

# Distribution des maladies virales dans le vignoble de La Côte (VD)

Jean-Sébastien REYNARD, Justine BRODARD et Olivier VIRET, Agroscope, 1260 Nyon

Renseignements: Jean-Sébastien Reynard, e-mail: jean-sebastien.reynard@agroscope.admin.ch, tél. +41 58 460 43 69, www.agroscope.ch



Rougisement du feuillage dû à la maladie virale de l'enroulement sur Galotta (malade à droite, sain à gauche).

## Introduction

La vigne est probablement l'espèce ligneuse qui abrite le plus grand nombre de virus, qui vivent en parasite à l'intérieur de ses cellules. Plus de 60 virus différents ont été décrits à ce jour sur *Vitis vinifera*. Les viroses les plus graves nuisent à la vigueur et à la longévité d'un cep et peuvent affecter gravement la quantité et la qualité de la récolte. Les symptômes associés à ces viroses se confondent souvent avec des carences ou d'autres affections et c'est pourquoi il reste difficile et aléatoire de diagnostiquer une maladie virale uniquement sur la base de symptômes visuels. Afin de déterminer la pré-

sence de certains virus et leur abondance dans le vignoble, Agroscope a entrepris un monitoring en choisissant comme modèle le vignoble vaudois de La Côte. Des outils de diagnostic de laboratoire ont été utilisés afin d'évaluer de manière fiable la prévalence des différents virus dans ce vignoble. En épidémiologie, la prévalence équivaut à la proportion de la population infectée par un pathogène à un moment donné.

Chaque virus est désigné par un nom officiel en anglais et par l'acronyme qui en résulte. Par exemple, le virus du court-noué est le *Grapevine fanleaf virus* et son acronyme le GFLV. Différentes viroses de la vigne sont décrites dans l'encadré.

## Matériel et méthodes

### Récolte des échantillons

Le protocole de récolte des échantillons a été réalisé en janvier 2012 sur 60 microparcelles (de 500m<sup>2</sup> environ chacune) choisies au hasard sur l'ensemble de la région de La Côte. A l'intérieur d'une parcelle, 30 ceps ont été échantillonnés au hasard. L'échantillonnage, effectué à l'aveugle, ne s'est pas basé sur l'observation de symptômes. Les virus étant parfois répartis de manière hétérogène au sein d'un cep de vigne, chaque échantillon était constitué de trois sarments différents provenant d'un même cep.

### Diagnostic

La reconnaissance des maladies virales sur la base de symptômes visuels n'est pas fiable et est très imprécise. Des tests de diagnostic en laboratoire sont donc nécessaires pour confirmer l'origine virale de l'infection et déterminer l'agent impliqué. La technique de détection principale utilisée dans cette étude a été le test ELISA (*Enzyme-Linked Immunosorbent Assay*), particulièrement adapté aux analyses en série. Lorsque les réactifs sérologiques (anticorps) n'étaient pas à disposition, les infections virales ont été identifiées en ciblant le matériel génétique du virus par une analyse PCR (*Polymerase Chain Reaction*).

### ELISA

Les tests ELISA ont été réalisés comme décrit par Guggerli *et al.* (1984), avec les réactifs de la firme Bioreba AG sur les 1800 échantillons récoltés. Les virus diagnostiqués par ELISA étaient ceux de l'enroulement (GLRaV-1, GLRaV-2, GLRaV-3 et GLRaV-4), de la marbrure (GFkV) et du court-noué (ArMV et GFLV).

### PCR

La méthode par PCR étant peu adaptée aux analyses en série, la taille de l'échantillonnage a dû être réduite. Par conséquent, 30 ceps d'une parcelle ont ainsi été groupés en un échantillon analysé pour les virus suivants:

**Résumé** Certains virus peuvent sévèrement impacter la production viticole. Afin d'évaluer la fréquence de ces pathogènes, un monitoring a été réalisé par Agroscope dans le vignoble de La Côte (VD). Les résultats de cette étude montrent que des viroses graves comme le court-noué et l'enroulement sont fortement répandues dans les vignobles. Le virus émergent *Grapevine Pinot gris-associated virus* (GPGaV) a aussi été identifié pour la première fois en Suisse. Les maladies à virus sont persistantes et incurables, et l'abondance des pathogènes observés dans cette étude démontre bien l'importance de la sélection sanitaire et de la filière de certification dans la lutte contre ces maladies.

GLRaV-7, GRSPaV, GRBaV, GVA, GVB et GPGaV. Ainsi, nous ne disposons pas pour ces virus de données sur le taux d'infection au sein d'une parcelle, mais uniquement de l'information présence ou absence. Le protocole utilisé est décrit en détail par Reynard *et al.* (2015).

### Traitement des données

Le traitement statistique des données (comparaison des taux d'infection, par exemple) a été réalisé à l'aide du logiciel libre R.

## Résultats et discussion

Les résultats des analyses virologiques sont résumés dans le tableau 1. Les trois virus GRBaV, GLRaV-7 et GVA n'ont pas été détectés dans les parcelles étudiées, alors que le virus GRSPaV y a été identifié partout. De même, le virus responsable de la marbrure (GFkV) a été détecté dans presque toutes les parcelles où plus d'un tiers des ceps analysés étaient infectés. Ces deux pathogènes n'étant pas éliminatoires dans la sélection sanitaire des clones de vigne, il n'est dès lors pas surprenant que ces virus se retrouvent fréquemment dans les vignobles. ➤

**Tableau 1 | Résultats des analyses pour les différentes maladies virales avec le(s) virus correspondant(s). Les virus suivants ont été analysés, mais pas détectés dans le vignoble de La Côte: GLRaV-7, GVA et GRBaV.**

Maladie virale	Proportion des parcelles où les virus correspondants ont été mis en évidence	Virus et taux d'infection moyen sur l'ensemble des échantillons
Court-noué	57 %	GFLV (10 %), ArMV (1 %)
Enroulement	80 %	GLRaV-1 (4 %), GLRaV-2 (26 %), GLRaV-3 (6 %), GLRaV-4 (1 %)
Marbrure	97 %	GFkV (35 %)
Bois rugueux	36 %	GVB
Bois rugueux	100 %	GRSPaV
Virus du Pinot gris	15 %	GPGaV

## Description | Différentes viroses de la vigne

**Maladie du court-noué**

Le court-noué se manifeste par une série d'anomalies sur divers organes de la vigne, dont les entre-nœuds courts sur les sarments à l'origine du nom de la maladie. En Suisse, deux népovirus (des virus transmis par des nématodes) sont les principaux agents responsables de cette maladie: le virus du court-noué (GFLV: *Grapevine fanleaf virus*) et le virus de la mosaïque de l'arabette (ArMV: *Arabidopsis mosaic virus*). Sur les grappes, les symptômes sont le millerandage et la coulure (fig. 1). Cette virose affecte ainsi à la fois le rendement et la longévité des ceps infectés.

**Figure 1** | Millerandage et coulure sur Chasselas, causés par le virus du court-noué (GFLV).



**Figure 2** | Cep de Pinot noir atteint d'enroulement viral.

Cinq espèces virales distinctes sont admises comme responsables de l'enroulement de la vigne, *Grapevine leafroll-associated virus* GLRaV: GLRaV-1, GLRaV-2, GLRaV-3, GLRaV-4 et GLRaV-7.

**Maladie du bois rugueux**

Cette maladie, aussi appelée cannelures, est en fait un complexe de trois syndromes: les cannelures sur la variété indicatrice *V. rupestris* causées par le virus *Grapevine rupestris stem pitting-associated virus* (GRSPaV

(fig. 3), les cannelures sur le porte-greffe 5BB dues au *Grapevine virus A* (GVA) et l'écorce liégeuse liée au *Grapevine virus B* (GVB). Les deux dernières formes, les plus graves, sont dépistées dans le cadre de la sélection sanitaire effectuée par Agroscope et les clones infectés sont éliminés.



**Figure 3** | Cannelures sur porte-greffe. Deux plantes infectées (à gauche) et deux plantes saines (à droite).

**Maladie de la marbrure**

La marbrure est une virose causée par le *Grapevine fleck virus* (GFkV). Chez certaines variétés de porte-greffe, la formation de racines et la reprise au greffage peuvent être considérablement affectées après infection (fig. 4).



**Figure 4** | Eclaircissement des nervures d'une feuille de *Vitis rupestris*, causé par le virus de la marbrure.

**Virus du Pinot gris**

Depuis le début des années 2000, des symptômes similaires à ceux d'autres maladies virales, comme la déformation des feuilles, une chlorose ou des pertes de récolte, ont été observés sur Pinot gris dans le vignoble du Trentino italien. Le *Grapevine Pinot gris-associated virus* (GPGaV) a été identifié comme agent causal potentiel des symptômes décrits (Giampetruzzi et al. 2012). Cette maladie poursuit sa progression dans les vignobles du nord de l'Italie (D' Valeria Gualandri,



**Figure 5** | Déformation des feuilles et taches chlorotiques sur du Pinot gris infecté par le virus GPGaV. (Photo D' Valeria Gualandri, IASMA, Italie)

communication personnelle). Pour l'instant, le Pinot gris semble le plus touché, mais les symptômes et le virus ont été identifiés sur d'autres cépages (Chardonnay, Sauvignon, Traminer, Muscat). Afin de consolider la veille sanitaire, ce virus a donc été inclus dans notre monitoring.

### Maladie du Red Blotch

Un nouveau virus de la vigne a été récemment identifié dans les vignobles du continent nord-américain (Krenz *et al.* 2012), le *Grapevine Red Blotch-associated Virus* (GRBaV). Les symptômes sur les variétés rouges se rapprochent de ceux de la maladie de l'enroulement (fig. 6). Vu l'importance prise par le phénomène, notamment dans le vignoble californien, il a été décidé de l'inclure dans cette étude et de rechercher son éventuelle présence dans le vignoble suisse.



Figure 6 | Symptômes foliaires sur Gamay dus au virus du Red Blotch.

Concernant les deux virus de la maladie du bois rugueux, le GVA n'a pas été détecté dans notre étude, tandis que le GVB a été diagnostiqué dans 36 % des parcelles examinées.

Le virus GPGaV, récemment identifié en Italie, a été détecté dans plusieurs parcelles, toutes plantées de Chasselas. Les premières observations au vignoble n'ont pas révélé de symptômes particuliers sur les ceps infectés, mais il est vrai que, pour l'instant, les dégâts sont surtout signalés sur le Pinot gris et le Traminer. Aucune donnée n'est donc actuellement disponible sur le Chasselas. L'hypothèse qu'il s'agisse d'une souche latente, c'est-à-dire ne causant aucun symptôme, est aussi à considérer. En effet, plusieurs souches de ce virus ont été observées, dont certaines sont symptomatiques et d'autres non (Saldarelli *et al.* 2015). Des essais sont en cours à Agroscope pour évaluer plus en détail l'impact de ce type d'infection virale et clarifier son étiologie.

L'enroulement est très répandu dans le vignoble, puisque les virus correspondants ont été diagnostiqués dans 80 % des parcelles examinées (tabl.1). Le GLRaV-2 a été le plus fréquemment diagnostiqué en relation avec l'enroulement. Ce virus touche surtout le Chasselas, qui présente un taux d'infection dix fois plus important que les autres cépages (fig. 7).

Différentes catégories ont été définies sur la base du taux d'infection, afin d'estimer l'importance de la contamination au sein d'une parcelle: nulle (aucune infection observée), faible (taux d'infection de 1–10 %),

modérée (11–20 %), élevée (21–50 %) et très élevée (supérieur à 50 %). Les 60 parcelles étudiées ont été classifiées en fonction de ces catégories pour les virus de l'enroulement (fig. 8). Après le GLRaV-2, le GLRaV-3 a été le virus de l'enroulement le plus fréquemment détecté, un tiers des parcelles se trouvant modérément infectées (fig. 8). Le GLRaV-1 était moins fréquent que les précédents, mais 5 % des parcelles étaient néanmoins modérément infectées et deux parcelles présentaient même des taux d'infection très élevés (> 50 %). Le virus GLRaV-4, quant à lui, n'a été diagnostiqué qu'occasionnellement et semble peu répandu dans le vignoble de La Côte.

La maladie du court-noué a été détectée dans plus de la moitié des parcelles. Le GFLV est le principal responsable de cette maladie dans le vignoble (tabl.1). L'ArMV, l'autre agent potentiel du court-noué, a été diagnostiqué de manière occasionnelle et à chaque fois

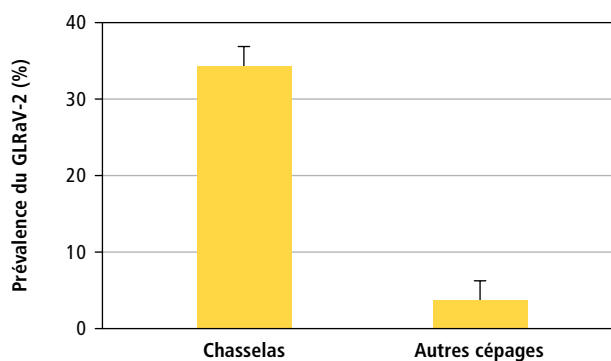


Figure 7 | Taux d'infection (prévalence) du virus 2 de l'enroulement (GLRaV-2) en fonction du cépage. Chasselas: 43 parcelles, autres cépages: 17 parcelles. Intervalles de confiance à 95 %.

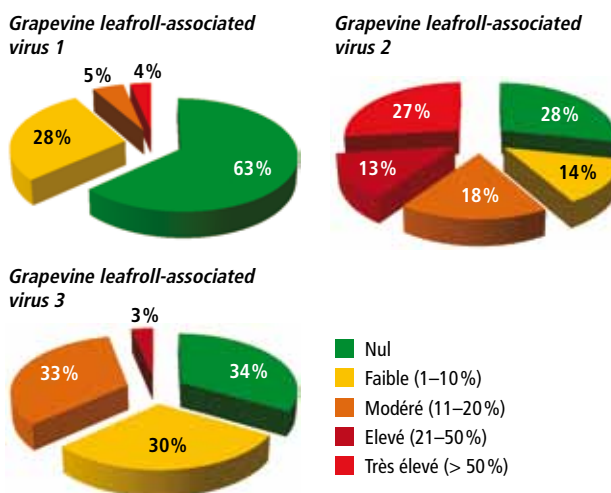


Figure 8 | Classification des 60 parcelles étudiées en fonction de leur taux d'infection par les virus de l'enroulement GLRaV-1, GLRaV-2 et GLRaV-3.

dans des parcelles déjà infectées par le GFLV. Les infections par les virus du court-noué sont très fréquentes: le GFLV, par exemple, a été détecté dans plus de 10 % des échantillons analysés. Dans 14 % des parcelles étudiées, l'infection était élevée ou très élevée (fig. 9).

Sur une même parcelle, plusieurs virus sont présents en général. Ainsi, la plupart des ceps analysés étaient infectés par plusieurs virus. Cette complexité des populations virales au sein d'un cep est encore peu étudiée et l'association de ces différentes populations de même que ses effets sur la symptomatologie sont mal connus.

Le court-noué et l'enroulement viral, les deux viroses viticoles qui ont le plus grand impact économique (Martelli 2014), ont été fréquemment observées dans notre vignoble d'étude de La Côte. La situation et la fréquence des maladies virales décrites dans cette étude sont similaires à celles que mentionnent Besse et Gugerli (2009) pour le vignoble valaisan. Cette dernière étude rapporte que 80 % des parcelles examinées présentaient des infections par les virus de l'enroulement et plus du 30 % des infections de court-noué. Le statut sanitaire du vignoble de La Côte ressemble donc à celui du vignoble valaisan. D'autres études menées à l'étranger mettent également en évidence l'abondance des maladies virales dans les vignobles (Jooste et al. 2015, Akbas et al. 2007, Rayapati et al. 2009).

Les viroses sont bien présentes dans les vignobles et, pour certaines, de manière importante. Du fait qu'il n'existe aucune méthode de lutte curative contre les

maladies virales, l'effort pour maîtriser ces pathogènes et améliorer le statut sanitaire du vignoble doit donc être maintenu. Le moyen de lutte le plus efficace reste d'agir préventivement en plantant des jeunes plants certifiés exempts de virus. Les tests sanitaires (ELISA et indexages) utilisés dans la sélection clonale pratiquée par Agroscope garantissent que les clones proposés sont exempts de viroses graves (Spring et Reynard 2015). La filière de certification garantit ensuite que la qualité sanitaire des plants est maintenue durant la multiplication du matériel végétal en pépinière.

Les maladies virales se propagent principalement lors de la plantation avec l'utilisation de plants de vigne contaminés. Toutefois, les virus peuvent également être transmis d'un cep infecté vers un cep sain par l'intermédiaire d'un organisme tiers, le vecteur. La transmission de la maladie de l'enroulement, par exemple, est assurée par diverses espèces de cochenilles (fig. 10). Depuis quelques années et dans différents vignobles de par le monde, des propagations inquiétantes d'enroulement viral ont été observées, très probablement causées par des cochenilles (Le Maguet et al. 2013). Dans l'éventualité de l'établissement d'un vecteur efficace de l'enroulement dans nos vignobles, il est particulièrement important de maintenir la population de ces pathogènes viraux à de faibles niveaux.

## Conclusions

- Des viroses graves de la vigne, le court-noué et l'enroulement, sont fortement répandues dans le vignoble de La Côte vaudoise. Les virus de l'enroulement ont été observés dans 80 % des parcelles étudiées. S'agissant du court-noué, plus de la moitié de ces parcelles sont infectées par cette virose.
- Les virus émergents responsables de nouvelles maladies peuvent, dans certaines conditions, se révéler problématiques. Ils sont de fait encore mal connus, à l'exemple du virus du Pinot gris, qui a été observé pour la première fois dans le vignoble suisse.
- Les virus se propagent principalement par du matériel végétal contaminé. Cependant, des vecteurs naturels comme les cochenilles, en piquant la vigne pour se nourrir, peuvent également transmettre les virus de l'enroulement, propageant ainsi la maladie dans les vignobles.
- La stratégie de lutte contre les viroses de la vigne est exclusivement préventive. Elle se base en premier lieu sur l'utilisation de matériel certifié lors de la plantation, afin de s'assurer que les jeunes vignes sont indemnes de viroses graves. ■

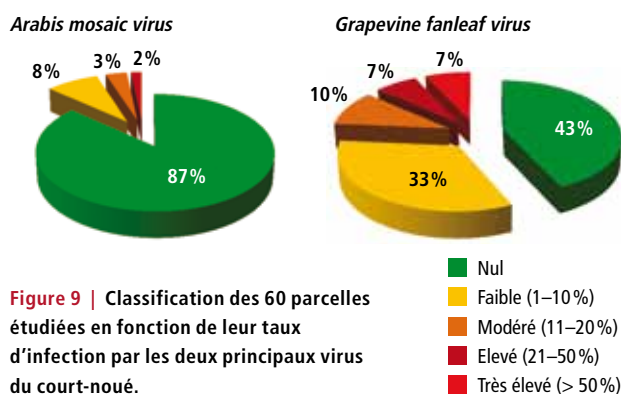


Figure 9 | Classification des 60 parcelles étudiées en fonction de leur taux d'infection par les deux principaux virus du court-noué.



Figure 10 | Cochenille (*Parthenolecanium corni*) sur un sarment de vigne dans une parcelle à Begnins (VD).

## Summary

### Current status of major grapevine viruses in La Côte vineyards of Switzerland

Viral diseases are reported to cause several detrimental effects on grape and wine production. In order to evaluate the distribution of these pathogens, a survey was undertaken in the vineyards of La Côte in the Swiss canton of Vaud. Results from this survey showed that major viral diseases are widespread in vineyards, particularly leafroll and fanleaf. A recently described virus, *Grapevine Pinot gris-associated virus* (GPGaV), has been detected for the first time in Swiss vineyards. Considering those results, there is little doubt that it is important to use virus free plant from certificated material and that grapevine certification program is of paramount importance for a sustainable wine production.

**Key words:** grapevine virus, epidemiology, distribution of viruses.

## Zusammenfassung

### Studie zur Verteilung von Viruserkrankungen im Rebberg der La Côte (Waadt)

Viren sind Krankheitserreger, die im schlimmsten Fall die Weinproduktion stark beeinflussen können. Um die Häufigkeit dieser Krankheitserreger im Rebberg beurteilen zu können, wurde eine Studie in den Rebbergen der La Côte (VD) durchgeführt. Die Ergebnisse dieser Untersuchung zeigen, dass die wichtigsten Viruserkrankungen der Rebe (Reisigkrankheit und Blattrollkrankheit) im Rebberg weitverbreitet sind. Daneben wurde ein neuer Virus, der *Grapevine Pinot gris-associated virus* (GPGaV), zum ersten Mal in der Schweiz identifiziert. Viruserkrankungen sind persistent und es existiert keine kurative Behandlungsmöglichkeit. Die weite Verbreitung von Viren belegt die Wichtigkeit der Züchtung von krankheitsfreiem Pflanzenmaterial und der Zertifizierung zur vorbeugenden Bekämpfung dieser Krankheiten.

## Riassunto

### Distribuzione delle malattie virali nei vigneti di La Côte (VD)

I virus sono agenti patogeni che possono influenzare negativamente la quantità e la qualità della produzione di un vigneto. Per valutare la frequenza di questi agenti patogeni, uno studio è stato effettuato nei vigneti di La Côte (VD). I risultati di questo studio dimostrano che due malattie virali gravi (l'arricciamento e l'accartocciamento) sono altamente prevalenti nei vigneti di La Côte. Inoltre il virus emergente *Grapevine Pinot gris-associated virus* (GPGaV) è stato identificato per la prima volta in Svizzera. I virusi sono malattie persistenti e incurabili. Infatti, l'abbondanza di virus osservati in questo studio dimostra l'importanza della selezione sanitaria e della certificazione delle barbatelle come unico modo di lotta contro questi agenti patogeni.

## Remerciements

Les auteurs remercient Nathalie Dubuis pour les très nombreuses analyses nécessaires à la réalisation de cette étude.

## Bibliographie

- Akbas B., Kunter B. & Ilhan D., 2007. Occurrence and distribution of grapevine leafroll-associated viruses 1, 2, 3 and 7 in Turkey. *Journal of Phytopathology* **155**, 122–124.
- Besse S. & Gugerli P., 2009. Survey of major grapevine virus disease in the vineyard of Valais (Switzerland). Proc. 16th Congr. Int. Counc. Study Virus Virus-like Dis. Grapevine (ICVG), Dijon, France, 118–119.
- Giampetruzzi A., Roumi V., Roberto R., Malossini U., Yoshikawa N., La Notte P., Terlizzi F., Credi R. & Saldarelli P., 2012. A new grapevine virus discovered by deep sequencing of virus- and viroid-derived small RNAs in Cv Pinot gris. *Virus Research* **163**, 262–268.
- Gugerli P., Brugger J.-J. & Bovey R., 1984. L'enroulement de la vigne: mise en évidence de particules virales et développement d'une méthode immuno-enzymatique pour le diagnostic rapide (Grapevine leafroll: presence of virus particles and development of an immuno-enzyme method for diagnosis and detection). *Revue suisse Vitic., Arboric., Hortic.* **16**, 299–304.
- Jooste A. C., Molenaar N., Maree H., Bester R., Morey L., De Koker W. & Burger J., 2015. Identification and distribution of multiple virus infections in Grapevine leafroll diseased vineyards. *European Journal of Plant Pathology* **137**, 1–13.
- Krenz B., Thompson J. R., Fuchs M. & Perry K. L., 2012. Complete Genome Sequence of a New Circular DNA Virus from Grapevine. *Journal of Virology* **86**, 7715–7715.
- Le Maguet J., Fuchs J. J., Chadoeuf J., Beuve M., Herrbach E. & Lemaire O., 2013. The role of the mealybug *Phenacoccus aceris* in the spread of Grapevine leafroll-associated virus-1 (GLRaV-1) in two French vineyards. *European Journal of Plant Pathology* **135**, 415–427.
- Martelli G. P., 2014. Directory of Virus and Virus-Like Diseases of the Grapevine and Their Agents. *Journal of Plant Pathology* **96**, 1–136.
- Rayapati N., Tefera M., Olufem I. A., Sridhar J., Gandhi K., Gutha L. R. & Martin R. R., 2009. Current status of grapevine viruses in the pacific northwest vineyards of the United States. Proc. 16th Congr. Int. Counc. Study Virus Virus-like Dis. Grapevine (ICVG), Dijon, France, 108–109.
- Reynard J. S., Schneeberger P. H. H., Frey J. E. & Schaerer S., 2015. Biological, serological and molecular characterization of a highly divergent strain of GLRaV-4 causing grapevine leafroll disease. *Phytopathology*, in press.
- Saldarelli P., Giampetruzzi A., Morelli M., Malossini U., Pirolo C., Bianchedi P. & Gualandri V., 2015. Genetic variability of Grapevine Pinot gris virus and its association with grapevine leaf mottling and deformation. *Phytopathology* **105**, 555–563.
- Spring J. L. & Reynard J. S., 2015. Sélection clonale d'Agroscope. *Revue suisse Vitic., Arboric., Hortic.* **47**, 75–78.