L'application des radiations pour l'obtention de vignes résistantes au *Plasmopara*

par

M. P. COUTINHO

Institut Supérieur de l'Agronomie, Lisbonne, Portugal

Anwendung der Strahlungstechnik zur Erzielung plasmopararesistenter Reben

Zusammenfassung. — Die Züchtung von Reben mit dem Ziel der Resistenz gegen *Plasmopara viticola* ist für Portugal von sehr großer Bedeutung, denn in diesem Land ist der Mehltau noch die häufigste Pilzkrankheit der Rebe.

Der polyfaktorielle Charakter dieser Resistenz, der sich in Form begrenzter Infektionsflecken auf den Blättern äußert, fehlende „Resistenzquellen“ in *Vitis vinifera* und Korrelationen zwischen den Resistenzgenen und einigen anderen Genen, die eine mindere Traubenqualität verursachen, rechtfertigen das Interesse an der experimentellen Mutagenese. Wir haben daher in unser Züchtungsprogramm, das wir seit langem mit klassischen Methoden durchführen (Klonenzüchtung, Kreuzung und Massenausssaat), die Behandlung von Sämlingen und Edelreisern mit X- und Neutronen-Strahlen einbezogen.

In diesem Referat werden die bisher in bezug auf den Prozentsatz der Samenkeimung und der chlorotischen Sämlinge sowie auf die Züchtung mehlttauresistenter Pflanzen erzielten Resultate dargelegt.

Introduction

Parmi les travaux d'amélioration de vignes au point de vue de la résistance aux maladies cryptogamiques, on fait ressortir, par son intérêt, le problème du mildiou sûrement la plus importante maladie de nos vignobles et à laquelle nous travaillons depuis longtemps, en employant des méthodes classiques, parmi lesquelles l'hybridation intraspécifique a donné les meilleurs résultats.

Cependant, le caractère polyfactoriel de cette résistance quantitative, du type «horizontal», traduite par des taches limitées d'infection sur les feuilles, le manque de «sources de résistance» dans la *Vitis vinifera* et de corrélations entre des gènes de résistance et quelques autres, relatives à des mauvaises qualités des raisins, justifie, dans ce problème, l'intérêt de l'induction à la mutagenèse, particulièrement pour obtenir des micromutations, considérées plus fréquentes et moins nuisibles pour le génôme, que les macromutations (GAUL 1963).

En conséquence, dans notre programme d'amélioration, nous avons inclus, depuis 1966, l'application des rayons X et des neutrons sur des semences et des greffes.

Matériel et Méthodes

Actuellement nous avons déjà dans notre Institut un appareil Balteau de rayons X, mais dans les premières applications on a utilisé des rayons X, obtenus dans un accélérateur «Von Graff» du Laboratoire National de Physique et d'Energie Nucléaire de notre pays. Nous avons employé aussi des neutrons, utilisant le réacteur de ce même laboratoire.

Pendant l'application, à 20 KV, la distribution de l'énergie du spectre était représentée par un flux de neutrons rapides et les doses ont été calculées en rad par

la formule de HURST. — Les doses d'irradiation plus fréquentes ont été: 200, 600 et 1000 rad, mais d'autres ont été appliquées aussi pour déterminer les plus favorables à notre objectif.

La semence pour l'irradiation nous a été fournie, chaque année, par la Station Vitivinicole de l'Ouest et provient de variétés de *V. vinifera* renommées dans la région. — L'humidité des semences avant les traitements a été environ 13%. — Après l'application, les pépins ont été ensemencés dans des «boîtes de végétation» ou alors dans le sol, en grandes quantités.

Nous présentons ensuite quelques résultats obtenus durant les dernières années sur le pourcentage des semences germinées et des plants de semis chlorotiques et sur la sélection des plantes résistantes au mildiou, qui proviennent des pépins irradiés.

Résultats et Discussion

1. Pourcentage de la germination des pépins

En général, on peut considérer les radiations ionisantes, employées dans la mutagenèse, comme des «agents nuisibles» au niveau moléculaire; cependant, on sait aujourd'hui que l'application de doses réduites peut toutefois donner des effets utiles qu'on appelle «stimulation», phénomène qui peut présenter d'indubitable intérêt (KUZIN *et al.* 1972, GAUR et JOSEPH 1972). Nous avons aussi obtenu dans quelques cultivars de *V. vinifera* un effet de stimulation (COUTINHO 1972): L'irradiation des semences, particulièrement par des doses réduites de rayons X, a donné origine à une augmentation du pourcentage de germination, ce qui est avantageux au point de vue pratique, puisque la germination des pépins est habituellement très réduite et lente (BALHAZARD 1966).

Avec les rayons X, dans les variétés Fernão Pires et Vital, les doses de 500 et 1000 rad ont donné une stimulation sur le pourcentage de la germination, significative au niveau de 1%, dans le teste «t», en rapport avec le témoin.

Les résultats obtenus avec des neutrons sont plus irréguliers et ainsi la même variété peut présenter, en différentes années, des comportements variables: Dans la variété Fernão Pires, par exemple, en 1971 tous les traitements ont provoqué une réduction de germination, mais en 1973 on a vérifié un effet de stimulation aux doses de 200 et 600 rad.

Cependant, dans la plupart des traitements avec des doses réduites de neutrons, le pourcentage de germination a été plus élevé que celui du témoin, comme on peut observer, par exemple sur le Tableau 1. En ce qui concerne seulement le pourcenta-

T a b l e a u 1
Pourcentage de la germination des pepins (var. Tinta Miúda)
Anteil der gekeimten Samen (Sorte Tinta Miúda)

Rep.	Traitements (neutrons)					T ₁ témoin
	A ₂₀₀	B ₆₀₀	C ₁₀₀₀	D ₂₀₀₀	E ₃₀₀₀	
I	40,8	25,7	17,9	19,6	3,5	29,3
II	39,2	27,8	20,5	13,5	4,6	27,0
III	36,6	28,2	19,3	16,9	4,2	30,1
IV	41,0	23,1	23,1	17,2	2,9	24,8
M	39,4**	26,2	20,2	16,8	3,8	27,8

** — Significatif au niveau de 1% dans le teste «t».

ge de germination des pépins, l'efficacité biologique relative (RB_E) des neutrons a été vers cinq fois plus élevée que celui des rayons X.

2. Pourcentage des plantes de semis chlorotiques

Dans les semilles des pépins irradiés on a toujours remarqué des jeunes plantes chlorotiques que nous admettions provenir d'une action nuisible des radiations sur les chloroplastes.

Néanmoins, nous n'avons trouvé aucune corrélation entre le pourcentage des plantules chlorotiques et les doses d'irradiation avec rayons X et des neutrons, mais il y avait de grandes différences parmi ce pourcentage, dans les diverses variétés. Ceci nous fait croire que le phénomène est dû à des facteurs génétiques, mis en évidence par la propagation séminale d'une plante hétérozygotique.

3. Sélection des plantes résistantes

Dans les plantes susceptibles de *Vitis vinifera*, sous des conditions écologiques favorables, les infections se développent dans la mesophylle et peuvent se répandre sur toute la feuille.

Mais, toutes les plantes de *V. vinifera* ne présentent pas la même susceptibilité à la maladie; ainsi avons nous étudié le degré de susceptibilité des cultivars de notre pays au début de nos travaux.

Néanmoins, le caractère polygénique du système, réglant une résistance quantitative, fait ressortir l'importance de la base physiologique, ce qui justifie l'intérêt de l'étude de quelques phénomènes, plus enchainés avec les conditions particulières du développement du parasite.

C'est pourquoi, dans notre département on a commencé l'étude de quelques questions dont on peut admettre particulièrement l'importance pour l'analyse du problème:

- L'hydratation des tissus des feuilles (DPD, turgescence, potentiel osmotique, taxe de transpiration, etc.),
- photosynthèse (spectre de la chlorophylle, taxes de photosynthèse et de respiration, etc.),
- composition biochimique (doses de chlorophylle, phénols, etc.).

Nous n'avons pas encore de résultats suffisants pour permettre une interprétation valable mais il y a déjà quelques informations qui présentent un certain intérêt.

Ainsi, par exemple, on a obtenu:

- De plus grandes quantités de chlorophylle dans les plantes résistantes essayées.
- Des courbes d'absorption plus élevées dans le spectre de la chlorophylle de ces variétés.
- Des doses plus petites de phénols totaux dans les plantes résistantes, contrairement à ce qu'on pouvait admettre.
- Une transpiration plus forte dans les plantes résistantes.

Bien que dans quelques Vitacées les infections des feuilles sont la conséquence de l'hypersensibilité de petites nécroses (BOUBALS 1959), la résistance dans les plantes de *V. vinifera* se traduit seulement par des taches réduites sur les feuilles, correspondant à une expansion limitée du mycelium (СОУПННО 1964). Ces taches, dont le contour généralement polygonal suit les nervures, si l'état hygrométrique est élevé, peuvent présenter des conidiophores, bien que souvent moins sporulés. Sous des conditions de faible humidité, les tissus infectés se dessèchent rapidement et parfois les taches ne présentent pas de conidiophores ressemblant au type nécrotique.

Tableau 2
Plantes sélectionnées 1968—1970
Selektierte Pflanzen 1968—1970

Première sélection	Dates d'inoculation			
	Inoculation:	Inoculation:	Inoculation:	
	Juil. Août 1968	Juin 1969	Juin Juil. 1970	
237 (1967)	40	4	v.4	v.4
			v.6	v.6
			v.8	v.8
			v.57	v.57
13 (1969)				2 v.707
				v.777

Il y a encore une autre sorte de tache réduite, où l'infection est entourée par des tissus nécrosés; c'est une sorte de «ring-spot».

Les clones que nous avons sélectionnés selon ce critérium ont une résistance suffisante pour dispenser habituellement des traitements anticryptogamiques.

Malgré l'existence de quelques biotypes du *Plasmopara*, différenciés par des caractères morphologiques et biométriques on n'a jamais trouvé, jusqu'à présent, qu'ils soient pathogéniquement différents (COUTINHO 1956, RAFAÏLA et DAVID 1961. SURYAL 1965). L'inexistence de ces biotypes rend plus difficile l'étude génétique de la résistance, mais elle est très importante, au point de vue pratique, pour l'amélioration.

La sélection des plantes obtenues à partir de pépins irradiés, selon les types de taches des feuilles déjà décrits, a été effectuée d'après leur comportement, face aux infections naturelles et aux inoculations. À la fin de l'année 1970 nous avons eu 6 cépages, provenant déjà des sélections de 68 et 69 (Tableau 2). Trois de ces plantes descendent de Vital et les autres de Fernão Pires. Les nos. 8, 703 et 777 sont les plus résistantes (Tableau 3).

Tableau 3
Plantes sélectionnées 1971
Selektierte Pflanzen 1971

Variétés	Cép. No.	Dates d'inoculation (1971)					
		Mai		Juin		Juillet	
		5	31	7	15	5	16
Vital	4	R	Rm	m	m	m	m
1 000 rads							
Vital	6	—	—	—	R	m	m
1 000 rads							
Vital	8	R	R	R	R	R	R
1 000 rads							
Fernão Pires	57	R	R	—	m	m	m
500 rads							
Fernão Pires	703	R	R	R	R	R	R
500 rads							
Fernão Pires	777	R	R	R	R	R	R
2 000 rads							

R — Résistante,
m — susceptible.

Tableau 4
Plantes sélectionnées 1973
Selektierte Pflanzen 1973

Variétés	Cép. No.	Dates d'inoculation (1973)			
		mai		juin	
		15	24	1	22
Vital					
1 000 rads	4	R	R	Rm	Rm
Vital					
1 000 rads	6	Rm	Rm	Rm	m
Vital					
1 000 rads	8	R	R	R	R
Fernão Pires					
500 rads	57	R	R	R	Rm
Fernão Pires					
500 rads	703	R	R	R	R
Fernão Pires					
2 000 rads	777	R	R	R	R

R — Résistante,
Rm — résistance moyenne.

En 1973 le comportement est un peu différent mais les mêmes numéros sont, de nouveau, les plus résistants (Tableau 4). Par la sélection des plantes de la semaille de 1972, nous avons obtenu en 1973 cinq plantes, mis en évidence par les infections naturelles, et qui présentent, sous les inoculations, un type de taches très réduit (Tableau 5).

Je crois que ces résultats, bien que préliminaires, montrent l'intérêt de l'irradiation pour l'obtention de vignes résistantes au *Plasmopara*.

Tableau 5
Plantes sélectionnées 1973
Selektierte Pflanzen 1973

Variétés (semaille 1972)	Doses d'irradiation (rads)			
	200	600	1000	T
Vital	490	467	404	556
	0	2*	1*	0
Fernão Pires	180	183	167	169
	0	0	0	0
Alicante Branco	229	20	7	17
	0	0	1*	0
Tinta Miúda	0	113	109	118
	0	0	0	0
Santarém	80	94	38	66
	0	1*	0	0
Alvarelhão		200		218
		0		0

* — Résistantes.

Résumé

L'amélioration génétique de la vigne, en ce qui concerne la résistance au *Plasmopara viticola*, est un problème d'un très grand intérêt au Portugal, parce que le mildiou est encore la maladie cryptogamique la plus importante de la vigne dans ce pays.

Le caractère polyfactoriel de cette résistance traduit par des taches limitées d'infection sur les feuilles, le manque de «sources de résistance» de *Vitis vinifera* et de corrélations entre les gènes de résistance et quelques autres gènes responsables de mauvaises qualités des raisins, justifient l'intérêt de la mutagenèse expérimentale.

En conséquence, nous avons inclu dans notre programme d'amélioration, initié depuis longtemps avec des méthodes classiques (sélection clonale, hybridation et semis en masse), l'application des rayons X et des neutrons sur des semences et des greffes.

Dans cette communication on présente les résultats obtenus jusqu'à présent en ce qui concerne le pourcentage de la germination des pépins et des plants de semis chlorotiques et en ce qui concerne la sélection des plantes résistantes au mildiou.

Références Bibliographiques

- BALTHAZARD, J., 1966: Sur les causes de la mauvaise germination des graines de Vignes. C. R. Acad. Hebd. Séances Sci. (Paris) 262, 269—272.
- BOUBALS, D., 1959: Contribution à l'étude des causes de la résistance des vitacées au mildiou de la Vigne et de leur mode de transmission héréditaire. Ann. Amélior. Plantes 9, 5—233.
- COUTINHO, M. P., 1956: O comportamento de algumas Videiras resistentes à *Plasmopara viticola* perante a modificação das condições ecológicas. Actas 23. Congr. Luso-Espanhol Progr. Cienc., 427—433.
- — —, 1964: Some vine clones resistant to *Plasmopora*. *Vitis* 4, 341—346.
- — —, 1972: Some results of X-ray and neutron application on vine breeding. *Genét. Ibér.* 24, 77—92.
- GAUL, H., 1963: Induced mutation in plant breeding. Proc. XI. Internatl. Congr. Genet. 11, 689—709.
- GAUR, B. K. and JOSEPH, B., 1972: Nature of radiation. Induced stimulation in seedling growth. *Stimul. Newsletter* 4, 43—54.
- KUZIN, A. M. *et al.*, 1972: Theoretical bases and practical results of the preirradiation of seeds with gamma-rays in USSR. *Stimul. Newsletter* 4, 1—11.
- RAFAILA, C. and DAVID, Z., 1961: Morphology modifications in sporangia and sporangiophores of *Plasmopara viticola* in relation to vine varieties and environmental conditions. *Lucr. Grad. Bot. Bucuresti* 2, 983—992.
- SURYAL, G. F., 1965: On the inheritance of resistance in vine to mildew. *Vestn. Sel'skhoz. Nauki* 4, 137—143.

Prof. M. P. COUTINHO
 Inst. Sup. de l'Agronomie
 Lisbonne
 Portugal