



Le court-noué de la vigne

II- Le point sur la lutte contre la maladie à la journée « Alternative » du 28 avril 2005

Daniel Esmenjaud*, Roger Voisin *, Jérôme Fritsch**, Alain Bouquet***, Olivier Lemaire*** et Marion Claverie****



Essai à l'INRA de Montpellier. Au premier plan, ceps greffés sur porte-greffe sensibles à *X. index*. Au deuxième plan, ceps greffés sur porte-greffe Mtp 3146-1-87 résistants.

Lors de la journée « Alternative à la lutte chimique contre le court-noué de la vigne », organisée à Avignon le 28 avril 2005, on n'a pas seulement fait le point des connaissances sur la maladie elle-même, objet du précédent article, on a aussi traité des moyens et perspectives de lutte. Nous évoquons ici le contenu des interventions concernant la lutte actuelle avec les perspectives à moyen terme.

En l'absence de produits utilisables contre le GFLV, virus du court-noué, on le combat en visant son vecteur *Xiphinema index*. Vu les caractéristiques biologiques et épidémiologiques de ce dernier souvent présent en faibles effectifs et pouvant survivre plusieurs années dans le sol, la lutte est difficile.

Tour d'horizon

Lutte chimique

Le principal problème étant d'atteindre le nématode, la lutte chimique utilise des nématicides très solubles dans la solution du sol et/ou à diffusion rapide sous forme gazeuse. L'approche est intéressante mais pas assez efficace en sols lourds et profonds. Comme aucune alternative n'est disponible à court terme pour répondre au retrait programmé des nématicides, et en attendant la mise au point de méthodes alternatives, on ne peut compter que sur le repos du sol précédé d'une dévitalisation de la vigne avant arrachage.

Repos de la parcelle

Connaître précisément l'aptitude de survie du nématode d'une part, et du virus dans le nématode d'autre part, permet de mieux évaluer le temps de conservation du pouvoir infectieux entre deux plantations de vignes et d'adapter la durée de repos du sol en conséquence. Les travaux cités dans l'article précédent montrent que les nématodes peuvent survivre et rester virulifères en l'absence de racines au moins quatre ans voire plus.

Dévitalisation de la vigne

En favorisant l'élimination du reliquat des repousses et racines, la dévitalisation limite la possibilité pour le nématode de se recharger en virus à partir de la vigne. La longue survie du nématode en l'absence de plante et sa capacité à retenir le GFLV durant cette survie suggèrent que cela ne suffit pas (Demangeat *et al.*, 2005), mais la dévitalisation est pourtant intéressante

(Boubals, 1988 ; Descotes et Moncomble, 1995 ; Magnien, 1998). Elle semble pouvoir être optimisée et reste la seule alternative à la lutte chimique en cas d'interdiction à terme des nématicides (Voisin *et al.*, 1997 ; Esmenjaud, 2000).

Pistes à l'étude

Des pistes alternatives et/ou complémentaires à plus long terme sont à l'étude ou envisagées.

L'efficacité de molécules d'origine biologique à action directe (libérées par la plante) ou indirecte (incorporées au sol pour libérer des principes nématicides) reste à évaluer au vignoble. Toutes devront assurer la diffusion du composé actif jusqu'au nématode.

La lutte biologique se heurte à un problème de diffusion de l'agent concerné et, vu la profondeur où sont localisés les nématodes, elle a peu de chance de succès.

Des plantes cultivables durant le repos du sol et susceptibles d'être hôtes du nématode mais pas du virus, donc de purger le premier du dernier, pourront aussi être recherchées.

La meilleure voie à moyen et long termes est vraisemblablement la sélection de vignes résistantes au vecteur et/ou au virus (Bouquet, 1983 ; Bernhard *et al.*, 1985 ; Bouquet *et al.*, 2000 ; Vigne *et al.*, 2004).

La lutte chimique

État des lieux

La désinfection des sols est une pratique très répandue en cultures spécialisées : maraîchage sous abri, horticulture et pépinières, et lors de plantations ou replantations de vergers et vignes afin de réduire les pressions de champignons telluriques et de nématodes libres du genre *Xiphinema* vecteurs de virus. Actuellement, les rares solutions chimiques exigent des conditions d'applications particulières à cause du grand volume de sol à traiter. L'aldi-

* INRA Sophia Antipolis (Antibes).

esmenjaud@antibes.inra.fr

** DGAL/SdQPV, LNPV Station de fumigation.

jerome.fritsch@agriculture.gouv.fr

*** INRA Montpellier. bouquet@ensam.inra.fr

**** INRA Colmar. lemaire@colmar.inra.fr

***** ITV France. marion.claverie@itufrance.com

Tableau 1 - Possibilités actuelles de lutte chimique. Usages en traitements de sols de vigne.

Usages autorisés en vigne	Molécule	Remarques
<i>Xiphinema index</i> , <i>X. diversicaudatum</i> , vecteurs court-noué	1.3 dichloropropène	Pré-plantation uniquement en plein 475 l/ha
	Métam sodium	Pré-plantation. Usage traitements généraux des sols 1 200 l/ha de SC. Post-plantation ou complantation à 0,12 l de SC par trou.
	Aldicarbe	Usage essentiel jusqu'au 31/12/2007 conformément à la décision de l'UE 2003/199/CEE du 18/03/03 et l'avis du 18/04/03.
Pourridié à Agaric ou à Armillaire couleur de miel (<i>Armillaria mellea</i>)	Métam sodium	Pré-plantation en plein 2 000 l/ha de SC (usage trait des sols-fongicide-pourridié). Post-plantation ou complantation à 0,2 l de SC par trou.
	Tétrathiocarbonate de sodium	Générateur de CS ₂ utilisable en pré-plantation à 1 000 l/ha de SC. Post-plantation ou complantation : de 0,1 à 0,3 l de SC par trou.

Tableau 2 - Thématiques d'expérimentations à développer en France pour la voie chimique (nématodes et champignons du sol).

Alternatives chimiques	Désignation	Principales thématiques	Application pratique (technique, économique, réglementaire)			
			Très facile	Facile	Assez facile	Difficile
Fumigant (anciennes molécules déjà autorisées à ce jour en France)	Métam sodium	Réduction de doses	X			
		Application par goutte à goutte				X
	1.3 dichloropropène	Réduction de doses		X		
	Tétrathiocarbonate de sodium	Intérêt des applications en post-plantation		X		
	Métam sodium + 1.3 dichloropropène	Application différée			X	
Fumigant (nouvelles molécules pas encore autorisées à ce jour en France)	Diméthyl disulfure (DMDS)	Confirmation du spectre biocide-essais d'efficacité. En cours de développement en Europe			X	
	Chloropicrine	Nouvelles références biologiques françaises à acquérir. En attente d'autorisation d'expérimentation.				X
	Iodure de méthyle	Références biologiques à acquérir				X

carbe, molécule diffusant dans la phase liquide dans le sol, sera interdit après le 31 décembre 2007. Par ailleurs il existe trois fumigants pour désinfecter le sol : le métam sodium, générateur de méthyl isothiocyanate ou MITC, et le tétrathiocarbonate de sodium, générateur de sulfure de carbone ou CS₂, sont nématicides et fongicides même si le second n'est autorisé sur vigne que comme fongicide ; le 1.3 dichloropropène est seulement nématicide (Tableau 1). L'intérêt des fumigants réside dans leur fort pouvoir de diffusion et de pénétration car les composés actifs sont des gaz, pouvant diffuser même à travers des débris végétaux donc toucher les cibles protégées — différence fondamentale avec les autres molécules.

Mais attention ! Soulignons-le, les fumigants ont une action fugace et n'empêchent pas les contaminations postérieures à l'application quelquefois plus sévères, ce qu'on appelle communément « l'effet boomerang ».

Les conditions d'application (préparation de sol, température et humidité) doivent être optimales : température minimale de sol de 10 °C à 15-20 cm de profondeur, humidité d'environ 60 à 70 % et capacité de rétention en eau (sol frais). Selon les régions, les périodes optimales de mise en œuvre des fumigants sont la fin d'été ou le début de printemps.

L'usage de matériel spécifique pour l'application est obligatoire pour répartir au mieux le fumigant dans l'horizon de sol que l'on veut désinfecter. Il faut aussi enlever, avant la replantation, le maximum de racines et de

fragments de souches qui sont des réservoirs potentiels d'inoculum ou de nématodes.

Perspectives avec les produits actuels et futurs

Tous les fumigants autorisés en désinfection des sols font l'objet d'expérimentations visant à améliorer les efficacités agronomiques en respectant mieux la sécurité des opérateurs et l'environnement (Tableau 2). Par exemple, de nouvelles techniques d'injection par systèmes de débits proportionnels à la vitesse d'avancement, des injections à plusieurs hauteurs au niveau des coutres (dents pénétrant dans le sol et distribuant le liquide) se développent. Des formations techniques des opérateurs, non obligatoires à ce jour, ont été effectuées dans plusieurs filières agricoles ou régions.

Parmi les nouveaux fumigants étudiés dans les pays concernés, le diméthyl disulfure (DMDS) fait l'objet de travaux sérieux (Tableau 2). Cette molécule aux propriétés biocides multiples a une très bonne efficacité nématicide. Sa faculté à diffuser dans le sol quelle que soit la technique d'application est maintenant confirmée.

Par ailleurs, le cadre réglementaire de l'application des fumigants en France doit évoluer et se traduira à terme par un système de certification de toute structure appliquant ce type de produit. Un projet de norme NF en cours d'élaboration par un groupe de travail sera le socle de ce nouveau dispositif.

Enfin, les possibilités de désinfections chimiques sont liées au processus de révision des fumigants conformément aux exigences fixées par la directive européenne 91/414.

Les porte-greffe résistants par hybridation

Pas de ruée en Californie

Depuis 35 ans, diverses études ont porté sur la résistance ou la tolérance des *Vitis* au nématode *Xiphinema index*, vecteur du GFLV. Mais chez la plupart des porte-greffe et espèces de Vitacées, la résistance à ce nématode ne suffit pas à conférer une résistance significative à la transmission de la maladie du court-noué, sauf chez *Vitis* (*Muscadina*) *rotundifolia*. Mais l'espèce n'est pas directement utilisable comme porte-greffe : ses boutures ligneuses s'enracinent très mal, elle est très sensible à la chlorose calcaire et surtout il y a incompatibilité au greffage avec *Vitis vinifera*.

En Californie, plusieurs hybrides F₁ *Vitis vinifera* x *M. rotundifolia* créés en 1948 par l'Université de Davis ont été sélectionnés et testés en sol contaminé. Deux d'entre eux (O39-16 et O43-43) semblaient intéressants : ils laissaient passer le virus dans le greffon mais avec des effets limités sur le taux de nouaison et le rendement. Cependant la résistance au phylloxéra du O43-43 a été jugée insuffisante. Quant au O39-16, proposé comme variété commerciale en 1991, il a des défauts culturels notam-

ment au niveau de l'enracinement, la durabilité de sa résistance au court-noué a été mise en doute et il n'est pratiquement pas multiplié.

En France, la saga du porte-greffe Mtp 3146-1-87

En France, après un travail de plus de 25 ans mené à l'INRA de Bordeaux puis de Montpellier, et malgré la forte stérilité des hybrides F1 *V. vinifera* x *M. rotundifolia*, la résistance à *X. index* a été introduite dans des génotypes de *Vitis* potentiellement utilisables comme porte-greffe.

Un génotype, Mtp 3146-1-87, a été obtenu en 1987 en croisant par le porte-greffe 140 Ruggeri (*V. berlandieri* x *V. rupestris*) un hybride F1 *V. vinifera* x *M. rotundifolia* résistant à *X. index* et partiellement fertile. Cette obtention a des caractéristiques morphologiques proches de son parent mâle 140 Ruggeri. Au contraire de beaucoup de plantes issues du croisement d'hybrides F1 *V. vinifera* x *M. rotundifolia*, sa croissance est vigoureuse et son développement tout à fait normal, mis à part une tendance à produire de nombreux rameaux anticipés. De plus cette obtention se multiplie très aisément *in vitro* par microbouturage sur milieu sans substance de croissance.

Les premiers tests effectués en 1991-1992 en serre à la station de nématologie INRA d'Antibes ont montré un taux de multiplication du nématode sur racines dix fois plus faible que celui observé sur le 140 Ruggeri mais nettement plus élevé que celui observé sur l'hybride F1 ayant servi de parent femelle. Toutefois de nouveaux tests en cours à Antibes (Sophia-Antipolis) depuis 2002 semblent indiquer que la résistance de l'obtention est plus proche de celle de l'hybride F1, peut-être surévaluée lors des premiers tests ; cela laisse espérer une hérédité relativement simple ouvrant des perspectives très encourageantes en matière de marquage moléculaire de la résistance et de cartographie génétique. La contrepartie sera naturellement l'obligation de tester cette résistance vis-à-vis de différentes populations de *X. index*.

La résistance au phylloxéra estimée par tests sur racines isolées est pratiquement totale, et

aujourd'hui aucune galle n'a été vue sur le feuillage des plantes installées au vignoble depuis une dizaine d'années. Cette résistance totale aux formes radicales et gallocoles du phylloxéra est caractéristique de *Vitis rotundifolia* et se transmet génétiquement de manière simple, ce qui avait déjà été démontré il y a une vingtaine d'années à l'INRA de Bordeaux.

Ici aussi, la contrepartie est l'obligation de tester la résistance vis-à-vis de différentes populations de phylloxéra, dont on sait la variabilité depuis ses ravages des années 1980 dans le vignoble californien greffé sur AXR 1, porte-greffe certes connu depuis longtemps en Europe pour sa résistance insuffisante.

Greffée avec du Cabernet-Sauvignon et plantée en 1999 dans une parcelle très infectée par le court-noué, l'obtention Mtp 3146-1-87 entraîne un retard très significatif de contamination des ceps comparativement au porte-greffe SO4 utilisé comme témoin. En effet, à mode de multiplication identique (greffebouture herbacée), le taux de contamination est de 12 % quatre ans après plantation, contre 86 % pour le SO4.

À noter : ce taux de 12 % est obtenu en conditions plus sévères que celles de la pratique, la replantation ayant suivi l'arrachage des souches malades sans aucun repos du sol. De plus le dispositif expérimental (microparcelles de 6 souches) contribue à maintenir le potentiel infectieux du sol, les nématodes se multipliant facilement sur les racines du SO4. En cas de plantation de Mtp 3146-1-87 en parcelles de grande taille, le faible taux de multiplication du nématode sur les racines du nouveau porte-greffe devrait lui conférer une capacité à réduire le pouvoir infectieux à court ou moyen terme.

Travail en cours

Les qualités culturales de cette obtention ne sont pas entièrement connues. Il faut poursuivre les essais au vignoble et sur le plus grand nombre possible de terroirs et de variétés de *V. vinifera*. Pour l'instant, elle est testée avec les cépages Cabernet-Sauvignon et Caladoc, en sol limono-argileux profond très fertile à indice de pouvoir chlorosant relativement élevé

(IPC de 40). Dans ces conditions, sa résistance à la chlorose calcaire, observée en 2001 et 2002, est notée intermédiaire entre celles du SO4 et du 140 Ru. Ceci devrait lui conférer une adaptabilité à un grand nombre de terroirs viticoles français à l'exception peut-être de certains sols très chlorosants de Cognac ou de Champagne.

Mais il reste des interrogations, notamment au niveau du taux d'enracinement des boutures ligneuses donc du taux de reprise en pépinière traditionnelle qui pourrait être inférieur à celui du 140 Ruggeri. La réponse devrait être connue d'ici deux ans. En cas de difficultés, la technique de la greffe-bouture herbacée, utilisée pour l'essai évoqué plus haut, pourrait être utilisée pour la multiplication commerciale.

Quant à la vigueur conférée et ses conséquences sur le potentiel de production et la qualité du vin, les récoltes effectuées en 2003, 2004 et 2005 indiquent qu'en conditions peu contaminantes, Mtp 3146-1-87 induit un niveau de production par souche nettement plus faible que celui induit par son géniteur 140 Ru ou par le SO4. Ceci est dû à une fertilité, un poids moyen des grappes et un poids de 100 baies plus faibles. Cette production limitée est corrélée avec une faible vigueur des sarments ; ceci pourrait poser des problèmes en sols peu fertiles.

Le rapport s'inverse en conditions de forte contamination, traduisant l'effet de la présence du GFLV dans les plantes. Les premières minivinifications effectuées en conditions peu contaminantes ne montrent pas de différences significatives de qualité des vins obtenus.

Perspectives

Bien que ces premiers résultats soient encourageants, il faut poursuivre l'expérimentation de l'obtention Mtp 3146-1-87 en vue d'une inscription au catalogue envisageable dès 2008. Un réseau multilocal d'essais est en cours d'installation dans cinq domaines expérimentaux viticoles INRA. La mise en place d'un réseau national d'expérimentation impliquant l'ENTAV, l'ITV et différentes structures professionnelles est envisagée. Ainsi, un essai a été récemment mis en place par la Chambre d'agriculture du Vaucluse.

Axe environnement Une gamme complète de modules de stockage et d'équipements:

spécialisé "Bonnes pratiques phytosanitaires"



◀ Pack Protections
la solution :
la + complète
la + pratique
la + économique

capacité
de stockage
500 à 900 kg-l



MSE : Module de
Stockage
Evolutif

- de gestion des emballages vides
- de préparation des traitements
- de protection des utilisateurs
- de remplissage sécurisé des pulvérisateurs

Proposés
par les principaux
distributeurs de produits
phytosanitaires

Tour méditerranée - 65, av. Jules Cantini - 13298 Marseille cedex 20 - Tél./fax 04 91 78 45 35 - contact@pack-protections.com

Tableau 3 - Quelques exemples de maladies virales contre lesquelles la prémunition est ou a été utilisée à l'échelle commerciale (d'après Lepoivre et al., 2003).

Virus	Origine de la souche protectrice	Plante ayant fait l'objet de prémunition
Closterovirus : virus de la tristeza des agrumes	Isolat du champ	Citrus
Potyvirus : virus de la tache annulaire de la papaye	Mutagenèse	Papaye, courge
Potyvirus : virus de la mosaïque jaune de la courgette	Isolat spontané de serre	Concombre, courge
Tobamovirus : virus de la mosaïque du tabac	Isolat du champ et mutagenèse	Tabac

Mais il est indispensable d'améliorer les qualités culturales (notamment la reprise au bouturage) et agronomiques de cette obtention, en la recroisant par des variétés porte-greffe autres que les hybrides *V. rupestris* x *V. Berlandieri* pour éviter la consanguinité.

Malheureusement, les fleurs morphologiquement hermaphrodites de cette obtention produisent un pollen stérile. Quant aux pépins, difficilement obtenus sur des inflorescences fécondées artificiellement, leur taux de germination est très faible. Néanmoins, en combinant pollinisation sous serre et culture *in vitro* de ces pépins, on a pu obtenir en 2004 quelques descendants issus d'un croisement de cette obtention avec le SO4 et le 333 EM.

Les essais de croisement se sont poursuivis en 2005 et, malgré ces difficultés, on peut raisonnablement espérer la création dans les dix ans qui viennent d'une gamme élargie de nouveaux porte-greffe résistant à la propagation de la maladie du court-noué. Cette création bénéficiera des acquis scientifiques obtenus récemment par l'INRA de Bordeaux en matière de cartographie génétique et de marquage moléculaire de caractères culturaux essentiels tels que la résistance à la chlorose calcaire et la vigueur conférée.

La prémunition ou protection croisée

De quoi s'agit-il ?

Parmi les alternatives à la lutte chimique à l'étude depuis de nombreuses années, figure la prémunition ou protection croisée (« cross protection »). Sorte de « vaccination », elle consiste à inoculer une souche hypo-virulente ou avirulente (dite prémunisante ou protectrice) de virus dans une vigne qui développera ensuite une résistance vis-à-vis des souches sévères de la même espèce virale ou d'espèces voisines. Cette souche prémunisante doit être asymptotique ou n'induire que des symptômes atténués n'affectant pas ou très peu le rendement et la qualité de la récolte. La souche doit de surcroît : infecter la plante de façon systématique, avoir une stabilité génétique pour garantir l'absence de réversion vers une forme pathogène, ne pas être aisément transmissible par vecteur afin d'empêcher la dissémination

non intentionnelle, protéger la plante vis-à-vis de l'ensemble des isolats et espèces virales du champ... et être facile à produire, conserver et inoculer !

Des exemples d'application, notamment contre la tristeza des agrumes au Brésil (Costa et al., 1980), sont cités dans le tableau 3. Cependant, après 8 ans de lutte par prémunition en Floride, environ 75 % des citrus prémunis extérieurement les symptômes de tristeza contre 85 % chez ceux non prémunis (Powell et al., 1999).

Les mécanismes mis en œuvre lorsque les séquences entre souches prémunisantes et « challenger » sont fortement homologues sont probablement les mêmes que ceux permettant à une plante de résister à une infection virale par extinction post-transcriptionnelle des gènes viraux (PTGS) ou « gene silencing », la souche prémunisante « activant » le mécanisme (Voynet, 2005 ; Galun, 2005). Ce mécanisme de dégradation spécifique des ARN viraux est également impliqué dans la résistance dérivée du virus par transgénèse. Dans le cas de protection conférée par une souche très hétérologue (> 60 % divergence), d'autres mécanismes tels que la compétition pour les sites de réplication virale pourraient intervenir (Fuchs et al., 1997 ; Lecoq H., 1998).

Chez la vigne, déjà, Dias et Harrison mettaient en évidence en 1964 une protection croisée entre souche faible et souche agressive du GFLV sur *Chenopodium amaranticolor* et montraient que ce dernier pouvait être infecté par des espèces de népovirus (tels les Tomato Black Ring, Raspberry Ringspot et Tomato Ringspot Virus). Selon Vuittenez et al. (1976), il y a des interférences entre souches de népovirus, mais seulement entre souches d'une même espèce ou d'espèces très proches comme celles du GFLV et de l'ArMV, cette dernière protégeant *C. quinoa* d'une deuxième inoculation avec une souche « challenger ». Cet auteur montre qu'un plant de vigne inoculé par le GFLV ne peut pas être infecté ensuite naturellement par l'ArMV.

Ainsi quelques expérimentations ont été menées dans diverses régions françaises ces dernières années en utilisant des souches d'ArMV ou bien de GFLV « faibles » comme souches protectrices, inoculées à des porte-greffe par greffage, assemblés ensuite avec différents cépages et évalués en terrain contaminé par le court-noué.

Risques, questions et doutes

Mais l'usage de souches virales hypo-virulentes n'est pas sans poser de questions. Il y a des risques : hétéroencapsidation entre souches prémunisantes et pathogène pouvant modifier les propriétés épidémiologiques de la maladie, recombinaisons génétiques, souche prémunisante pathogène pour d'autres variétés, effondrement de la protection face aux stress (thermique, carences, sénescence...) ou encore synergie avec d'autres virus capables d'inhiber la protection croisée avec leur suppresseur de gene silencing (Lepoivre, 2003).

Les résultats des expérimentations réalisées au vignoble pour tenter de lutter contre la maladie du court-noué n'ont pas encore été synthétisés, mais il semble que cette approche ne soit pas vraiment satisfaisante, conduisant à un retard de quelques années dans l'évolution de la maladie. De plus, les applications envisageables en termes d'agrément de plants virósés ne sont pas sans poser problème ainsi qu'au niveau des schémas de certification.

La transgénèse sur porte-greffe ou protection dérivée du GFLV

De quoi s'agit-il ?

La transgénèse consiste à transférer des gènes dérivés du virus (capside virale du GFLV) dans le génome des cellules de porte-greffe afin de régénérer un porte-greffe susceptible de résister au GFLV.

La recherche de gènes majeurs de résistance de type dominant chez la vigne, en inoculant le GFLV par greffage homologue, n'a donné aucun résultat sur une collection importante de *Vitis* spp hétérozygotes évalués il y a une dizaine d'années (Lahogue et al., 1996).

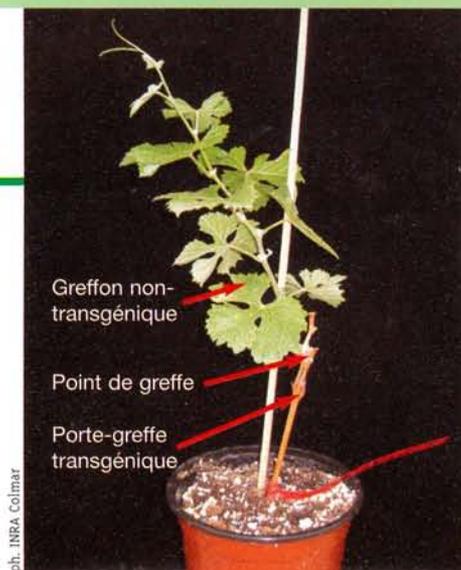
À l'inverse, les résultats de l'équipe de virologie de Colmar accumulés plus récemment montrent que la résistance induite par transgénèse est très prometteuse. Elle constitue donc un axe prioritaire à développer pour l'élaboration de porte-greffe résistants au court-noué, en tant qu'alternative efficace à la lutte chimique.

L'équipe de virologie de l'INRA de Colmar a en effet montré que trois lignées de vignes transgéniques (porte-greffe 41B) exprimant le gène codant pour la CP (coat protein = protéine capsid) entière et traductible du GFLV, ne multiplient pas le virus après 3 ans d'essai en conditions naturelles d'infection au vignoble (Vigne et al., 2004). Cet essai mené en Champagne entre 1996 et 1999 a permis d'évaluer l'impact environnemental du transgène sur les possibilités d'évolution et de recombinaison des populations sauvages de virus.

Étude de l'impact environnemental des porte-greffe transgéniques au vignoble

Les possibilités de recombinaisons intra-spécifiques entre le transgène « capsid » et

Assemblage du PG (41B) transgénique avec un greffon non transgénique PM 317. La transgénése est étudiée à l'INRA de Colmar notamment.



ph. INRA Colmar

une population naturelle de GFLV ont ainsi été étudiées, ainsi que les propriétés biologiques des recombinants (deux publications de Vigne *et al.*, 2004). L'étude a montré que l'expression du gène CP dans des vignes transgéniques n'a pas fait apparaître de recombinants viables et détectables entre transgène et génome viral, ceci sur une durée de trois ans au vignoble.

Au cours de cette étude, les auteurs ont détecté 5 recombinants naturels dans des vignes non transgéniques hors du périmètre expérimental lors d'infections multiples de variants de GFLV. La diversité virale observée sur une parcelle est aussi forte que celle décrite à l'échelle mondiale par l'épidémiologie moléculaire des variants de GFLV. L'un des recombinants naturels identifié a des propriétés biologiques identiques à celles de GFLV non recombinant, notamment en terme de symptômes, gamme d'hôtes herbacés et transmission par *X. index*.

Des études similaires sur les possibilités de recombinaisons inter-spécifiques sont en cours entre GFLV et ArMV.

Plantation en septembre 2005

Parmi toutes les origines transgéniques du porte-greffe 41B, cinq lignées correspondant à la CP entière traductible du GFLV ont été sélectionnées et assemblées avec du Pinot-Meunier 817 non transgénique en mai 2004. Ces plants ont été confectionnés pour évaluer leur niveau de résistance hors confinement, en vignoble infesté par le court-noué. Cet essai va permettre de savoir si la sélection développée en confinement (serre) est transposable aux conditions de plein champ, ou bien si la résistance dérivée du virus est perturbée par les conditions environnementales.

Ce projet d'essai fait suite à une incitation de la Direction Générale de l'INRA pour la co-construction d'un programme de recherche sur les porte-greffe de vignes transgéniques

potentiellement résistants au GFLV et pour un avis sur le bien-fondé d'une telle stratégie. La démarche a conclu, fin 2002, à l'intérêt scientifique de la reprise d'essais hors confinement. Sur cette base, la Direction générale a sollicité l'autorisation de poursuivre l'expérimentation de porte-greffe de vignes transgéniques en plein champ, tout en respectant les valeurs et les principes fondamentaux du contexte économique et social, sans oublier l'image et la symbolique de la vigne. Il a été ainsi décidé d'élaborer le dispositif expérimental en concertation avec un Comité local de suivi de l'expérimentation. Ce Comité comporte une quinzaine de personnes : 2 représentants de la filière viti-vinicole, 2 viticulteurs, 2 représentants de syndicats d'agriculteurs/viticulteurs, 2 représentants d'associations de protection de l'environnement et des consommateurs, 2 représentants de l'administration de la Région Alsace, 1 élu local, 1 chercheur, 2 riverains et le Président du Centre INRA de Colmar, M. Jean Masson.

Le dossier (CGB n° B/FR/04.05.01) a reçu un avis favorable de la Commission de génie biomoléculaire (CGB) le 7 mai 2004. L'autorisation de plantation du ministère de l'Agriculture a été reçue le 8 juillet 2005 et la plantation a été réalisée début septembre sur le site INRA de Colmar selon un cahier de charges très précis

issu de la co-construction du dispositif expérimental avec le Comité local de suivi. (Site http://w3.inra.fr/toute_l_actu/porte_greffe_de_vigne_modifie).

Cette expérimentation en milieu non confiné vise à valider les résultats précédemment obtenus. On vérifiera si la résistance conférée par le porte-greffe transgénique s'exprime efficacement au niveau du greffon non transgénique en conditions naturelles similaires à celles du vignoble, le protégeant ainsi du GFLV. Les objectifs principaux sont :

- Confirmer nos données préliminaires sur le niveau de protection des 5 lignées de porte-greffe transgénique vis-à-vis de l'infection naturelle du GFLV *via* les nématodes vecteurs et en analyser le mécanisme très probablement de type « gene silencing », en conditions extérieures.
- Évaluer l'impact que pourraient avoir ces porte-greffe transgéniques sur la dynamique et la variabilité génétique des populations naturelles de GFLV transmises par les nématodes virulifères.
- Suivre la mobilité horizontale des nématodes vecteurs du GFLV hors du foyer expérimental de court-noué.
- Analyser le transfert éventuel des produits du transgène (protéines, mRNAs, siRNAs) du porte-greffe transgénique vers le greffon non transgénique.

Bibliographie

• Cet article cite des éléments des communications de la journée « Alternative à la lutte chimique

contre le court-noué de

la vigne » organisée par l'Institut Rhodanien, l'INRA, l'ENTAV et l'ITV France, à Avignon le 28 avril 2005. Les communications intégrales, avec leurs riches bibliographies, sont disponibles auprès des auteurs et/ou de l'ITV (adresses e-mail en première page de l'article).

Station sécurisée de remplissage d'un pulvérisateur

NOUVEAU chez AXE ENVIRONNEMENT

Pour éviter les conséquences de fuite et de renversement de bidon

Pour éviter les retours de bouillie dans le réseau

Pour éviter les débordements et limiter les fonds de cuve.

Pour stocker les effluents phytosanitaires avant leur traitement

compteur volumétrique à arrêt automatique

colonne fixe

capot de protection

alimentation rince bidon

bassin de rétention souple et déplaçable

potence rotation 360°

une citerne souple de stockage intermédiaire ou clapet antiretour

une citerne souple

Axe environnement
spécialisé "Bonnes pratiques phytosanitaires"

Tour Méditerranée - 65, av. Jules Cantini
13298 Marseille cedex 20
Tél./fax 04 91 78 45 35
contact@pack-protections.com

Tableau 4 - Récapitulatif des méthodes de lutte contre le court-noué utilisées et à l'étude.

Méthodes de lutte		Références connues	Essais existants	Bilan
Repos du sol		Traditionnellement 7-10 ans nécessaires, références bibliographiques anciennes.	Étude de rétention du pouvoir infectieux par les nématodes dans des essais INRA/CIVC et ENITAB/INRA (Bordelais)	Repos seul peu efficace sur de faibles durées (inférieures ou égales à 4 ans). Choix économique.
Lutte chimique	Molécules homologuées	Oui.		Aldicarbe disparaît fin 2007. 1,3 D en cours de révision, décision repoussée à mi-2006.
	Amélioration des conditions d'application	Maraîchage.	Nombreux en maraîchage (LNPNV, CTIFL). Aucun en vigne.	Évolution actuelle de la réglementation (vers une certification des applicateurs).
	Nouvelles molécules	Quelques molécules (DMDS) à l'étude dans d'autres filières	Aucun en vigne.	À évaluer.
Avenir de la dévitalisation ?				
Lutte culturale et biologique	Plantes nématicides, bio-désinfection	Aucune en viticulture contre <i>X. index</i> à la connaissance du groupe.	Quelques projets démarrent : Bordelais (ENITAB/INRA), Bourgogne (INRA Dijon), Sud-Est (GRAB Avignon), Espagne (CSIC Madrid), Chili (Université de Santiago)	
	Antagonistes		-	
Prémunition		Caractérisation d'isolats GFLV et ArMV hypovirusulents sur vigne et sur hôtes herbacés	Quelques essais en cours en Alsace, Champagne, Bourgogne, Vallée du Rhône et Roussillon. Bilan à réaliser.	Retard de la contamination des pieds prémunis de quelques années. Difficile de concevoir une commercialisation de plants virosés.
Porte-greffe résistants par hybridation classique		Travaux de recherche effectués en France et en Californie depuis les années 1980 (nombreuses publications).	2 essais attestant d'un retard de contamination en sol contaminé avec un porte-greffe « résistant ». Mise en place d'un réseau de sites d'essais INRA pour son évaluation culturelle et qualitative.	Voie assez avancée. Perspectives vers l'obtention d'une gamme diversifiée de porte-greffe « résistants » (réseau INRA « Nouveaux porte-greffe de vigne »). Apports possibles des travaux de cartographie du génome de la vigne.
Porte-greffe résistants par transgénèse		Références en serre. Aucune référence solide en plein champ	Plantation d'un essai de porte-greffe transgénétique en Alsace pour 4 ans en plein champ (septembre 2005).	Alternative scientifiquement prometteuse. Perception sociétale difficile. Faible implication de la filière à ce jour.

• À terme, afficher la qualité d'expertise de l'équipe de virologie de Colmar pour l'évaluation de vignes exprimant une résistance dérivée du pathogène.

La présence du GFLV sera détectée en suivant le développement de symptômes typiques de la maladie du court-noué (mosaïque foliaire, chlorose foliaire, rabougrissement, etc.) et par analyses sérologiques de type ELISA ou moléculaires de type RT-PCR sur les feuilles du greffon.

À notre avis, la transgénèse constitue un réel espoir d'alternative à la lutte chimique à étudier en complément de la recherche de résistances naturelles au vecteur *X. index* parmi les ressources génétiques de vignes disponibles.

Conclusion

En parcourant le tableau 4, on voit comment lutter aujourd'hui contre le court-noué et quels sont les espoirs pour l'avenir : à côté des travaux sur les nouvelles molécules nématicides chimiques et/ou biologiques, il semble que des solutions génétiques alliant une résistance au virus (dérivée du pathogène) et une résistance au nématode pourraient apporter une alternative durable à la lutte chimique.

Mais, d'ici là, les solutions futures seront-elles opérationnelles avant que les actuels nématicides n'aient disparu ? Ou bien les viticulteurs devront-ils gérer une impasse technique ?

Résumé

Lors de la journée « Alternative à la lutte chimique contre le court-noué de la vigne » organisée par l'Institut Rhodanien, l'INRA, l'ENTAV et ITV France à Avignon le 28 avril 2005, plusieurs interventions traitaient de méthodes de lutte contre la maladie.

À propos de repos du sol, des travaux récents (v. article précédent) montrent que 4 ans ne suffisent pas même en l'absence de racines vivantes ; l'élimination des racines améliorée par la dévitaliation des souches avant arrachage reste toutefois indispensable.

La lutte chimique contre le vecteur a été évoquée : molécules autorisées en France et perspectives de meilleures applications de ces produits, nouvelles substances notamment d'origine biologique (biopesticides), etc.

La sélection par hybridation classique de porte-greffe résistants à *X. index*, travail long et ardu, donne des résultats encourageants alors que la prémunition, ou protection croisée, semble décevante. La sélection par transgénèse de porte-greffe résistants au virus, semble très prometteuse techniquement ; un essai plein champ a été implanté en septembre 2005.

Mots-clés : vigne, porte-greffe, court-noué, népovirus, GFLV Grapevine Fanleaf Virus, ArMV Arabis Mosaic Virus, vecteur, nématode *Xiphinema index*, lutte, nématicides, repos du sol, dévitalisation, biopesticides, lutte biologique, résistance, hybridation, transgénèse, prémunition.

Summary

GRAPEVINE FANLEAF DEGENERATION: CURRENT KNOWLEDGE OF CONTROL OF THE DISEASE

During the conference "Alternatives to chemical control of grapevine degeneration" in Avignon (France) on 28 April 2005, efforts to control this disease were the subject of a number of presentations. Control of the vector of the disease was a key issue of concern: details were provided of the molecules authorised in France and a number of perspectives for the future (improved applications of these products, new biopesticide substances, etc.). The effect of clearing the soil is significantly improved when rootstock is devitalised prior to being pulled up.

Selection of rootstock resistant to *Xiphinema index* using traditional hybridization techniques, has produced highly encouraging results. Cross protection would appear to be quite disappointing. Transgenic selection of rootstock shows strong technical promise; a full-scale field trial was launched in September 2005.