Bark	1. Stilbenes from common spruce (<i>Picea abies</i>) bark as natural antifungal agent against downy mildew (<i>Plasmopara viticola</i>) 2. Diastereomeric stilbene glucoside dimers from the bark of Norway spruce (<i>Picea abies</i>)
<i>Cissus quadrangularis</i>	Stem	Stilbene Derivatives from <i>Cissus quadrangularis</i>
<i>Cissus repens</i>	Aerial parts	Stilbene C-glucosides from <i>Cissus repens</i>

<i>Parthenocissus tricuspidata</i>	Wood	A resveratrol dimer from <i>Parthenocissus tricuspidata</i>
	Leaves	Antiplasmodial activity of novel stilbene derivatives isolated from <i>Parthenocissus tricuspidata</i> from South Korea
<i>Parthenocissus quinquefoli</i>	Wood	Stilbene derivatives in the stem of <i>parthenocissus quinquefolia</i>
	Stem	Two new oligostilbenes from the stem of <i>Parthenocissus quinquefolia</i>
<i>Rumex bucephalophorus</i>	Roots	1. Antioxidant Activity and Inhibition of α -Glucosidase by trans-Resveratrol, Piceid, and a Novel trans-Stilbene from the Roots of Israeli <i>Rumex bucephalophorus</i> L. 2. Resveratrol and Two Monomethylated Stilbenes from Israeli <i>Rumex bucephalophorus</i> and Their Antioxidant Potential
<i>Pinus koraiensis</i>	Bark	Stilbenoids of Korean Pine (<i>Pinus koraiensis</i>) Inner Bark
<i>Cinnamomum verum</i>	Leaves	Antifungal activity of pinosylvin from <i>Pinus densiflora</i> on turfgrass fungal diseases
<i>Ficus pubigera</i>		
<i>Elephantopus scaber</i> Linn		
<i>Cocos nucifera</i>	Endosperm	Chemical constituents from coconut waste and their in silico evaluation as potential antiviral agents against SARS-CoV-2.
<i>Foeniculum vulgare</i>	Fruits	1. Phenolic glycosides from <i>Foeniculum vulgare</i> fruit and evaluation of antioxidative activity 2. Four New Glycosides of Stilbene Trimer from <i>Foeniculi Fructus</i> (Fruit of <i>Foeniculum vulgare</i> MILLER)
<i>Syagrus romanzoffiana</i>	Seeds	Unusual stilbenoids and a stilbenolignan from seeds of <i>Syagrus romanzoffiana</i>
<i>Yucca periculosa</i>	Bark	Antioxidant and insect growth regulatory activities of stilbenes and extracts from <i>Yucca periculosa</i>
<i>Yucca schidigera</i>	Bark	1. Resveratrol and Other Phenolics from the Bark of <i>Yucca schidigera</i> Roehl 2. A novel phenolic spiro derivative, Yuccaone A, from <i>Yucca schidigera</i> bark 3. <i>Yucca schidigera</i> Bark: Phenolic Constituents and Antioxidant Activity
<i>Yucca gloriosa</i>	Roots	Antiproliferative and pro-apoptotic activity of novel phenolic derivatives of resveratrol
<i>Scilla nervosa</i>	Bulbs	Homoisoflavonoids and stilbenes from the bulbs of <i>Scilla nervosa</i> subsp. <i>Rigidifolia</i>
<i>Scilla scilloides</i>	Bulbs	A New Homostilbene and Two New Homoisoflavones from the Bulbs of <i>Scilla scilloides</i>
<i>Terminalia sericea</i>	Roots bark	Isolation of a stilbene glycoside and other constituents of <i>Terminalia sericea</i>
<i>Macaranga balansae</i>	Fruits	New flavonoid and stilbene derivatives from the fruits of <i>Macaranga balansae</i>
<i>Macaranga pruinosa</i>	Feuilles	Phenolic Derivatives with an Irregular Sesquiterpenyl Side Chain from <i>Macaranga pruinosa</i>
<i>Macaranga barteri</i>	Leaves	Bioassay-guided isolation and structure elucidation of cytotoxic stilbenes and flavonols from the leaves of <i>Macaranga barteri</i>
<i>Macaranga schweinfurthii</i>	Leaves	1. Schweinfurthin D, A Cytotoxic Stilbene from <i>Macaranga schweinfurthii</i> 2. Schweinfurthins I and J from <i>Macaranga schweinfurthii</i> 3. Cytotoxic Geranyl Stilbenes from <i>Macaranga schweinfurthii</i>
<i>Hydrangea macrophylla</i>	Leaves	New type of anti-diabetic compounds from the processed leaves of <i>Hydrangea macrophylla</i> var. <i>thunbergii</i> (<i>Hydrangeae Dulcis</i> Follum)
<i>Macropidia fuliginosa</i>	Flowers	Phytochemical Investigation of the constituents derived from the Australian plant
<i>Iris tingitana</i>	Bulbs	Stilbene glucosides from the bulbs of <i>Iris tingitana</i>
<i>Iris halophila</i>	Seeds	Halophilols A and B, two new stilbenes from <i>Iris halophila</i>
<i>Amorpha nana</i>	Leaves	ISOLATION AND IDENTIFICATION OF A CANNABINOID-LIKE COMPOUND FROM AMORPHA SPECIES
<i>Cryptocarya idenburgensis</i>	Stems bark	A new type of stilbene related secondary metabolite, idenburgene, from <i>Cryptocarya idenburgensis</i>
<i>Cercis chinensis</i>	Roots	A New Stilbene from <i>Cercis chinensis</i> Bunge
<i>Dalea purpurea</i>	Whole plant	New Geranyl Stilbenes from <i>Dalea purpurea</i> with in Vitro Opioid Receptor Affinity
<i>Macaranga mappa</i>	Leaves	Mappain, a New Cytotoxic Prenylated Stilbene from <i>Macaranga mappa</i>
<i>Macaranga vedeliana</i>	Leaves	Vedelianin, a hexahydroxanthene derivative isolated from <i>Macaranga vedeliana</i>
<i>Macaranga tanarius</i>	Fruit Glandular Trichomes	Cytotoxic Phenolic Compounds from Fruit Glandular Trichomes of <i>Macaranga tanarius</i>
<i>Macaranga alnifolia</i>	Fruit	Antiproliferative Prenylated Stilbenes and Flavonoids from <i>Macaranga alnifolia</i> from the Madagascar Rainforest
<i>Cyperus stoloniferus</i>	Rhizomes	Flavanones and stilbenes from <i>Cyperus stoloniferus</i> Ret
<i>Cyperus longus</i>	Whole plant	Structures of Novel Norstilbene Dimer, Longusone A, and Three New Stilbene Dimers, Longusols A, B, and C, with Antiallergic and Radical Scavenging Activities from Egyptian Natural Medicine <i>Cyperus longus</i>
<i>Cotylelobium melanoxylo</i>	Bark	Antidiabetogenic Constituents from the Thai Traditional Medicine <i>Cotylelobium melanoxylo</i>
	Wood	
<i>Dryobalanops lanceolata</i>	Bark (tronc)	1. Antibacterial and cytotoxic potencies of stilbene oligomers from stem barks of baoti (<i>Dryobalanops lanceolata</i>) growing in Kendari, Indonesia 2. Malaysian B, an oligostilbenoid derivative from <i>Dryobalanops lanceolata</i> 3. A new symmetrical tetramer oligostilbenoid containing tetrahydrofuran ring from the stem bark of <i>Dryobalanops lanceolata</i>
<i>Carpha glomerata</i>	Whole plant	Antiplasmodial Flavanones and a Stilbene from <i>Carpha glomerata</i>
<i>Dioscorea antaly</i>	Tubers	Clerodane and 19-norclerodane diterpenoids from the tubers of <i>Dioscorea antaly</i>
<i>Cyperus rotundus</i>	Rhizomes	1. Inhibitors of α -glucosidase and α -amylase from <i>Cyperus rotundus</i> 2. Occurrence of stilbene oligomers in <i>Cyperus</i> rhizomes 3. Occurrence of stilbene oligomers in <i>Cyperus</i> rhizomes
<i>Scirpus fluviatilis</i>	Rhizomes	The constituent of <i>Scirpus fluviatilis</i> A. Gray. I. the structures of two new hydroxystilbene dimers, Scirpusin A and B
<i>Scirpus holoschoenus</i>	Rhizomes	Stilbenes and a New Acetophenone Derivative from <i>Scirpus holoschoenus</i>
<i>Scirpus yagara</i>	Rhizomes	1. Determination of Four Phenolic Compounds in <i>Scirpus yagara</i> Ohwi by CE with Amperometric Detection 2. Bioactive cis-stilbenoids from the tubers of <i>Scirpus yagara</i>
<i>Scirpus maritimus</i>	Seeds	Bioactive stilbenes of <i>Scirpus maritimus</i>
<i>Schoenus nigricans</i>	Rhizomes	Prenylstilbenes and prenylflavanones from <i>Schoenus nigricans</i>
<i>Kobresia nepalensis</i>	Stem	Stilbenoids of <i>Kobresia nepalensis</i> (Cyperaceae) exhibiting DNA topoisomerase II inhibition
<i>Picea mariana</i>	Bark	Picea mariana bark: A new source of trans-resveratrol and other bioactive polyphenols
<i>Pinus sibirica</i>	Bark	Hydroxystilbenes from the bark of <i>pinus sibirica</i>
<i>Pterolobium hexapetalum</i>	Stem	Phenanthrene and stilbenes from <i>pterolobium hexapetalum</i>
<i>Gnetum klossii</i>	Stem	Phenolic Constituents of <i>Gnetum klossii</i>
<i>Bagassa guianensis</i>	Heartwood	Secondary metabolites of <i>Bagassa guianensis</i> Aubl. Wood : A study of the chemotaxonomy of the Moraceae family
<i>Artocarpus xanthocarpus</i>	Heartwood	Chemical constituents derived from <i>Artocarpus xanthocarpus</i> as inhibitors of melanin biosynthesis
<i>Artocarpus fulvicortex</i>	Roots bark	Cholinesterase inhibitors from heartwood of <i>artocarpus fulvicortex</i> F. M. Jarret (Moraceae))
<i>Artocarpus dadah</i>	Bark	Constituents of the Bark and Twigs of <i>Artocarpus dadah</i> with Cyclooxygenase Inhibitory Activity
<i>Artocarpus nitidus</i>	Twigs	
<i>Artocarpus nitidus</i>	Stem	Stilbenes and flavonoids from <i>Artocarpus nitidus</i> subsp. <i>lingnanensis</i>
<i>Artocarpus hypargyreus</i>	Stem	New Isoprenylated Flavones and Stilbene Derivative from <i>Artocarpus hypargyreus</i>
<i>Artocarpus nanchuanensis</i>	Stem	Novel stilbenes from <i>Artocarpus nanchuanensis</i>
<i>Artocarpus incisus</i>	Heartwood	A stilbene derivative from <i>Artocarpus incisus</i>
<i>Artocarpus gomezianus</i>	Heartwood	Antihyperlipidemic Flavones from the Heartwood of <i>Artocarpus gomezianus</i>
<i>Artocarpus gomezianus</i>	Bark	Artoidonesianins N and O, new prenylated stilbene and prenylated arylbenzofuran derivatives from <i>Artocarpus gomezianus</i>
<i>Artocarpus integer</i>	Aerial parts	An antimalarial stilbene from <i>Artocarpus integer</i>
<i>Artocarpus nobilis</i>	Root bark	Stilbene derivatives with antifungal and radical scavenging properties from the Stem Bark of <i>artocarpus nobilis</i>
<i>Commiphora africana</i>	Bark	Resveratrol derivatives from <i>Commiphora africana</i> (A. Rich.) Endl. display cytotoxicity and selectivity against several human cancer cell lines
<i>Cajanus cajan</i>	Leaves	1. Two New Stilbenoids from <i>Cajanus cajan</i> 2. Longistylin A a natural stilbene isolated from the leaves of <i>Cajanus cajan</i> exhibits significant anti-MRSA activity 3. Prenylated stilbenes and flavonoids from the leaves of <i>Cajanus cajan</i> 4. A Halogen-Containing Stilbene Derivative from the Leaves of <i>Cajanus cajan</i> that Induces Osteogenic Differentiation of Human Mesenchymal Stem Cells

<i>Arachis hypogaea</i>	Leaves Roots Pods Seeds	Resveratrol in Peanuts
<i>Lonchocarpus nicou</i>	Roots	Lonchocarpene, a Stilbene, and Lonchocarpusone, an Isoflavone: Two New Pyranopolypheols from <i>Lonchocarpus nicou</i> Roots
<i>Lonchocarpus chiricanus</i>	Roots	Five New Prenylated Stilbenes from the Root Bark of <i>Lonchocarpus chiricanus</i>
<i>Lonchocarpus utilis</i>	Roots	New Bioactive Flavonoids and Stilbenes in Cube' Resin Insecticide
<i>Lonchocarpus uruca</i>		
<i>Erythrophleum lasanthum</i>	Seeds	Isolation, Synthesis, and Antiplatelet Aggregation Activity of Resveratrol 3-O- β -D-Glucopyranoside and Related Compounds
<i>Deguelia hatschbachii</i>	Roots	Prenylated flavonoids from <i>Deguelia hatschbachii</i> and their systematic significance in <i>Deguelia</i>
<i>Helminthostachys zeylanica</i>	Rhizomes	Cyclized geranyl stilbenes from the rhizomes of <i>Helminthostachys zeylanica</i>
<i>Thunia alba</i>	Whole plant	Thunabene, a stilbene derivative from the orchid <i>Thunia alba</i>
<i>Myrciaria dubia</i>	Seeds	In vitro antioxidant and antihypertensive compounds from camu-camu (<i>Myrciaria dubia</i> McVaugh, Myrtaceae) seed coat: A multivariate structure activity study
<i>Phragmipedium calurum</i>	Whole plant	Stilbenes from the Orchid <i>Phragmipedium</i> sp.
<i>Phragmipedium longifolium</i>		
<i>Phragmipedium hybrid</i>		
<i>Lysidice rhodostegia</i>		
<i>Maackia amurensis</i>	Heartwood	Resveratrol/Phloroglucinol glycosides from the roots of <i>Lysidice rhodostegia</i> Polyphenols from <i>Maackia amurensis</i> Heartwood Protect Neuronal Cells from Oxidative Stress and Prevent Herpetic Infection
<i>Machaerium multiflorum</i>	Trunk bark	Antimalarial (+)-trans-Hexahydrodibenzopyran Derivatives from <i>Machaerium multiflorum</i>
<i>Sphaerophysa salsula</i>	Whole plant	Stilbenes from <i>Sphaerophysa salsula</i>
<i>Marchesina bongardia</i>	Gametophyte	3,4-dihydroxy-3'-methoxystilbene, the first monomeric stilbene derivative from bryophytes
<i>Sophora davidii</i>	Roots	Davidal D, First naturally occurring resveratrol pentamer isolated from <i>sophora davidii</i>
<i>Sophora stenophylla</i>	Roots	Phenolic compounds isolated from the roots of <i>sophora stenophylla</i>
<i>Sophora leachiana</i>	Roots	1. A Novel Stilbene Tetramer, Leachianol C, Isolated from <i>Sophora leachiana</i> 2. A flavonostilbene and two stilbene oligomers in roots of <i>Sophora leachiana</i> 3. Five resveratrol oligomers from roots of <i>Sophora leachiana</i>
<i>Sophora alopecuroides</i>	Root bark	Chemical constituents isolated from the Mongolian medicinal plant <i>Sophora alopecuroides</i> L. and their inhibitory effects on LPS-induced nitric oxide production in RAW 264.7 macrophage
	Roots	1. Six flavonostilbenes and a flavanone in roots of <i>Sophora alopecuroides</i> 2. Interconverting flavonostilbenes with antibacterial activity from <i>Sophora alopecuroides</i>
<i>Cyphostemma crotalarioides</i>	Roots	1. Cyphostemmins A-B, two new antifungal oligostilbenes from <i>Cyphostemma crotalarioides</i> (Vitaceae) 2. Cis e-viniferin: A New Antifungal Resveratrol Dehydrodimer from <i>Cyphostemma crotalarioides</i> Roots
<i>Cissus sicyoides</i>	Aerial parts	Structures of New Flavonoids and Benzofuran-Type Stilbene and Degranulation Inhibitors of Rat Basophilic Leukemia Cells from the Brazilian Herbal Medicine <i>Cissus sicyoides</i>
<i>Parthenocissus laetevirens</i>	Roots	Stilbene Oligomers from <i>Parthenocissus laetevirens</i> : Isolation, Biomimetic Synthesis, Absolute Configuration, and Implication of Antioxidative Defense System in the Plant
<i>Picea abies</i>	Bark	1. Stilbenes from common spruce (<i>Picea abies</i>) bark as natural antifungal agent against downy mildew (<i>Plasmopara viticola</i>) 2. Diastereomeric stilbene glucoside dimers from the bark of Norway spruce (<i>Picea abies</i>)
	Roots	Stilbene glucosides in bark and needles from picea species
	Needles	
	Phloem	
<i>Picea mariana</i>	Needles	
	Bark	
<i>Picea omorika</i>	Needles	
	Bark	
<i>Picea orientalis</i>	Needles	
	Bark	
<i>Picea sitchensis</i>	Needles	
	Bark	
<i>Picea engelmannii</i>	Needles	
	Bark	
<i>Picea jezoensis</i>	Bark	1. Structures and Radical-Scavenging Activities of Phenolic Constituents from the Bark of <i>Picea jezoensis</i> var. <i>jezoensis</i> 2. The Bark of the Spruce <i>Picea jezoensis</i> Is a Rich Source of Stilbenes
	Wood	1. The Bark of the Spruce <i>Picea jezoensis</i> Is a Rich Source of Stilbenes
	Needles	2. Stilbene biosynthesis in the needles of spruce <i>Picea jezoensis</i>
<i>Pinus sylvestris</i>	Wood	Screening analyses of pinosylvin stilbenes, resin acids and lignans in norwegian conifers
	Knots	
<i>Pinus pinea</i>	Heartwood	1. Chemical composition and resistance of Italian stone pine (<i>Pinus pinea</i> L.) wood against fungal decay and wetting 2. In vitro inhibition of extractives from knotwood of Scots pine (<i>Pinus sylvestris</i>) and black pine (<i>Pinus nigra</i>) on growth of <i>Schizophyllum commune</i> , <i>Trametes versicolor</i> , <i>Gloeophyllum trabeum</i> and <i>Fibroporia vaillantii</i>
	Knot	
<i>Pinus nigra</i>	Heartwood	Identification of black pine heartwood as a rich source of bioactive stilbenes by qNMR.
	Knots	In vitro inhibition of extractives from knotwood of Scots pine (<i>Pinus sylvestris</i>) and black pine (<i>Pinus nigra</i>) on growth of <i>Schizophyllum commune</i> , <i>Trametes versicolor</i> , <i>Gloeophyllum trabeum</i> and <i>Fibroporia vaillantii</i>
<i>Anogeissus leiocarpus</i>	Roots	Tannins, flavonoids and stilbenes in extracts of African savanna woodland trees <i>Terminalia brownii</i> , <i>Terminalia laxiflora</i> and <i>Anogeissus leiocarpus</i> showing promising antibacterial potential
<i>Anogeissus acuminata</i>	Roots	Revision of the NMR Assignments of Pterostilbene and of Dihydrodehydrodiconieferyl alcohol Cytotoxic Constituents from <i>Anogeissus acuminata</i>
<i>Combretum caffrum</i>	Leaves	1. Antineoplastic agents, 122. Constituents of <i>Combretum caffrum</i>
	Fruits	2. Isolation and structure of the strong cell growth and tubulin inhibitor combretastatin A-4
	Twigs	3. Isolation, structure, synthesis, and antimitotic properties of combretastatins B-3 and B-4 from <i>Combretum caffrum</i> 4. Isolation, structure, and synthesis of combretastatins A-1 and B-1, potent new inhibitors of microtubule assembly, derived from <i>Combretum caffrum</i>
<i>Pinus mingo</i>	Branches	1. LC-DAD-ESI-MS/MS and NMR Analysis of Conifer Wood Specialized Metabolites 2. Efficacy of Pinosylvins against White-Rot and Brown-Rot Fungi
<i>Larix decidua</i>	Branches	
<i>Larix polonica</i>	Branches	
<i>Larix kaempferi</i>	Branches	
<i>Picea glauca</i>	Branches	
<i>Pinus strobus</i>	Branches	1. Antifungal activity of pinosylvin from <i>Pinus densiflora</i> on turfgrass fungal diseases 2. Efficacy of Pinosylvins against White-Rot and Brown-Rot Fungi 3. Nematicidal Properties and Chemical Composition of <i>Pinus rigida</i> Mill. Resin against Pinewood Nematodes
<i>Pinus densiflora</i>	Bark	
	Needles	
<i>Pinus rigida</i>	Bark	
	Resin	
<i>Pinus banksiana</i>	Bark	
	Cone	
	Wood	
<i>Pinus parviflora</i>	Bark	
	Needles	
<i>Pinus strobes</i>	Bark	

	Needles	
<i>Pinus thunbergii</i>	Bark	
	Needles	
<i>Pinus resinosa</i>	Bark Wood Cones	1. Efficacy of Pinosylvins against White-Rot and Brown-Rot Fungi 2. Isolation and Identification of Cytotoxic Compounds from the Wood of <i>Pinus resinosa</i>
<i>Corsinia coriandrina</i>	Whole plant	Corsifurans A–C, 2-arylbenzofurans of presumed stilbenoid origin from <i>Corsinia coriandrina</i> (Hepaticae)
<i>Guibourtia tessmanii</i>	Trunk bark	1. Chalconoid and stilbenoid glycosides from <i>Guibourtia tessmanii</i> 2. Stilbene glycosides from <i>Guibourtia tessmanii</i>
<i>Brucea antidysenterica</i>	Roots Bark	Cytotoxic Stilbenes and Canthinone Alkaloids from <i>Brucea antidysenterica</i> (Simaroubaceae)
<i>Glycyrrhiza uralensis</i>	Leaves	Constituents Isolated from the Leaves of <i>Glycyrrhiza uralensis</i> and Their Anti-Inflammatory Activities on LPS-Induced RAW264.7 Cells
<i>Dioscorea polystachya</i>	Aerial parts	Structures and Anti-Inflammatory Evaluation of Phenylpropanoid Derivatives from the Aerial Parts of <i>Dioscorea polystachya</i>
<i>Cynodon dactylon</i>	Whole plant	Two new stilbene trimers from <i>Cynodon dactylon</i>
<i>Calligonum leucocladium</i>	Aerial parts	New Stilbene Derivatives from <i>Calligonum leucocladium</i>
<i>Fagopyrum megacarpum</i> H. (Eskemukerjea megacarpum)	Roots	Studies on Nepalese Crude Drugs. XXVIII.1) Chemical Constituents of Bhote Khair, the Underground Parts of <i>Eskemukerjea megacarpum</i> HARA2
<i>Boswellia papyrifera</i>	Trunk bark	Bioactive constituents from <i>Boswellia papyrifera</i>
<i>Combretum woodii</i>	Leaves	Isolation of an antibacterial stilbene from <i>Combretum woodii</i> (Combretaceae) leaves
<i>Iris lactea</i>	Graines	1. Separation and purification of four oligostilbenes from <i>Iris lactea</i> Pall. var. <i>chinensis</i> (Fisch.) Koidz by high-speed counter-current chromatography 2. Extraction and Separation of Vitisin D, Ampelopsin B and cis-Vitisin A from <i>Iris lactea</i> Pall. var. <i>chinensis</i> (Fisch.) Koidz by Alkaline Extraction–Acid Precipitation and High-Speed Counter-Current Chromatography
<i>Iris postii</i>	Rhizomes	Phytochemistry and Biological Activities of <i>Iris</i> Species Growing in Iraqi Kurdistan and Phenolic Constituents of the Traditional Plant <i>Iris postii</i>
<i>Iris persica</i>	Rhizomes	Bioactive Constituents from the Traditional Kurdish plant <i>Iris persica</i>
<i>Pholidota chinensis</i>	Whole plant	Stilbene and dihydrophenanthrene derivatives from <i>Pholidota chinensis</i> and their nitric oxide inhibitory and radical-scavenging activities
<i>Pterocarpus santalinus</i>	Heartwood	Terpenoids of <i>pterocarpus santalinus</i> heartwood
<i>Pleuropterus ciliinervis</i> // <i>Fallopia multiflora</i>	Roots	Stilbenes from the roots of <i>Pleuropterus ciliinervis</i> and their antioxidant activities
<i>Gaylussacia baccata</i> <i>Gaylussacia frondosa</i>	N.A	Gaylussacin, a new stilbene derivative from species of <i>Gaylussacia</i>
<i>Elephantorrhiza goetzei</i>	Bark	A new stilbene glycoside from <i>Elephantorrhiza goetzei</i>
<i>Nidema boothii</i>	Whole plant	Spasmolytic Effects, Mode of Action, and Structure-Activity Relationships of Stilbenoids from <i>Nidema boothii</i>
<i>Luisia indivisa</i> /brachystachys	Whole plant	Lusianthrin and Isianthridin, two stilbenoids from the orchid <i>Luisia indivisa</i>
<i>Crotalaria madurensis</i>	Stem Leaves	Chemical constituents of <i>Crotalaria madurensis</i>
<i>Dracaena loureiri</i>	Stem wood	Flavonoids and stilbenoids with cox-1 and cox-2 inhibitory activity from <i>Dracaena loureiri</i>
<i>Dracaena cochinchinensis</i>	Stem wood	<i>Dracaena cochinchinensis</i> stemwood extracts inhibit amyloid- β fibril formation and promote neuronal cell differentiation
	Resin	1. Natural potential therapeutic agents of neurodegenerative diseases from the traditional herbal medicine Chinese Dragon's Blood 2. <i>Dracaena cochinchinensis</i> stemwood extracts inhibit amyloid- β fibril formation and promote neuronal cell differentiation
<i>Knema austrosiamensis</i>	Wood	Stilbenes and other constituents of <i>Knema austrosiamensis</i>
<i>Lens culinaris</i>	Seed coat	Phenolic composition of the cotyledon and the seed coat of lentils (<i>Lens culinaris</i> L.)
<i>Eucalyptus salmonophloia</i> <i>Eucalyptus longicornis</i>	Leaves	Polyphenols in the leaves of some eucalypts species
<i>Intsia bijuga</i>	Heartwood	1. Polyphenols of <i>Intsia</i> heartwoods 2. <i>Intsia bijuga</i> Heartwood Extract and Its Phytosome as Tyrosinase Inhibitor, Antioxidant, and Sun Protector
<i>Intsia palembanica</i>	Heartwood	Polyphenols of <i>Intsia</i> heartwoods
<i>Dioscorea japonica</i>	Rhizomes	Furostanol saponins from the rhizomes of <i>Dioscorea japonica</i> and their effects on NGF induction
<i>Bulbophyllum triste</i>	Whole plant	Cumulatin and tristin, two bibenzyl derivatives from the orchids <i>Dendrobium cumulatum</i> and <i>Bulbophyllum triste</i>
<i>Alpinia katsumadai</i>	Leaves Stem	Stilbenes, monoterpenes, diarylheptanoids, labdanes and chalcones from <i>Alpinia katsumadai</i>
<i>Polygonum lapathifolium</i>	Aerial parts	Chemical studies on the constituents of <i>Polygonum nodosum</i>
<i>Macaranga denticulata</i>	Fruits	Cytotoxic phenolic compounds isolated from the fruits of <i>Macaranga denticulata</i>
	Leaves	Denticulatains A and B: unique stilbene–diterpene heterodimers from <i>Macaranga denticulata</i>
<i>Bauhinia racemosa</i>	Heartwood	Pacharin: a new dibenzo[2,3-6,7]oxepin derivative from <i>Bauhinia racemosa</i> lamk
<i>Nothofagus fusca</i>	Heartwood	The polyphenols of <i>Nothofagus</i> species-II The heartwood of <i>Nothofagus fusca</i>
<i>Tetrasigma hemsleyanum</i>	Fruit	Simultaneous Quantitative Determination of Active Components in <i>Tetrasigma hemsleyanum</i> by RP-HPLC Coupled with Diode Array Detection
	Leaves	
	Roots	
<i>Polygonum persicaria</i>	Whole plant	Persilben a new carboxystilbene from <i>Polygonum persicaria</i>
<i>Sophora moorcroftiana</i>	Roots	Stilbene oligomers in roots of <i>sophora moorcroftiana</i>
<i>Iris clarkei</i>	Seeds	Resveratrol-type oligostilbenes from <i>Iris clarkei</i> antagonize 20-hydroxyecdysone action in the <i>Drosophila melanogaster</i> BII cell line
<i>Vatica oblongifolia</i>	Trunk bark	Antimicrobial Resveratrol Tetramers from the Stem Bark of <i>Vatica oblongifolia</i> ssp. <i>oblongifolia</i>
<i>Neobalanocarpus heimii</i>	Heartwood	1. Oligostilbenoids from the Heartwood of <i>N. Heimii</i> : Role of Non-Covalent Association in their Biogenesis 2. Heimiol A, a new dimeric stilbenoid from <i>Neobalanocarpus heimii</i>
<i>Vatica diospyroides</i>	Stem	Resveratrol Tetramers from <i>Vatica diospyroides</i>
<i>Vatica mangachapoi</i>	Branches Twigs	Oligostilbenes from <i>Vatica mangachapoi</i> with xanthine oxidase and acetylcholinesterase inhibitory activities
<i>Dipterocarpus alatus</i>	Stem wood	Oligostilbenoids with acetylcholinesterase inhibitory activity from <i>dipterocarpus alatus</i>
<i>Shorea cordifolia</i>	Leaves	Novel isolation of resveratrol dimer O-glucosides with enantiomeric aglycones from the leaves of <i>Shorea cordifolia</i>
<i>Dryobalanops beccarii</i>	Stem bark	Identification and biological activity of secondary metabolites from <i>Dryobalanops beccarii</i>
<i>Hopea chinensis</i>	Branches Twigs	Polyphenolic Acetylcholinesterase Inhibitors from <i>Hopea chinensis</i>
<i>Gnetum macrostachyum</i>	Roots	Macrostachyols A–D, new oligostilbenoids from the roots of <i>Gnetum macrostachyum</i>
<i>Cayratia japonica</i> // <i>Causonis japonica</i>	Stem	Two New Resveratrol Tetramers Isolated from <i>Cayratia japonica</i> (Thunb.) Gagn. with Strong Inhibitory Activity on Fatty Acid Synthase and Antioxidant Activity
<i>Rosa laevigata</i>	Roots	Phenolic constituents from the roots of <i>Rosa laevigata</i> (Rosaceae)
<i>Alpinia nantonensis</i>	Rhizomes	rans-3-Methoxy-5-hydroxystilbene (MHS) from the rhizome of <i>Alpinia nantonensis</i> inhibits metastasis in human lung cancer cells
<i>Vitis wenchowensi</i>	Roots Stem	A New Resveratrol Trimer from the Roots and Stems of <i>Vitis wenchowensi</i>
<i>Vitis quinquangularis</i>	Roots Stem	A New Resveratrol Trimer from the Roots and Stems of <i>Vitis quinquangularis</i>
<i>Paphiopedilum godefroyae</i>		Cytotoxic stilbenes from the roots of <i>Paphiopedilum godefroyae</i>
<i>Paphiopedilum exul</i>	Roots	Stilbenes from <i>Paphiopedilum exul</i> root

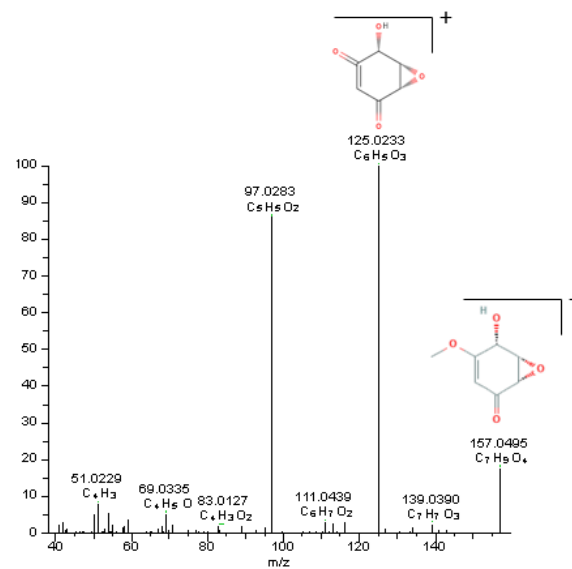
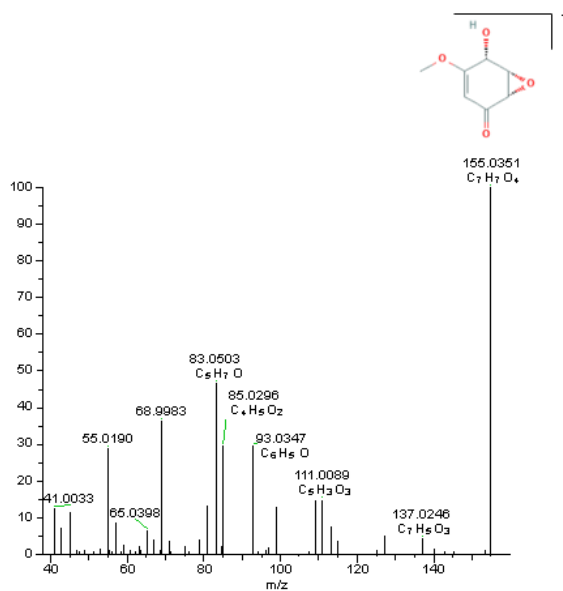
<i>Paphiopedilum dianthum</i>	Roots Leaves	Three new cytotoxic stilbene dimers from <i>paphiopedilum dianthum</i>
<i>Cyrtopodium paniculatum</i>	Roots	<i>Isolation of novel stilbenoids from the roots of Cyrtopodium paniculatum (Orchidaceae)</i>
<i>Bletilla striata</i>	Tubers	<i>Two new stilbenoids fom bletilla striata</i>
<i>Pinus pinaster</i>	Knots	<i>Pinus pinaster knot: a source of polyphenols against Plasmopara viticola</i>
<i>Dendrobium amoenum</i>	Whole plant	<i>Bibenzyl derivatives from the orchid Dendrobium amoenum</i>
<i>Gymnadenia conopsea</i>	Tubers	<i>Antiallergic phenanthrenes and stilbenes from the tubers of gymnadenia conopsea</i>
<i>Dendrobium plicatile</i>	Aerial parts	<i>Two new stilbenoids from aerial parts of Flickingeria fimbriata</i>
<i>Dendrobium hongdie</i>	Whole plant	<i>Isolation of Stilbenoids and Lignans from Dendrobium hongdie</i>
<i>Dendrobium xantholeucum</i>	Stems	<i>Constituents of Ephemerantha lonchophylla; Isolation and Structure Elucidation of New Phenolic Compounds, Ephemeranthol-A, Ephemeranthol-B, and Ephemeranthoquinone, and of a New Diterpene Glucoside, Ephemeranthoside</i>
<i>Ampelopsis brevipedunculata</i>	Roots	<i>Ampelopsins A, B and C, new oligostilbenes of ampelopsis brevipedunculata var hancei</i>
<i>Hopea jucunda</i>	Bark	<i>Balanocarpol</i> , a New Polyphenol from <i>Balanocarpus zeylanicus</i> (Trimen) and <i>Hopea jucunda</i> (Thw.) (Dipterocarpaceae)
<i>Hopea brevipetiolaris</i>		
<i>Vatica affinis</i>		
<i>Shorea seminis</i>	Bark	<i>Diptoindonesin A, a new C-glucoside of e-viniferin from Shorea seminis (Dipterocarpaceae)</i>
<i>Shorea laevifolia</i>	Heartwood	<i>Novel stilbenoids isolated from the heartwood of Shorea laevifolia</i>
<i>Vateria copallifera</i>	Bark	<i>New Antibacterial Polyphenol, Copalliferol A, from Vateria copallifera (Retz.) Alston (Dipterocarpaceae)</i>
<i>Eucalyptus abergiana</i>	Heartwood	<i>The Use of Hydroxystilbene Compounds as Taxonomic Tracers in the Genus Eucalyptus</i>
<i>Eucalyptus astringis</i>		
<i>Eucalyptus caesia</i>		
<i>Eucalyptus campaspe</i>		
<i>Eucalyptus calophylla</i>		
<i>Eucalyptus citriodora</i>		
<i>Eucalyptus dichromophloia</i>		
<i>Eucalyptus erempholia</i>		
<i>Eucalyptus erythrophloia</i>		
<i>Eucalyptus ficifolia</i>		
<i>Eucalyptus gardneri</i>		
<i>Eucalyptus griffithsii</i>		
<i>Eucalyptus grossa</i>		
<i>Eucalyptus gummifera</i>		
<i>Eucalyptus haematoxylon</i>		
<i>Eucalyptus intermedia</i>		
<i>Eucalyptus maculata</i>		
<i>Eucalyptus nowraensis</i>		
<i>Eucalyptus nutans</i>		
<i>Eucalyptus occidentalis</i>		
<i>Eucalyptus papuana</i>		
<i>Eucalyptus platypus</i>		
<i>Eucalyptus polycarpa</i>		
<i>Eucalyptus sargentii</i>		
<i>Eucalyptus spathulata</i>		
<i>Eucalyptus stricklandii</i>		
<i>Eucalyptus terminalis</i>		
<i>Eucalyptus tessellaris</i>		
<i>Eucalyptus trachyphloia</i>		
<i>Eucalyptus woodwardi</i>		
<i>Marchesinia bongardiana</i>	Whole plant	<i>3,4-dihydroxy-3'-methoxystilbene, the first monomeric stilbene derivative from bryophytes</i>
<i>Gnetum latifolium</i>	Stems	<i>Stilbenoids from the stem of Gnetum latifolium (Gnetaceae)</i>
<i>Gnetum ula</i>	Stems	<i>Stilbenes of Gnetum ula</i>
<i>Gnetum schwackeanum</i>	Fruits	<i>Gnetins: Resveratrol Oligomers From Gnetum Species</i>
<i>Gnetum leyboldii</i>	Bark	
<i>Otochilus fuscus</i>	Whole plant	<i>Chemical constituents from Otochilus fuscus</i>
<i>Pholidota yunnanensis</i>	Whole plant	<i>New stilbenoids from Pholidota yunnanensis and their inhibitory effects on nitric oxide production</i>
<i>Phoenix dactylifera</i>	Stem	<i>Two polyhydroxystilbenes from stems of Phoenix dactylifera</i>
<i>Aiphanes aculeata</i>	Seeds	<i>A novel cyclooxygenase-inhibitory stilbenolignan from the seeds of Aiphanes aculeata</i>
<i>Muscadinia rotundifolia/Vitis rotundifolia</i>	Berry skin	<i>Resveratrol Concentration in Muscadine Berries, Juice, Pomace, Purees, Seeds, and Wines</i>
	Pulp	
	Seeds	
<i>Vitis acerifolia</i>	Berries	<i>Natural Stilbenoids: distribution in the plant kingdom and chemotaxonomic interest in Vitaceae</i>
<i>Vitis aestivalis</i>		
<i>Vitis andersonii</i>		
<i>Vitis champinii</i>		
<i>Vitis doaniana</i>		
<i>Vitis palmata</i>		
<i>Vitis pentagona</i>		
<i>Vitis solonis</i>		
<i>Vitis vulpina</i>		
<i>Vitis novae anglia</i>		
<i>Vitis berlandieri</i>	Stems	<i>Stilbenoid Profiles of Canes from Vitis and Muscadinia Specie</i>
<i>Vitis cinerea</i>		
<i>Vitis betulifolia</i>		
<i>Vitis coignetiae</i>	Stem bark	<i>1. Vitisins D and E, Novel Oligostilbenes from Vitis coignetiae Stem Barks</i>
	Berries	<i>2. Resveratrol, Purified from the Stem of Vitis coignetiae Pulliat,Inhibits Food Intake in C57BL/6J Mice</i>
<i>Vitis mustangensis</i>	Stems	<i>Pterostilbene from Vitis coignetiae protect H2O2-induced inhibition of gap junctional intercellular communication in rat liver cell line</i>
<i>Vitis arizonica</i>	Stems	<i>Stilbenoid Profiles of Canes from Vitis and Muscadinia Specie</i>
<i>Vitis rupestris</i>	Stems	
<i>Vitis flexuosa</i>	Stems	
<i>Vitis flexuosa</i>	Stems	<i>Flexuosol A, a New Tetrastilbene from Vitis flexuosa</i>
<i>Vitis heyneana</i>	Stems	<i>Oligostilbenes from Vitis heyneana</i>
<i>Vitis labrusca</i>	Leaves	<i>Phenolic content of grapevine leaves (Vitis labrusca var. Bordo) and its neuroprotective effect against peroxide damage</i>
<i>Vitis riparia</i>	Stems	
<i>Vitis longii</i>	Stems	<i>Polyphenol Profiles of Just Pruned Grapevine Cones from Wild Vitis Accessions and Vitis vinifera Cultivars</i>
<i>Vitis thunbergii</i>		
<i>Vitis candicans</i>		
<i>Vitis monticola</i>		
<i>Vitis cordifolia</i>		

<i>Vitis rubra</i>		
<i>Vitis simpsonii</i>		
<i>Vitis davidii</i>	Berry skin	
	Pulp	
	Seeds	
	Leaves	
<i>Vitis shenxiensis</i>	Berry skin	
	Pulp	
	Seeds	
	Leaves	
<i>Vitis romanetii</i>	Berry skin	
	Pulp	
	Seeds	
	Leaves	
<i>Vitis piasezkii</i>	Berry skin	
	Pulp	
	Seeds	
	Stem	
<i>Centrolobium robustum</i>	Heartwood	Diarylheptanoids of <i>Centrolobium</i> species
<i>Schotia brachypetala</i>	Heartwood	Polyhydroxystilbenes from the heartwood of <i>Schotia brachypetala</i>
<i>Senna garneri</i>	Roots	Characterization and Quantitation of Polyphenolic Compounds in
<i>Senna georgica</i>	Roots	<i>Senna gardneri</i> and <i>S. georgica</i> from the Northeast of Brazil
<i>Trifolium campestre</i>	Leaves	Isoflavonoid and Stilbene Phytoalexins of the Genus <i>Trifolium</i>
<i>Trifolium dubium</i>		
<i>Humulus lupulus</i>	Cones	Occurrence of resveratrol and piceid in American and European hop cones
<i>Sorocea Myriculata</i>	Roots	Sorocenols G and H, Anti-MRSA Oxygen Heterocyclic Diels-Alder-Type Adducts from <i>Sorocea muriculata</i> Root
<i>Holodiscus discolor</i>	Bark	A STILBENE XYLOSIDE FROM <i>HOLODISCUS DISCOLOR</i> BARK
<i>Alnus pendula</i>	Flowers	Chemical Constituents of the Male Flower of <i>Alnus pendula</i> (BETULACEAE)
<i>Alnus viridis</i>	Flowers	A novel stilbene from bud excretion of <i>Alnus viridis</i>
<i>Alnus firma</i>	Stems	Chemical Constituents of <i>Alnus firma</i> (BETULACEAE). I. Phenyl Propane Derivatives Isolated from <i>Alnus firma</i>
<i>Alnus maximowiczii</i>	Aerial parts	Diarylheptanoids, flavonoids, stilbenoids, sesquiterpenoids and a phenanthrene from <i>Alnus maximowiczii</i>
<i>Alnus sieboldiana</i>	Catkins	Chemical Constituents of <i>Alnus sieboldiana</i> (BETULACEAE) II. The Isolation and Structure of Flavonoids and Stilbenes
<i>Callistemon rigidus</i>	Stem bark	Constituents of Stem Bark of <i>Callistemon rigidus</i> Showing Inhibitory Effects on Mouse α -Amylase Activity
<i>Hopea exalata</i>	Stem bark	Bioactive oligostilbenoids from the stem bark of <i>Hopea exalata</i>
<i>Hopea hainanensis</i>	Stem bark	New Resveratrol Oligomers from the Stem Bark of <i>Hopea hainanensis</i>
<i>Hopea odorata</i>	Stem bark	Resveratrol Derivatives from Stem Bark of <i>Hopea</i> and Their Biological Activity Test
<i>Ekebergia benguelensis</i>	Root bark	Novel stilbenes isolated from the root bark of <i>Ekebergia benguelensis</i>
<i>Acer mono</i>	Leaves	Two New Hepatoprotective Stilbene Glycosides from <i>Acer mono</i> Leaves
<i>Rheum palaestinum</i>	Aerial parts	Anti-platelet stilbenes from aerial parts of <i>Rheum palaestinum</i> .
<i>Cavendishia cordifolia</i>	Leaves	A survey of the flavonoids and simple phenols in leaves of <i>Cavendishia</i> (Ericaceae)
<i>Cavendishia endresii</i>		
<i>Cavendishia morii</i>		
<i>Cavendishia nitida</i>		
<i>Cavendishia pubescens</i>		
<i>Cavendishia zamorensis</i>		
<i>Vaccinium arboreum</i>	Berries	Resveratrol, Pterostilbene, and Piceatannol in <i>Vaccinium</i>
<i>Vaccinium elliotti</i>		Berries
<i>Pouteria campechiana</i>	Leaves	Isolation and Evaluation of Antimitotic Activity of Phenolic Compounds from <i>Pouteria campechiana</i> Baehni.
<i>Scutellaria lateriflora</i>	Aerial parts	Identification of phenolic compounds from <i>Scutellaria lateriflora</i> by liquid chromatography with ultraviolet photodiode array and electrospray ionization tandem mass spectrometry
<i>Acanthopanax brachypus</i>	Stem bark	A New Acylated Stilbene Glycoside from <i>Acanthopanax brachypus</i>
<i>Centipeda minima</i>	/	<i>Centipeda minima</i> active components and mechanisms in lung cancer
<i>Pentarrhizidium orientale</i>	/	First Total Synthesis of Gaylussacin and Its Stilbene Derivatives
<i>Leuzea carthamoides</i>	Roots	A stilbene from the roots of <i>leuzea carthamoides</i>
<i>Robinia pseudoacacia</i>	Young wood	Regulation of stilbene biosynthesis in plants.
	Old wood	
<i>Prunus domestica</i>	Fruits	Simultaneous analysis of serotonin, melatonin, piceid and resveratrol in fruits using liquid chromatography tandem mass spectrometry
<i>Prunus persica</i>	Fruits	
<i>Pyrus communis</i>	Fruits	
<i>Prunus avium</i>	Fruits	
<i>Malus domestica</i>	Fruits	
<i>Agonis flexuosa</i>	Leaves	A new stilbene from <i>Agonis flexuosa</i> leaves and verification of its histamine release inhibitory activity using in silico and in vitro studies

Annexe 1 : Principaux fragments des spectres de masse des ions identifiés, colocalisant le QTL sur le chr 18 de la carte génétique du Ri, avec leur identification putative.

Formule chimique	m/z	Identification putative	Fragments majeurs
[C ₄₂ H ₃₂ O ₉ - H] -	679.1969	<i>trans</i> -Miyabénol C	679.1964 (100) ; 573.1553 (80) ; 345.0764 (65) ; 451.1183 (45) ; 661.1867 (43) ; 585.1553 (40) ; 93.0346 (25) ; 227.0714 (22)
[C ₄₂ H ₃₀ O ₉ - H] -	679.1959	α -Viniférine	437.1028 (100) ; 571.1398 (80) ; 463.0820 (80) ; 500.1263 (80) ; 529.1292 (50) ; 330.0533 (40) ; 677.1807 (35)
[C ₄₂ H ₃₂ O ₉ - H] -	679.1969	<i>cis</i> -Miyabénol C	679.1964 (100) ; 573.1553 (40) ; 661.1866 (36) ; 359.0922 (35) ; 585.1553 (22) ; 93.0345 (17) ; 225.0556 (13) ; 451.1185 (10)
[C ₄₂ H ₃₂ O ₁₀ - H] -	697.2090	Trimère non-identifié	481.1289 (100) ; 121.0294 (80) ; 575.1710 (50) ; 375.0869 (40)
[C ₅₆ H ₄₂ O ₁₂ - H] -	905.2589	Vitisine A	905.2586 (100) ; 811.2174 (70) ; 451.1180 (20) ; 359.0919 (18) ; 799.2175 (13) ; 717.1759 (7) ; 545.1596 (5)
[C ₅₆ H ₄₄ O ₁₃ - H] -	923.2726	Viniférol E	923.2689 (100) ; 197.0605 (40) ; 707.1911 (23) ; 345.0762 (20) ; 801.2333 (10)
[C ₂₈ H ₂₂ O ₇ - H] -	469.1288	Caraphénol B	93.0344 (100) ; 451.1179 (50) ; 345.0763 (45) ; 423.1234 (33) ; 357.0762 (30)
[C ₂₈ H ₂₂ O ₇ - H] -	469.1288	Ampélopsine A	93.0344 (100) ; 345.0763 (45) ; 363.0873 (30) ; 375.0875 (5)
[C ₂₉ H ₂₆ O ₇ - H] -	485.1605	Viniféréther	93.345 (100) ; 117.0345 (75) ; 225.0555 (52) ; 119.0502 (50) ; 265.0867 (37) ; 385.144 (33)
[C ₂₈ H ₂₀ O ₇ - H] -	467.1140	Malibatol A	93.345 (100) ; 373.0715 (50) ; 343.0605 (30) ; 345.076 (28)
[C ₂₈ H ₂₀ O ₆ - H] -	451.1183	Amurensine H	93.345 (100) ; 357.0768 (91) ; 423.1228 (90) ; 343.0609 (70) ; 329.0818 (50)

Annexe 2 : Spectre de masse de l'ion de formule chimique $C_7H_8O_4$, en mode d'ionisation négatif (gauche) et positif (droite) à 60 eV.



Bibliographie

- Abidon C. (2016)/ Les maladies du bois Esca et BDA en Alsace : bilan 2003-2016 du réseau d'observation. Vins Alsace, 12: 14–16.
- Abou-Mansour, E., Débieux, J.-L., Ramírez-Suero, M., Bénard-Gellon, M., Magnin-Robert, M., Spagnolo, A., Chong, J., Farine, S., Bertsch, C., L'Haridon, F., Serrano, M., Fontaine, F., Rego, C., & Larignon, P. (2015). Phytotoxic metabolites from *Neofusicoccum parvum*, a pathogen of Botryosphaeria dieback of grapevine. *Phytochemistry*, 115, 207-215.
- Amalfitano, C., Agrelli, D., ARRIGO, A., Mugnai, L., SURICO, G., & Evidente, A. (2011). Stilbene polyphenols in the brown red wood of *Vitis vinifera* cv. Sangiovese affected by « esca proper ». *Phytopathologia Mediterranea*, 50, S224-S235.
- Amalfitano, C., Evidente, A., Surico, G., Tegli, S., Bertelli, E., & Mugnai, L. (2000). Phenols and Stilbene Polyphenols in the Wood of Esca-Diseased Grapevines. *Phytopathologia Mediterranea*, 39, 178-183.
- Andolfi, A., Mugnai, L., Luque, J., Surico, G., Cimmino, A., & Evidente, A. (2011). Phytotoxins Produced by Fungi Associated with Grapevine Trunk Diseases. *Toxins*, 3(12), 1569-1605.
- Arnold, G., Prado, E., Vincent, D., Butterlin, G., Duchêne, E., Avia, K., & Merdinoglu, D. (2023). *Discovery of a locus associated with susceptibility to esca dieback in grapevine.*
- Arzanlou, M., Moshari, S., Salari, M., & Badali, H. (2013). Molecular characterisation and pathogenicity of *Phaeoacremonium* spp. Associated with esca disease of grapevine in Northern Iran. *Archives of Phytopathology and Plant Protection*, 46.
- Becker L, Poutaraud A, Hamm G, Muller JF, Merdinoglu D, Carré V, Chaimbault P. Metabolic study of grapevine leaves infected by downy mildew using negative ion electrospray–Fourier transform ion cyclotron resonance mass spectrometry. *Anal Chim Acta*, 795:44-51.
- Bertsch C., Ramirez-Suero M., Magnin-Robert M., Larignon P., Chong J., Spagnolo A., Clément C., Fontaine F. 2013. Grapevine trunk diseases: complex and still poorly understood. *Plant Pathology*, 62(2) : 243-365.
- Carlquist, S. (2013). Comparative Wood Anatomy: Systematic, Ecological, and Evolutionary Aspects of Dicotyledon Wood. *Springer Science & Business Media*.
- Chepca, H., Réty, S., Araújo Branco, C.I., Chich J. F., Riveill, G., Arnold, G., Butterlin, G., Dumas, V., Lahaye, M., Velt, A., Duchêne, E., Avia, K., Tavares, R., Rustenholz, C., Maïa-Grondard, A & Hugueney, P. (2024). Genetic analysis of grapevine (*Vitis vinifera* L.) wood composition identifies UDP-glycosyltransferases involved in the biosynthesis of stilbene glycosides.
- Chervin, J., Romeo-Oliván, A., Fournier, S., Puech-Pages, V., Dumas, B., Jacques, A., & Marti, G. (2022). Modification of Early Response of *Vitis vinifera* to Pathogens Relating to Esca Disease and Biocontrol Agent Vintec® Revealed By Untargeted Metabolomics on Woody Tissues. *Frontiers in Microbiology*, 13, 835463.
- Cichewicz, R. H., Kouzi, S. A., & Hamann, M. T. (2000). Dimerization of resveratrol by the grapevine pathogen *Botrytis cinerea*. *Journal of Natural Products*, 63(1), 29-33.
- Cobos, R., Mateos, R. M., Álvarez-Pérez, J. M., Olego, M. A., Sevillano, S., González-García, S., Garzón-Jimeno, E., & Coque, J. J. R. (2015). Effectiveness of Natural Antifungal Compounds in Controlling Infection by Grapevine Trunk Disease Pathogens through Pruning Wounds. *Applied and Environmental Microbiology*, 81(18), 6474-6483.
- Csótó, A., Nagy, A., Laurinyecz, N., Nagy, Z., Németh, C., Németh, K., Csikasz-Krizsics, A., Rakonczas, N., Florence, F., Fekete, E., Flipphi, M., Karaffa, L., & Karaffa, E. (2023). *Hybrid Vitis Cultivars With American or Asian Ancestries Show Higher Tolerance Towards Grapevine Trunk Diseases.*
- Del Río, J.C., Rencoret, J., Gutiérrez, A., Kim, H., & Ralph, J. (2017). Hydroxystilbenes Are Monomers in Palm Fruit Endocarp Lignins. *Plant Physiology*, 174(4), 2072-2082.

- Del Río, J. C., Rencoret, J., Gutiérrez, A., Elder, T., Kim, H., & Ralph, J. (2020). Lignin Monomers from beyond the Canonical Monolignol Biosynthetic Pathway : Another Brick in the Wall. *ACS Sustainable Chemistry & Engineering*, 8(13), 4997-5012.
- Dewasme, C., Mary, S., & Roby, J.-P. (2023). Regrafting and curettage of esca-affected vines : Useful control techniques but difficult to implement: This is a translation of an article originally written in French. *IVES Technical Reviews, Vine and Wine*.
- Di Marco, S.; Cesari, A.; Calzarano, F.; Mazzullo, A. The Control of Esca: Status and Perspectives. *Phytopathol. Mediterr.* 2000, 39, 232–240.
- Donoghue, P. C. J., Harrison, C. J., Paps, J., & Schneider, H. (2021). The evolutionary emergence of land plants. *Current Biology*, 31(19), R1281-R1298.
- Drawz, S. M., & Bonomo, R. A. (2010). Three Decades of β -Lactamase Inhibitors. *Clinical Microbiology Reviews*, 23(1), 160-201.
- Duchesne, L. C., & Larson, D. W. (1989). Cellulose and the Evolution of Plant Life. *BioScience*, 39(4), 238-241.
- Evidente, A., Sparapano, L., Fierro, O., Bruno, G., Giordano, F., & Motta, A. (1998). Sphaeropsidone and episphaeropsidone, phytotoxic dimedone methylethers produced by *Sphaeropsis sapinea* f. Sp. *Cupressi* grown in liquid culture. *Phytochemistry*, 48(7), 1139-1143.
- Flubacher, N., Baltenweck, R., Hugueney, P., Fischer, J., Thines, E., Riemann, M., Nick, P., & Khattab, I. M. (2023). The fungal metabolite 4-hydroxyphenylacetic acid from *Neofusicoccum parvum* modulates defence responses in grapevine. *Plant, Cell & Environment*, 46(11), 3575-3591.
- Fontaine, F., Armengol, J., Cahurel, J. Y. & al (2016). Grapevine Trunk Diseases : A review. *OIV Publications*, 24.
- Forleo, L. R., D'Amico, M., Basile, T., Marsico, A. D., Cardone, M. F., Maggiolini, F. A. M., Velasco, R., & Bergamini, C. (2021). Somatic Embryogenesis in Vitis for Genome Editing: Optimization of Protocols for Recalcitrant Genotypes. *Horticulturae*, 7(11).
- Fu, P., Wu, W., Lai, G., Li, R., Peng, Y., Yang, B., Wang, B., Yin, L., Qu, J., Song, S., & Lu, J. (2020). Identifying *Plasmopara viticola* resistance Loci in grapevine (*Vitis amurensis*) via genotyping-by-sequencing-based QTL mapping. *Plant Physiology and Biochemistry: PPB*, 154, 75-84.
- Gabaston J, Leborgne C, Waffo-Teguo P, Valls J, Palos Pinto A, Richard T, Cluzet S, Mérillon JM. (2019). Wood and roots of major grapevine cultivars and rootstocks: A comparative analysis of stilbenes by UHPLC-DAD-MS/MS and NMR. *Phytochem Anal*, 30(3):320-331.
- Galarneau, E. R. A., Lawrence, D. P., Wallis, C. M., & Baumgartner, K. (2021). A comparison of the metabolomic response of grapevine to infection with ascomycete wood-infecting fungi. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 113, 101596.
- Gerrienne, P., Gensel, P. G., Strullu-Derrien, C., Lardeux, H., Steemans, P., & Prestianni, C. (2011). A simple type of wood in two Early Devonian plants. *Science (New York, N.Y.)*, 333(6044), 837.
- Glazebrook J, Ausubel FM. (1994). Isolation of phytoalexin-deficient mutants of *Arabidopsis thaliana* and characterization of their interactions with bacterial pathogens. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 91(19):8955-9.
- Gluck-Thaler, E., Vijayakumar, V., & Slot, JC. (2018). Fungal adaptation to plant defences through convergent assembly of metabolic modules. *Mol Ecol*, 27(24):5120-5136.
- Goufo, P., Singh, R. K., & Cortez, I. (2020). A Reference List of Phenolic Compounds (Including Stilbenes) in Grapevine (*Vitis vinifera* L.) Roots, Woods, Canes, Stems, and Leaves. *Antioxidants*, 9(5), 398.

- Gramaje, D., Úrbez-Torres, J. R., & Sosnowski, M. R. (2018). Managing Grapevine Trunk Diseases With Respect to Etiology and Epidemiology : Current Strategies and Future Prospects. *Plant Disease*, 102(1), 12-39.
- Guan, P., Schmidt, F., Fischer, J., Riemann, M., Thines, E., & Nick, P. (2022). The fungal elicitor eutypine from *Eutypa lata* activates basal immunity through its phenolic side chains. *Horticulture Research*, 9, uhac120.
- Guan, X., Essakhi, S., Laloue, H., Nick, P., Bertsch, C., & Chong, J. (2016). Mining new resources for grape resistance against Botryosphaeriaceae : A focus on *Vitis vinifera* subsp. *sylvestris*. *Plant Pathology*, 65(2), 273-284.
- Guo, C.-J., Sun, W.-W., Bruno, K. S., & Wang, C. C. C. (2014). Molecular Genetic Characterization of Terreic Acid Pathway in *Aspergillus terreus*. *Organic Letters*, 16(20), 5250-5253.
- Herrmann, M., Zocher, R., & Haese, A. (1996). Enniatin production by fusarium strains and its effect on potato tuber tissue. *Applied and Environmental Microbiology*, 62(2), 393-398.
- Hiruma, K., Fukunaga, S., Bednarek, P., Piślewska-Bednarek, M., Watanabe, S., Narusaka, Y., Shirasu, K., & Takano, Y. (2013). Glutathione and tryptophan metabolism are required for Arabidopsis immunity during the hypersensitive response to hemibiotrophs. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA*, 110(23), 9589-9594.
- Jaillon O, Aury JM, Noel B, Policriti A, Clepet C, Casagrande A, Choisne N, Aubourg S, Vitulo N, Jubin C, Vezzi A, Legeai F, Huguency P, Dasilva C, Horner D, Mica E, Jublot D, Poulain J, Bruyère C, Billault A, Segurens B, Gouyvenoux M, Ugarte E, Cattonaro F, Anthouard V, Vico V, Del Fabbro C, Alaux M, Di Gaspero G, Dumas V, Felice N, Paillard S, Juman I, Moroldo M, Scalabrin S, Canaguier A, Le Clainche I, Malacrida G, Durand E, Pesole G, Laucou V, Chatelet P, Merdinoglu D, Delledonne M, Pezzotti M, Lecharny A, Scarpelli C, Artiguenave F, Pè ME, Valle G, Morgante M, Caboche M, Adam-Blondon AF, Weissenbach J, Quétier F, Wincker P; French-Italian Public Consortium for Grapevine Genome Characterization. (2007). The grapevine genome sequence suggests ancestral hexaploidization in major angiosperm phyla. *Nature*, 449(7161), 463-467.
- Khattab, I. M., Fischer, J., Kaźmierczak, A., Thines, E., & Nick, P. (2021). Hunting the plant surrender signal activating apoplexy in grapevines after *Neofusicoccum parvum* infection (p. 2021.10.14.464072). *bioRxiv*.
- Karlen, S. D., Zhang, C., Peck, M. L., Smith, R. A., Padmakshan, D., Helmich, K. E., Free, H. C. A., Lee, S., Smith, B. G., Lu, F., Sedbrook, J. C., Sibout, R., Grabber, J. H., Runge, T. M., Mysore, K. S., Harris, P. J., Bartley, L. E., & Ralph, J. (2016). Monolignol ferulate conjugates are naturally incorporated into plant lignins. *Science Advances*, 2(10), e1600393.
- Kenfaoui, J., Lahlali, R., Laasli, S.-E., Goura, K., Fardi, M., Tahiri, A., El Ghadraoui, L., & Amiri, S. (2023). The potency and effectiveness of six essential oils in controlling grapevine trunk diseases in Morocco. *Journal of Natural Pesticide Research*, 6, 100053.
- Kong, C., Huang, H., Xue, Y., Liu, Y., Peng, Q., Liu, Q., Xu, Q., Zhu, Q., Yin, Y., Zhou, X., Zhang, Y., & Cai, M. (2018). Heterologous pathway assembly reveals molecular steps of fungal terreic acid biosynthesis. *Scientific Reports*, 8.
- Korányi, T. I., Fridrich, B., Pineda, A., & Barta, K. (2020). Development of 'Lignin-First' Approaches for the Valorization of Lignocellulosic Biomass. *Molecules*, 25(12), Article 12.
- Kryazhimskiy S, Plotkin JB. (2008). The population genetics of dN/dS. *PLoS Genet*, 4(12):e1000304.
- Kunova, A., Pinna, C., Ghosh, S., Dozio, D., Pizzatti, C., Princiotto, S., Cortesi, P., Dallavalle, S., & Pinto, A. (2024). Stilbenoids as Antifungals to Counteract Rice Blast Pathogen *Pyricularia oryzae*. *ACS Agricultural Science & Technology*, 4(1), 43-50.

- Labois, C., Wilhelm, K., Laloue, H., Tarnus, C., Bertsch, C., Goddard, M.-L., & Chong, J. (2020). Wood Metabolomic Responses of Wild and Cultivated Grapevine to Infection with *Neofusicoccum parvum*, a Trunk Disease Pathogen. *Metabolites*, 10(6), Article 6.
- Labois, C., Stempien, E., Schneider, J., Schaeffer-Reiss, C., Bertsch, C., Goddard, M. L., Chong, J. (2021). Comparative Study of Secreted Proteins, Enzymatic Activities of Wood Degradation and Stilbene Metabolization in Grapevine *Botryosphaeria* Dieback Fungi. *J Fungi (Basel)*, 7(7):568.
- Lambert, C., Bisson, J., Waffo-Tégou, P., Papastamoulis, Y., Richard, T., Corio-Costet, M.-F., Mérillon, J.-M., & Cluzet, S. (2012). Phenolics and Their Antifungal Role in Grapevine Wood Decay: Focus on the *Botryosphaeriaceae* Family. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60(48), 11859-11868.
- Langa-Lomba, N., González-García, V., Martín-Ramos, P., & Casanova-Gascón, J. (2023). Screening of *Vitis vinifera* cultivars from the Grapevine Germplasm Bank of Aragon for susceptibility to *Botryosphaeria* dieback fungi. *Journal of Plant Diseases and Protection*, 130(5), 999-1006.
- Langcake, P., & Pryce, R. J. (1976). The production of resveratrol by *Vitis vinifera* and other members of the Vitaceae as a response to infection or injury. *Physiological Plant Pathology*, 9(1), 77-86.
- Larignon, P., & Dubos, B. (2001). Le Black Dead Arm. Maladie nouvelle à ne pas confondre avec l'esca. *Phytoma*, 538, 26-29.
- Larignon, P., Berud, F., Girardon, K., & Dubos, B. (2006). *Maladies du bois de la vigne Et les pépinières ? Quelques éléments sur la présence des champignons associés, leur localisation dans le bois et les moments de contaminations*. 592, 14-16.
- Larignon, P., Fontaine, F., Farine, S., Clément, C., & Bertsch, C. (2009). Esca et Black Dead Arm : Deux acteurs majeurs des maladies du bois chez la Vigne. *Comptes Rendus Biologies*, 332(9), 765-783.
- Larignon, P. (2016a). *Maladies cryptogamiques du bois de la vigne : Symptomatologie et agents pathogènes*.
- Larignon, P., & Yobréat O. (2016). Comment lutter contre les maladies du bois de la vigne ? Cahier technique. https://www.vignevin.com/wp-content/uploads/2018/12/CAHIER_PRATIQUE_LARIGNON_050816.pdf
- Larignon, P., & Fontaine F. (2018). Comprendre le mode d'action de l'arsénite de sodium afin de proposer de nouveaux moyens de lutte. Actes de colloque V'innodays, 11 janvier 2018, Toulouse. Pages : 9-19.
- Lecomte, P., Cholet, C., Bruez, E., Martignon, T., Giudici, M., Simonit, M., Ugaglia, A. A., Forget, D., Miramon, J., Arroyo, M., Dubourdieu, D., Geny-Denis, L., & Rey, P. (2022). Recovery after curettage of grapevines with esca leaf symptoms. *Phytopathologia Mediterranea*, 61(3), Article 3.
- Lemaitre-Guillier, C., Fontaine, F., Roullier-Gall, C., Harir, M., Magnin-Robert, M., Clément, C., Trouvelot, S., Gougeon, R. D., Schmitt-Kopplin, P., & Adrian, M. (2020). Cultivar- and Wood Area-Dependent Metabolomic Fingerprints of Grapevine Infected by *Botryosphaeria* Dieback. *Phytopathology*, 110(11), 1821-1837.
- Li, G., Kusari, S., Golz, C., Strohmman, C., & Spiteller, M. (2016). Three cyclic pentapeptides and a cyclic lipopeptide produced by endophytic *Fusarium decemcellulare* LG53. *RSC Advances*, 6(59), 54092-54098.
- Lima, M. R. M., Machado, A. F., & Gubler, W. D. (2017). Metabolomic Study of Chardonnay Grapevines Double Stressed with Esca-Associated Fungi and Drought. *Phytopathology*, 107(6), 669-680.
- Louis, A., Chich, J. F., Chepca, H., Schmitz, I., Hugueney, P., & Maia-Grondard, A. (2024). *Green extraction method : Microwave-assisted water extraction followed by HILIC-HRMS analysis for the characterization of the polar metabolome in plants*.
- Mackay, T. F. (2001). The genetic architecture of quantitative traits. *Annual Review of Genetics*, 35, 303-339.

- Maher, N., Piot, J., Bastien, S., Vallance, J., Rey, P., & Guérin-Dubrana, L. (2012). Wood necrosis in esca-affected vines : Types, relationships and possible links with foliar symptom expression. *OENO One*, 46(1), Article 1.
- Mahoney, N., Lardner, R., Molyneux, R. J., Scott, E. S., Smith, L. R., & Schoch, T. K. (2003). Phenolic and heterocyclic metabolite profiles of the grapevine pathogen *Eutypa lata*. *Phytochemistry*, 64(2), 475-484.
- Massonnet, M., Figueroa-Balderas, R., Galarneau, E. R. A., Miki, S., Lawrence, D. P., Sun, Q., Wallis, C. M., Baumgartner, K., & Cantu, D. (2017). *Neofusicoccum parvum* Colonization of the Grapevine Woody Stem Triggers Asynchronous Host Responses at the Site of Infection and in the Leaves. *Frontiers in Plant Science*, 8.
- Meyer-Berthaud, B., & Decombeix, A.-L. (s. d.). *Le bois, une innovation vieille de 400 millions d'années*.
- Miedes, E., Vanholme, R., Boerjan, W., & Molina, A. (2014). The role of the secondary cell wall in plant resistance to pathogens. *Frontiers in Plant Science*, 5, 358.
- Miller, M. W. (1968). The structure of terremutin. *Tetrahedron*, 24(13), 4839-4851.
- Mondello, V., Songy, A., Battiston, E., Pinto, C., Coppin, C., Trotel-Aziz, P., Clément, C., Mugnai, L., & Fontaine, F. (2018). Grapevine Trunk Diseases : A Review of Fifteen Years of Trials for Their Control with Chemicals and Biocontrol Agents. *Plant Disease*, 102(7), 1189-1217.
- Mugnai, L., Graniti, A., & Surico, G. (1999). Esca(Black Measles) and Brown Wood-Streaking : Two Old and Elusive Diseases of Grapevines. *Plant Disease*, 83, 404-418.
- Nagy, N. E., Norli, H. R., Fongen, M., Østby, R. B., Heldal, I. M., Davik, J., & Hietala, A. M. (2022). Patterns and roles of lignan and terpenoid accumulation in the reaction zone compartmentalizing pathogen-infected heartwood of Norway spruce. *Planta*, 255(3), 63.
- Negrel, L., Halter, D., Wiedemann-Merdinoglu, S., Rustenholz, C., Merdinoglu, D., Hugueney, P., & Baltenweck, R. (2018). Identification of Lipid Markers of *Plasmopara viticola* Infection in Grapevine Using a Non-targeted Metabolomic Approach. *Frontiers in Plant Science*, 9.
- Noronha H, Silva A, Garcia V, Billet K, Dias ACP, Lanoue A, Gallusci P, Gerós H. (2023) Grapevine woody tissues accumulate stilbenoids following bud burst. *Planta*, 258(6):118.
- Pacetti, A., Moretti, S., Perrin, C., Gelhay, E., Bieler, E., Kassemeyer, H.-H., Mugnai, L., Farine, S., & Bertsch, C. (2022). Grapevine Wood-Degrading Activity of *Fomitiporia mediterranea* M. Fisch. : A Focus on the Enzymatic Pathway Regulation. *Frontiers in Microbiology*, 13.
- Pallardy, S. G. (2008). Carbohydrates. In *Physiology of Woody Plants*, 199-215.
- Parage, C., Tavares, R., Réty, S., Baltenweck-Guyot, R., Poutaraud, A., Renault, L., Heintz, D., Lugan, R., Marais, G.A., Aubourg, S., & Hugueney, P. (2012). Structural, functional, and evolutionary analysis of the unusually large stilbene synthase gene family in grapevine. *Plant Physiology*, 160(3):1407-19.
- Patel, Z. M., Mahapatra, R., & Jampala, S. S. M. (2020). Chapter 11—Role of fungal elicitors in plant defense mechanism. In V. Sharma, R. Salwan, & L. K. T. Al-Ani (Éds.), *Molecular Aspects of Plant Beneficial Microbes in Agriculture* (p. 143-158). Academic Press.
- Pawlus, A., Salhi, R., Bisson, J., Riviere, C., Delaunay, J.-C., Richard, T., Gomes, E., Bordenave, L., Waffo-Tégou, P., & Merillon, J.-M. (2013). Stilbenoid profiles of canes from *Vitis* and *Muscadinia* species. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 61(3), 501.
- Pezet, R. (1998). Purification and characterization of a 32-kDa laccase-like stilbene oxidase produced by *Botrytis cinerea* Pers.:Fr. *FEMS Microbiology Letters*, 167(2), 203-208.

- Pollard-Flamand, J., Boulé, J., Hart, M., & Úrbez-Torres, J. R. (2022). Biocontrol Activity of Trichoderma Species Isolated from Grapevines in British Columbia against Botryosphaeria Dieback Fungal Pathogens. *Journal of Fungi*, 8(4), 409.
- Rangel-Montoya, E. A., Paolinelli, M., Rolshausen, P. E., Valenzuela-Solano, C., & Hernandez-Martinez, R. (2021). Characterization of Lasiodiplodia species associated with grapevines in Mexico. *Phytopathologia Mediterranea*, 60(2).
- Richard, T., Abdelli-Belhad, A., Xavier, V., Waffo-Téguo, P., & Merillon, J.-M. (2016). *Vitis vinifera* canes, a source of stilbenoids against downy mildew. *OENO One*, 50.
- Rivière C, Pawlus AD, Mérillon JM. (2012). Natural stilbenoids: distribution in the plant kingdom and chemotaxonomic interest in Vitaceae. *Nat Prod Rep*, 29(11):1317-33.
- Sanderson, M. J., Thorne, J. L., Wikström, N., & Bremer, K. (2004). Molecular evidence on plant divergence times. *American Journal of Botany*, 91(10), 1656-1665.
- Salvatore, M. M., Alves, A., & Andolfi, A. (2020). Secondary Metabolites of Lasiodiplodia theobromae : Distribution, Chemical Diversity, Bioactivity, and Implications of Their Occurrence. *Toxins*, 12(7), 457.
- Salvatore, M. M., Alves, A., & Andolfi, A. (2021). Secondary Metabolites Produced by Neofusicoccum Species Associated with Plants : A Review. *Agriculture*, 11(2).
- Satomura, Y., & Sato, A. (1965). Isolation and Physiological Activity of Sclerin, a Metabolite of Sclerotinia Fungus. *Agricultural and Biological Chemistry*, 29(4), 337-344.
- Scalbert, A. (1992). Tannins in Woods and Their Contribution to Microbial Decay Prevention. *Plant Polyphenols : Synthesis, Properties, Significanc*, 935-952
- Schilling, M., Levasseur, M., Barbier, M., Oliveira-Correia, L., Henry, C., Touboul, D., Farine, S., Bertsch, C., & Gelhay, E. (2023). Wood Degradation by Fomitiporia mediterranea M. Fischer : Exploring Fungal Adaptation Using Metabolomic Networking. *Journal of Fungi*, 9(5), Article 5.
- Schimmel, T. G., Coffman, A. D., & Parsons, S. J. (1998). Effect of Butyrolactone I on the Producing Fungus, Aspergillus terreus. *Applied and Environmental Microbiology*, 64(10), 3707-3712.
- Schmidlin, L., Poutaraud, A., Claudel, P., Mestre, P., Prado, E., Santos-Rosa, M., Wiedemann-Merdinoglu, S., Karst, F., Merdinoglu, D., & Hugueney, P. (2008). A stress-inducible resveratrol O-methyltransferase involved in the biosynthesis of pterostilbene in grapevine. *Plant Physiology*, 148(3):1630-9.
- Schnee, S., Queiroz, E. F., 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. *J Agric Food Chem*, 61(23), 5459-67.
- Schnee, S., Huber, R., Marcourt, L., Michellod, E., Wolfender, J.-L., Gindro, K., & Queiroz, E. (2022). Generation of antifungal stilbenes derivatives towards grapevine downy mildew using enzymatic secretome of Botrytis cinerea. *BIO Web of Conferences*, 50, 03007.
- Schneider C, Onimus C, Prado E, V. Dumas , S. Wiedemann-Merdinoglu , et al. (2019). The French grapevine breeding program ResDur: state of the art and perspectives. *Acta Horticulturae*, 1248, 207-214.
- Shrotri, A., Kobayashi, H., & Fukuoka, A. (2017). Chapter Two—Catalytic Conversion of Structural Carbohydrates and Lignin to Chemicals. In C. Song (Éd.), *Advances in Catalysis* (Vol. 60, p. 59-123). Academic Press.
- Simeng, Z., Sacha, G., Isabelle, H.G., & Marie-Noëlle, R. (2015). A PCR-based method to quantify fungal growth during pretreatment of lignocellulosic biomass. *Journal of Microbiological Methods*, 115, 67-70.

- Songy, A., Fernandez, O., Clément, C., Larignon, P., & Fontaine, F. (2019a). Grapevine trunk diseases under thermal and water stresses. *Planta*, 249(6), 1655-1679.
- Songy, A., Vallet, J., Gantet, M., Boos, A., Ronot, P., Tarnus, C., Clément, C., Larignon, P., Goddard, M.-L., & Fontaine, F. (2019b). Sodium arsenite effect on *Vitis vinifera* L. Physiology. *Journal of Plant Physiology*, 238, 72-79.
- Spinosi J., Févotte J. & Vial G. (2009). Eléments techniques sur l'exposition professionnelle aux pesticides arsenicaux. Matrice cultures – expositions aux pesticides arsenicaux. Institut de veille sanitaire. Saint-Maurice, France, avril 2009, 19 pages.
- Surico, G. (2009). Towards a redefinition of the diseases within the esca complex of grapevine. *Phytopathologia Mediterranea*, 48, 5-10.
- Surico, G., Marchi, G., Mugnai, L., & Braccini, P. (2000). Epidemiology of Esca in Some Vineyards in Tuscany (Italy). *Phytopathologia Mediterranea*, 39(1), Article 1.
- Taylor, A., Gartner, B., & Morrell, J. (2002). Heartwood formation and natural durability—A review. *Wood and Fiber Science*, 34.
- Tanaka, T., Ito, T., Ido, Y., Nakaya, K., Iinuma, M., & Chelladurai, V. (2001). Hopeafuran and a C-Glucosyl Resveratrol Isolated from Stem Wood of *Hopea utilis*. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 49(6), 785-787.
- Teh, S. L., Rostandy, B., Awale, M., Luby, J. J., Fennell, A., & Hegeman, A. D. (2019). Genetic analysis of stilbenoid profiles in grapevine stems reveals a major mQTL hotspot on chromosome 18 associated with disease-resistance motifs. *Horticulture Research*, 6(1), 1-11.
- Terrett, O. M., & Dupree, P. (2019). Covalent interactions between lignin and hemicelluloses in plant secondary cell walls. *Current Opinion in Biotechnology*, 56, 97-104.
- This, V.D. (2017). Modélisation du comportement au feu des structures en bois. PhD Thesis, Université de Lorraine.
- Tropf, S., Lanz, T., Rensing, S. A., Schröder, J., & Schröder, G. (1994). Evidence that stilbene synthases have developed from chalcone synthases several times in the course of evolution. *J Mol Evol*, 38(6):610-8.
- Trotel-Aziz, P., Abou-Mansour, E., Courteaux, B., Rabenoelina, F., Clément, C., Fontaine, F., & Aziz, A. (2019). *Bacillus subtilis* PTA-271 Counteracts *Botryosphaeria Dieback* in Grapevine, Triggering Immune Responses and Detoxification of Fungal Phytotoxins. *Frontiers in Plant Science*, 10.
- Trotel-Aziz, P., Robert-Siegwald, G., Fernandez, O., Leal, C., Villaume, S., Guise, J.-F. et al. (2022) Diversity of *Neofusicoccum parvum* for the production of the phytotoxic metabolites (-)-terremutin and (R)-mellein. *Journal of Fungi*, 8, 319.
- Vales, M. I., Schön, C. C., Capettini, F., Chen, X. M., Corey, A. E., Mather, D. E., Mundt, C. C., Richardson, K. L., Sandoval-Islas, J. S., Utz, H. F., & Hayes, P. M. (2005). Effect of population size on the estimation of QTL : A test using resistance to barley stripe rust. *Theoretical and Applied Genetics*, 111(7), 1260-1270.
- Vanholme, R., Demedts, B., Morreel, K., Ralph, J., & Boerjan, W. (2010). Lignin Biosynthesis and Structure. *Plant Physiology*, 153(3), 895-905.
- Velt, A., Frommer, B., Blanc, S., Holtgräwe, D., Duchêne, É., Dumas, V., Grimplet, J., Hugueney, P., Kim, C., Lahaye, M., Matus, J. T., Navarro-Payá, D., Orduña, L., Tello-Ruiz, M. K., Vitulo, N., Ware, D., & Rustenholz, C. (2023). An improved reference of the grapevine genome reasserts the origin of the PN40024 highly homozygous genotype. *G3 (Bethesda, Md.)*, 13(5).

- Venäläinen, M., Harju, A. M., Saranpää, P., Kainulainen, P., Tiitta, M., & Velling, P. (2004). The concentration of phenolics in brown-rot decay resistant and susceptible Scots pine heartwood. *Wood Science and Technology*, 38(2), 109-118.
- Vezzulli, S., Malacarne, G., Masuero, D., Vecchione, A., Dolzani, C., Goremykin, V., Mehari, Z. H., Banchi, E., Velasco, R., Stefanini, M., Vrhovsek, U., Zulini, L., Franceschi, P., & Moser, C. (2019). The Rpv3-3 Haplotype and Stilbenoid Induction Mediate Downy Mildew Resistance in a Grapevine Interspecific Population. *Frontiers in Plant Science*, 10.
- Wang, D., Chen, Y., Li, W., Li, Q., Lu, M., Zhou, G., & Chai, G. (2021). Vascular Cambium : The Source of Wood Formation. *Frontiers in Plant Science*, 12.
- Xie, M., Zhang, J., Tschaplinski, T. J., Tuskan, G. A., Chen, J.-G., & Muchero, W. (2018). Regulation of Lignin Biosynthesis and Its Role in Growth-Defense Tradeoffs. *Frontiers in Plant Science*, 9.
- Wei, Y., Mu, H., Xu, G., Wang, Y., Li, Y., Li, S., & Wang, L. (2021). Genome-Wide Analysis and Functional Characterization of the UDP-Glycosyltransferase Family in Grapes. *Horticulturae*, 7(8), 204.
- Wu Y, Duan S, Zhao L, Gao Z, Luo M, Song S, Xu W, Zhang C, Ma C, Wang S. (2016). Aroma characterization based on aromatic series analysis in table grapes. *Sci Rep*, 6:31116.
- Yu, H., Guo, G., Zhang, X., Yan, K., & Xu, C. (2009). The effect of biological pretreatment with the selective white-rot fungus *Echinodontium taxodii* on enzymatic hydrolysis of softwoods and hardwoods. *Bioresource Technology*, 100(21), 5170-5175.
- Zou, C., Massonnet, M., Minio, A., Patel, S., Llaca, V., Karn, A., Gouker, F., Cadle-Davidson, L., Reisch, B., Fennell, A., Cantu, D., Sun, Q. & Londo, J. P. (2021). Multiple independent recombinations led to hermaphroditism in grapevine. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 118(15):e2023548118.

Analyse du déterminisme de la composition du bois de la vigne en relation avec la tolérance aux maladies du bois

Résumé

Le bois de la vigne est riche en polyphénols qui pourraient impacter le développement des champignons liés aux maladies du bois (MDB). L'objectif de cette thèse est d'analyser le déterminisme génétique de la composition du bois de vigne et d'étudier son impact éventuel sur la tolérance aux MDB. Grâce à des approches de métabolomique et de génétique quantitative, nous avons identifié des régions du génome de la vigne déterminant la teneur en molécules de la famille des stilbènes. La validation fonctionnelle de gènes candidats a permis la caractérisation d'un gène contrôlant l'accumulation constitutive de stilbènes glycosylés dans le bois, ce qui constitue la première identification d'un gène lié à la synthèse des stilbènes par une approche génétique chez la vigne. Parallèlement, le développement d'une méthode de phénotypage basée sur des biomarqueurs fongiques a permis d'identifier des régions du génome de la vigne impactant le développement du champignon *Neofusicoccum parvum* associé aux MDB. Ces résultats suggèrent l'existence d'une base génétique de la tolérance à *N. parvum*, qui pourrait à terme être exploitée dans des programmes de créations variétales.

Mots-clés : vigne, composition du bois, métabolomique, génétique, maladies du bois

Summary

Grapevine wood is rich in polyphenols that could have an impact on the development of fungi linked to grapevine trunk diseases (GTD). The aim of this thesis is to analyze the genetic determinism of grapevine wood composition and study its possible impact on the tolerance to GTD. Using metabolomics and quantitative genetics approaches, we have identified regions of the grapevine genome that determine the content of stilbene family molecules in wood. Functional validation of candidate genes has led to the characterization of a gene controlling the constitutive accumulation of glycosylated stilbenes in wood, which is the first identification of a gene involved in stilbene biosynthesis in grapevine using a genetic approach. In parallel, the development of a phenotyping method based on fungal biomarkers has enabled us to identify regions of the grapevine genome impacting the development of the fungus *Neofusicoccum parvum* associated with GTD. These results suggest the existence of a genetic basis for tolerance to *N. parvum*, which could eventually be exploited in varietal breeding programs.

Keywords: grapevine, wood composition, metabolomics, genetics, trunk diseases