

Le 1^{er} janvier, l'Inra et Irstea deviennent **INRAE** 

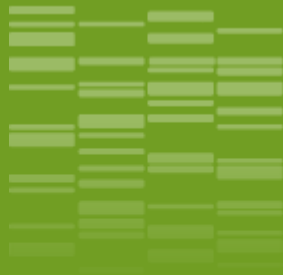
FORUM RHONE-PROVENCE

Vendredi 18 octobre 2019 – Châteauneuf-de-Gadagne

Olivier Lemaire

olivier.lemaire@inra.fr





LES VIRUS DE VIGNE & COMMENT VIVRE AVEC LE COURT-NOUÉ ?



Olivier LEMAIRE
olivier.lemaire@inra.fr

Santé de la **V**igne Qualité du **V**in

Equipe Virologie-Vection : ViVe

- Etudes des interactions complexes plantes-virus-vecteurs,
- Résistances génétiques, biotechnologiques et induites, de la vigne aux virus,
- Approches biologiques et intégrées pour la lutte antivirale et antivectorielle et dans le cadre du dépérissement du vignoble

Les Virus de la Vigne

| Family | Genus | Species |
|--|------------------|---|
| Viruses with isometric particles +ssRNA genome | | |
| <i>Secoviridae</i> | <i>Fabavirus</i> | <i>Broadbean wilt virus 1</i> (BBWV-1) <i>Grapevine fabavirus</i> (GFabV) |
| | <i>Nepovirus</i> | <i>Artichoke Italian latent virus</i> (AILV); <i>Arabis mosaic virus</i> (ArMV); <i>Blueberry leaf mottle</i> |

| Family | Genus | Species |
|-----------------------|--------------------------|--|
| <i>Partitiviridae</i> | <i>Deltapartitivirus</i> | <i>Grapevine cryptic virus 1</i> (GCV-1) = <i>Grapevine partitivirus 1</i> (GPV-1) |
| | | An unnamed grapevine-associated partitivirus |
| <i>Amalgaviridae</i> | <i>Amalgavirus</i> | An unnamed amalgavirus |

Plus de 80 virus et viroïdes chez la vigne : le record absolu de Virus – tous transmissibles par la bouture et la greffe (+ vecteurs (nematodes ectoparasites, *pseudococcid* et *soft scales*, *eryophids*, *treehopper*...) quand ils sont connus (le phylloxéra ne serait pas vecteur par ex.)

| | | |
|---|-----------------------|---|
| | <i>Tombusvirus</i> | <i>Grapevine Algerian latent virus</i> (GALV), <i>Petunia asteroid mosaic virus</i> (PAMV) |
| <i>Tymoviridae</i> | <i>Marafivirus</i> | <i>Grapevine asteroid mosaic-associated virus</i> (GAMaV); <i>Grapevine rupestris vein feathering virus</i> (GRVFV); <i>Grapevine Syrah virus 1</i> (GSyV-1); <i>Blackberry virus S</i> (BVS); Unnamed putative marafi-like virus |
| | <i>Maculavirus</i> | <i>Grapevine fleck virus</i> (GFkV) <i>Grapevine redglobe virus</i> (GRGV) |
| <i>Luteoviridae</i> | <i>Enamovirus</i> | <i>Summer grape enamovirus</i> (SGEV) |
| Viruses unassigned to families | <i>Idaeovirus</i> | <i>Raspberry bushy dwarf virus</i> (RBDV) |
| | <i>Sobemovirus</i> | <i>Sowbane mosaic virus</i> (SoMV) |
| Viruses with isometric particles dsRNA genome | | |
| <i>Reoviridae</i> | <i>Oryzavirus</i> (?) | Summer grape latent virus (SGLV) = <i>Grapevine Cabernet Sauvignon reovirus</i> (GCSV) |
| <i>Endornaviridae</i> | <i>Endornavirus</i> | <i>Grapevine endophyte endornavirus</i> (GEEV); three unnamed grapevine-associated endornaviruses |

| | | |
|---|--------------------|--|
| | | <i>Grapevine virus E</i> (GVE); <i>Grapevine virus F</i> (GVF) |
| <i>Potyviridae</i> | <i>Potyvirus</i> | <i>Bean common mosaic virus</i> (BCMV) peanut strain; an unidentified <i>Potyvirus</i> -like virus isolated in Japan from a Russian cultivar |
| Viruses with rod-shaped particles +ssRNA genome | | |
| <i>Virgaviridae</i> | <i>Tobamovirus</i> | <i>Tobacco mosaic virus</i> (TMV); <i>Tomato mosaic virus</i> (ToMV) |
| Viruses with a DNA genome | | |
| <i>Geminiviridae</i> | Undetermined | <i>Grapevine red blotch-associated virus</i> (GRBaV) |
| <i>Caulimoviridae</i> | <i>Badnavirus</i> | <i>Grapevine vein clearing virus</i> (GVCV) |
| | | <i>Grapevine roditis leaf discoloration-associated virus</i> (GRLDaV) |
| Ill-defined, taxonomically unassigned viruses | | <i>Unnamed filamentous virus</i> ; <i>Grapevine Ajnashika virus</i> (GAgV); <i>Grapevine stunt virus</i> (GSV); <i>Grapevine labile rod-shaped virus</i> (GLRSV) |

Les Virus de la Vigne

| Family | Genus | Species |
|--|-------|---------|
| Viruses with isometric particles +ssRNA genome | | |

| Family | Genus | Species |
|-----------------------|--------------------------|--|
| <i>Partitiviridae</i> | <i>Deltapartitivirus</i> | <i>Grapevine cryptic virus 1 (GCV-1) =</i> |

Dans un pied de Vigne, les infections « multiples » sont la règle :

- Plusieurs virus ou espèces virales
- Plusieurs variants de la même espèce
- Plusieurs molécules d'un même ARN génomique ...
- Une distribution spatiale et saisonnière très hétérogène
- **Notion de Virome ou microbiote viral**
- **Ce virome semble être unique pour un pied de vigne, même pour 2 pieds contigus... en lien avec son histoire**
- **Attention pour la sélection massale ! Le statut sanitaire doit être contrôlé avant diffusion de matériel**

| Endornaviridae | Endornavirus | Grapevine endophytic endornavirus (GEEV); three unnamed grapevine-associated endornaviruses |
|----------------|--------------|---|
|----------------|--------------|---|

*virus (GSV); Grapevine labile rod-shaped
virus (GLRSV)*

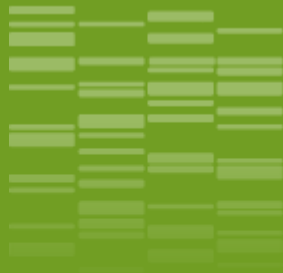
Dans un pied de Vigne, le virome est sa « *carte d'identité* » et induit des interactions biologiques très complexes :

Certains virus peuvent-ils être bénéfiques ; exploitation des services éco-systémiques de certains virus ou variants viraux ?

Vers une certification « *positive* » ?

pieds contigus... en lien avec son histoire ...

- Transmissible par greffage
- Evolution de ce virome dans le temps ...



COMMENT VIVRE AVEC LE COURT-NOUÉ ?

**QUELS LEVIERS SONT MOBILISABLES CONTRE CETTE « DÉGÉNÉRESCENCE
INFECTIEUSE »**

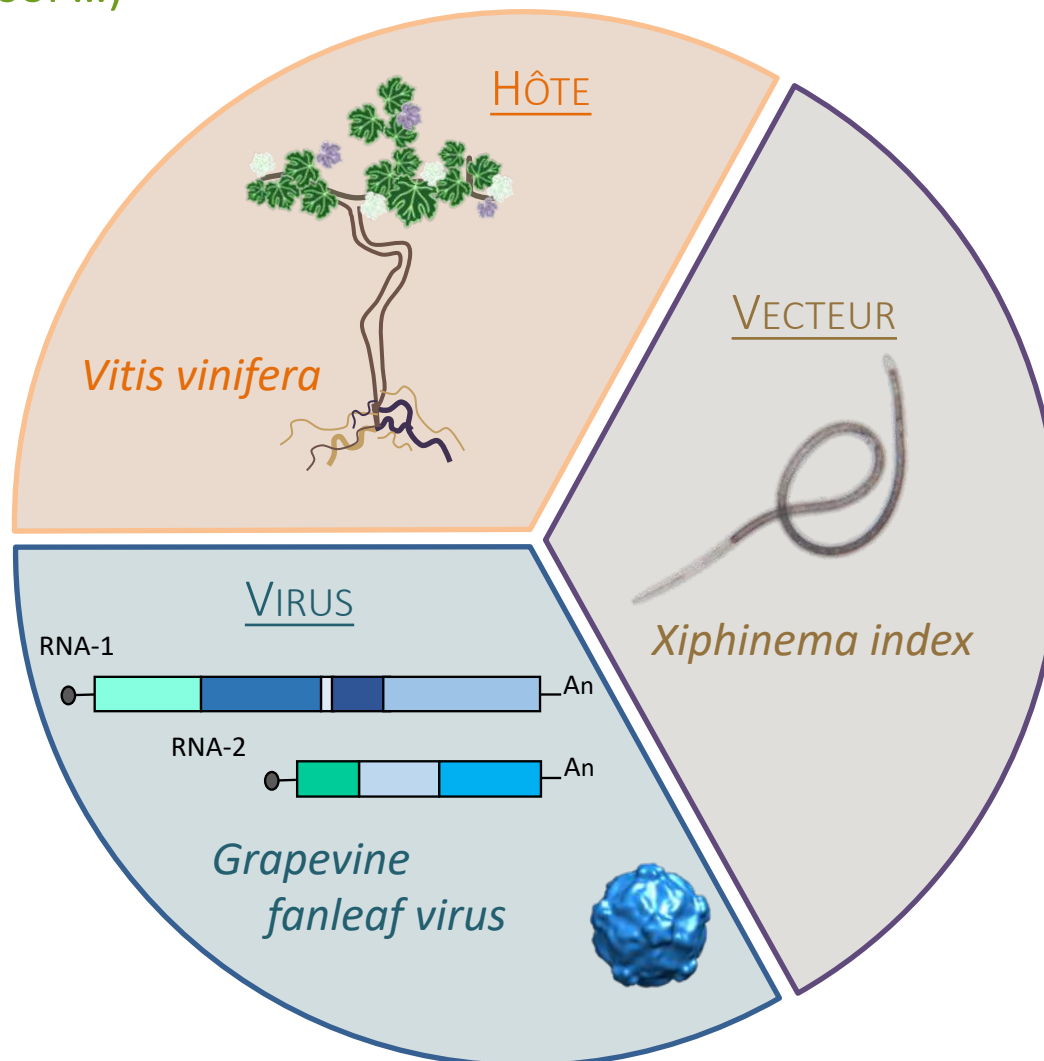


La maladie du court-noué (vignoble de Chablis, juin 2017)



Le court-noué :

un dépérissement viral résultant de l'interaction compatible entre l'agent pathogène, le grapevine fanleaf virus (GFLV – 2 ARNs génomiques), et son hôte, la Vigne, et sa transmission par le nématode *Xiphinema index* et l'homme (bouture, greffe, déplacement de sol ...)




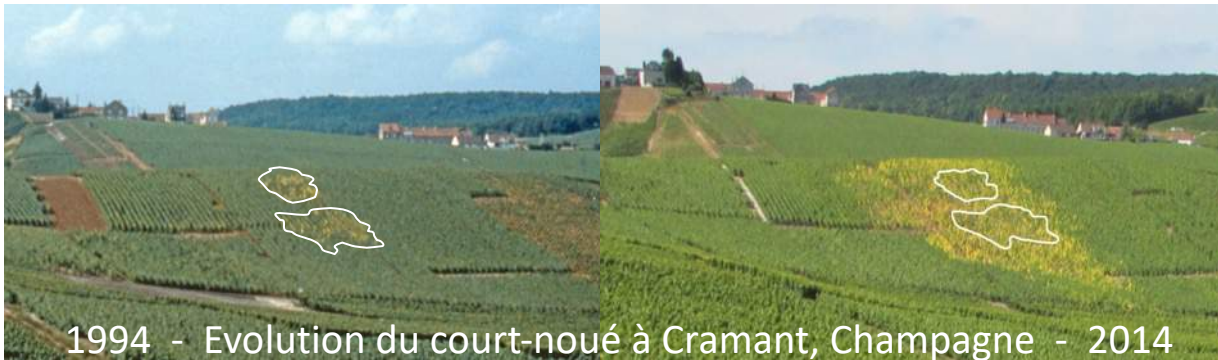
Le court-noué de la Vigne : contexte et enjeu

➤ **Court-noué**, une « dégénérescence infectieuse » (Vuittenez 1956), endémique dans tous les vignobles (*Grapevine fanleaf virus* ou GFLV)

- **Virose la plus ancienne décrite sur vigne** et identifiée dès le début comme un **dépérissement** :

1865 Cazalis-Allut: Description of grapevine degeneration in Frontignan (France).

- Plusieurs centaines de M€ de **pertes économiques** /an en France
- **2/3** du vignoble national touché, en expansion –  des surfaces viticoles impropres à la culture
- **Impasse technique et réglementaire** - pas de résistance naturelle au virus exploitable pour le moment

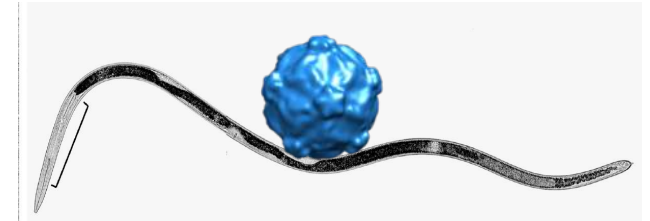
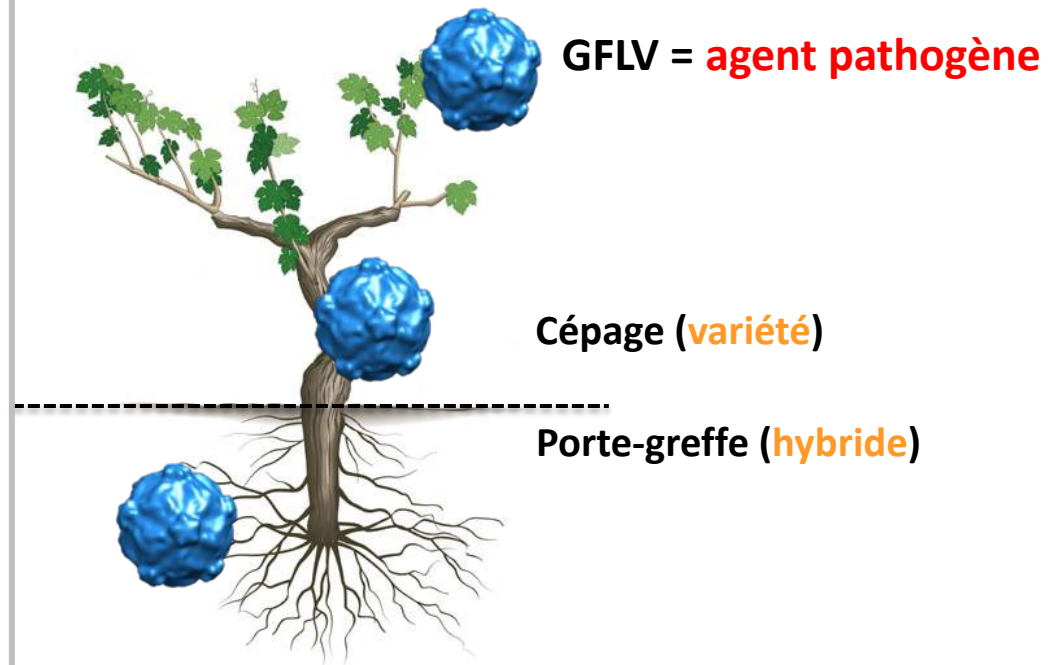


LE COURT-NOUE ET LA RESISTANCE

Stratégies génétiques de lutte contre le court-noué

Stratégies génétiques antivirale et antivectorielle

- **Résistance au virus** : analyse de la "nature" de la résistance chez la variété Riesling et analyse du **déterminisme génétique** de cette **résistance** du court-noué du cépage/clone Riesling
- **Recherche d'autres sources de résistances** génétiques : i.e. récessives eIF4E
- **Résistance au nématode** chez la muscadine (8771...) ; porte-greffe Nemadex AB



Xiphinema index = vecteur

- ➔
- **Introgression des gènes de résistance** caractérisés et cartographiés dans des **cépages** et **porte-greffes**
 - **Pyramidage** de résistances génétiques

Plateforme de phénotypage de l'INRA de Colmar : Phenotis

❖ Etude du déterminisme génétique de la résistance au GFLV et preuve de concept des approches biotechnologiques

RECHERCHE Maladies foliaires

Vignes résistantes : le futur s'écrit à Colmar

Le centre de l'Inra Grand-Est dispose à Colmar d'une plateforme ultra-performante de 1 000 m² - Phénotis - dédiée à la création de nouvelles variétés résistantes aux maladies foliaires.

C'est aussi à Colmar que se joue l'avenir de la viticulture française, filière économique de premier plan confrontée à une hausse sans précédent des températures et à la prolifération d'agents pathogènes sans doute de plus en plus prégnants. Le centre de l'Inra (Institut national de la recherche agronomique) Grand-Est à Colmar s'est taillé une réputation de constance et d'efficacité scientifique dans la compréhension des stratégies de résistance de la vigne face aux principaux bioagresseurs que les viticulteurs de France redoutent des l'apparition des premières feuilles.

Oïdium, mildiou et court noué

L'inauguration des serres baptisées Phénotis a permis aux élus de prendre la mesure des enjeux de recherche mis en œuvre depuis au moins 2012 par le « principal institut de recherche sur la vigne dans le bassin viticole septentrional français » : la présence physique ce vendredi à Colmar de Philippe Mauguin, président-directeur général de l'Inra, n'est pas anodine, au-delà du poids de l'investissement réalisé ici, 2,5 millions d'euros dont une grande part émanant



Olivier Lemaire, chercheur à l'Inra dans l'un des modules de la serre baptisée Phénotis, à Colmar. Cette plateforme sert à mettre en œuvre des programmes de recherche visant à concevoir des variétés résistantes exigeant très peu de fongicides. Photo L'Obsace/Hevel KIEHLWASSER

des collectivités locales. Les chercheurs, ingénieurs et personnels d'appui disposent d'un outil à la précision redoutable, au service de programmes concrets menés sur la résistance de la vigne aux principales maladies foliaires que sont le mildiou, l'oïdium mais aussi le court noué. Cette dernière maladie, véhiculée par les nématodes, agents infectieux présents dans la terre, avait fait l'objet de recherches avortées en plein air après l'intervention de traicheurs anti-OGM, en 2010. Un espace confiné à l'intérieur de la serre est dédié à l'analyse de cette maladie virale présente dans les vignobles ; il s'agit d'un « nouveau dispositif d'évaluation de résistance de porte-greffe, de variétés croisées par exemple », expose le responsable

étant aussi d'homogénéiser les conditions environnementales. L'autre module dit de « page » soumet les feuillages aux bioagresseurs évaluer leur résistance, sans des « disques foliaires » par les spores du mildiou. Un laboratoire dédié – le mildiou et l'oïdium – partie de l'une des farces champignons – assure des inoculations et de l'évaluation des résistances, de façon automatisée.

Pour Didier Merdion, directeur de recherche, « les variétés visent à diminuer le traitement des, jusqu'à 90 % en moyenne dans la viticulture française (850 000 ha de vignes) très vertueuse vis-à-vis de l'environnement : elle consomment des 95 000 tonnes de pesticides chaque année, forme d'urgence à inverser. Le premier hybride Colmar l'a été il y a 10 ans, dans la tradition absconsionnée d'innovation agronomique et scientifique.

Le confinement des essais et le développement de nouvelles variétés résistantes s'effectuent « en conditions standardisées », sous abris donc.

Tâches automatisées

Cette plateforme de 1000 m² composée de deux principaux « modules interconnectés » représente une petite usine à plants de vignes, optimisant l'espace et les cycles de croissance puisqu'il n'est pas nécessaire de passer par trois le temps nécessaire pour obtenir un plant de vigne exploitable. Le premier module de 400 m² fait prospérer du matériel végétal dépourvu de pathogènes et soumis, pour une croissance rapide, à des climats spécifiques, le but

Jean Dani

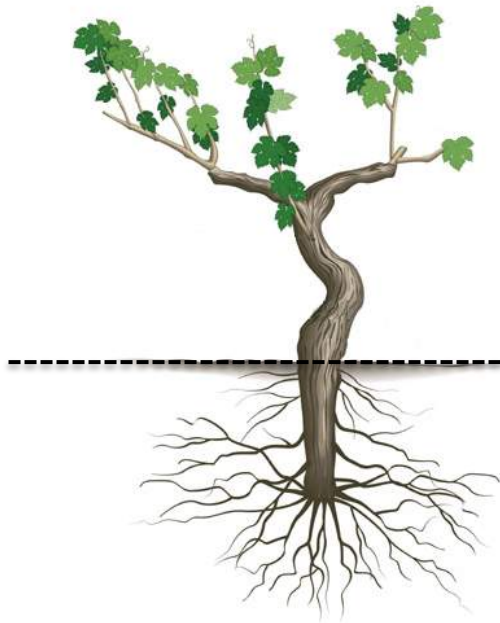


Phénotypage de populations de vignes issues de croisements : bacs de phénotypage installés avec le concours de l'Union Champagne et du Comité Champagne

COURT-NOUE ET BIOTECHNOLOGIES

Stratégies biotechnologique de lutte contre le court-noué

Approches biotechnologiques
en serres confinées « C2 » « Phénotis »



Cépage (**génétique**)

Porte-greffe
(**génétique et
biotechnologique**)

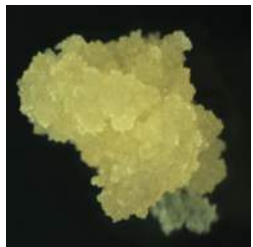


Bouturage

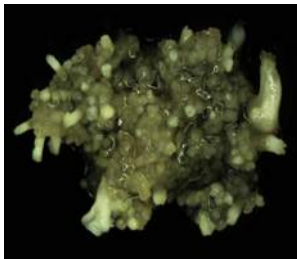


Stratégies biotechnologiques

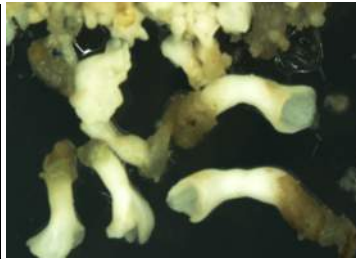
- ARNi : par dégradation des ARN viraux
- Anticorps interférence : « Nanobody » par neutralisation du virus
- Edition du génome ; étude de faisabilité en cours



Cal embryogène



Formation des
embryons



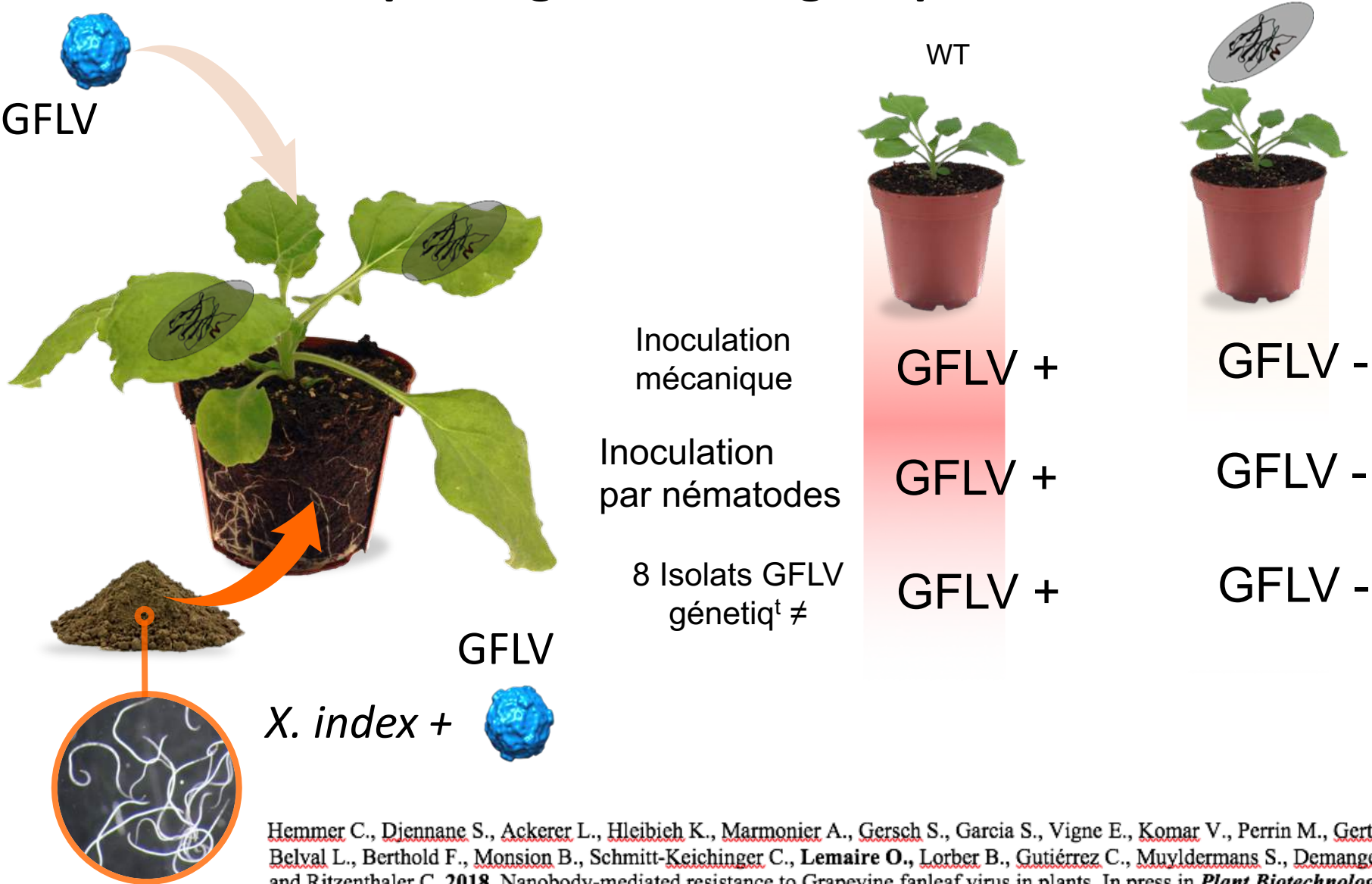
Développement des
embryons



Régénération d'une
vigne

- Acclimatation en serre C2
- Phénotypage pour la résistance au virus

Activité anti-GFLV d'un Nanobody exprimé par des plantes modèles et un porte-greffe transgénique



Hemmer C., Djennane S., Ackerer L., Hleibieh K., Marmonier A., Gersch S., Garcia S., Vigne E., Komar V., Perrin M., Gertz C., Belval L., Berthold F., Monsion B., Schmitt-Keichinger C., **Lemaire O.**, Lorber B., Gutiérrez C., Muyldermans S., Demangeat G., and Ritzenthaler C. **2018**. Nanobody-mediated resistance to Grapevine fanleaf virus in plants. In press in *Plant Biotechnology Journal*. doi: 10.1111/pbi.12819.

Lutte anti-vectorielle



La maladie du court-noué : le nématode vecteur



Adulte : 3 à 5 mm de long

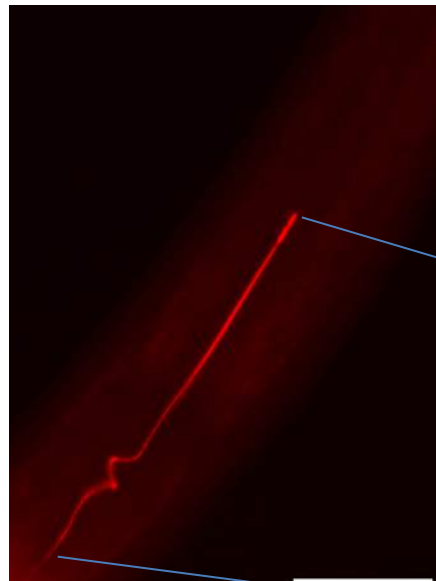
Vit dans les horizons de sol à partir de 20-30 cm et au-delà

Peut survivre en absence de plantes hôtes (> ou = à 4 ans)

Conserve le virus et peut le transmettre durant cette période de survie (> ou = à 4 ans)

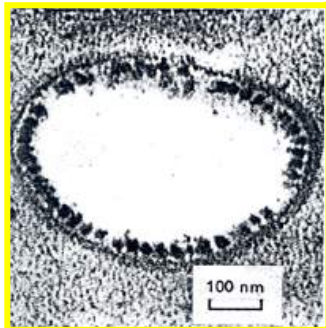
Interaction virus / nématode

➔ Rétention spécifique des virions , récepteurs ?

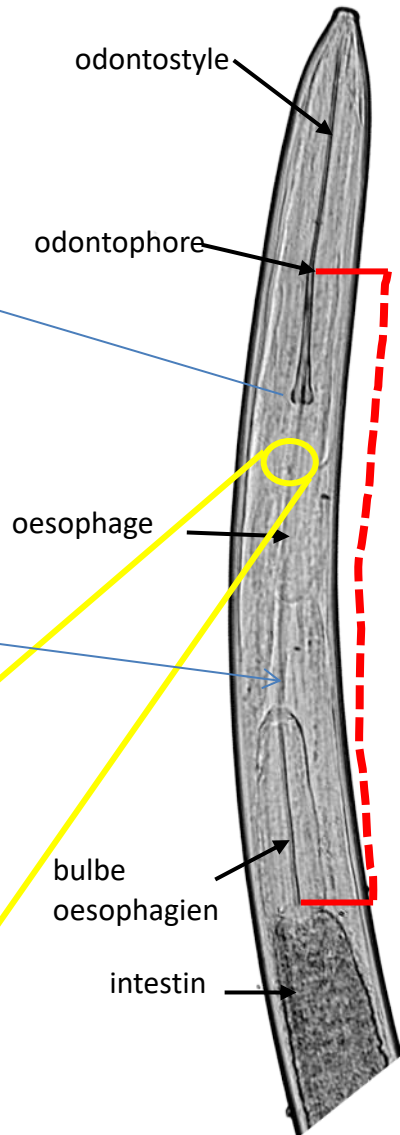


Immunolocalisation du
GFLV
dans *X.index*

Taylor and Robertson, 1970



GFLV dans *X. index*



- ➔ Survie pendant plusieurs années en l'absence de plante
- ➔ Rétention virus pendant plusieurs années
- ➔ Spécificité de transmission

Partie antérieure de l'appareil
alimentaire (*X. index*)

**Certaines stratégies pourraient
consister à « neutraliser » cette
reconnaissance**

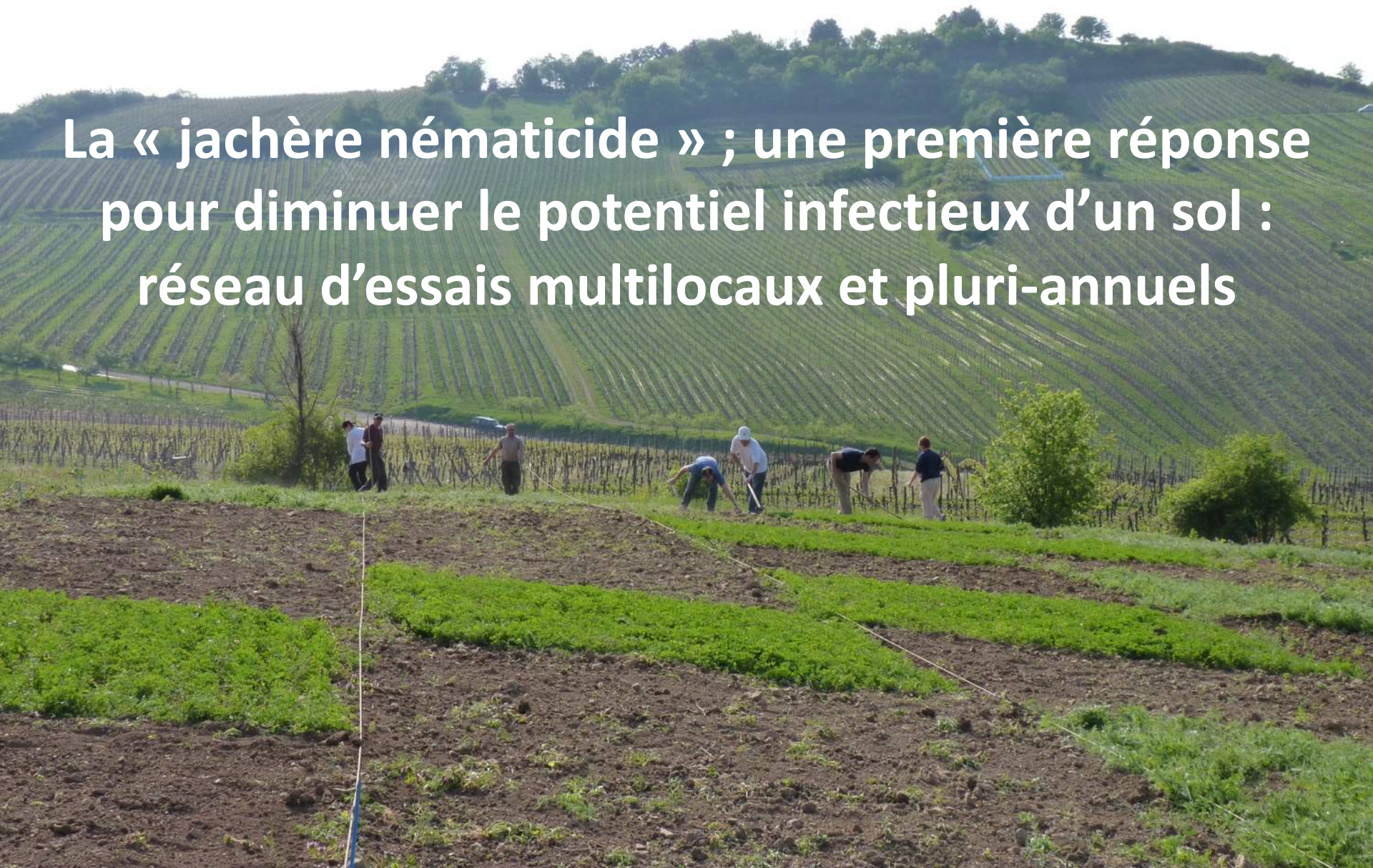
Perspectives de lutte biologique contre le vecteur :

Plantes à effet antagoniste ; essais « *Jachère nématocide* »

Caractérisation des molécules « *bionématicides* » chez le sainfoin et d'autres Fabacées : *analyses métabolomiques et bioessais*

Combinaisons d'approches

La « jachère nématocide » ; une première réponse pour diminuer le potentiel infectieux d'un sol : réseau d'essais multilocaux et pluri-annuels



Projets BIOCOU, MULTIFOLIA et JASYMPT lutte contre les nématodes vecteurs

| Nom commun | Nom scientifique | Famille | % nématodes restants en pots |
|------------------|-------------------------------|-----------------|------------------------------|
| Vigne | <i>Vitis vinifera</i> | Vitaceae | > 1000 |
| Sarrasin | <i>Fagopyrum esculentum</i> | Polygonaceae | 594 |
| Phacélie | <i>Phacelia tanacetifolia</i> | Hydrophullaceae | 314 |
| Chanvre | <i>Cannabis sativa</i> | Cannabaceae | 233 |
| Sorgho | <i>Sorghum vulgare</i> | Poaceae | 208 |
| Carvi | <i>Carum carvi</i> | Apiaceae | 172 |
| Tournesol | <i>Helianthus annuus</i> | Astéraceae | 142 |
| Rhue | <i>Ruta graveolens</i> | Rutaceae | 139 |
| Orge | <i>Hordeum vulgare</i> | Poaceae | 131 |
| Trèfle incarnat | <i>Trifolium incarnatum</i> | Fabaceae | 122 |
| Fétuque rouge | <i>Festuca rubra</i> | Poaceae | 116 |
| Cameline | <i>Camelina sativa</i> | Brassicaceae | 115 |
| Zinnia | <i>Zinnia elegans</i> | Astéraceae | 104 |
| Cosmos | <i>Cosmos bipinnatus</i> | Astéraceae | 100 |
| Crotalaire | <i>Crotalaria spectabilis</i> | Fabaceae | 98 |
| Poireau | <i>Allium porrum</i> | Alliceae | 98 |
| Navet | <i>Brassica napus</i> | Brassicaceae | 85 |
| Seigle | <i>Secale cereale</i> | Poaceae | 84 |
| Triticale | <i>Triticosecale</i> | Poaceae | 78 |
| Melilot blanc | <i>Melilotus albus</i> | Fabaceae | 73 |
| Tagètes | <i>Tagetes patula</i> | Astéraceae | 72 |
| Navette | <i>Brassica rapa</i> | Brassicaceae | 71 |
| Nyger | <i>Guizotia abyssinica</i> | Asteraceae | 67 |
| Tagètes | <i>Tagetes minuta</i> | Astéraceae | 65 |
| Vesce velue | <i>Vicia villosa</i> | Fabaceae | 61 |
| Avoine | <i>Avena sativa</i> | Poaceae | 59 |
| Luzerne | <i>Medicago hybride</i> | Fabaceae | 56 |
| Sainfoin | <i>Onobrychis viciifolia</i> | Fabaceae | 55 |
| Trèfle violet | <i>Trifolium pratense</i> | Fabaceae | 54 |
| Lupin Blanc | <i>Lupinus albus</i> | Fabaceae | 51 |
| Lotier corniculé | <i>Lotus corniculatus</i> | Fabaceae | 33 |

Plantes favorables
au développement
des populations
de *X. index*

Plantes sans impact
sur les populations de *X.
index*

Plantes à effet
nématocide

Hypothèses :

Tanins condensés
Saponines
Flavonoïdes
Autres ...

BIOCOU : lutte biologique contre la maladie du court-noué de la vigne par utilisation de jachères nématicides : diminution du potentiel infectieux des sols et compréhension du mode d'action des plantes

couvre-sol à effet antagoniste vis-à-vis de *Xiphinema index*

Financeurs:

Partenaires:



Région GE



Comprendre le mode de fonctionnement des plantes couvre sol à effet nématicide : métabolomique comparative et bioessais



Sainfoin



Lotier corniculé



Luzerne



Trèfle violet



Vesce velue

Les premiers effets « jachère » se manifestent au niveau de la vigueur de la jeune plantation (le stade et l'état physiologique de la vigne pourrait avoir des conséquences sur la transmission du virus). Pas encore suffisamment de reculs sur la re-contamination du virus ; premiers essais simples mis en place en 2012 et combinés avec Nemadex AB en 2014

Ancienne bande Luzerne



Vigueur jeunes vignes +++

Ancienne bande sol nu



Vigueur jeunes vignes +

Le sainfoin – partenariat avec *Multifolia*

Symbiose avec des bactéries
du sol: les *rhizobiacées*

Substrat calcaire



Le sainfoin, des propriétés oubliées

1764 et 1848

améliorer le sol, & de le préparer sans y mettre d'autre amendement, à porter du Froment immédiatement après que le Sain-Foin aura été défriché.

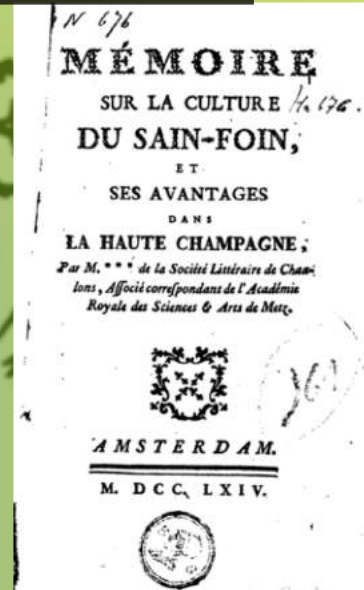
il est évident que le rapport pécunaire du Sain-Foin surpasse celui du Seigle & de l'Avoine

qui avoient pâture le Sain-Foin, fortifiés par cette bonne nourriture, supportèrent ce temps de détresse;

Quand la vigne est arrivée à un état de dépérissement tel, que sa végétation et ses produits en sont considérablement diminués, il est d'usage de lui donner un engrais vert, au moyen du **sainfoin** ou esparcette

et peuvent peut-être reculer beaucoup le moment d'arracher la vigne pour la replanter, en détruisant dans le sol les principes qui lui répugnent et l'affaiblissent.

Il semble même que les excréments de la vigne fournissent à ces plantes des sucres spéciaux particulièrement favorables, car elles s'y développent avec beaucoup de vigueur; * * *



Le Sainfoin, une espèce candidate intéressante !



SAINFOIN (*Onobrychis vicifolia*)

- Hautement mellifère (Deveci *et al.*, 2012)
- Bio-remédiant (Beladi *et al.*, 2011)
- Fertilisant (Cui *et al.*, 2014)
- Fourrage et vermifuge (Carbonero *et al.*, 2011)

- Bio-nématicide naturel?
- Impact du rhizobium? Et de la fertilisation résultante ?
- Mécanisme de l'effet antagoniste?
- Molécules bio-nématicides ? Action combinée ?

- Tanins condensés
- Saponines
- Flavonoïdes
- Pyrazines
- ...



Aerial parts



Root exudates



Isolated galls
(sites of symbiosis
with rhizobium)

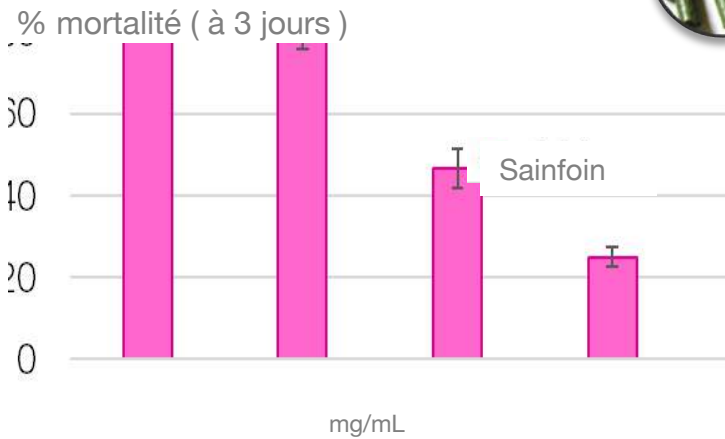


Roots without galls

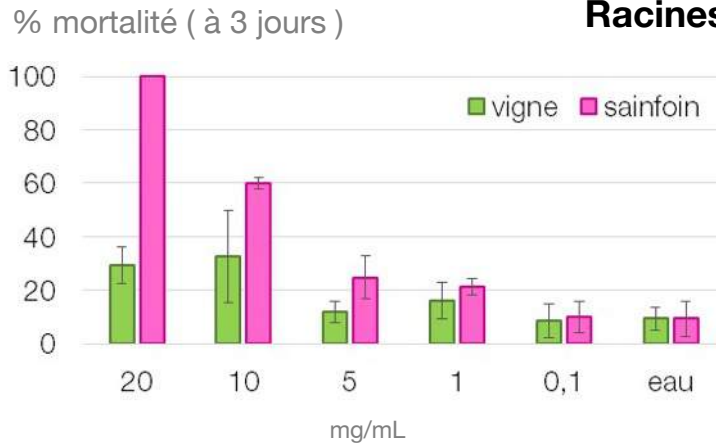
➔ **Analyses métabolomiques et bioessais en cours ... parallèlement à des expérimentations en vignoble avec plante entière et granulés**

Effet nématicide des différents compartiments des fabacées (sainfoin-lotier)

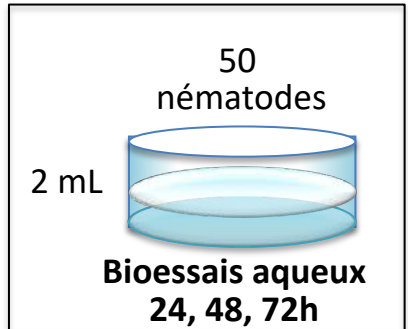
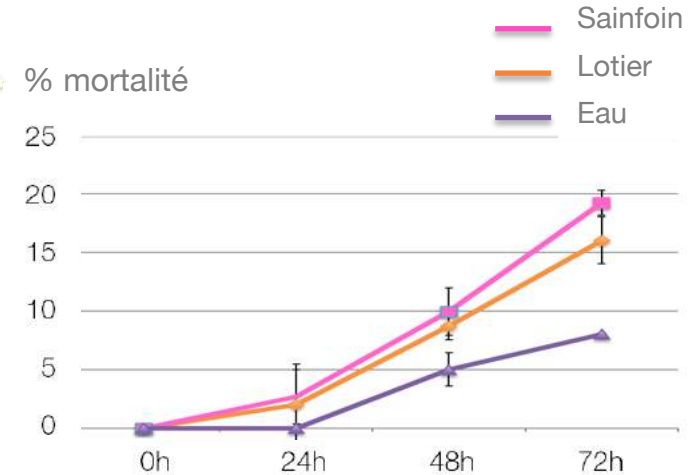
Parties aériennes



Racines



Exsudat racinaire



Premiers éléments concrets d'un repos du sol « optimisé » : jachère de 2 ans et granulés de sainfoin en enfouissement avant plantation ; premier essai en Alsace en 2017



Jachère de Luzerne de 2 ans après dévitalisation et arrachage
Parcelle infestée de court-noué



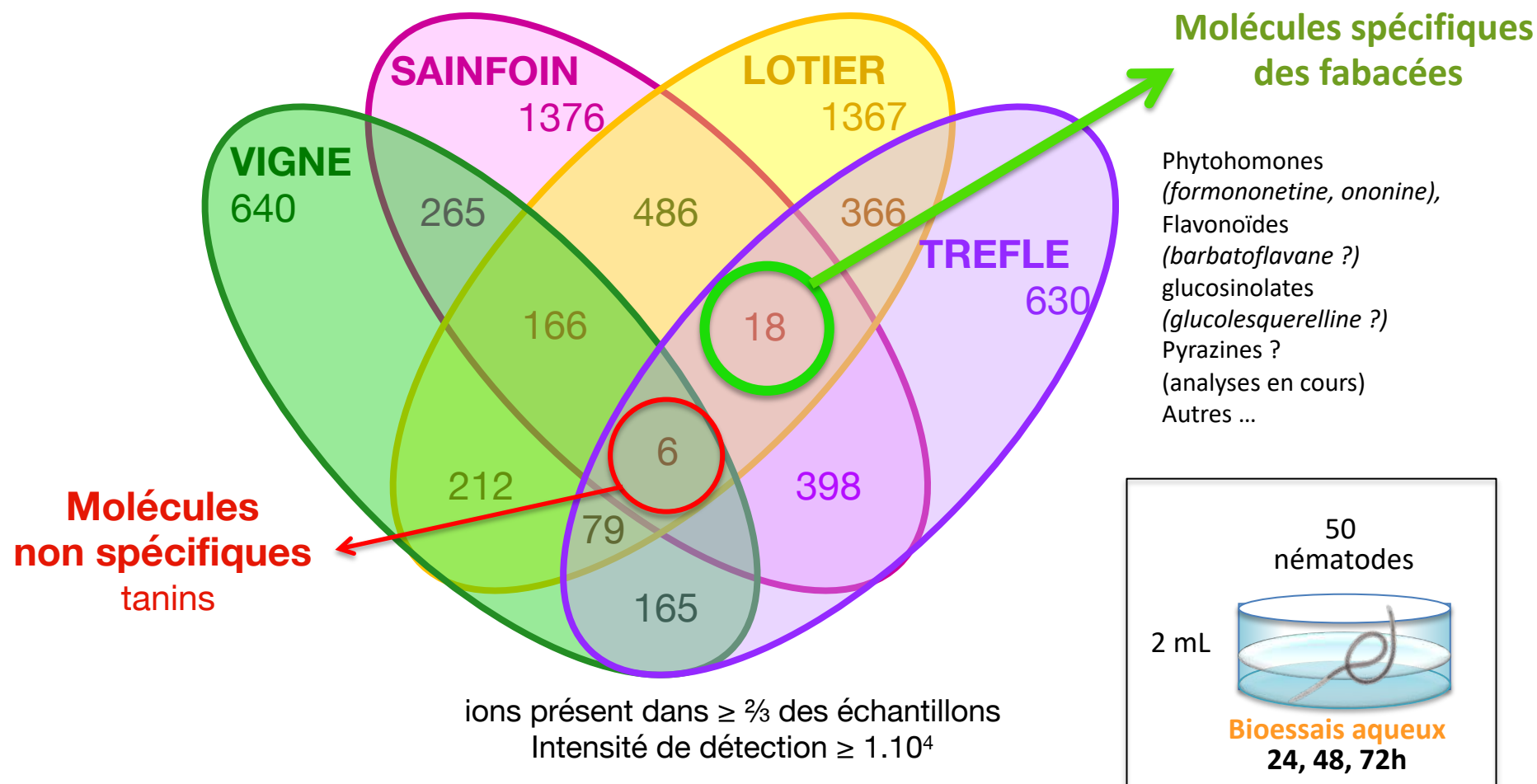
Plantation le 22 mai 2017 :
Itinéraire technique innovant à associer à d'autres pratiques



Epandage de granulés de sainfoin 4 avril 2017 :
Effet combiné nématicide et fertilisation organique azotée ?

Suivi des cinétiques de recontamination : 2018, 2019 ... 2027

Analyses des métabolites secondaires en LC-MS : molécules spécifiques à 3 fabacées et propriétés nématocides en cours



VACCIVINE : 2018-2020



Kick off meeting, 16 janvier 2018

Réunion de copil. avril 2019

Intérêt de la prémunition en tant que méthode de bio-contrôle

du court-noué

Virales

Atténuées

Contre le

Court-noué

Interférenc

V

I

Nif

Era.

DEFINITION

La prémunition (ou protection croisée)

Méthode de bio-contrôle consistant à inoculer une souche virale produisant des symptômes atténués, afin de protéger les plantes contre une infection ultérieure par des souches sévères du même virus.

VACCIVINE : projet de long terme basé sur 4 parcelles de prémuniton, > 20 parcelles de recherches de souches virales atténuées, 9 partenaires, 4 financeurs, 317 k€

- INRA Colmar

- CIVC

- CA89

- CA84

- IFV

- IBMP de Strasbourg

- Moët & Chandon

- BIVB

- CIVA

- Chambre Régionale d'Agriculture et Région Grand-Est



1995 : Bennwhir

2003 : Châteauneuf-du-Pape

2006 : Chablis

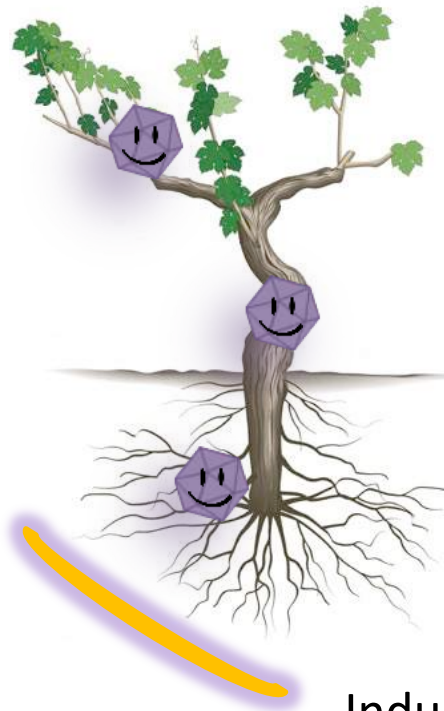
2009 : Cramant

2012 : Avize

- FAM, CNIV

LA BIODIVERSITÉ VIRALE AU VIGNOBLE COMME OUTIL DE BIOCONTRÔLE POUR RÉDUIRE LES SYMPTÔMES INDUITS PAR LE GFLV ?

Souches du GFLV
autochtones :
AGRESSIVES OU **PEU**
SYMPTOMATIQUES avec
différents niveaux et
souvent en mélange



Vigne prémunie, c'est à dire
primo-infectée par une
souche atténuée du GFLV et
sélectionnée localement :

HYPO-AGRESSIVE

Induction d'un **mécanisme de défense** :
PROTECTION CROISÉE OU **PRÉMUNITION**

RESISTANCE INDUITE : EFFICIENCE, ROBUSTESSE, DURABILITÉ ?

Une partie de l'équipe «Vaccivine » lors de la réunion de copil. avril 2019



VACCIVINE opérationnel : 4 work-packages (WP)

WP1. Déterminer le niveau de protection induit par les souches prémunisantes

Suivi agronomique, analyses sérologiques et moléculaires des vignes des 4 parcelles expérimentales (*Actions 1 et 2*) ; traits qualitatifs (notations) et quantitatifs (données agronomiques)

WP2. Caractériser la diversité des populations de GFLV au vignoble

Utilisation des nouvelles techniques de séquençage à haut débit (NGS) pour comparer la variabilité moléculaire des isolats de GFLV présents dans les parcelles (*Actions 3 et 4*)

WP3. Etudier les mécanismes de protection mis en place dans certains ceps

Quantification du niveau d'accumulation virale, conceptualisation du mode d'action des souches prémunisantes (ARNi, exclusion cellulaire ... ?) et évaluation en conditions contrôlées du niveau de protection de ceps prémunis (*Actions 5 et 6*)

WP4. Identifier de nouvelles souches prémunisantes

Sélection de nouvelles souches virales hypo-agressives autochtones de Champagne, Chablis, Alsace et Vaucluse (*Actions 1, 2, 3, 4, 5, 6*)

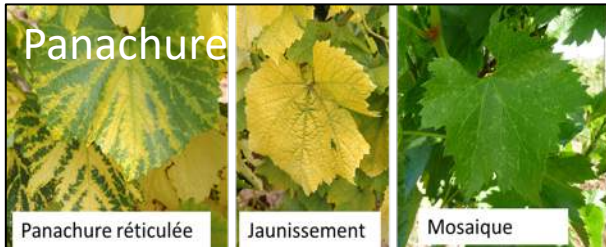
Identifier de nouveaux isolats viraux atténués

Traits qualitatifs basés sur les symptômes

Echelle de notation de l'intensité des symptômes



Types de symptômes



Impact du GFLV sur vigne

Traits quantitatifs



Nombre de sarments
Poids des sarments



Nombre de grappes
Poids des grappes
Poids des baies



Inoculation de la vigne par une souche de GFLV par greffage hétérologue

Etape 0 : infecter *C. quinoa* à partir de la vigne infectée
1-4 mois



Inoculation mécanique



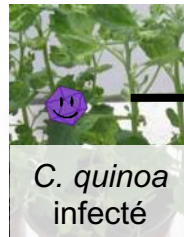
7-10 jours après inoc.

Etape 1 : inoculation par greffage hétérologue en CIV
1-4 mois

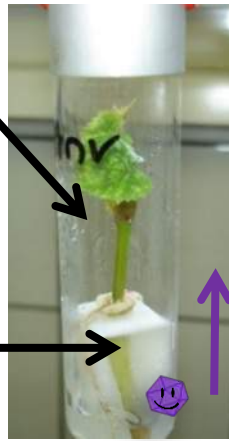
Enceinte climatique
15 k€



Kober
5BB sain



C. quinoa
infecté



Kober 5BB, 110R : OK
Ch, Gw ... ?

Etape 2-3 : systémie du GFLV dans la vigne
2-12 mois



ELISA
Multiplication végétative

Etape de greffage pour infecter le greffon ?

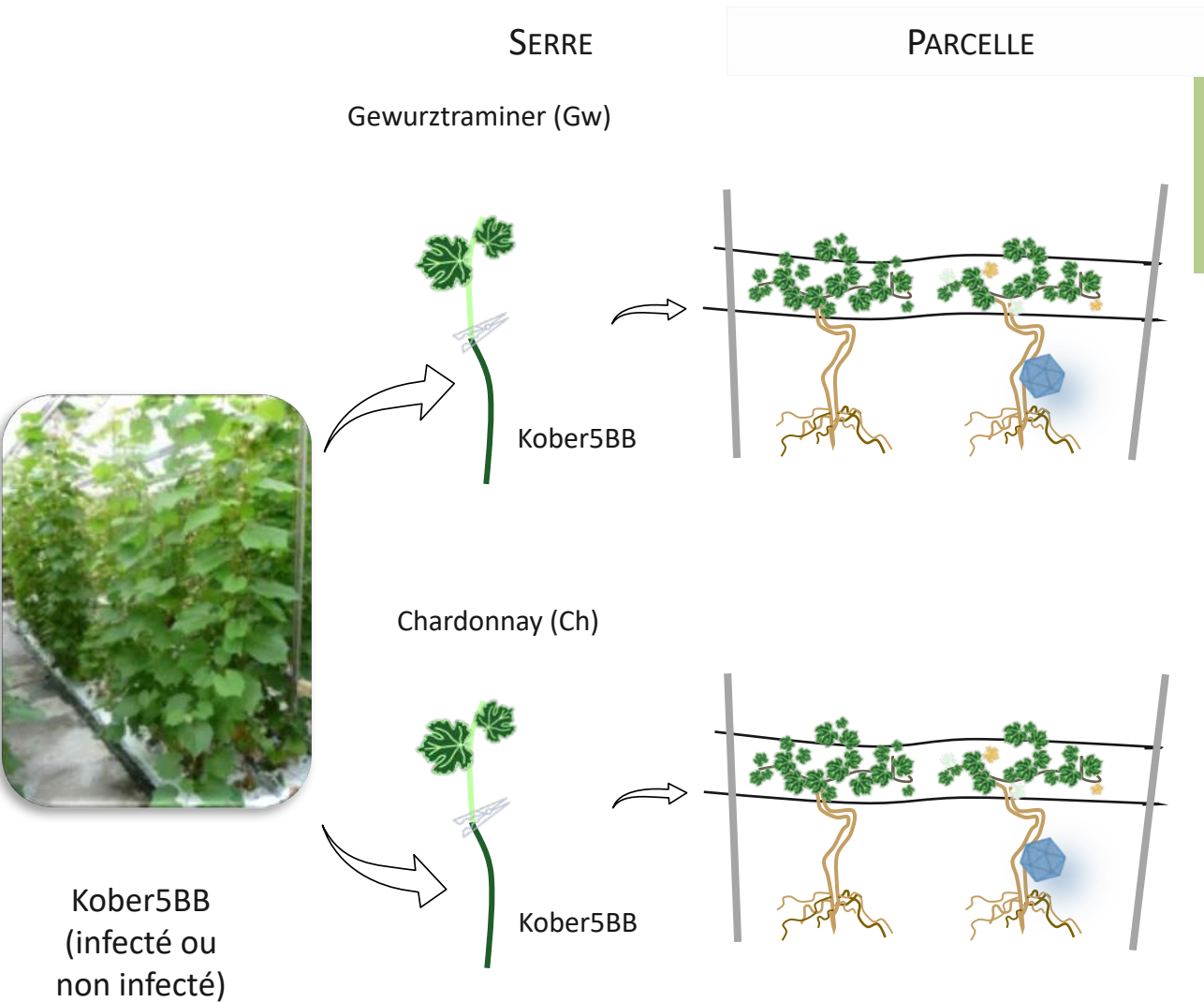
Etape 4 : culture de la vigne, production de bois
6-12 mois

Conservation de toutes les potentielles souches de GFLV prémunisantes



2 pots
2 rameaux élevés à 2m30

Parcelle expérimentale implantée en 2006



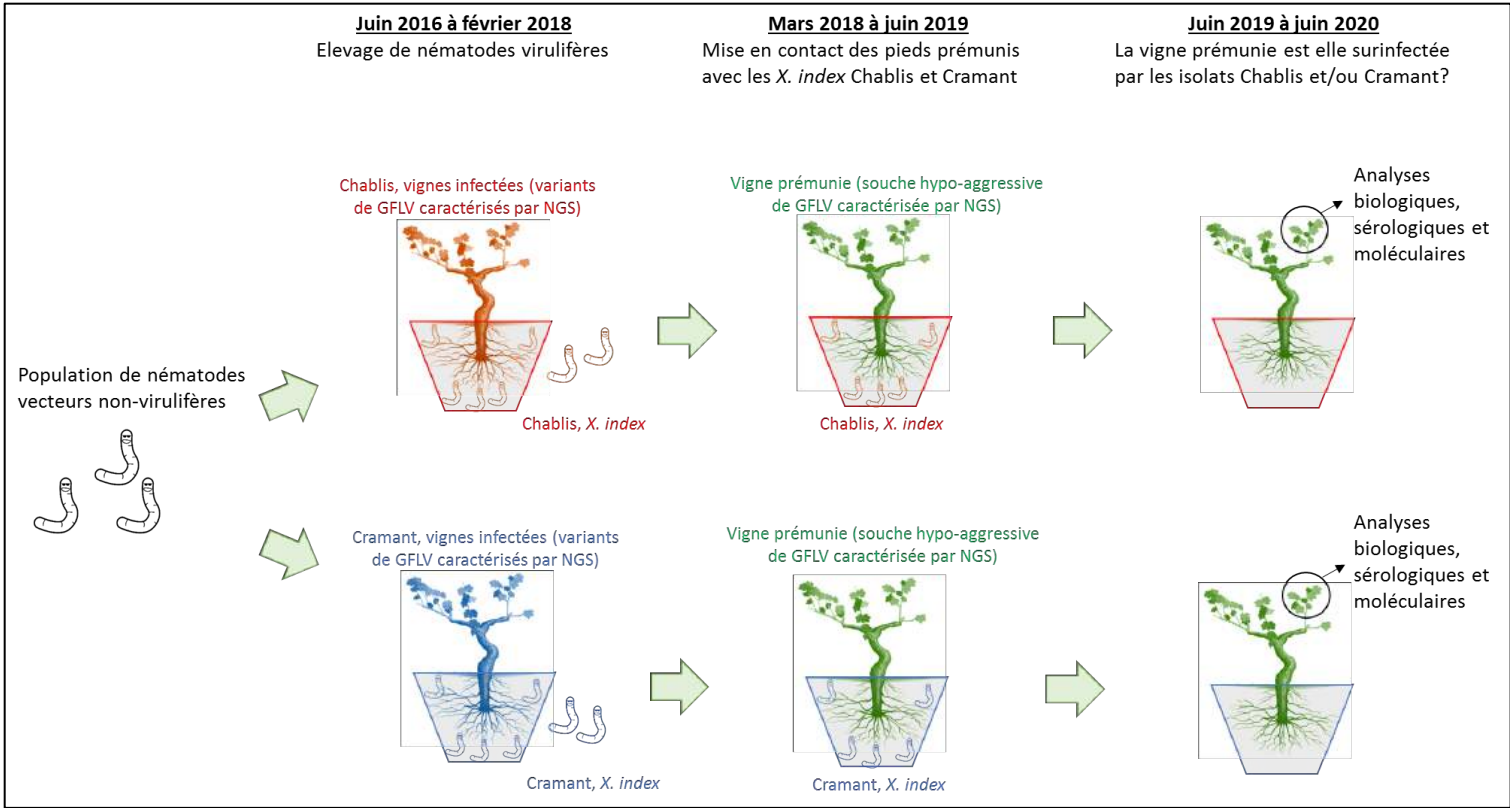
| Gw Ctrl | Gw Infectés | | | | |
|------------|----------------|-----|-----|-----|-----|
| | B844 | F13 | CO1 | CO2 | GHu |
| 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 |

| Ch Ctrl | Ch Infectés | | | | |
|------------|----------------|-----|-----|-----|-----|
| | B844 | F13 | CO1 | CO2 | GHu |
| 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 |



EVALUATION DU NIVEAU DE PROTECTION EN CONDITIONS CONTRÔLÉES, MECANISMES DE PROTECTION

Transmission par *X. index*, infection mixte par différents variants de GFLV



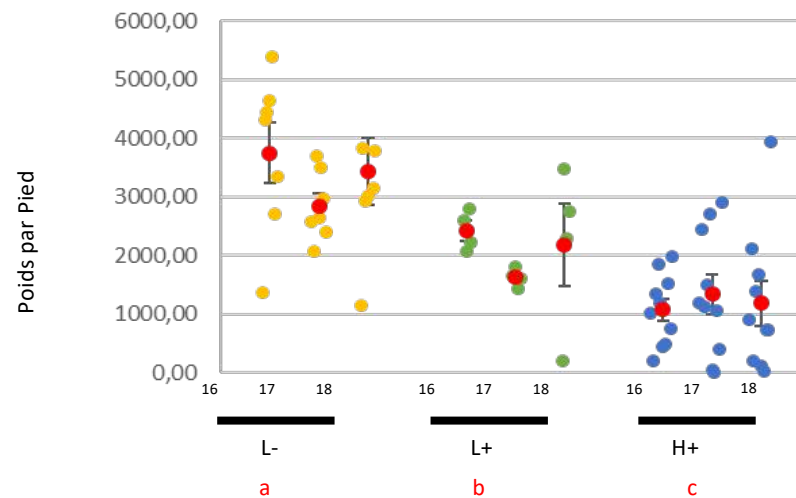
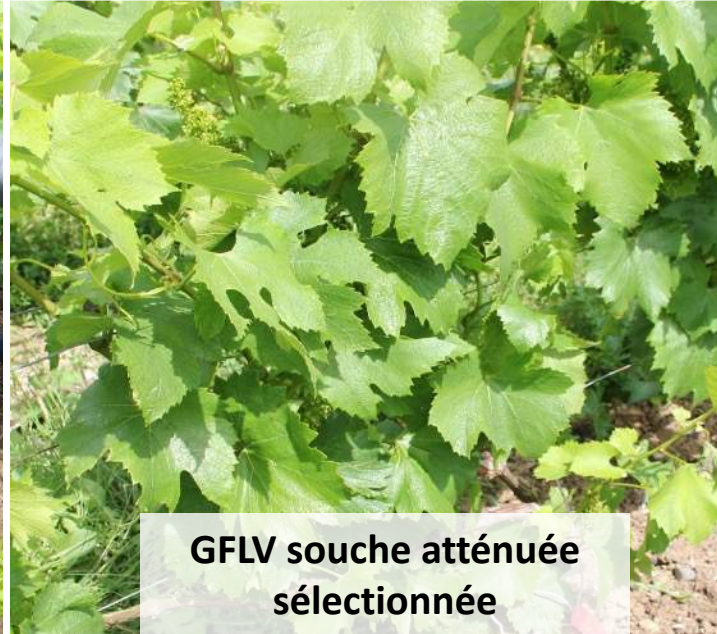
Critères de sélection des isolats viraux atténués



Mise en place de nouveaux essais de prémunition au vignoble en parcelles « court-noué » à l'issue de Vaccivine à partir de 2021



Les premiers résultats : sélection de souches virales atténuées



VACCIVINE ; pour en savoir plus : <https://www.plan-deperissement-vigne.fr/>

PLAN NATIONAL DÉPÉRISSEMENT DU VIGNOBLE

Le Webzine

ACTUS | VIDÉO DU MOIS | FICHE TECHNIQUE À LA UNE | FORMATION À LA UNE | PAROLE D'EXPERT | AVANCÉE DE LA RECHERCHE | CONTACT

▶ ACTUS ▶ A LA RECHERCHE DES VIGNES PRÉMUNIÉS

8 SEPTEMBRE 2019
A LA RECHERCHE DES VIGNES PRÉMUNIÉS

Thématiques

BASSIN(S) VITICOLE(S) : Tous

NATURE ET FACTEUR(S) DU DÉPÉRISSEMENT : Court-noué / autres virus

CÉPAGE(S) CONCERNÉ(S) : Tous

ÉTAPE(S) / PRATIQUE(S) CONCERNÉE(S) : Tous

YouTube

Rechercher

VACCIVINE

Intérêt de la prémunition en tant que méthode de biocontrôle du court-noué

Olivier Lemaire et Emmanuelle Vigne - Inra UMR SVQV- Colmar

LAURÉAT 2017

PLAN NATIONAL DÉPÉRISSEMENT DU VIGNOBLE

La prémunition comme méthode de biocontrôle du court-noué de la vigne

237 vues

Vidéo sur le site PNDV

29/08/2019 Vaccivine, premiers résultats du programme sur la prémunition | Plan National Déperissement du Vignoble

30 AOÛT 2019

VACCIVINE, PREMIERS RESULTATS DU PROGRAMME SUR LA PRÉMUNITION

Thématiques

BASSIN(S) VITICOLE(S) : Alsace - Est | Bourgogne - Beaujolais - Savoie - Jura | Champagne | Nature et facteur(s) du dépérissement : Court-noué / autres virus

CÉPAGE(S) CONCERNÉ(S) : Tous | ÉTAPE(S) / PRATIQUE(S) CONCERNÉE(S) : Établissement du vignoble

La prémunition, une stratégie de biocontrôle visant à vacciner la vigne pour diminuer l'impact du court-noué

Le grapevine fanleaf virus (GFLV) est l'un des virus responsables de la maladie du court-noué. Cette maladie, à l'origine d'un dépérissement en expansion dans le vignoble français, engendre des pertes économiques majeures mais ne bénéficie d'aucun moyen de lutte efficace. Afin de proposer une alternative de lutte antivirale durable au vignoble, le projet VACCIVINE (conduit par l'INRA de Colmar, 2018-2020) vise à étudier l'efficacité de la prémunition contre le court-noué. La prémunition est une méthode de biocontrôle qui consiste à inoculer une souche virale caractérisée et produisant des symptômes atténués, afin de protéger les plantes dites prémunies contre une infection ultérieure par des souches sévères du même virus. Cette stratégie s'apparente à une vaccination, dans laquelle des mécanismes de défense spécifiques des plantes sont stimulés.

Ce projet est basé sur un réseau d'expérimentations au vignoble dans lesquelles scientifiques et acteurs de la filière (Champagne, Alsace, Chambres d'Agriculture de l'Yonne et du Vaucluse) collectent des données agronomiques, sérologiques et moléculaires. En complément, les nouvelles techniques de séquençage à haut débit (ou High Throughput Sequencing, HTS) sont mises à profit pour caractériser exhaustivement les génomes complets des virus, appelés « virome », infectant les vignes.

A l'issue du programme VACCIVINE, un protocole sera défini pour :

1. assister les partenaires du projet qui réaliseront des prospections en vignobles fortement « court-noués » pour repérer des pieds infectés mais montrant peu de symptômes,
2. sélectionner des souches de GFLV atténuées adaptées à différents vignobles et cépages, et
3. caractériser finement et certifier la présence de la souche de GFLV sélectionnée dans les pieds prémunis, sans autres virus dommageables à la vigne, avant leur implantation dans ces mêmes zones fortement atteintes par la maladie pour de futurs essais de durabilité de cette stratégie.

Ce projet alliant des méthodologies traditionnelles (notations de symptômes, tests sérologiques, isolement de souches de GFLV, bouturages) avec des techniques nouvelles (analyse du virome de la vigne par HTS) sera l'une des premières réponses à la lutte biologique contre le court-noué et s'inscrit dans la durée pour accompagner la transition agro-écologique en viticulture.

<https://www.plan-deperissement-vigne.fr/webzine/avancee-de-la-recherche/vaccivine-premiers-resultats-du-programme-sur-la-premunition>

Articles de vulgarisation sur le site PNDV

Conclusions – comment vivre avec toutes ces viroses et avec la réduction des intrants en viticulture ?

- Poursuivre les **recherches fondamentales** sur les **interactions** entre les virus, la Vigne et leurs **vecteurs** ; acquérir des « **connaissances actionnables** » ; mécanismes de pathogénèse et de défenses ; **génétique des populations virales** et leur évolution dans un environnement complexe
- Imaginer des **stratégies innovantes de contrôle** des viroses – **recherche de résistances génétiques** (virus et vecteurs) et **preuve de concept** pour les **approches biotechnologiques** en particulier **genome et base editing** (mutations des facteurs de l'hôte impliqués dans le cycle viral)
- **Itinéraires culturaux innovants** et approches de **biocontrôle** (**prémunition, jachères, champignons nématophages, bionématicides** ...). **Itinéraires techniques** (**fertilisation azotée, taille, porte-greffe**...). Utilisation des **services éco-systémiques**. Restauration de la biodiversité ...
- Définir les **seuils de nuisibilité des viroses** et **surveiller les émergences**
- **Essais systèmes et Intégrations des approches** (utiliser tous les leviers, biologiques, génétiques, itinéraires techniques, ...) pour contrôler **durablement** les viroses de la vigne **en deçà de leur seuil de nuisibilité**



Sainfoin



Lotier corniculé



Luzerne



Trèfle violet



Jachère avec luzerne pour la lutte contre le court-noué en Alsace

Un ensemble de projets intégrant l'idée de « Vivre avec le court-noué » dont 3 au *Plan National dépérissement* :

« Vaccivine (2018) », « JaSympt (2019) » et « Coupe 1 (2019) », 1 thèse (« HypeGrape 2019 ») et 1 ANR soumis (« Resist »)

Axe 1 : Résistances génétiques et biotechnologiques **antivirales**

ANR combining

ANR Resist (soumis)

Axe 2 : Retarder les contaminations

Plantes de **jachère** :

Molécules bio-nématicides

Mécanismes

Itinéraires techniques

EcoPhyto BIOCOU

Multifolia

PNDV JaSympt

Axe 3 – Atténuer les symptômes :

Fertilisation azotée, taille, choix des PG, stade physiologique à la plantation ...

PNDV JaSympt

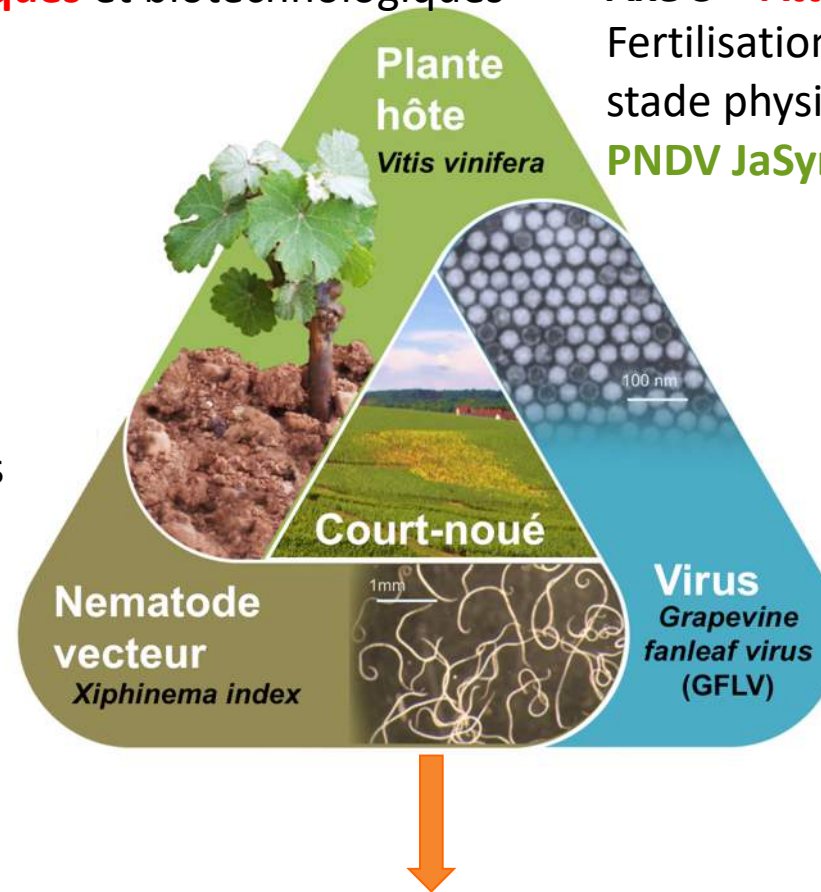
Axe 4 : Pouvoir pathogène et Prévalence du court-noué, nuisibilité :

détection (au vignoble ?), impact économique ...


Thèse In ViNo

Thèse HypeGrape

PNDV Coupe 1



En interaction étroite avec le projet « *Vaccivine* »



**Vers la transition agro-écologique au vignoble ;
objectif « 0 pesticide de synthèse » à l'horizon 2050 ??**