

Recherche de gènes de résistance naturelle à deux viroses de la vigne: le court-noué et l'enroulement

par

FLORENCE LAHOGUE et G. BOULARD

INRA, Laboratoire de Viticulture, Colmar, France

Résumé : Un grand nombre de vignes (734) représentant les différentes classes de la famille des Vitacées (*Vitis* américains et asiatiques, *Vitis vinifera*, hybrides interspécifiques) a été testé vis-à-vis de leur résistance naturelle aux virus du court-noué (GFLV et ArMV) et de l'enroulement (GLRaV-1 et 3). L'accent a été mis sur les *V. vinifera* d'origine moyen-orientale du fait de la possible coévolution de la vigne et du GFLV dans ces pays. La méthode d'inoculation utilisée a été la greffe-bouture herbacée. Mais il s'est avéré que par cette technique, il était difficile de reproduire à l'identique les conditions de l'inoculation. En effet, toutes les variétés n'ont pas la même aptitude au greffage et l'état physiologique des plantes joue également un rôle important sur ce facteur. Ainsi, nous avons considéré qu'une variété était sensible si le virus avait été détecté dans au moins une de ses greffes. Ce qui a été le cas de toutes les variétés pour lesquelles le greffage avec un inoculum GFLV ou GLRaV a réussi. L'inoculation de l'ArMV est apparue plus difficile à obtenir, sans doute du fait que la vigne n'est pas un hôte principal de ce virus.

Il semble qu'en fait cette méthode d'inoculation ne soit pas adaptée au but recherché. La pression d'inoculation est d'une part trop forte. D'autre part, le virus étant directement mis en contact avec les vaisseaux, la technique ne permet pas de repérer les résistances qui pourraient intervenir aux premiers stades d'une infection naturelle.

Investigations on natural resistance genes for two grapevine viruses: The fanleaf degeneration and the leafroll disease

S u m m a r y : A great number of grapevine varieties (734) belonging to the different classes of the Vitaceae family (American and Asian *Vitis*, *Vitis vinifera*, interspecific hybrids) was screened to identify sources of resistance to fanleaf degeneration (GFLV and ArMV) and to leafroll disease (GLRaV-1 and 3). Special attention was paid to Middle Eastern *Vitis vinifera* sources due to the possibility that GFLV and *V. vinifera* evolved together in the Middle East. Inoculation was by green grafting. As the inoculation conditions were difficult to control, we considered a variety to be susceptible if the virus was found in at least one graft. That was true for all varieties for which the graft with a GFLV or GLRaV inoculum had been successful. It appeared to be more difficult to inoculate ArMV, possibly because the grapevine is not the principal host of this virus.

In fact, it seems that this inoculation technique is not suitable for this type of investigation. On the one hand, the inoculation pressure is too strong. On the other hand, as the virus is in direct contact with the vessels, the technique does not allow to identify resistances that might occur in the first stage of a natural infection.

Key words : *Vitis*, GFLV, ArMV, GLRaV, resistance, green grafting.

Introduction

Les maladies du court-noué et de l'enroulement sont les viroses de la vigne les plus répandues et les plus importantes économiquement. La maladie du court-noué est causée principalement par le grapevine fanleaf nepovirus (GFLV), bien que dans certaines zones de l'Europe centrale (France, Allemagne) elle a comme deuxième agent l'arabis mosaic nepovirus (ArMV). Ces virus sont transmis respectivement par les nématodes du sol *Xiphinema index* et *Xiphinema diversicaudatum*. Dans le cas de la maladie de l'enroulement, cinq closterovirus sérologiquement distincts, appelés grapevine leafroll associated closterovirus (GLRaV) 1, 2, 3, 4, et 5 ont été décrits (HU *et al.* 1990; ZIMMERMANN *et al.* 1990). Les types 1 et 3 sont les plus répandus. Les résultats de travaux récents indiquent que ces closterovirus seraient transmis par des cochenilles pseudococcides (ROSCIGLIONE et GUGERLI 1986; TANNE *et al.* 1989; ENGELBRECHT et KASDORF 1990; IOANNOU 1993).

Le traitement par thérapie (BASS et LEGIN 1981) permet de guérir une plante infectée et la sélection sanitaire d'éviter de propager du matériel virosé. Mais ces procédures n'empêchent pas une recontamination au vignoble. Dans le cas du court-noué, afin d'éliminer les nématodes vecteurs, un repos du sol d'une dizaine d'années ou plus est préconisé avant de replanter. Toutefois, les impératifs sociaux, économiques et législatifs ne permettent pas toujours un assolement de longue durée (DALMASSO et VUITTENEZ 1978). Ainsi, le moyen de lutte utilisé jusqu'à présent consiste à désinfecter les sols à l'aide de nématicides fumigants ou de produits de contact. Mais cette désinfection n'est pas efficace sur tous les terrains (RASKI *et al.* 1983), et les produits utilisés sont dangereux pour l'environnement et déjà interdits dans certains pays (Suisse, Allemagne, certains états des Etats-Unis).

Il est donc nécessaire de rechercher d'autres méthodes de lutte, qui soient plus sûres et plus durables. L'obtention de variétés résistantes serait une solution possible.

Dans le cas du GFLV, l'espèce *Muscadinia rotundifolia* présentant une résistance naturelle à la transmission de ce virus par *X. index* (BOUQUET 1981; LIDER et GOHEEN 1985; STAUDT et WEISCHER 1992), des programmes de création de porte-greffes exprimant cette résistance ont été engagés (BOUQUET et DANGLLOT 1983; WALKER *et al.* 1994). Toutefois, cette résistance n'est pas suffisante pour empêcher la propagation du virus puisqu'après quelques années de plantation, ces plantes s'avèrent être infectées par le GFLV (WALKER et WOLPERT 1994). Il serait probablement plus efficace de combiner au sein d'une même variété la résistance à la transmission par *X. index* avec une résistance au virus lui-même.

Dans le but d'identifier des sources de résistance au GFLV, WALKER *et al.* (1985) ont criblé un grand nombre d'espèces du genre *Vitis*. Leur étude a fait ressortir deux variétés de *V. vinifera* d'origine moyen-orientale comme étant résistantes. L'étude des descendances obtenues après leur autofécondation et leur croisement avec des génotypes sensibles indique que cette résistance serait contrôlée par deux gènes récessifs non liés avec un effet d'épistasie dominante-dominante (WALKER et MEREDITH 1990). Mais ces premiers résultats doivent encore être confirmés.

Le travail présenté ici a consisté à rechercher au sein de la famille des Vitacées des vignes naturellement résistantes soit au GFLV, soit à l'ArMV, soit aux GLRaV-1 et 3, l'accent ayant été mis sur les *V. vinifera* d'origine moyen-orientale, du fait de la possible coévolution de la vigne et des virus dans ces pays (HEWITT 1976; OLMO 1976).

Ainsi, après avoir regroupé un grand nombre de variétés d'origine diverse, ces dernières ont été inoculées de manière à tester si elles permettent ou non la multiplication du virus. L'inoculation mécanique de la vigne semblant difficile à obtenir (BRÜCKBAUER et RÜDEL 1961), la technique employée a été le greffage, et plus exactement la greffe-bouture herbacée qui a l'avantage de pouvoir être utilisée tout au long de l'année, qui ne nécessite pas de disposer d'une grande surface et qui est facile d'utilisation. Elle permet en outre une bonne inoculation (LAHOGUE *et al.* 1995).

Matériel et méthodes

I n o c u l u m : Dans le cas du GFLV, l'inoculum principal a été *V. vinifera* var. Savagnin rose infecté par la souche F13. Pour l'ArMV, nous avons utilisé dans un premier temps le porte-greffe Kober 5BB, puis dans un second temps *V. vinifera* var. Chardonnay, tous les deux porteurs de la souche Syrah. Obtenu par hétérogreffage *in vitro* (BASS et VUITTENEZ 1979), ce matériel nous a été fourni par le Laboratoire de Pathologie Végétale, INRA Colmar, sous forme de boutures ligneuses. Après repiquage dans des pots de 7,5l contenant un mélange sable/perlite (60/40) et forçage à 28 °C pendant 1 mois, ces boutures ont été élevées en serre à 24 °C tout au long de l'année.

En ce qui concerne les GLRaV, l'inoculum a été *V. vinifera* var. Merlot noir infecté simultanément par les

Tableau 1
Nombre d'origines regroupées pour la recherche de résistance
Number of accessions tested for resistance

Espèce	Nombre d'origines testées	Espèce	Nombre d'origines testées
Vignes Américaines	49	Vignes Asiatiques	18
<i>V. riparia</i>	10	<i>V. Colnetiae</i>	4
<i>V. Berlandieri</i>	7	<i>V. Davidii</i>	4
<i>V. rupestris</i>	4	<i>V. amurensis</i>	2
<i>V. Labrusca</i>	3	<i>V. Piasezkii</i>	2
<i>V. Longii ou solonis</i>	3	<i>V. Thunbergii</i>	2
<i>V. arizonica</i>	2	<i>V. betulifolia</i>	1
<i>V. californica</i>	2	<i>V. Ishikari</i>	1
<i>V. candicans</i>	2	<i>V. Pagnucii</i>	1
<i>V. cordifolia</i>	2	<i>V. pentagona</i>	1
<i>V. coriacea</i>	2		
<i>V. doaniana</i>	2	Vignes Euro-asiatiques	576
<i>V. Simpsonii</i>	2	proles Occidentalis	251
<i>V. baileyana</i>	1	proles Pontica	169
<i>V. bicolor</i>	1	proles Orientalis	95
<i>V. Champinii</i>	1	Origine indéterminée	10
<i>V. cinerea</i>	1	Autres origines	3
<i>V. girdiana</i>	1	Obtentions	48
<i>V. monticola</i>	1		
<i>V. palmata</i>	1	Ampelopsis	3
<i>V. rubra</i>	1	Parthenocissus	2
Hybrides interspécifiques	86		
TOTAL		734	

deux types du virus les plus répandus (1 et 3). Ce matériel nous a été fourni par la Station de Viticulture, INRA Bordeaux, sous forme de boutures ligneuses et a été élevé de la même façon que les variétés infectées par le court-noué.

Matériel à tester : Les différentes variétés collectées ont été choisies de façon à constituer un échantillon représentatif des différentes classes du genre *Vitis*, l'accent ayant été mis sur les *V. vinifera* appartenant aux proles pontica et orientalis (NEGRUL 1938), et d'autres genres de la famille des Vitacées. Le nombre de vignes regroupées est répertorié dans le Tab. 1. Elles nous ont été fournies sous forme de boutures ligneuses, pour le plus grand nombre par le Domaine de Vassal (Station viticole de Montpellier). Le fait de disposer d'une telle collection a été d'un grand intérêt pour réaliser ce travail. Certaines variétés proviennent également des autres unités INRA qui assurent la maintenance de collections ampélographiques: Stations de Viticulture de Bordeaux et de Colmar, ainsi que du Institut für Rebenzüchtung Geilweilerhof (Allemagne).

Ces vignes ont suivi le même processus d'élevage que les inoculums.

Test sanitaire : Chaque variété intégrée dans le programme a été dans un premier temps soumise à un contrôle sanitaire qui a consisté à repérer par test ELISA les vignes déjà infectées par l'un de ces virus: GFLV, ArMV, GLRaV-1, GLRaV-2, GLRaV-3, GLRaV-5. Ces tests immunoenzymatiques ont été effectués à partir de jeunes feuilles dans le cas du court-noué ou de vieilles feuilles dans le cas de l'enroulement selon le protocole utilisant le système biotine-avidine pour amplifier la réponse (ZIMMERMANN *et al.* 1990). Les serums ont été fournis par le Laboratoire de Pathologie Végétale, INRA Colmar.

Inoculation : Elle a été réalisée en utilisant la technique de la greffe-bouture herbacée (WALTER *et al.* 1990) avec la variété à tester en position de porte-greffe et l'inoculum en position de greffon (LAHOUE *et al.* 1995).

Après passage en serre dite de sevrage favorisant le démarrage de la pousse du greffon, les greffes ont été élevées en serre dans les mêmes conditions que les plantes-mères. Un trop fort développement du greffon a été empêché par un rognage régulier.

Pour chaque virus, dix greffes par variété ont été effectuées, constituant ce que nous appellerons un groupe d'inoculation. Les inoculations vis-à-vis des différents virus sont indépendantes les unes des autres.

Contrôle de l'infection : Tous les 3 ou 4 mois, un test ELISA a été effectué sur la variété porte-greffe de chaque groupe d'inoculation. Lorsque plusieurs pieds d'un même groupe ont répondu positivement au test ELISA, le jus de celui qui présentait la plus forte densité optique a été dilué afin d'avoir une idée du degré d'infection qu'il présentait. Les valeurs des dilutions ont été dans le cas du court-noué: 1/10, 1/50, 1/100, 1/1000, 1/10000, et 1/100000 et dans le cas de l'enroulement: 1/10, 1/50, 1/75, 1/100, 1/500, et 1/1000.

Influence de l'état physiologique des plantes sur l'efficacité de transmission du GFLV : Afin de tester l'influence de l'état physiologique des plantes au moment du greffage sur l'efficacité de transmission du GFLV, 60 *V. vinifera* appartenant aux proles pontica et orientalis ont été greffés à différents temps. Pour chaque série d'inoculation, le taux de reprise au greffage a été noté et le contrôle de l'infection a été effectué 4 mois et 7 mois après le greffage.

Résultats

En ce qui concerne les tests sanitaires, 734 origines ont été testées en court-noué et 626 en enroulement. 6,4 % de ces vignes étaient infectées par l'un au moins des virus du court-noué (Tab. 2) et 34,2 % présentaient au moins un des types d'enroulement. Le plus fort taux d'infection de l'espèce *V. vinifera* par rapport aux autres *Vitis* pourrait

Tableau 2

Résultats des tests sanitaires effectués sur les origines regroupées

Results of sanitary controls made on tested accessions

Classification	Court-noué					Enroulement			
	Nombre testé	Nombre infecté par GFLV	Nombre infecté par ArMV	Nombre infecté par Court-noué	%	Nombre testé	Nombre infecté par Enroulement	%	
Vignes Américaines	49	5	0	5	10.2	42	7	16.7	
Vignes Asiatiques	18	1	1	2	11.1	12	2	16.7	
Vignes Euro-asiatiques	p. Occidentalis	251	9	5	12	4.8	239	67	28.0
	p. Pontica	169	10	1	11	6.5	139	62	44.6
	p. Orientalis	95	12	0	12	12.6	47	30	63.8
	origine indéterminée	10	0	0	0	0.0	10	8	80.0
	autres origines obtentions	3	0	0	0	0.0	2	2	100.0
	48	0	1	1	2.1	47	22	46.8	
total	576	31	7	36	6.3	484	191	39.5	
Hybrides interspécifiques	86	2	2	4	4.7	83	14	16.9	
Ampelopsis	3	0	0	0	0.0	3	0	0.0	
Parthenocissus	2	0	0	0	0.0	2	0	0.0	
Total	734	39	10	47	6.4	626	214	34.2	

s'expliquer par la plus forte multiplication de ces variétés et par la nécessité de les greffer, ce qui augmente les risques de contamination. Les cinq représentants des genres autres que *Vitis* n'étaient atteints par aucun de ces virus.

Le taux de reprise au greffage, défini par le pourcentage de pieds pour lesquels le greffon-inoculum est bien poussant (pieds appelés IP), a été relativement stable quel que soit le virus inoculé, et ce tout au long de l'année. Mesuré un à deux mois après le greffage, il était en moyenne de 43 %. Le facteur de variation le plus important a été la variété (LAHOGUE *et al.* 1995). En effet, au sein d'une même série de greffage, et pour des variétés élevées dans les mêmes conditions, le taux de reprise pouvait varier de 0 à 70 %.

Toutefois, le virus a pu également être détecté dans les pieds appelés IM, c'est-à-dire les pieds qui au premier test ELISA avaient un inoculum mort, que le bourgeon de celui-ci ait débourré ou non. Ainsi, lorsqu'un groupe d'inoculation ne comportait que des pieds IM, un premier test ELISA était effectué et si aucun des pieds ne répondait positivement, un nouveau greffage était réalisé.

Le temps moyen nécessaire avant que le virus soit détecté a été variable selon le virus inoculé (Tab. 3). L'ArMV était détecté après un temps moyen beaucoup plus long que le GFLV. En effet, un an après le greffage, il restait encore dans le premier cas 24 % des variétés dans lesquelles le virus n'avait pas été détecté contre 2 % dans le

second cas. Les GLRaV étaient quant à eux détectés assez rapidement.

Mais si nous nous plaçons dans le cas d'un virus donné, d'une série de greffage à l'autre, le temps nécessaire avant de détecter le virus ainsi que le nombre de pieds dans lesquels le virus a été détecté pouvaient être variables pour une même variété (Tab. 4).

Au sein d'un groupe d'inoculation, la détection du virus dans certaines greffes pouvait se faire après un temps beaucoup plus long que la moyenne des autres.

De même, certaines variétés ont formé d'énormes cals au point de greffe et/ou ont pu montrer un rougissement des feuilles. Dans ces cas-là, nous n'avons pas détecté de multiplication virale.

Les dilutions des jus réalisées pour l'enroulement étaient plus faibles que celles réalisées pour le court-noué car les sérums dirigés contre les GLRaV étaient moins sensibles que ceux dirigés contre le GFLV ou l'ArMV. Lorsque dans un groupe d'inoculation, les pieds ne répondaient positivement en ELISA que pour une dilution des jus inférieure ou égale au 1/100 dans le cas du court-noué, au 1/75 dans le cas de l'enroulement, un nouveau test ELISA était réalisé ultérieurement afin de contrôler si le virus continuait à se multiplier ou se stabilisait à cette faible quantité.

Les résultats des inoculations sont présentés dans le Tab. 5. Nous pouvons remarquer que la majorité des varié-

Tableau 3

Résultats des inoculations en fonction du temps. a : Positif en ELISA. b : Négatif en ELISA avec un greffon-inoculum toujours poussant (La somme a+b n'atteint pas 100 % car il y a des plantes négatifs en ELISA avec un greffon-inoculum mort)

Results of the inoculations over time. a: ELISA positive. b: ELISA negative with a scion-inoculum still growing (The sum a+b is not equal to 100% because there are plants which are ELISA negative with a dead scion-inoculum)

	GFLV		ArMV		GLRaV	
	% variétés positives (a)	% variétés IP négatives (b)	% variétés positives (a)	% variétés IP négatives (b)	% variétés positives (a)	% variétés IP négatives (b)
6 mois après le greffage	72.5	8.0	35.8	48.1	82.1	10.0
1 an après le greffage	75.8	2.0	44.4	24.1	85.7	5.7

Tableau 4

Variabilité de l'efficacité d'inoculation du GFLV entre deux séries de greffage. *: Pied faiblement positif

Variability of the efficiency of GFLV inoculation between two grafting assays. *: Weak positive graft

Variété	Série A			Série B		
	Nombre de greffes réussies /10	Nombre de pieds positifs après 4 mois	Nombre de pieds positifs après 7 mois	Nombre de greffes réussies /10	Nombre de pieds positifs après 4 mois	Nombre de pieds positifs après 7 mois
Ouchtata n°5	2	1	2	6	6	6
Variété d'oasis n°45	1	0	1	3	2	2
Lambrusque A	1	0	0	6	6	6
Lambrusque E	1	0	0	5	5	5
Abdukiaki	1	1	1	7	7	7
Tavkveri	1	0	0	2	0	0
Aragatzi	2	2	2	7	7	7
Sapere otzghanouri	3	3	3	6	6	6
Kaytagi	1	0	0	3	2	2
Taschly	3	1*	0	2	0	0
Kassoufi	1	0	0	6	6	6

Tableau 5

Résultats obtenus sur les variétés inoculées

Results obtained from inoculated varieties

Virus inoculé	Nombre d'origines greffées	Nombre d'origines à greffer	Nombre d'origines ayant fortement multiplié le virus	Nombre d'origines dans lesquelles le virus n'a pas été détecté
GFLV	531	23	504	4
ArMV	407	119	246	42
GLRaV	223	22	201	0

tés sur lesquelles le greffage a réussi ont permis la multiplication du virus. Dans le cas de l'ArMV, toutefois, le virus n'a pas pu être détecté dans un nombre assez important d'origines.

Nous avons intégré dans l'essai les deux variétés de *V. vinifera* originaires du moyen-orient qui semblaient présenter une résistance au GFLV (WALKER et MEREDITH 1990). Très rapidement, nous avons détecté une forte quantité de virus dans la variété 030-51. En ce qui concerne la variété 030-44, après plusieurs séries de greffage et plusieurs mois d'attente, le virus a finalement pu être détecté en forte quantité.

Nous avons également testé les hybrides *Vinifera* x *Rotundifolia* sélectionnés par BOUQUET (1983) pour leur résistance à la transmission du GFLV par *X. index*. Même si le taux de réussite au greffage n'est pas très élevé, la détection du GFLV et des GLRaV a été rapidement obtenue. Il apparaît que le GFLV peut se multiplier de manière importante dans ces hybrides alors que ce ne semble pas être le cas des GLRaV.

Discussion

Le temps nécessaire avant la détection du virus et le pourcentage de pieds dans lesquels il est détecté apparaissent donc dépendre d'une part du virus inoculé et d'autre part de la possibilité d'obtenir une bonne soudure entre la variété à tester et l'inoculum.

L'état physiologique du matériel végétal est un des facteurs importants qui influent sur la réussite du greffage. Nous pouvons voir dans le Tab. 4, qui présente une partie des résultats obtenus lors de l'essai visant à étudier l'influence de l'état physiologique des plantes sur l'efficacité de transmission du GFLV, que la série A a abouti à un moins bon taux de reprise que la série B, ce qui est associé à une transmission virale moins efficace: le virus n'a toujours pas été détecté à 7 mois dans Lambrusque A, Lambrusque E et Kassoufi dans la série A alors qu'il l'a déjà été à 4 mois dans tous les pieds des mêmes variétés dans la série B. Le greffage de la série A n'a donc pas été réalisé à un bon stade physiologique des plantes.

Dans la série B, le virus n'est pas systématiquement dépisté dans tous les pieds d'une même variété (Variété d'oasis n° 45 et Kaytagi). En effet, les boutures greffons et les boutures porte-greffe ont été prélevées indépendamment de leur position sur les rameaux herbacés, ce qui peut

se traduire par une soudure plus ou moins bonne et donc une croissance plus ou moins importante, induisant des différences de réponse au sein d'un même groupe d'inoculation.

La réussite au greffage dépend également de la vigueur des plantes-mères, qui est difficile à homogénéiser d'une variété à l'autre. Les prélèvements ont de ce fait été effectués indépendamment de ce facteur, ce qui a pu induire une hétérogénéité de réponse.

De même, les variétés ne présentent pas toutes la même aptitude au greffage. Ainsi, dans le cas des vignes appartenant à un genre autre que *Vitis*, l'incompatibilité au greffage est importante puisqu'aucune greffe n'a réussi. Il n'est donc pas possible de savoir si la non détection du virus dans ces vignes est due à une résistance génétique de leur part ou à une inoculation défectueuse. Pour certaines variétés, nous avons également observé la formation d'un gros cal au point de greffe et/ou le rougissement des feuilles (cas par exemple de Tavkveri et Taschly, Tab. 4) aboutissant à une forte mortalité des greffes. Ces deux phénomènes sont aussi des signes d'incompatibilité au greffage qui s'accompagnent d'une non détection ou d'un retard à la détection du virus. Il est également difficile de conclure dans ces cas là.

Une hétérogénéité de réponse a pu en outre être induite par une hétérogénéité de pression d'inoculum. En effet, dans le cas du court-noué, tous les rameaux d'une même souche ne sont pas également affectés. De plus, au sein d'un même rameau, la quantité de virus présente dans chaque bourgeon n'est sans doute pas identique. Le contrôle de chaque greffon-inoculum est difficilement envisageable.

Tous ces facteurs de variabilité ne permettent donc pas de définir la résistance selon un critère de temps nécessaire avant la détection du virus et/ou de pourcentage de pieds dans lesquels le virus a été détecté qui soit généralisable à toutes les origines.

Ainsi, dans le cas où le virus a été détecté en forte quantité au moins une fois dans une variété donnée, celle-ci doit être considérée comme sensible. En définitive, malgré le grand nombre d'origines testées (Tab. 5), aucune ne s'est avérée présenter de résistance au GFLV et aux GLRaV, même parmi les *V. vinifera* d'origine moyen-orientale. Les résistances qui avaient été trouvées au sein des variétés 030-51 et 030-44 ont même été infirmées.

En ce qui concerne les GLRaV, leur localisation dans les vaisseaux du phloème permet d'aboutir à leur détection rapide dans toutes les variétés pour lesquelles le greffage a réussi.

Dans le cas du GFLV, les quelques variétés dans lesquelles le virus n'a pas été détecté présentent lors du greffage soit un rougissement des feuilles soit une faible croissance, laissant penser que l'inoculation ne s'est pas bien faite.

Les résultats obtenus avec l'ArMV diffèrent notablement de ceux obtenus avec le GFLV. Nous avons en effet constaté qu'il fallait plus de temps avant de pouvoir détecter le virus. Ceci se traduit par un nombre assez important d'origines dans lesquelles le virus n'a pas encore été dépisté. Une telle différence entre ces deux népovirus pourrait être expliquée par le fait que la vigne n'est pas un hôte principal de l'ArMV. Il est alors difficile de parler de résistance.

Si ce travail n'a pas permis de mettre en évidence des variétés naturellement résistantes, il est possible que cela soit dû au fait que la méthode utilisée est trop sélective. En effet, nous pouvons penser que l'inoculation par greffage entraîne une trop forte pression d'inoculum, surmontant ainsi d'éventuelles résistances présentes chez certaines variétés. De plus, il est sûr que la technique ne permet pas de repérer les résistances qui pourraient intervenir aux premiers stades d'une infection naturelle, c'est-à-dire au niveau des premières cellules infectées.

Des essais d'inoculation mécanique des racines n'ayant pas abouti, il apparaît donc que le meilleur moyen d'inoculer un virus à une vigne dans le but de rechercher des résistances soit l'utilisation de nématodes infectieux (dans le cas du court-noué).

Ainsi, il semble que les seules résistances exploitables actuellement soient celles qui concernent la transmission du GFLV par *X. index*. Les études menées sur l'induction de résistance par transformation de la vigne avec le gène de la coque protéique du GFLV ouvriront peut-être d'autres perspectives.

Remerciements

Nous remercions Mrs J. M. BOURSIQUOT et C. RENNES pour l'envoi des boutures de vigne.

Références bibliographiques

BASS, P.; LEGIN, R.; 1981: Thérapie et multiplication *in vitro* d'apex de vigne. Application à la séparation ou à l'élimination de diverses maladies de type viral et à l'évaluation des dégâts. C. R. Acad. Agric. France, Séance 3 juin, 922-933.

-; VUITTENEZ, A.; 1979: Méthodes d'inoculation virale par hétérogreffage entre plantes hôtes herbacées et ligneuses en culture aseptique *in vitro*. Application à la transmission de souches définies de népovirus de *C. quinoa* à la vigne *Vitis* ssp. Ann. Phytopathol. **11**, 565-567.

BOUQUET, A.; 1981: Resistance to grape fanleaf virus in Muscadine Grape inoculated with *Xiphinema index*. Plant Dis. **65**, 791-793.

-; 1983: Contribution à l'étude de l'espèce *Muscadinia rotundifolia* (Michx.) Small et de ses hybrides avec *Vitis vinifera* L. Applications en sélection. Thèse Doct. Univ. Bordeaux II, France.

-; DANGLOT, Y.; 1983: Recherche de porte-greffes de vigne résistant à la transmission du virus du court-noué (GFV) par le nématode *Xiphinema index* Thorne et Allen. I. Application de la méthode ELISA à la réalisation d'un test rapide de sélection. Agronomie **3**, 10, 957-963.

BRÜCKBAUER, H.; RÜDEL, M.; 1961: Untersuchungen über die Viruskrankheiten der Rebe. II. Mechanische Übertragung der Reisigkrankheit auf krautige Testpflanzen. Wein-Wiss. **16**, 113-134.

DALMASSO, A.; VUITTENEZ, A.; 1978: Problèmes de replantation de la vigne et désinfection du sol dans les pays tempérés. Bull. OIV **51**, 337-351.

ENGELBRECHT, D. J.; KASDORF, G. G. F.; 1990: Transmission of grapevine leafroll disease and associated closteroviruses by the vine mealybug, *Planococcus ficus*. Phytophylactica **22**, 341-346.

HEWITT, H. B.; 1976: On the origin and distribution of *Vitis* and the virus diseases of the grapevine. Proc. 6th Intern. Conf. Viruses and Vectors of Grapevines, Cordoba, Spain, 3-4.

HU, J. S.; GONSALVES, D.; TELIZ, D.; 1990: Characterization of grapevine leafroll disease associated closteroviruses. Proc. 10th Meeting ICVG, Volos, Sept. 1990, 5.

IOANNOU, N.; 1993: Occurrence and natural spread of grapevine leafroll associated closteroviruses in Cyprus. Proc. 11th Meeting ICVG, Montreux, Sept. 1993, 111-112.

LAHOUE, F.; BOULARD, G.; SCHNEIDER, C.; 1995: Comparaison de différentes techniques de greffage vis-à-vis de leur efficacité de transmission virale sur vigne. Vitis **34**, 177-183.

LIDER, L. A.; GOHEEN, A. C.; 1985: Field resistance to the grapevine fanleaf virus - *Xiphinema index* complex in interspecific hybrids of *Vitis*. 4th Intern. Symp. Grapevine Breeding, Italy, April 1985, Vignevini **13** suppl. al (12), 166-169.

NEGRUL, A. M.; 1938: Evolution of cultivated forms of grapes. [Russ.] C. R. Acad. USSR, N. S. **18**, 585-588.

OLMO, H. P.; 1976: Grapes: *Vitis*, *Muscadinia* (Vitaceae). In: SIMMONDS, N. W. (Ed.): Evolution of Crop Plants, 294-298. Longman, London.

RASKI, D. J.; GOHEEN, A. C.; LIDER, L. A.; MEREDITH, C. P.; 1983: Strategies against grapevine fanleaf virus and its nematode vector. Plant Dis. **67**, 335-339.

ROSCIGLIONE, B.; GUGERLI, P.; 1986: Maladie de l'enroulement et du bois strié de la vigne: analyse microscopique et sérologique. Rev. Suisse Vitic. Arboric. Hortic. **18**, 207-211.

STAUDT, G.; WEISCHER, B.; 1992: Resistance to transmission of grapevine fanleaf virus by *Xiphinema index* in *Vitis rotundifolia* and *Vitis munsoniana*. Wein-Wiss. **47**, 56-61.

TANNE, E.; BEN DOV, Y.; RACCAH, B.; 1989: Transmission of closterolike particles associated with grapevine leafroll by mealybugs (Pseudococcidae) in Israel. Proc. 9th Meeting ICVG, Kiryat Anavim, Israel, 1987, 71-73.

WALKER, M. A.; MEREDITH C. P.; 1990: The genetics of resistance to grapevine fanleaf virus in *Vitis vinifera*. Proc. 5th Intern. Symp. on Grape Breeding, Vitis (Special Issue), St Martin, Sept. 1989, 228-238.

-; -; GOHEEN, A. C.; 1985: Sources of resistance to grapevine fanleaf virus (GFV) in *Vitis* species. Vitis **24**, 218-228.

-; WOLPERT, J. A.; 1994: Field screening of grape rootstock selections for resistance to fanleaf degeneration. Plant Dis. **78**, 134-136.

-; -; WEBER, E.; 1994: Viticultural characteristics of VR hybrid rootstocks in a vineyard site infected with grapevine fanleaf virus. Vitis **33**, 19-23.

WALTER, B.; BASS, P.; LEGIN, R.; MARTIN, C.; VERNY, R.; COLLAS, A.; VESSELLE, G.; 1990: The use of a green-grafting technique for the detection of virus-like diseases of the grapevine. J. Phytopathol. **128**, 137-145.

ZIMMERMANN, D.; BASS, P.; LEGIN, R.; WALTER, B.; 1990: Characterization and serological detection of four closterovirus-like particles associated with leafroll disease on grapevine. J. Phytopathol. **130**, 205-218.

Reçu le 8 Août 1995