

INCIDENCES DE LA THERMOTHÉRAPIE *IN VITRO* SUR LES CARACTÉRISTIQUES DE PRODUCTION DE QUELQUES VARIÉTÉS DE *VITIS VINIFERA*

S. GREANAN et C. VALAT

Etablissement National Technique pour l'Amélioration de la Viticulture,
Domaine de l'Espiguette, 30240 Le Grau du Roi (France)

Résumé : Des essais comparatifs entre clones traités par thermothérapie et clones témoins de quatre variétés : Chenin B., Carignan N., Cinsaut N., Grenache N. ont été conduits selon un dispositif de randomisation totale. Les analyses statistiques réalisées pendant cinq années sur cinq variables permettent d'étudier les performances des clones. Pour une variété donnée les variables présentant une différence significative ne sont pas les mêmes d'une année à l'autre. Cependant, les clones traités manifestent le plus souvent un rendement supérieur au clone témoin tout en conservant une qualité comparable. La signification de ces différences est discutée. La diffusion du matériel traité ne peut être envisagée sans, au préalable, une expérimentation dans l'aire d'extension de chacune de ces variétés.

INTRODUCTION

Au cours de la sélection clonale les variétés de vigne subissent un contrôle systématique de leur état sanitaire. Les tests de dépistage permettent d'agréer des clones indemnes de viroses graves ayant une incidence économique.

Cependant, dans un certain nombre de situations, le mauvais état sanitaire des variétés nécessite d'effectuer un traitement thermique. La thermothérapie *in vitro* mise au point par GALZY (1963), pratiquée pendant de nombreuses années dans notre établissement, s'est révélée une méthode efficace de guérison (VALAT et al., 1979). Non seulement ce passage à la chaleur permet l'élimination de virus dangereux mais entraîne également une augmentation de la vigueur du matériel traité. Cette dernière propriété a conduit à multiplier préférentiellement des clones de variétés porte-greffes ayant subi ce traitement étant donné leur plus grande aptitude à produire du bois (VALAT et al., 1981).

Pour les variétés de *Vitis vinifera*, le problème se pose différemment. D'abord, la culture *in vitro* peut entraîner des modifications morphologiques rédhitoires si on ne prend pas certaines précautions avant de diffuser le matériel traité (GREANAN, 1979 et 1984). Mais en plus la thermothérapie, quelle que soit la technique utilisée (*in vitro* ou *in vivo*) peut entraî-

ner des modifications des caractéristiques de production.

Ainsi certains auteurs ont montré que le matériel traité est plus productif et plus vigoureux (BOVEY et *al.*, 1975; MUR, 1979; VANEK et *al.*, 1980; SCHOFFLING, 1981; VALAT et *al.*, 1981; WOODHAM et *al.*, 1984 a et b; Mc.CARTHY et *al.*, 1989). Ce comportement est généralement attribué à l'élimination de virus inconnus lors du traitement.

A l'inverse, des observations ont mis en évidence une baisse de production du matériel traité (VALAT et *al.*, 1981; GREANAN, 1982). Enfin certains essais n'ont pas fait apparaître de différence significative des performances entre les clones traités et non traités (BASLER et *al.*, 1981; BASLER, 1982).

Afin de vérifier l'incidence de la thermothérapie *in vitro* sur les caractéristiques de production, nous avons étudié, dans le présent article, quelques paramètres responsables du rendement et de la qualité de la vendange. Une meilleure connaissance de l'évolution de ces paramètres devrait permettre éventuellement de diffuser du matériel traité.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Cette étude a porté sur quatre cépages qui ont été traités par thermothérapie *in vitro* au laboratoire de viticulture de l'Ecole Nationale Supérieure Agronomique de Montpellier (ENSAM) et implantés au domaine de l'Espiguette.

Le Chenin B. ENTAV 228 et le Cinsaut N. ENTAV 11 sont deux clones indemnes de viroses graves (court-noué, enroulement, marbrure) avant traitement. Le Carignan N. ENTAV 237 est un clone atteint d'enroulement et de marbrure. Le Grenache N. ENTAV 440 est un clone marbré.

Des boutures de ces quatre variétés ont subi un traitement à 35°C pendant 90 jours. La descendance *in vitro* de ce traitement T1 a subi un deuxième traitement T2 identique au premier. La descendance du T2 a également subi un traitement T3 identique au premier et réalisé à l'ENTAV.

Seules des boutures terminales des traitements T2 et T3, après enracinement, ont été acclimatées en serre puis plantées non greffées dans les sables en 1970 (T2) et 1972 (T3). Un cep franc de pied correspond à une bouture issue d'un traitement. Les tests réalisés sur l'ensemble de ce matériel montre que tous les pieds traités sont sains vis-à-vis du court-noué, de l'enroulement et de la marbrure.

Pour chaque variété des sarments prélevés sur cinq ceps des traitements T2 et sur trois ceps (deux seulement pour le Cinsaut) des traitements T3 ont été greffés sur la variété SO4 à raison de 30 plants par cep traité. Parallèlement 30 plants de chacun des clones témoins ont été constitués. L'emplacement de chacun des 250 plants (30 témoins, 5 X 30 T2 et 3 X 30 T3) a donc été attribué après un tirage au sort. En 1981, l'ensemble de ce matériel a été mis au champ selon un dispositif de randomisation totale.

Les pieds sont conduits en cordon de royat double à 3 coursons par bras. Le temps nécessaire à la taille de formation dans les conditions d'un vignoble des sables est très long, aussi les premières pesées sur les pieds complètement formés n'ont commencé qu'en 1985. Au moment des vendanges les mesures ont porté sur cinq variables :

- nombre de grappes par pied V1
- poids de récolte par pied V2
- degré probable (sur le moût) V3
- Acidité totale V4
- pH V5

Les analyses statistiques n'ont été réalisées que pour les années 1987 à 1991. Le nombre de ceps étudiés variant chaque année du fait de leur formation progressive, l'analyse des données a été faite par la méthode de l'analyse de variance à une voie, en utilisant le logiciel SAS/STAT (SAS Institute Inc, 1987).

RÉSULTATS

Pour le clone de Chenin les analyses ne portent que sur les années 1987 à 1989 pour lesquelles aucune différence significative n'a pu être mise en évidence. Les mesures ont été arrêtées, car la variété étant mal adaptée aux conditions de culture dans les sables littoraux, les grappes ne peuvent être récoltées en bon état au moment de la vendange.

Pour le clone de Carignan les pesées ont été réalisées pendant 5 ans mais les deux dernières années de sérieux dégâts causés sur les ceps par les lapins ont fortement diminué les effectifs. Cependant les analyses des trois premières années montrent qu'avec des rendements identiques le degré (V3) en 1987 et en 1989 des ceps traités est significativement supérieur à celui des ceps témoins. En 1988 c'est le nombre de grappes par pied (V1) des ceps traités qui est significativement supérieur à celui des ceps témoins (avec un degré identique).

Seuls les résultats des clones de Cinsaut et de Grenache ont donc subi des analyses complètes durant cinq années (tableaux I et II)

En 1987 et 1988 les effectifs des témoins étant trop faibles aucune différence significative avec le matériel traité T2 et T3 n'est apparue.

Seules les trois dernières années de mesure ont permis de mettre en évidence des différences significatives pour certaines variables.

Pour le Cinsaut les variables présentant une différence significative sont réunies dans le tableau III. Le nombre de grappes par pied (V1) entre les traitements est significativement différent en 1989 et 1991. Le poids de récolte par pied (V2) des lots traités T2 et T3 est significativement supérieur à celui du témoin en 1990. Bien que le degré probable du moût (V3) des lots soit proche, une différence significative a été mise en évidence en 1991.

Tableau I

**Résultats de récolte du clone de Cinsaut N. ENTAV 11.
Moyennes annuelles des variables V1, V2, V3, V4, V5**

Traitements	Année	Effectif	V1	V2 (g)	V3	V4(g)	V5
Témoïn (t)	1987	1	7	1.450	11°8	4,8	3,3
	1988	1	10	1.600	10°6	—	—
	1989	7	10	4.644	10°5	5,1	3,1
	1990	11	23	7.282	9°	4,3	3,1
	1991	13	7	2.521	10°5	4,5	3,4
T2	1987	59	16	5.952	9°7	5,2	3,1
	1988	73	15	4.284	8°8	—	—
	1989	70	8	4.799	10°8	5,1	3,1
	1990	124	28	9.981	8°8	4,4	3,1
	1991	116	9	3.669	10°1	4,8	3,3
T3	1987	24	15	5.897	9°9	5,2	3,1
	1988	32	13	3.975	8°9	—	—
	1989	27	13	4.753	10°1	5,3	3,1
	1990	47	31	10.394	8°7	4,4	3,1
	1991	44	11	4.038	9°8	4,9	3,4

TABLEAU II

**Résultats de récolte du clone de Grenache B ENTAV 440.
Moyennes annuelles des variables V1, V2, V3, V4, V5**

Traitements	Année	Effectif	V1	V2 (g)	V3	V4(g)	V5
Témoïn (t)	1987	2	12	3.645	11°4	4,4	2,9
	1988	7	17	3.891	9°4	—	—
	1989	9	10	3.381	10°8	5,2	3,1
	1990	11	14	5.031	11°8	3,8	3,2
	1991	8	6	1.874	12°1	5,2	3,7
T2	1987	69	15	5.101	11°7	4,9	3,1
	1988	91	19	4.739	9°3	—	—
	1989	84	10	3.628	11°1	5,8	3,1
	1990	110	20	6.403	11°7	4,2	3,2
	1991	109	9	2.765	12°	5,6	3,2
T3	1987	44	15	5.244	11°7	4,8	3,0
	1988	63	18	4.452	9°1	—	—
	1989	66	10	3.695	11°	5,8	3,1
	1990	81	19	6.310	11°6	4,3	3,2
	1991	83	10	7.021	12°	5,8	3,1

Pour le Grenache les variables présentant une différence significative sont réunies dans le tableau IV. Le nombre de grappes par pied (V1) des lots traités T2 et T3 est significativement supérieur à celui du témoin en 1991. Le poids de récolte par pied (V2) des lots traités T2 et T3 est significativement supérieur à celui du témoin en 1990 et 1991. L'acidité totale (V4) des lots traités T2 et T3 est significativement supérieure à celle du témoin en 1990.

TABLEAU III

Analyse de variance pour le clone de Cinsaut (témoin , T2 et T3 non virosés)

Année / Variables	1989	1990	1991	
	V1	V2	V1	V3
Moyenne t	9,71	7.282	7,08	10°47
Traitement T2	8,20	9.952	9,45	10°09
T3	11,08	10.315	10,98	9°82
Pr > F	0,024	0,006	0,017	0,024

TABLEAU IV

**Analyse de variance pour le clone de Grenache
(témoin atteint de marbrure, T2 et T3 sans marbrure)**

Année / Variables	1989	1990		1991	
	V4	V2	V4	V1	V2
Moyenne t	5,22	5.031	3,81	6,13	1.874
Traitement T2	5,73	6.459	4,28	8,85	2.769
T3	5,85	6.327	4,27	9,83	3.019
Pr > F	0,015	0,047	0,011	0,020	0,05

DISCUSSION ET CONCLUSION

Ce travail de comparaison entre clones traités par thermothérapie et non traités a d'abord mis en évidence les difficultés pratiques à réaliser des essais dans les conditions d'un vignoble des sables. La lenteur de la croissance est un handicap pour la formation des ceps et malgré le grand nombre d'années d'observations il n'a pas été possible d'avoir des effectifs égaux entre les lots. Ces conditions font que les interprétations statistiques sont plus limitées.

Les résultats montrent qu'il n'y a pas de variable qui évolue de façon constante. Pour une variété donnée ce ne sont pas les mêmes paramètres qui présentent une différence significative d'une année à l'autre. Il est donc difficile d'établir une tendance générale de l'influence du traitement sur le comportement des plants.

Malgré ces réserves on peut remarquer que, même s'il n'y a pas de différences significatives, les mesures des variables (V1 et V2) (caractérisant le rendement) des clones traités sont presque toujours supérieures à celles des clones témoins (tableau I et II). Cette observation se vérifie également pour les deux premières années (1985 et 1986) de récoltes non retenues pour l'analyse statistique et aussi pour les deux cépages (Chenin et Carignan) où les mesures sont incomplètes.

Par contre, les variables (V3, V4, V5) caractérisant le potentiel qualitatif ont un comportement très proche entre les clones traités et non traités malgré les différences de rendement pouvant exister. On ne constate jamais de différence significative pour le pH (V5) qui n'est donc pas une variable permettant de différencier les clones.

Le degré (V3) et l'acidité totale (V4) présentent certaines années une différence significative bien que les moyennes des mesures aient des valeurs très voisines (exemple : V3 en 1991 dans tableau III). Compte tenu des imperfections déjà signalées du dispositif, on peut s'interroger sur la signification biologique de la différence mise en évidence. On peut raisonnablement considérer que les paramètres de qualité des clones traités ne sont pas biologiquement modifiés par rapport à ceux des clones témoins. Cela signifie dans la pratique que si la thermothérapie a tendance à augmenter le rendement (apprécié par V1 le nombre de grappes par cep, mais surtout par V2 le poids de récolte par cep) des clones traités, elle n'entraîne pas pour autant une baisse de la qualité comme on aurait pu le craindre.

On doit souligner par ailleurs que les performances sensiblement supérieures des clones traités se manifestent de la même façon pour les quatre variétés étudiées et ceci quel que soit l'état sanitaire du clone témoin avant traitement. Par conséquent, il semble que l'effet positif du passage à la chaleur est indépendant de l'état sanitaire du matériel de départ : sain pour les clones de Chenin et de Cinsaut, virosé pour les clones de Carignan (enroulement et marbrure) et de Grenache (marbrure). Ainsi le clone de Grenache marbré avant traitement et sain après traitement a un comportement comparable au clone de Cinsaut sain avant et après traitement. Au moins pour le virus de la marbrure il ne semble pas y avoir d'effet dépressif marqué sur les performances du clone témoin. Pour cette virose une expérimentation est en cours sur la variété Pinot N. afin d'apprécier une influence éventuelle de la présence du virus sur les performances du clone.

Pour la variété Cinsaut il faut attirer l'attention sur le fait que, si le rendement du matériel issu de traitement *in vitro* est bien significativement supérieur à celui du matériel initial, il n'en allait pas de même sur les clones traités et plantés francs de pied. En effet, les boutures issues du traitement T2 mises directement au champ au domaine de l'Espiguette ont montré pendant de nombreuses années une chute importante de la production. Ce sont ces ceps dépressifs qui ont servi de matériel pour réaliser notre essai. Ce comportement s'avère délicat à interpréter :

- soit le faible niveau de production avant greffage a permis d'obtenir par la suite un meilleur comportement que le témoin;

- soit le matériel est mieux adapté, dans ce milieu, à la culture sur le porte-greffe SO4.

On peut considérer le nombre de grappes par cep (V1) comme une composante de l'expression de la fertilité. Cette variable en 1991 (Tableau III) apparaît significativement supérieure pour les clones traités. Or ce même matériel avait, antérieurement à notre expérimentation, été greffé, planté dans un autre type de sol et conduit en gobelet. Un comptage des inflorescences avait confirmé l'effet défavorable sur la fertilité du clone traité de Cinsaut (VALAT *et al.*, 1981). Ces contradictions apparentes montrent bien qu'il faut rester prudent vis-à-vis de la signification biologique des résultats.

L'adoption d'un dispositif d'implantation en blocs aurait sans doute permis une interprétation statistique plus fine. Mais surtout une plus grande homogénéité de la croissance des ceps aurait justifié de mesurer d'autres variables comme : le poids de bois de taille, le nombre de baies par grappes ou le poids des baies, qui auraient ainsi accru notre appréciation du comportement des clones traités.

Enfin, il faut noter qu'au cours du greffage des plants directs issus des traitements il n'a pas été tenu compte du niveau sur le sarment du bourgeon greffé. Or l'on sait que le niveau de prélèvement a une influence sur les caractéristiques morphologiques mais aussi sur la fertilité (GRENNAN, 1982). Le greffage de bourgeons issus d'un même niveau de fertilité aurait peut-être permis de mieux apprécier les différences de comportement.

Cet essai a montré au moins pour les variétés étudiées et dans nos conditions d'expérimentation, une augmentation des performances des clones traités par rapport aux clones témoins. Les différences significatives mises en évidence ne sont pas constantes dans le temps. Mais il apparaît que l'élévation du rendement ne conduit pas à une baisse de degré.

Les variations observées apparaissent avoir moins d'ampleur que celles concernant les caractéristiques morphologiques. Cependant les aptitudes de production semblent tributaires des conditions d'implantation et une généralisation des résultats paraît difficile. Aussi une bonne maîtrise du matériel traité reste soumise, avant diffusion, à une expérimentation complémentaire dans quelques vignobles de l'aire d'extension de chacune de ces variétés.

Remerciements

Nous exprimons nos plus vifs et sincères remerciements à M. WAGNER pour son aide et ses précieux conseils lors de l'analyse statistique des résultats, ainsi qu'à M. BOUGUessa pour sa participation à la saisie des données.

Manuscrit reçu le 9 mars 1992; accepté pour publication le 27 avril 1992.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- BASLER P., 1982. Comparaison entre les clones de Bourgogne bleu traités et non traités par la chaleur. *Schweizerische Zeitschrift für Obst. und Weinbau*, **13**, 379-384.
- BASLER P. et BRUGGER J.J., 1981. Résultats préliminaires d'une comparaison entre les clones de Pinot noir obtenus par sélection visuelle et les mêmes clones après thermothérapie. *Rev. Suisse Vitic. Arboric. Hortic.*, **13**, n°6, 337-339.
- BOVEY R., BRUGGER J.J., SIMON J.C et JACQUINET A., 1974. La sélection sanitaire de la vigne en Suisse romande. *Rev. Suisse Vitic. Arboric. Hortic.*, **6**, n°3, 77-83.
- GALZY R., 1963. Thermothérapie de quelques variétés de vigne. *Progr. Agric. Vitic.*, n° 22, 255-261 et n° 23, 292-297.
- GRENAN S., 1979. Possibilités d'élimination des modifications foliaires apparues sur la variété de Grenache N. après un passage prolongé en culture *in vitro*. *Progr. Agric. Vitic.*, **96** n°7, 152-157.
- GRENAN S., 1982. Quelques réflexions à propos des modifications morphogénétiques consécutives à la culture *in vitro* chez la vigne (*Vitis vinifera* L.). *Ann. Scienc. Natur.*, **13**, n°4, 135-146.
- GRENAN S., 1984. Polymorphisme foliaire consécutif à la culture *in vitro* de *Vitis vinifera* L. *Vitis*, **23**, 159-174.
- Mc CARTY M.G., CIRAMI R.M. et VAN VELSEN R.J., 1989. Virus thermotherapy effects on the performance of a Muscadelle selection. *Vitis*, **28**, 13-19.
- MUR G., 1979. Thermothérapie de variétés de *Vitis vinifera* par la méthode de culture *in vitro*. Quelques observations. Quelques résultats. *Progr. Agric. Vitic.*, **96**, n°7, 148-151.
- SAS INSTITUTE INC., 1987. *SAS/STAT, Guide for Personnel Computers*, Version 6 Edition. Cary, NC, SAS Institute Inc., 1.028 p.
- SCHÖFFLING F., 1981. Premiers résultats d'un essai de clones de Riesling traités par la chaleur. *Rev. Suisse Vitic. Arboric. Hortic.*, **13**, 6, 331-333.
- VALAT C., GRENAN S. et AURAN G., 1981. Thermothérapie *in vitro* : premières observations sur les aptitudes de quelques variétés de porte-greffes et de *Vitis vinifera* traitées. *Vignes Vins*, **298**, 17-23.
- VALAT C., GRENAN S., AURAN G. et BONNET A., 1979. Guérison de quelques maladies à virus de la vigne par thermothérapie de plantules cultivées *in vitro*. *Vignes Vins*, **284**, 19-22.
- VANEK G., MIKUSOVA A., KRIVANEK V. et BOJNANSKY V., 1980. The production values of virus-free vine clones. *Sbor. Uuvtig. Ochr. Rostl.*, **16**, n°2, 89-95.
- WOODHAM R.C., ANTCLIFF A.J., KRAKE L.R. et TAYLOR RH. (1984 a). Yield differences between Sultana clones related to virus status and genetic factors. *Vitis*, **23**, 73-83.
- WOODHAM R.C., EMMENT R.W. et FLETCHER G.C., 1984 b. Effects of thermotherapy and virus status on yield, annual growth and grape composition of Sultana. *Vitis*, **23**, 268-273.