

# VIGNES ET VIRUS : LA RÉSISTANCE S'ORGANISE

LA LUTTE CONTRE LE COURT-NOUÉ, PRINCIPALE MALADIE VIRALE DE LA VIGNE, PASSE PAR LA CRÉATION DE PLANTS RÉSISTANTS. PLUSIEURS STRATÉGIES SONT POSSIBLES.

La vigne peut être la victime de nombreuses maladies virales (viroses). Le court-noué est celle qui engendre le plus de dégâts : elle est répandue dans le monde entier et peut affecter tous les cépages. Les feuilles des plants infectés prennent parfois une coloration jaune d'or, les entre-nœuds des rameaux sont plus courts. Les grappes sont moins nombreuses, plus petites (couleur, millerandage), ce qui peut conduire à une absence de récolte. De plus, les plants atteints sont incurables car il n'existe pas de traitement permettant d'éliminer sur pied les virus, à la différence des champignons. La lutte contre ce virus (le GFLV : *Grapevine Fanleaf Virus*) est donc, pour l'instant, uniquement préventive et insuffisante<sup>(1)</sup>. Les recherches menées actuellement par l'Institut national de la recherche agronomique (INRA), associé à d'autres laboratoires, permettent d'envisager une solution : l'obtention de plants résistant au virus.

Deux facteurs sont responsables de la propagation du virus du court-noué. D'une part, la plantation de matériel végétal déjà infecté<sup>(2)</sup> ; d'autre part, la présence dans le sol de nématodes (*Xiphinema index* ou *X. diversicaudatum*). En effet, pour se nourrir, ces vers microscopiques piquent les racines, transmettant alors le virus des plants contaminés à des plants sains.

La première source de contamination peut être actuellement prévenue par la sélection clonale. Les étapes de cette technique sont la recherche de plants sains ou le prélèvement de cellules api-



Figure 1. Le court-noué est une maladie de la vigne due à un virus. Les feuilles des plants infectés jaunissent, d'abord le long des nervures, puis entièrement. Dans une parcelle, les symptômes apparaissent sur des souches réparties en taches. Cela témoigne de la propagation du virus assurée par un ver du sol, un nématode qui se nourrit et se reproduit sur les racines de la vigne. Les plantes malades s'affaiblissent, entraînant une diminution de la production. L'intensité de la maladie peut amener le viticulteur à arracher précocement sa parcelle. Les moyens dont il dispose actuellement pour lutter contre ce virus sont insuffisants. Améliorer la résistance de la vigne à ce parasite est un des objectifs des recherches de l'INRA, associé à d'autres laboratoires. (Cliché INRA)

cales embryonnaires dans les bourgeons, puis multiplication végétative rapide par culture *in vitro* pour obtenir des plants non infectés (voir « La culture des plantes en éprouvette » dans *La Recherche* de novembre 1984). En revanche, l'élimination du nématode vecteur est difficile à obtenir. Entre l'arrachage et la plantation d'une nouvelle vigne, le viticulteur doit soit laisser la terre au repos pendant sept ans environ — ce qui représente un déficit économique difficilement supportable, soit procéder à une désinfection du sol au moyen de pesticides (des fumigants à base de dichloropropène et l'aldicarbe). Cependant, ces produits posent d'importants problèmes. Tout en étant coûteux, ils sont d'efficacité aléatoire : la recontamination est constatée plus ou moins rapidement après la désinfection. Et surtout, ils sont polluants. Ils tuent la faune auxiliaire du sol et les produits de dégradation, toujours toxiques, s'infiltrent jusqu'aux nappes phréatiques. C'est pourquoi leur usage est interdit en Allemagne et en Suisse. Il est très probable qu'ils seront interdits assez prochainement en France. Des solutions de remplacement sont donc urgentes. Un premier objectif est l'obtention d'une vigne résistante au virus grâce au transfert d'un gène nouveau dans les cellules de la plante. Les travaux de recherche sont menés à l'INRA de Colmar en coopération avec la société Moët et Chandon, productrice de champagne à Epernay, et l'Institut de biologie moléculaire des plantes (IBMP) à Strasbourg. Ces recherches sont financées par l'Agence nationale de valorisation de la recherche (ANVAR). Le gène dont dispose cette équipe code pour la coque protéique du virus. « Bien que l'on ne connaisse pas en détail les mécanismes mis en jeu, on sait qu'un tel gène, introduit dans les cellules d'une plante, trouble la reproduction du virus et donc affaiblit sa virulence », explique B. Walter, de l'INRA de Colmar. Pour atteindre cet objectif, il faut obtenir le gène intéressant, l'intégrer dans des cellules en culture, puis régénérer une plante à partir de ces cellules transformées. La méthode d'intégration du gène dans la plante a été testée avec un gène marqueur, le gène GUS, prélevé chez la bactérie *Escherichia coli*<sup>(3)</sup>. Ce gène code pour une enzyme qui, en hydrolysant un galactoside, produit un pigment bleu, colorant ainsi les cellules transformées. L'obtention d'une plante dont toutes les cellules sont bleues démontre qu'un procédé satisfaisant a été mis au point (fig. 2). Il peut donc être réutilisé pour l'introduction du gène viral. « Le laboratoire de Mme Meredith, de l'université de Davis, en Cali-

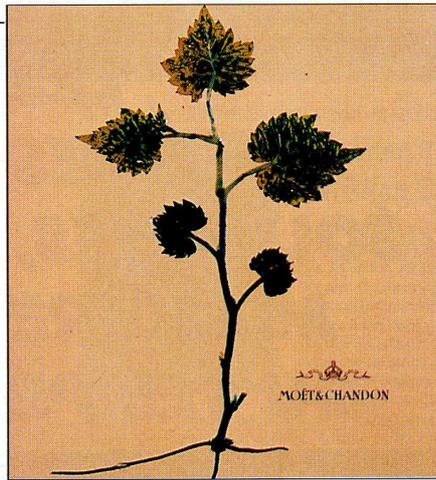


Figure 2. Pour améliorer la résistance de la vigne au virus du court-noué, plusieurs voies sont possibles. L'une d'elles consiste à insérer dans le génome de la plante un gène du virus lui-même : la plante transgénique deviendrait résistante. Pour vérifier la maîtrise des principales étapes du transfert de gène, des expériences ont été menées avec un gène marqueur, qui induit la synthèse d'un pigment bleu lorsqu'il est introduit dans les cellules de la vigne. La coloration bleue visible sur les différentes parties de ce plant de vigne permet de vérifier l'intégration de ce gène marqueur. Reste à vérifier que l'introduction d'un gène de résistance dans le génome de la vigne soit suffisant pour la protéger, sans altérer la saveur du vin... (Cliché Atelier Michel Jolyot/Moët et Chandon)

fornie, a également réussi à obtenir la transformation d'un plant de vigne par le gène GUS. Cependant, la mise au point d'un procédé fiable, reproductible, de régénération est l'originalité de nos travaux », explique A. Deloire, responsable des recherches chez Moët et Chandon. De plus, « grâce à l'IBMP, nous disposons du gène de la coque protéique, intéressant sur le plan agronomique, puisqu'il est utilisé pour l'obtention d'une vigne résistante », complète B. Walter.

La première vigne résistante au virus aura, bien sûr, une valeur économique importante. C'est pourquoi le laboratoire de Moët et Chandon se montre plus discret sur les résultats obtenus avec le gène de résistance : « Nos recherches pour l'obtention d'une vigne résistante au court-noué donnent des résultats très encourageants. Il nous faut cependant tester l'efficacité de la résistance obtenue et vérifier la stabilité du gène transféré dans l'organisme transformé, puis dans sa descendance. » Les essais en serre seront réalisés par l'INRA de Colmar et pourraient, selon A. Deloire, fournir les premiers résultats fin 1993. S'ils sont positifs, les essais en champ pourront être envisagés. Il faudra encore un délai d'au moins cinq ans pour que ces tests confirment l'efficacité du gène de résistance transféré. Cependant, pour A. Bouquet, de l'INRA de Montpellier, « il est possible que

le transfert de ce gène à une variété porte-greffe n'assure qu'une résistance partielle au virus, incompatible avec le caractère pérenne de la plante ». C'est pourquoi son laboratoire développe une stratégie complémentaire, plus proche du travail classique de sélection des généticiens. Le programme en cours privilégie l'emploi de croisements entre le genre *Vitis* (au sein duquel on trouve l'espèce productrice *Vitis vinifera*) et le genre *Muscadinia* (hybridation intergénérique). Les espèces sauvages de *Muscadinia* sont bien connues des spécialistes pour leur extrême résistance à de nombreuses maladies, comme, par exemple, l'oïdium, le phylloxéra ou le court-noué. Dans ce dernier cas, la vigne est résistante au nématode. Ce parasite se reproduit au contact des racines. Les vignes résistantes bloquent ce processus ; le nématode, et donc le virus, finissent par disparaître. Des croisements avec le genre *Vitis* ont été tentés dès le XIX<sup>e</sup> siècle, mais les hybrides obtenus étaient toujours stériles. Ces croisements restent très difficiles à réaliser aujourd'hui. Cependant, en choisissant une espèce de *Vitis* comme pied femelle et une espèce de *Muscadinia* comme pied mâle, le laboratoire d'A. Bouquet a obtenu quelques hybrides (F1) dont les ovules sont fertiles (le pollen est toujours stérile). Les hybrides qui ont acquis la résistance au nématode sont sélectionnés et utilisés pour un rétrocroisement avec des variétés porte-greffes du genre *Vitis*. La résistance de la génération R1 obtenue est actuellement testée, en collaboration avec l'INRA d'Antibes. D'autres rétrocroisements ou intercroisements seront ensuite nécessaires pour obtenir une variété culturellement intéressante qui, au mieux, n'aura conservé de *Muscadinia* que les gènes de résistance.

Pourtant, une difficulté importante apparaît. La résistance au nématode de *Muscadinia* est liée à la présence de plusieurs gènes (polygénisme). Au cours des rétrocroisements successifs, tous les gènes ne seront donc pas transmis et le caractère de résistance s'affaiblira. Seule une résistance partielle au nématode pourra être obtenue. « Notre stratégie est donc aujourd'hui de tenter de transférer un gène de résistance au virus (le gène de la coque protéique, utilisé par l'INRA de Colmar) à une variété de porte-greffe rendue résistante au nématode par les techniques d'hybridation », explique A. Bouquet. En conjuguant une résistance partielle au nématode et une résistance partielle au virus, son laboratoire espère obtenir le blocage du virus au niveau de la piqûre du nématode, évitant ainsi la contamination de la plante entière. Cependant, ce travail n'est que dans sa phase prélimi-

(1) A. Descotes, D. Moncomble, *Le vigneron champenois*, 40, 45, juillet-août 1991.  
(2) B. Collard, *La vigne*, 22, octobre 1991.  
(3) R. Berres et al., *Plant Cell Reports*, 11, 192, 1992.

naire: Selon A. Bouquet, « *il faudra bien trente ans pour obtenir un résultat commercialisable !* »

En outre, des résistances au virus du court-noué lui-même ont été identifiées chez des variétés sauvages de *Vitis vinifera* originaire d'Iran et d'Afghanistan. Par des techniques de croisement et rétrocroisement, l'INRA de Montpellier envisage le couplage de la résistance au nématode avec la résistance au virus. « *Concevoir un porte-greffe qui réunirait les trois résistances : résistance au nématode, résistance "naturelle" au virus et résistance au virus par transfert du gène de la coque protéique du virus serait évidemment le nec plus ultra ! Mais cela, c'est le rêve !* », s'exclame A. Bouquet.

Cependant, dans le cas de la vigne, les techniques d'hybridation posent un problème bien particulier : les appellations des vins de qualité sont liées à l'utilisation de variétés greffon (cépage producteur) bien déterminées. Dans ce cas, l'augmentation de la résistance d'un cépage ne peut pas être obtenue par des techniques de croisement. Elles modifient trop le génome de la plante. Face à cette contrainte, la transformation génétique présente un grand intérêt, de même que la « variation somaclonale », surtout exploitée dans le cadre de la lutte contre une autre maladie de la vigne, l'eutypiose, qui occasionne d'importants dégâts dans les vignobles des grands crus français. La variation somaclonale consiste à sélectionner parmi des cellules en culture *in vitro* celles qui sont devenues résistantes au parasite, puis à provoquer la régénération d'une plante à partir de celles-ci (voir « L'eutypiose menace la vigne » dans *La Recherche* de septembre 1990).

Des techniques de prémunition (sorte de vaccination de la plante) sont également expérimentées sur la vigne à l'INRA de Colmar. Une première infection de la plante par une souche de virus du court-noué peu virulent (naturel ou mutant) pourrait la protéger contre une surinfection par un virus hypervirulent. Seuls les tests menés en serre et au vignoble permettront de déterminer l'efficacité de cette technique.

Dans le cadre de la lutte contre les maladies de la vigne, tel le court-noué, de nombreuses stratégies visant à une amélioration de la résistance des porte-greffes ou des variétés productrices de *Vitis vinifera* sont donc à l'étude. Quelles que soient les techniques envisagées, elles doivent toutes se plier à une même contrainte : le respect de la qualité du vin produit. Car, au bout du compte, les dégustateurs et les consommateurs seront les derniers juges.