

Les innovations du matériel végétal au service de l'environnement



Création de variétés de vigne à résistance durable au mildiou et à l'oïdium pour la production de vins de qualité

Christophe Schneider et coll. - INRA UMR Santé de la Vigne et Qualité du Vin - Colmar

Mildiou (*Plasmopara viticola*) et oïdium (*Uncinula necator*) constituent deux parasites redoutables pour la vigne européenne (*Vitis vinifera*), capables d'attaquer toutes les parties «vertes» voire les baies en cours de maturation pour le second. Originaires d'Amérique du Nord, ces maladies de type fongiques furent introduites en Europe au cours de la deuxième moitié du 19^e siècle et ont failli y anéantir les vignobles, en raison de la sensibilité généralisée de l'espèce *V. vinifera*. Au cours du 20^e siècle, l'introggression de caractères de résistance dans *V. vinifera* à partir de la source de résistance constituée par des *Vitis* américaines a été activement poursuivie. Mais la nature polygénique des caractères n'a pas permis d'atteindre le progrès génétique escompté, en particulier pour la qualité du raisin et du vin. Récemment, des avancées scientifiques majeures ont cependant redonné tout son intérêt à la voie génétique : il s'agit notamment de la caractérisation de nouvelles sources de

résistance (muscadines, *Vitis* asiatiques), de la cartographie de plusieurs QTLs de résistance, de la démonstration de l'efficacité de croisements en retour pour restaurer la qualité sans perdre en niveau de résistance. Fortement impliqué dans ces recherches de base, l'INRA a décidé d'engager un programme de création de variétés de cuve, dont les objectifs majeurs sont la durabilité de la résistance, l'adaptation aux contraintes climatiques françaises et l'adéquation avec les exigences de qualité de la filière vinicole. Nous en présentons la méthodologie et les premiers résultats.

Les géniteurs disponibles et les croisements réa-lisés

Toutes les sources de résistance étant interfertiles avec la vigne cultivée, l'hybridation classique est utilisée pour y introgresser des caractères de résistance.

L'objectif de durabilité nous a d'emblée conduit à associer

les 3 sources de résistance connues, afin d'obtenir des variétés dont la résistance est peu susceptible d'être contournée par les parasites, et suffisamment élevée pour permettre une culture sans traitement anti-fongique. L'éloignement géographique des sources de résistance, ainsi que la position des QTL de résistance mis en évidence à ce jour sur des groupes de liaisons différents, confortent cette démarche «a priori». Cette démarche s'appuie donc sur une diversité des résistances qui devra toutefois être validée par les recherches en cours sur les mécanismes de défense induits et les interactions moléculaires durant l'infection. L'objectif de qualité nous a poussé à utiliser des géniteurs déjà largement introgressés pour chacune des sources de résistance (cf. Tableau 1), au risque de perdre une partie des gènes de résistance initialement présents dans les espèces sauvages. Cette orientation pourra être revue, éventuellement par le recours à des géniteurs moins introgressés, en fonction des

Géniteurs	Origine	Type (*)	Organisme
3082-1-42	M. rotundifolia	BC4 ou BC5	INRA (A. Bouquet)
Regent (1995)	Vitis américaines	pseudo BC1	BZF Geilweilerhof (D)
Gm 6493	Vitis asiatiques	BC2	FA Geisenheim (D)
Bronner (1997)	V. américaines et asiatique	-	WI Freiburg (D)
Solaris (2002)	V. américaines et asiatique	-	WI Freiburg (D)

(*) BCn indique le nombre de croisements en retour avec *Vitis vinifera*

Tableau 1 : géniteurs de résistance au mildiou et à l'oïdium utilisés (2000-2006). En cas d'inscription sur un catalogue national, l'année est indiquée entre parenthèses

Population	Année	Type	Plantules obtenues	Plantules retenues
50001	2000	M. rot x V. amér	~ 200	70
41525	2002	M. rot x V. asiat	225	60
50007-10	2004	M. rot x V. amér et asiat	85	30
50011-16	2005	M. rot x V. amér et asiat	550	200

Tableau 2 : Croisements réalisés

résultats des analyses génétiques en cours.

Concernant l'adaptation aux conditions climatiques, nous avons considéré que les grands écarts de précocité existant entre les géniteurs disponibles assureraient une diversité suffisante dans les descendances pour répondre aux besoins de la viticulture française.

Suite aux premiers croisements, le tri des plantules obtenues a reposé sur la résistance au mildiou et à l'oïdium. Il apparaît en pratique que un quart à un tiers des génotypes obtenus présentent un degré de résistance élevé à ce stade (cf. Tableau 2).

Le schéma de sélection et le dispositif

Classiquement, les schémas de sélection utilisés en amélioration de la vigne sont longs (> 20 ans) et s'appuient sur un tri précoce des plants de semis élevés en serre, suivi de 3 étapes d'évaluation au vignoble. Afin de raccourcir ce délai, nous avons aménagé la sélection précoce et regroupé

les deux premières étapes au vignoble, tout en augmentant la puissance du dispositif (voir Fig. 1).

En serre, la sélection est orientée vers la résistance au mildiou et à l'oïdium, qui repose pour l'instant sur l'utilisation des marqueurs disponibles (*Rpv1*, *Run1*) et un phénotypage complémentaire basé sur des biotests. Seuls les génotypes possédant les marqueurs de résistance et présentant une résistance élevée sont conservés.

Au cours d'une deuxième année, dévolue à la production d'un nombre de greffons suffisant pour la confection de plants greffés-soudés, les plants sont mis à fleurs et les individus non hermaphrodites sont éliminés.

Dans notre nouveau schéma, l'expérimentation en stade 1 utilise un dispositif à 4 individus par génotype testé, installés en 4 lieux, ce qui rend possible l'évaluation, dès ce stade, des aptitudes culturales et de la qualité du vin sur la base de microvinifications. La variabilité spatiale ainsi introduite

permet en outre d'observer le comportement des génotypes dans des conditions de pression et de population parasites variées, pour les pathogènes majeurs ou secondaires.

Cette variabilité permet également d'accéder à un gradient thermique, indispensable à la détermination du groupe de précocité des génotypes. Bien que le stade 2 soit supprimé, le nombre d'occurrences finalement disponibles, 4 années de mesures x 4 lieux, est néanmoins supérieur à celui de l'ancien schéma qui générait 5 années de mesure x 1 lieu en deux étapes successives.

Le schéma s'achève avec le stade 3, qui reprend les épreuves classiques pour la constitution du dossier d'inscription.

Premiers résultats

En 2006, les 550 individus des populations 50011-16 ont été génotypés avec les marqueurs associés aux gènes *Rpv1* (résistance au mildiou) et *Run1* (résistance à l'oïdium).

Année 0	Croisement, récolte des pépins
Année 1	Elevage plants de semis en serre sam (marqueurs <i>Rpv1</i> , <i>Run1</i> +...) phénotypage mildiou, oïdium
Année 2	Phénotypage sexe production greffons
Année 3	Confection plants greffés-soudés
Année 4-10	Evaluation Stade 1 en réseau (Colmar, Angers, Bordeaux, Montpellier)
Année 11-16	Expérimentation Stade 3 (VAT et DHS) en réseau OPA présentation à l'inscription au catalogue

Figure 1 : Schéma de sélection appliqué

		Phénotype				Total
		OIV 1	OIV 3	OIV 5	OIV 7-9	Total
Génotypes	Avec marqueurs de R	3	22	33	90	148
		25 (17%)		123 (83%)		
	Sans marqueurs de R	45	56	29	17	147
		101 (69%)		46 (31%)		

**Tableau 3 : Comparaison entre génotypage, avec marqueurs des gènes *Rpv1* et *Run1* issus de *M. rotundifolia*, et phénotypage mildiou avec un biotest sur plantules au stade 5-6 feuilles
Echelle OIV, 1 = très sensible ; 9 = très résistant**

Environ 300 d'entre eux ont également subi un biotest de résistance au mildiou, qui a permis d'estimer la fiabilité et l'apport du marquage pour la sélection (cf. Tableau 3). Il apparaît que les individus porteurs des marqueurs sont en très grande majorité effectivement au moins aussi résistants que le parent issu de *M. rotundifolia*.

Les quelques individus notés 1 ou 3 pourraient correspondre à des recombinants. Les 46 individus notés résistants parmi ceux qui ne portent pas les marqueurs sont supposés porter les seuls facteurs de résistance du parent issu de *Vitis* américaines et asiatiques. A ce jour, la sélection assistée par marqueurs (sam) permet donc de diviser par deux l'effectif à phénotyper par biotest.

Ce dernier permet de repérer les individus très résistants ayant de bonnes chances de cumuler les

caractères d'origine différente. Les premiers génotypes créés dans le cadre de ce programme (pop 50001) ont été installés dans le réseau stade 1 en 2004. La vigne nécessitant 3 années pour la formation des souches et la mise à fruit au vignoble, nous avons pu effectuer les premières observations en 2006 (Figure 2). Pour cette première population, nous avons décidé d'installer, outre les témoins *vinifera* (chardonnay et merlot), quelques génotypes sensibles. Cela nous permet de comparer l'évaluation phénotypique sur la totalité de la gamme de sensibilité-résistance. La Figure 3 donne par exemple la relation entre les implantations de Colmar et Bordeaux pour la résistance au mildiou. Il apparaît une bonne cohérence dans l'ensemble, mais pour quelques génotypes il y a plus d'une classe de différence entre les deux lieux. Cela peut indiquer une interaction particulière, liée à la nature des

souches de mildiou présentes et/ou aux facteurs de résistance.

Perspectives

Les études génétiques en cours à l'INRA et dans les instituts étrangers devraient permettre d'identifier de nouveaux gènes ou QTL de résistance. Notre équipe de Colmar a ainsi pu identifier un deuxième gène de résistance au mildiou chez *M. rotundifolia*, appelé *Rpv2*.

Des équipes allemandes ont caractérisé un QTL majeur pour la résistance au mildiou et à l'oïdium respectivement, chez la variété regent représentant la source des *Vitis* américaines. Des résultats sont également attendus pour la source des *Vitis* asiatiques.

Des marqueurs associés devraient donc être rapidement disponibles, ce qui nous permettra

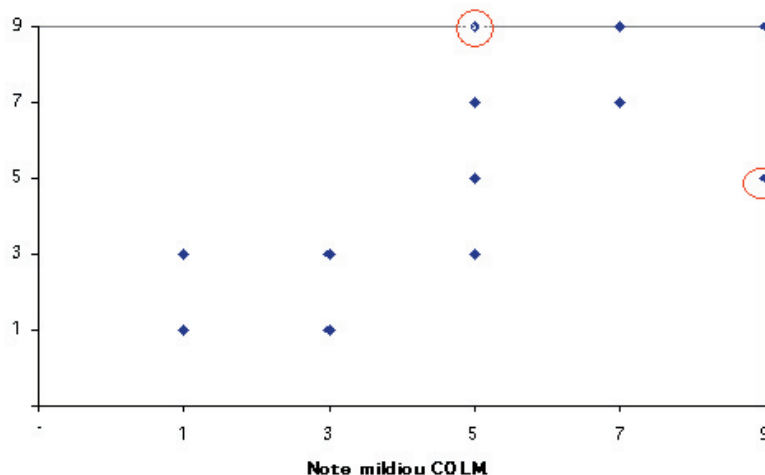


Figure 2 : Relation entre la résistance au mildiou observée à Colmar et à Bordeaux (réseau stade 1), pour 50 individus de la population 50001 (Note OIV, 1 = très sensible, 9 = très résistant)

de donner une part de plus en plus importante à la sélection précoce (pyramidage des gènes de résistance) et d'augmenter les effectifs traités.

La construction de géniteurs assistée par marqueur pourra alors également être entreprise.

Un premier bilan pourra être dressé en 2010, date à laquelle les premières expérimentations de valeur agronomique et technologique destinées à l'inscription (VAT) devraient démarrer en collaboration avec les organisations professionnelles agricoles. Les premières ins-

criptions au catalogue sont attendues pour 2016.