



Développement d'outils pour la sélection précoce de cépages résistants au mildiou

K. GINDRO, O. VIRET et J.-L. SPRING, Station de recherche Agroscope Changins-Wädenswil ACW, CP 1012, 1260 Nyon 1

 E-mail: katia.gindro@acw.admin.ch
Tél. (+41) 22 36 34 374.

Résumé

Agroscope Changins-Wädenswil a commencé en 1996 un programme de création par hybridation de variétés de vigne résistantes aux maladies fongiques. Les caractéristiques des cépages recherchés dans le cadre de ce programme sont une résistance élevée au mildiou, une faible sensibilité à l'oïdium, de bonnes caractéristiques agronomiques et un potentiel œnologique élevé. Un procédé de sélection, basé sur des critères histologiques et biochimiques, a été développé afin de définir le potentiel de résistance au mildiou (*Plasmopara viticola*) des semis de pépins de raisin issus de l'hybridation. Vingt-quatre heures après l'inoculation (hpi) artificielle des plantules, la production de callose dans les stomates est analysée par microscopie à fluorescence. A 48 hpi, la synthèse d' ϵ - et de δ -viniférine est analysée par chromatographie et, cinq jours plus tard, la densité des sporanges est déterminée à l'aide d'un spectrophotomètre. Cette méthode permet de définir rapidement le niveau de résistance des semis au mildiou. Seuls ceux qui se distinguent par une résistance très élevée sont retenus pour une évaluation agronomique et œnologique, ce qui représente un gain de temps considérable par rapport à l'évaluation de la résistance au champ. Vingt-deux cépages connus et huitante nouvelles obtentions ont été testés et classés en cinq catégories sur la base de ces critères. Les résultats d'une sélection de quarante-huit cépages sont présentés ici. L'intégralité des résultats peut être obtenue directement auprès des auteurs.

Introduction

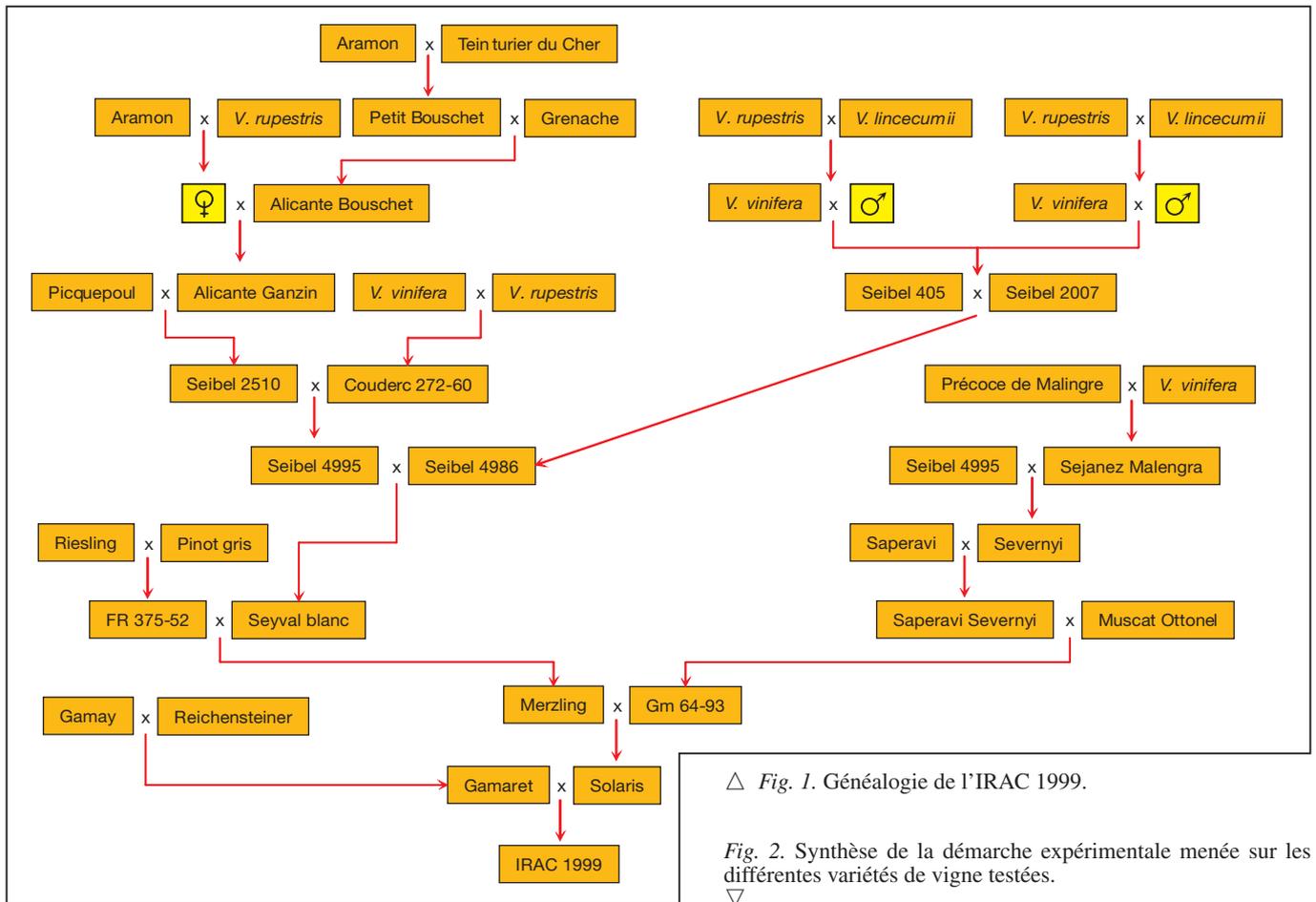
Le mildiou [*Plasmopara viticola* (Berk. et M. A. Curtis, de Bary)] est une des principales maladies de la vigne. Présent au niveau mondial, ce pathogène a provoqué en Suisse des dégâts économiques importants 30 ans sur les 56 dernières années d'observation. En fonction des conditions climatiques, l'application préventive de huit à dix traitements fongicides est nécessaire pour lutter contre ce champignon (Viret *et al.*, 2001). La plupart des cépages cultivés sont très sensibles au mildiou. La seule manière de réduire le nombre d'interventions est de disposer d'un système de prévision des risques basé sur la mesure des paramètres climatiques (Viret *et al.*, 2001). D'autres solutions, comme l'activation des défenses de la plante par l'utilisation de molécules de synthèse ou naturelles ou l'application de micro-organismes antagonistes ne se sont jusqu'ici montrées que partiellement efficaces. L'étude des gènes de

résistance de la vigne dans le but de transformer les cépages traditionnels est un autre champ d'investigation impliquant la production controversée de

vignes génétiquement modifiées. En revanche, la sélection de cépages après hybridation traditionnelle avec des géneteurs possédant des caractéristiques

Tableau 1. Schéma de sélection des cépages résistants aux maladies à Agroscope Changins-Wädenswil ACW.

Année	Stade/Opération	Remarques
1	Hybridation	Croisements avec porteurs de résistances
2	Semis Tests précoces de résistance en laboratoire	Sélection précoce de la résistance au mildiou (marqueurs)
3-7	Sélection sur ceps individuels en plein champ	Sélection de la résistance à l'oïdium et à <i>Botrytis cinerea</i> Fertilité, précocité, sensibilité aux accidents physiologiques
8-16	Sélection sur micro-parcelles de 20 ceps (1 site)	Aptitudes agronomiques et œnologiques
10-18	Essais élargis sur plusieurs sites	Aptitudes agronomiques et œnologiques Adaptation aux diverses conditions pédo-climatiques
18-20	Homologation	Diffusion par la filière de certification

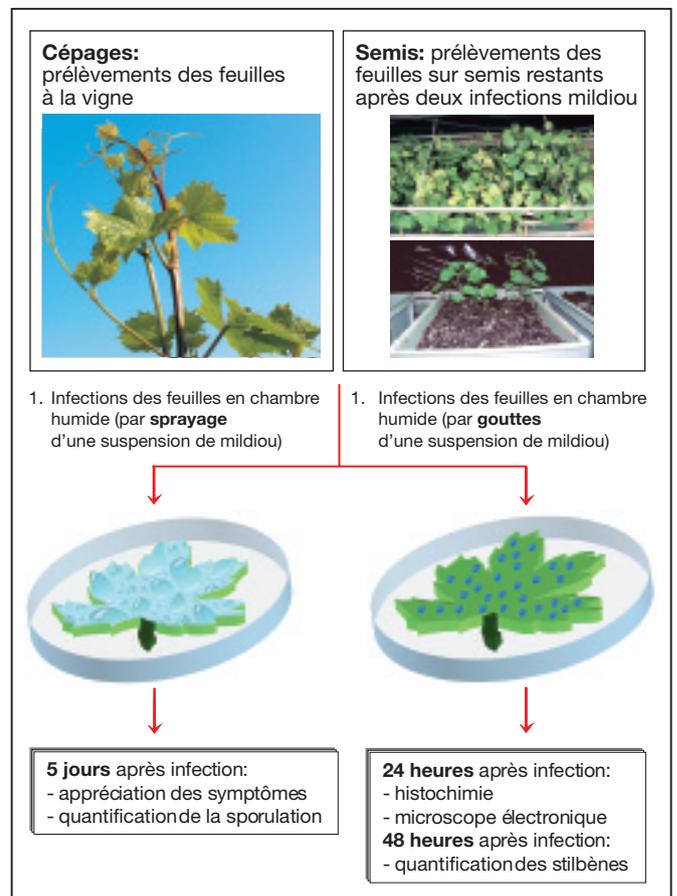


de résistance est une méthode de création de cépages résistants qui a porté ses fruits. L'introduction de mécanismes de résistance au mildiou et à l'oïdium nécessite de recourir au patrimoine génétique d'espèces sauvages américaines de *Vitis*. Le testage de la valeur agronomique et œnologique d'un large éventail de nouvelles variétés provenant de divers pays et d'instituts de recherche, issues de croisements interspécifiques entre la vigne européenne et des espèces américaines ou asiatiques, a été entrepris à Agroscope Changins-Wädenswil (ACW) dès 1992 (Spring *et al.*, 1998; Spring, 2001; Spring, 2003; Spring, 2005). A partir de 1996, un programme de création de cépages rouges résistants au mildiou, possédant une large aire d'adaptation, de bonnes caractéristiques agronomiques, un potentiel œnologique élevé et une faible sensibilité à l'oïdium et au *Botrytis*, a été entrepris par ACW. Cet article décrit une méthode rapide impliquant quatre critères analytiques au niveau histologique et biochimique, qui permet de déterminer le potentiel de résistance de variétés existantes ou de nouvelles obtentions au stade de semis de pépins de raisin obtenus après hybridation.

Matériel et méthodes

Matériel végétal et conditions de culture

Des boutures de différents cépages de *Vitis vinifera* L. et de croisements interspécifiques ont été obtenues à partir des collections et des vignobles expérimentaux d'Agroscope Changins-Wädenswil ACW. Les plants racinés ont été cultivés sous serre dans les conditions décrites par Pezet *et al.* (2004a). Au stade dix feuilles étalées, les plantes ont été placées dans un phytotron et soumises à une photopériode de 16 h de jour (22 °C), 8 h d'obscurité (18 °C) et 60% HR. Vingt-deux cépages connus ont été choisis comme référence



pour leur résistance ou leur sensibilité au mildiou. Quatre-vingts autres variétés provenant des collections d'Agroscope ACW ou nouvellement obtenues par hybridation ont été testées. Leur origine est consignée dans le tableau 2.

Plasmopara viticola

Le mildiou utilisé pour les inoculations a été prélevé dans une parcelle non traitée de Perroy (VD). Les sporanges ont été aspirés à la surface des feuilles infectées selon la méthode décrite par Pezet et Pont (1990) et stockés dans des cryo-tubes à -80°C jusqu'à leur utilisation.

Production de callose (fig. 2)

Vingt-quatre heures après l'inoculation (hpi), la production de callose dans les stomates a été observée et quantifiée selon la méthode décrite par Gindro *et al.* (2003). Des feuilles ont été infectées à l'aide de gouttelettes de suspension de sporanges de 10^6 μl , contenant 2×10^4 sporanges/ml. Des coupes fines réalisées avec une lame de rasoir ont été placées durant une minute dans une solution aqueuse de bleu d'aniline (0,2% dans 5% de NaHCO_3) et observées au microscope à fluorescence selon la méthode de Kortekamp *et al.* (1997). Les résultats obtenus sont exprimés en pourcentage et écart-type de stomates contenant de la callose sur 3×100 stomates infectés.

Analyse des stilbènes (fig. 2)

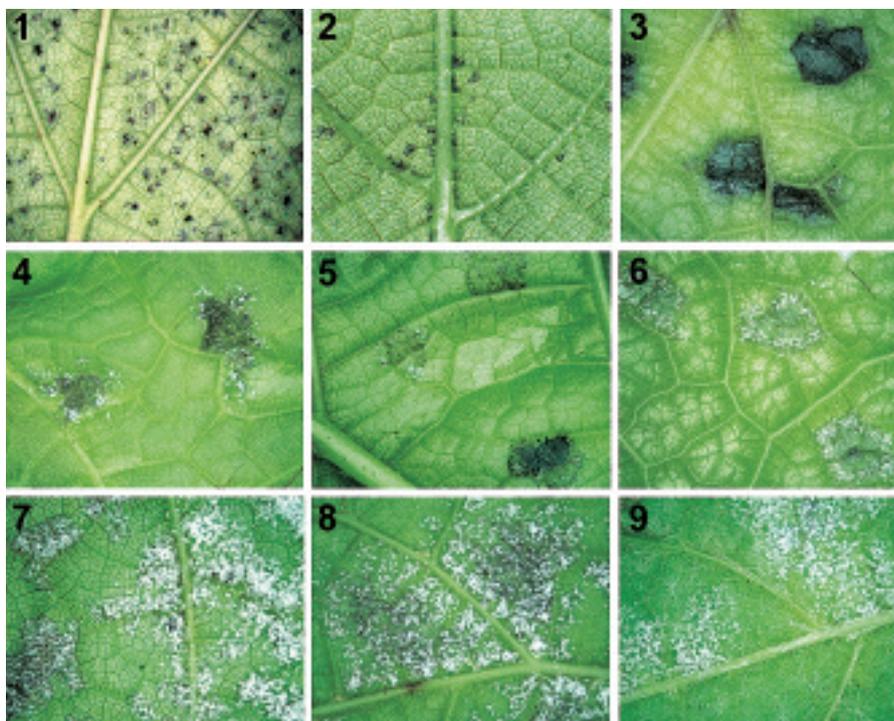
Quarante-huit heures après l'inoculation des échantillons de feuilles, des gouttelettes de suspension de sporanges ont été prélevées à l'aide d'un scalpel à raison de trois répétitions par feuille (trois feuilles par cépage analysé). Les fragments de feuilles ont été pesés et placés dans des tubes de 1,5 ml contenant $50 \mu\text{l}$ de méthanol. Les tubes ont ensuite été agités durant 10 min. à 60°C et refroidis 5 min. dans la glace. Les stilbènes ont été analysés par chromatographie (HPLC) de $30 \mu\text{l}$ de l'extrait au méthanol obtenu (Pezet *et al.*, 2003).

Tableau 2. Caractéristiques et niveau de résistance des cépages utilisés dans les expériences.

N°	Cultivar	Parenté	NR	RL	Sélection
1	2021	Bronner × Gamaret	+++	TR	ACW (CH)
2	VB 8-1	Inconnue	+++	TR	Valentin Blattner
3	2074	Bronner × Gamaret	+++	TR	ACW (CH)
4	1999	Gamaret × Solaris	+++	TR	ACW (CH)
5	Bronner	Merzling × (Saperavi severneyi × St Laurent)	+++	TR	Freiburg (D)
6	Solaris	Merzling × (Saperavi severneyi × Muscat ottonel)	+++	TR	Freiburg (D)
7	2027	Bronner × Gamaret	+++	TR	ACW (CH)
8	1933	Bronner × Cornalin	+++	TR	ACW (CH)
9	2091	Gamaret × Bronner	+++	TR	ACW (CH)
10	1997	Gamaret × Solaris	+++	TR	ACW (CH)
11	2213	Seyval blanc × Gamaret	+++	TR	ACW (CH)
12	2062	Bronner × Gamaret	+++	TR	ACW (CH)
13	2261	Seyval blanc × Gamaret	nd	TR	ACW (CH)
14	Seyval blanc	Seibel 5656 × Rayon d'Or	++	R	Seyve-Villard (F)
15	2014	Bronner × Gamaret	++	R	ACW (CH)
16	2607	Prior × Gamaret	nd	R	ACW (CH)
17	Chambourcin	Seyve-Villard × Chancellor	++	R	Seyve-Villard (F)
18	Maréchal Foch	101-14 × (Riesling × Courtiller musqué)	++	R	Colmar (F)
19	2060	Bronner × Gamaret	++	R	ACW (CH)
20	Léon Millot	101-14 × (Riesling × Courtiller musqué)	++	R	Colmar (F)
21	2385	Garanoir × Seyval blanc	nd	PS	ACW (CH)
22	Johanniter	Riesling × (SV 12481 × (Pinot gris × Chasselas)	+	PS	Freiburg (D)
23	Regent	Diana × Chambourcin	+	PS	Geilweilerhof (D)
24	VB 86-3	Inconnue	+	PS	Valentin Blattner
25	2003	Gamaret × Solaris	+	PS	ACW (CH)
26	Prior	FR 484-87	+	PS	Freiburg (D)
27	2226	Seyval blanc × Gamaret	nd	PS	ACW (CH)
28	2208	Seyval blanc × Gamaret	nd	PS	ACW (CH)
29	Cabernet carbon	FR 377-83	+	PS	Freiburg (D)
30	2020	Bronner × Gamaret	+	S	ACW (CH)
31	2278	Seyval blanc × Gamaret	nd	S	ACW (CH)
32	2594	Prior × Garanoir	nd	S	ACW (CH)
33	2253	Seyval blanc × Gamaret	nd	S	ACW (CH)
34	2289	Seyval blanc × Gamaret	nd	S	ACW (CH)
35	Bianca	Villard blanc × Bouvier	-	S	Eger (H)
36	2611	C41 × Cabernet Cortis	nd	S	ACW (CH)
37	Pinot noir	Ancien cultivar	--	TS	Bourgogne (F)
38	1959	RAC 3219 × Solaris	nd	TS	ACW (CH)
39	Primera	(Sylvaner × Riesling) × (Riesling × Sylvaner)	--	TS	Geisenheim (D)
40	Gamaret	Gamay × Reichensteiner	--	TS	ACW (CH)
41	Gamay	Pinot × Gouais blanc	--	TS	Beaujolais (F)
42	2185	Seyval blanc × Gamaret	nd	TS	ACW (CH)
43	2292	Seyval blanc × Gamaret	nd	TS	ACW (CH)
44	Garanoir	Gamay × Reichensteiner	--	TS	ACW (CH)
45	Chasselas	Ancien cultivar	--	TS	-
46	Saphira	Arnsburger × Seyve-Villard 1-72	--	TS	Geisenheim (D)
47	Prinzpal	(Seibel 7053 × Riesling) × Ehrenfelser	--	TS	Geisenheim (D)
48	Müller-Thürgau	Riesling × Sylvaner	--	TS	Thurgovie (CH)

NR: niveau de résistance au champ, +++ très résistant (TR), ++ résistant (R), + peu sensible (PS), - sensible (S), -- très sensible (TS), nd = non déterminé. **RL:** niveau de résistance en laboratoire.

Fig. 3. Symptômes observés sur feuilles de différents cépages de vigne et nouvelles sélections (IRAC) cinq jours après infection par *Plasmopara viticola*. 1-3: variétés très résistantes présentant des nécroses sans sporulation aux sites des infections: ① IRAC 2021; ② Solaris; ③ VB 32-7. 4-6: variétés résistantes à peu sensibles présentant à la fois des nécroses et des sporulations aux sites des infections. ④ Seyval blanc; ⑤ IRAC 2014; ⑥ Léon Millot. 7-9: variétés très sensibles ne présentant pas de nécroses mais une forte sporulation. ⑦ Chasselas; ⑧ Saphira; ⑨ Prinzpal.



Densité des sporanges

(fig. 2)

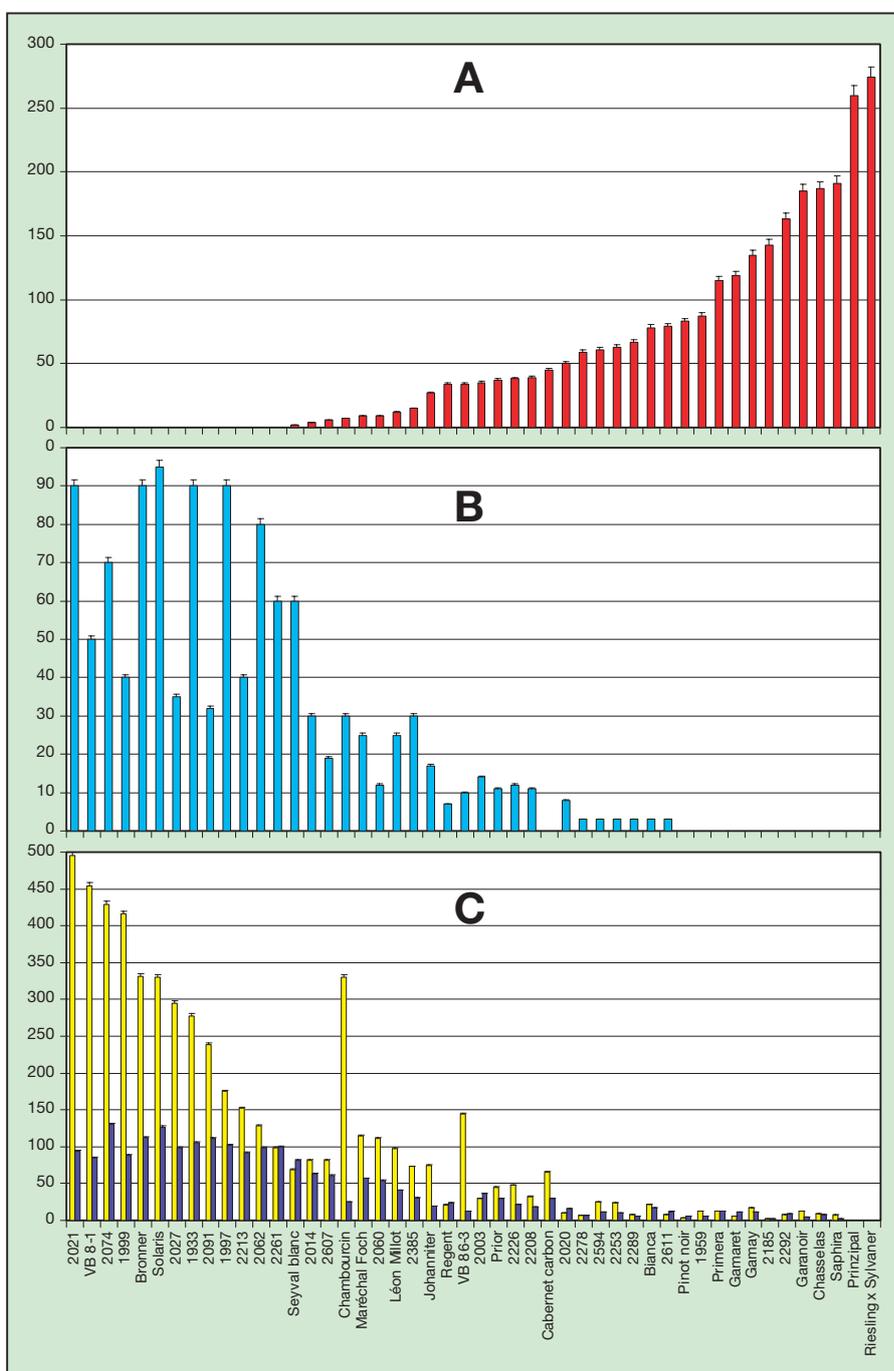
Cinq rondelles de feuilles par variété (diamètre 1 cm) ont été inoculées avec 1 ml de suspension de sporanges avec un spray et incubées en chambre humide. La densité de sporanges a été déterminée sur trois rondelles, les deux autres rondelles servant de témoin ayant été traitées avec de l'eau distillée stérile. Six jours après l'inoculation, la densité de sporanges a été mesurée par turbidimétrie à l'aide d'un spectrophotomètre (40 nm) selon Gindro et Pezet (2001), en agitant durant 1 min chaque rondelle de feuille dans 1 ml d'eau distillée. La suspension de sporanges ainsi obtenue est analysée comparativement aux valeurs d'un témoin du même cépage traité à l'eau. Les résultats obtenus sont exprimés en nombre moyen de sporanges par mm².

Résultats et discussion

Quantification de la sporulation

Les cépages considérés comme résistants présentent des nécroses importantes dans les zones d'infection sans sporulation (fig. 3), ou présentent des nécroses plus diffuses et un taux de sporulation inférieur à 15 sporanges/mm². Les variétés ont été classées de 1 à 102 (seuls 48 cépages sont présentés ici par souci de clarté) selon le taux de sporulation mesuré (fig. 4A). Vingt et une des espèces testées n'ont pas produit de sporanges et n'ont montré que des zones nécrotiques sans sporulation. Ce groupe, numéroté de 1 à 13 (tabl. 2), est considéré comme très résistant (TR). Il contient des cépages connus comme Solaris et Bronner. Les 81 variétés restantes ont montré un gradient de sensi-

Fig. 4. A. Densité de sporanges de *Plasmopara viticola* par mm² mesurée sur des feuilles de différents cultivars infectées artificiellement, cinq jours après inoculation. B. Pourcentage de stomates ayant synthétisés de la callose 24 heures après infection. C. Concentration en δ-viniférine (bleu) et ε-viniférine (jaune) 48 heures après infection mesurée aux sites mêmes des infections (μmoles/min mg PF). ▷



bilité au mildiou relatif au taux de sporulation, allant du Seyval blanc (R) avec 2 sporanges/mm² au Müller-Thurgau (TS) avec 274 sporanges/mm². Les résultats obtenus sont très bien corrélés avec les observations réalisées à la vigne durant plusieurs années au domaine expérimental d'ACW, à Pully.

Production de callose

La capacité des différents cépages à produire de la callose est présentée dans la figure 4B. A l'observation au microscope électronique à balayage ainsi qu'au microscope optique à fluorescence, des dépôts de callose ont fait très rapidement leur apparition dans les stomates infectés des cépages résistants à *Plasmopara viticola*, dans les heures qui suivent l'inoculation artificielle des feuilles (fig. 5). Ce mécanisme permet d'obturer efficacement les stomates, empêchant ainsi la pénétration du mycélium dans les feuilles et par conséquent le développement de la maladie (Gindro *et al.*, 2003). Les résultats montrent que pratiquement tous les cépages considérés comme résistants sécrètent de la callose stomatique. Lorsque plus de 40% des stomates contiennent de la callose, le cépage peut être considéré comme résistant au mildiou. Un certain nombre d'exceptions, dont la valeur est inférieure à ce seuil, a été observé, comme les hybrides IRAC 1999, 2091, 1997 et 2213. Dans ces cas, d'autres mécanismes de défense active entrent probablement en jeu.

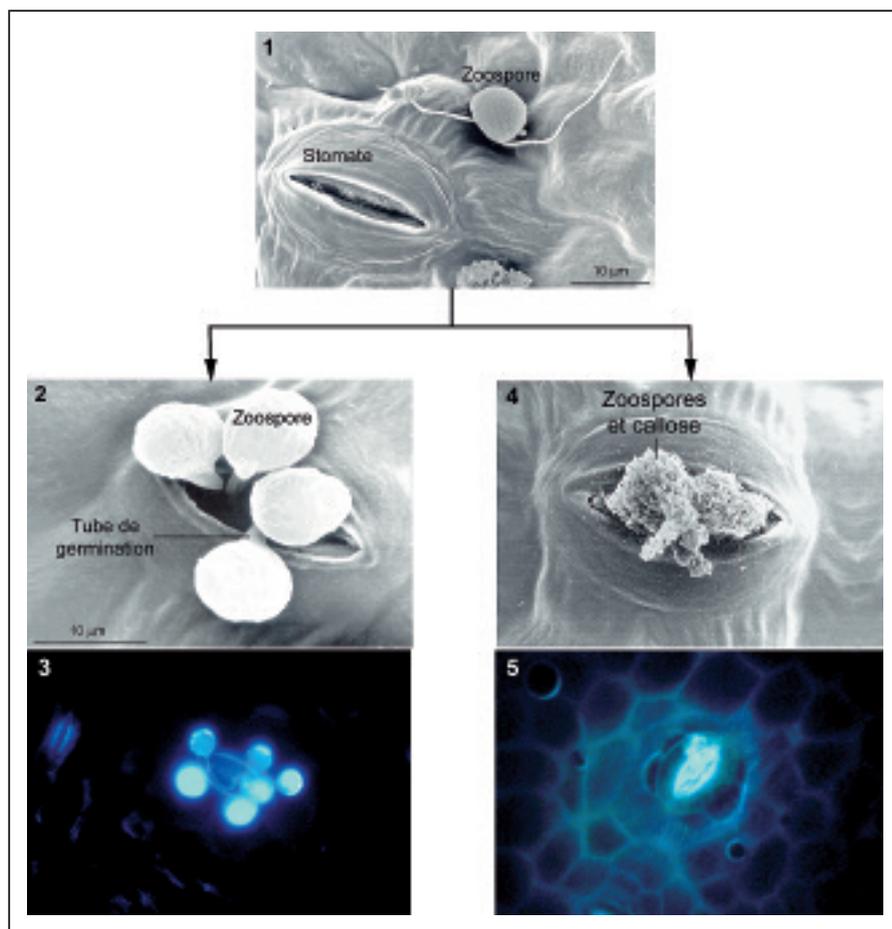


Fig. 5. Schéma global de l'infection par *Plasmopara viticola*. 1: libération des zoospores et début du processus d'infection sur cépages sensibles et/ou résistants. 2 et 3: spores enkystées et germination dans un stomate de cépage sensible (microscopie électronique et microscopie à fluorescence). 4 et 5: infections sur cépage résistant montrant la formation de callose stomatique, entourant les spores et les stoppant dans leur développement (microscopie électronique et fluorescence).

Analyse des stilbènes

Les stilbènes, ou phytoalexines stilbéniques, sont des composés phénoliques induits par un stress biotique ou abiotique en relation avec les mécanismes de défense de la vigne. Certains de ces composés dérivés du resvératrol, comme le ptérostilbène, l' ϵ - et le δ -viniférine (fig. 6) sont hautement toxiques pour le mildiou, tandis que d'autres, comme la picéide, ne le sont pas du tout. Les premiers inhibent la mobilité des zoospores, l'infection et la sporulation du mildiou (Pezet *et al.*, 2004b). A concentrations croissantes, la δ -viniférine et le ptérostilbène, et dans une moindre mesure l' ϵ -viniférine, sont les composés les plus toxiques pour le pathogène. Le ptérostilbène est fréquemment absent; de ce fait, la δ - et l' ϵ -viniférine restent les substances les plus intéressantes impliquées dans les mécanismes de résistance. Parmi les 102 variétés analysées dans cet essai, de grandes différences quantitatives et qua-

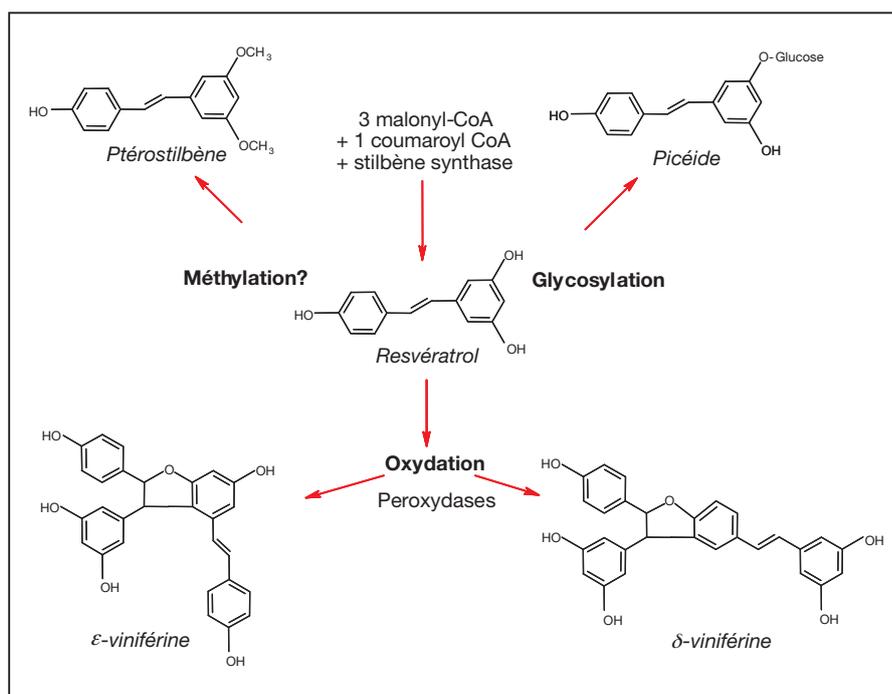


Fig. 6. Voies biochimiques de la synthèse des stilbènes de la vigne. Les points d'interrogation représentent des voies biochimiques encore inconnues et hypothétiques.

litatives ont été observées au niveau des stilbènes, en relation avec leur niveau de résistance (fig. 4C). Les cépages sensibles produisent du resvératrol en concentrations variables, mais métabolisent cette molécule par glycosylation en picéide, inoffensive pour le mildiou. Les cépages résistants, par contre, transforment le resvératrol en ε - et δ -viniférine par oxydation, des composés hautement toxiques pour le pathogène. Les concentrations analysées sont directement proportionnelles au niveau de résistance des différents cépages (fig. 4C). Vingt-deux variétés produisent plus de 80 μ moles d' δ -viniférine/mg de poids frais (PF). Cette concentration chute à mesure que la sensibilité augmente. Les concentrations en ε -viniférine des cépages très sensibles atteignent tout au plus 20 μ moles/mg PF aux sites d'infections. Une corrélation similaire existe entre la résistance au mildiou et la concentration minimale en ε -viniférine (fig. 4C). La concentration en ε -viniférine des cépages très résistants est au minimum de 100 μ moles/mg PF. Comme précédemment, cette concentration chute parallèlement à l'augmentation de la sensibilité au mildiou dans la grande majorité des cas. Le Chambourcin, un cépage résistant, fait exception, avec une production de plus de 300 μ moles/mg PF d' ε -viniférine et de 25 μ moles/mg PF seulement de δ -viniférine.

Sur la base de ces résultats, en tenant compte de la sporulation, de la callose et de la quantité de δ - et ε -viniférine 48 heures après infection, cinq niveaux de résistance ont pu être définis sur la base de seuils analytiques (tabl. 3). Aucune sporulation ne doit apparaître sur les feuilles des cépages très résistants, et par conséquent la limite de ce critère est fixée à zéro. Ajouté à cela, au moins 30% des stomates doivent contenir de la callose et la limite inférieure de la concentration en δ -viniférine est fixée à 80 μ moles et à 100 μ moles/mg PF pour l' ε -viniférine.

Vingt et un cépages satisfont à ces exigences. Les seuils des autres groupes,

Conclusions

- ❑ Quatre critères histologiques et biochimiques ont été mis au point pour la sélection de vignes résistantes au mildiou. Le taux de callose dans les stomates est déterminé par microscopie à fluorescence, la densité des sporanges par spectrophotométrie et l'analyse des stilbènes par chromatographie (HPLC).
- ❑ Cinq niveaux de résistance ont été définis sur la base de seuils analytiques des quatre critères retenus.
- ❑ Cette approche permet une sélection fiable et rapide des plantules résistantes au mildiou obtenues après hybridation.
- ❑ De 1996 à 2005, 43 croisements différents ont été exploités, 720 individus ont été sélectionnés après les tests précoces de résistance au mildiou et ont été observés individuellement au champ, 32 cépages (30 rouges, 2 blancs) ont été multipliés en micro-parcelles de vingt cepes dans un site, les premiers vins ont été élaborés en 2004 et deux cépages ont été multipliés au stade d'essais élargis sur trois sites.

soit résistant (R), peu sensible (PS), sensible (S) et très sensible (TS), ont été établis en considérant prioritairement le taux de sporulation. Certaines variétés peuvent être situées à la limite de l'une ou de l'autre des catégories. Par exemple, le n° 15 (IRAC 2014), qui présente un très faible taux de sporulation, ne peut être placé dans la catégorie des TR, même si son pourcentage de stomates avec callose est plus grand que celui qui est défini pour cette catégorie.

Les quatre critères de sélection décrits sont actuellement appliqués dans notre laboratoire afin de déterminer le potentiel de résistance au mildiou des nouveaux cépages obtenus. Les semis de pépins de raisins issus de l'hybridation peuvent ainsi être triés rapidement sur une base objective. Parmi les milliers de semis testés en 2005, 2% présentaient des caractéristiques de haute résistance (soit les catégories TR et R) et ont été rendus au sélectionneur pour en déterminer la qualité agronomique et organoleptique.

Remerciements

Nous tenons à remercier M^{me} Isabelle de Groot pour son excellent travail au laboratoire ainsi que M. Jean Taillens pour le soin particulier apporté aux

plantes. De même, nous tenons à remercier pour son soutien financier le *National Centre of Competence in Research (NCCR)*.

Bibliographie

- Gindro K. & Pezet R., 2001: Effects of long-term storage at different temperatures on conidia of *Botrytis cinerea* Pers.: Fr. *FEMS Microbiol. Lett.* **204**, 101-104.
- Gindro K., Pezet R. & Viret O., 2003. Histological study of the responses of two *Vitis vinifera* cultivars (resistant and susceptible) to *Plasmopara viticola* infections. *Plant Physiol. Biochem.* **41**, 846-853.
- Kortekamp A., Wind R., Zyprian E., 1997. The role of callose deposits during infection of two downy mildew tolerant and two-susceptible *Vitis* cultivars. *Vitis* **36** (2), 104-104.
- Pezet R., Gindro K., Viret O. & Spring J.-L., 2004a. Glycosylation and oxidative dimerization of resveratrol are respectively associated to sensitivity and resistance of grapevine cultivars to downy mildew. *Physiol. Mol. Plant Pathol.* **65**, 297-303.
- Pezet R., Gindro K., Viret O. & Richter H., 2004b. Effects of resveratrol, viniferins and pterostilbene on *Plasmopara viticola* zoospore mobility and disease development. *Vitis* **43** (2), 145-148.
- Pezet R., Perret C., Jean-Denis J. B., Tabacchi R., Gindro K. & Viret O., 2003. δ -viniferin, a resveratrol dehydrodimer: one of the major stilbenes synthesized by stressed grapevine leaves. *J. Agric. Food Chem.* **51**, 5488-5492.
- Spring J.-L., 2001. Premières expériences avec les cépages interspécifiques Merzling, Johanner, Bronner et Solaris en Suisse romande. *Revue suisse Vitic., Arboric., Hortic.* **33** (2), 57-64.
- Spring J.-L., 2003. Expérimentation des cépages interspécifiques d'origine hongroise Bianca, Lilla et Nero en Suisse romande. *Revue suisse Vitic., Arboric., Hortic.* **35** (3), 159-164.
- Spring J.-L., 2005. Expérimentation en Suisse romande de nouveaux cépages rouges résistants aux maladies. *Revue suisse Vitic., Arboric., Hortic.* **37** (5), 255-261.
- Spring J.-L., Jermini M., Maigre D. & Murisier F., 1998. Regent, un nouveau cépage résistant aux maladies. Expériences en Suisse romande et au Tessin. *Revue suisse Vitic., Arboric., Hortic.* **30** (6), 347-351.
- Viret O., Bloesh B., Taillens J., Siegfried W. & Dupuis D., 2001. Prédiction et gestion des infections du mildiou de la vigne (*Plasmopara viticola*) à l'aide d'une station d'avertissement. *Revue suisse Vitic., Arboric., Hortic.* **33** (2), I-XII.

Tableau 3. Quantification de la densité en sporanges, de la callose et de l' ε - et δ -viniférine caractéristique des cinq catégories de résistance.

Catégorie	Sporulation (sp/mm ²)	Callose (% stomates)	ε -viniférine (μ moles/mg PF)	δ -viniférine (μ moles/mg PF)
Très résistant (TR)	0	≥ 30	≥ 80	≥ 100
Résistant (R)	> 0 et < 15	≥ 15 et < 30	≥ 40 et < 80	≥ 50 et < 100
Peu sensible (PS)	≥ 15 et < 50	≥ 6 et < 15	≥ 20 et < 40	≥ 25 et < 50
Sensible (S)	≥ 50 et < 80	≥ 2 et < 6	< 20	< 25
Très sensible (TS)	≥ 80	< 2	< 20	< 25

PF = poids frais.

Zusammenfassung

Entwicklung von Methoden für die Züchtung mehltau-resistenter Traubensorten

Seit 1996 betreibt Agroscope Changins-Wädenswil ein Hybridisierungs-programm für die Züchtung widerstandsfähiger Rebsorten. Die Zuchtziele sind hohe Resistenz für den falschen Mehltau, schwache Empfindlichkeit für den echten Mehltau, sowie gute agronomische und oenologische Eigenschaften. Histologische und biochemische Kriterien werden berücksichtigt, um das Resistenzpotential der Sämlinge für *Plasmopara viticola* zu erkennen. 24 Stunden nach künstlicher Inokulation der Sämlinge, wird die Produktion von Kallose in den Spaltöffnungen mittels Fluoreszenzmikroskopie analysiert. Nach 48 Stunden wird die Synthese von ϵ - und δ -Viniferin durch Chromatographie (HPLC) untersucht und 5 Tage später die Dichte der Sporangien mit dem Spektrophotometer bestimmt. Dieser Ansatz ermöglicht eine rasche Bestimmung des Resistenzgrades der Sämlinge. Nur die Sämlinge mit einem hohen Resistenzgrad werden für weitere agronomische und oenologische Untersuchungen erhalten. Dies stellt ein bedeutender Zeitgewinn gegenüber Erhebung der Mehltauresistenz im Feld dar. 22 bekannte Rebsorten und 80 Neuzüchtungen wurden mit diesem Verfahren getestet und in fünf Resistenzkategorien unterteilt. Aus Platzgründen werden in diesem Artikel die Daten von 48 Sorten präsentiert. Die Gesamtheit der Daten kann bei den Autoren erhalten werden.

Riassunto

Metodi per la selezione precoce di uve resistenti alla Peronospora

Agroscope Changins-Wädenswil ha iniziato nel 1996 un programma di creazione di varietà di uve resistenti alle malattie fungine per mezzo dell'ibridazione. Le caratteristiche ricercate sono un'alta resistenza alla Peronospora, una bassa sensibilità all'oidio, delle buone caratteristiche agronomiche ed un elevato potenziale enologico. Un metodo basato su criteri istologici e biochimici è stato sviluppato al fine di definire il livello di resistenza dei semi dell'uva derivati dall'ibridazione alla Peronospora (*Plasmopara viticola*). 24 ore dopo l'inoculazione artificiale della piantina, la produzione di callosi negli stomi è analizzata tramite microscopia di fluorescenza. 48 ore dopo l'infezione, la sintesi di ϵ - e δ -viniferina è analizzata tramite cromatografia, e cinque giorni dopo la densità degli sporangii è determinata per mezzo di uno spettrofotometro. Questo metodo permette di definire rapidamente il livello di resistenza dei semi alla Peronospora. Solo le piante che presentano un'alta resistenza sono prese in considerazione per una valutazione agronomica ed enologica, permettendo un guadagno di tempo considerevole rispetto alla valutazione della resistenza sul campo. 22 varietà conosciute e 80 nuovi ibridi sono stati testati e hanno potuto essere classificati in cinque categorie sulla base di questi criteri. Per ragioni di spazio, quest'articolo presenta i risultati di 48 varietà. I risultati completi possono essere richiesti direttamente agli autori.

Summary

Development of methods to determine level of resistance to *Plasmopara viticola* for early selection in grapevine cultivars

Since 1996, Agroscope Changins-Wädenswil runs a breeding program for resistant grapevine cultivars. Selection aims are: high downy mildew resistance, low sensitivity to powdery mildew, good agronomical characteristics and high oenological potential. Seedlings obtained after hybridisation were screened according to four criteria, including histological and biochemical analyses, based on different mechanisms of resistance to grapevine downy mildew. 24 hours post-inoculation (hpi), the production of callose in the stomata was analysed by fluorescent microscopy. 48 hpi

the synthesis of ϵ - and δ -viniferin was analysed by chromatography (HPLC) and 5 days later sporangia density was determined with a spectrophotometer. This approach allowed a rapid selection based on objective criteria. Only the most resistant plantlets were retained for further agronomical and oenological evaluation. The selection procedure can thus be significantly reduced compared to the evaluation of resistance in the field. 22 known grapevine cultivars and 80 new hybrids were tested and classified in five resistance groups. This paper presents the results obtained with a selection of 48 cultivars. The whole data set for the 102 cultivars is available at the authors address.

Key words: *Plasmopara viticola*, resistance, grapevine, stilbens, callose.