

# Règlement technique d'agrément des clones de vigne

approuvé par la section vigne du CTPS en date du 12 décembre 2013

Le présent règlement technique s'inscrit dans le cadre préalablement défini notamment par :

- l'arrêté du 20 septembre 2006 relatif à la sélection, à la production et à la distribution des matériels de multiplication végétative de la vigne, annexe I, chapitre VI,
- le protocole d'expérimentation des clones de vigne, section Vigne CTPS 1998.

L'agrément d'un clone de vigne est basé sur l'état sanitaire du matériel initial, sur ses performances agronomiques et technologiques et sur son identification variétale (analyse génétique).

Il est défini ce qui suit :

## A. La sélection sanitaire

### 1. Liste des maladies à virus

Le présent règlement technique définit 2 catégories en fonction du caractère éliminatoire ou non des pathogènes identifiés lors des tests de sélection sanitaire.

#### **Catégorie 1 : Dépistage obligatoire et résultats positifs éliminatoires**

Tout test positif aux maladies virales citées ci-dessous est considéré comme éliminatoire et de fait disqualifie le clone candidat à la présentation à l'agrément officiel :

- le complexe de la dégénérescence infectieuse (court-noué) et la maladie de l'enroulement de la vigne pour les variétés de vigne à fruits,
- le complexe de la dégénérescence infectieuse (court-noué), la maladie de l'enroulement de la vigne et la marbrure pour les variétés de porte-greffes.

#### **Catégorie 2 : Dépistage obligatoire mais résultats positifs non éliminatoires**

Tout test positif à l'une ou plusieurs des maladies virales et *virus associés* cités ci-dessous, ne disqualifie pas systématiquement le clone candidat objet du test, mais doit être signifié à la section vigne du CTPS.

- Kober stem grooving (KSG) et *Grapevine virus A* (GVA), *Grapevine corky bark* (GCB) et *Grapevine virus B* (GVB) pour les variétés de vigne à fruits.
- Kober stem grooving (KSG) et *Grapevine virus A* (GVA), *Grapevine corky bark* (GCB) et *Grapevine virus B* (GVB), *Grapevine Rupestris stem pitting-associated virus* (GRSPaV), Mosaïque des Nervures (*Grapevine vein mosaic* – GVM) et Nécrose des nervures (*Grapevine vein necrosis* –GVN) pour les variétés de porte-greffes.

### 2. Méthodes utilisées

Pour la catégorie 1, il est défini une méthode de référence.

Cette méthode de référence est l'indexage, méthode de diagnostic biologique sans *a priori* qui consiste à vérifier la présence de virus dans un clone candidat en le greffant préalablement sur une variété dite indicatrice. Si le virus est présent, la variété indicatrice exprime les symptômes de manière évidente. L'indexage peut être ligneux ou herbacé.

Il est également défini des méthodes complémentaires qui sont obligatoirement associées à la méthode de référence. L'indexage est donc complété par des tests de dépistages par méthodes ELISA et/ou RT-PCR / PCR (selon les méthodes disponibles).

Les <sup>1</sup>espèces virales de l'enroulement recherchées sont précisées dans le cas de la réalisation de tests ELISA et/ou RT-PCR / PCR.

Tout test positif par l'une ou l'autre des méthodes de dépistage est éliminatoire.

<sup>1</sup> Il existe 5 espèces virales associées à l'enroulement : GLRaV-1 à 4 et GLRaV-7

Pour la catégorie 2, il n'est pas défini de méthode de référence, il est fait appel à la méthode disponible jugée la plus appropriée

L'annexe 1 définit les conditions de réalisation et de validation de la sélection sanitaire selon les méthodes utilisées et les maladies virales recherchées.

## **B. La sélection agronomique et technologique**

La sélection agronomique et technologique est complémentaire de la sélection sanitaire et ne s'applique qu'aux clones des variétés de vigne à fruits.

Elle est réalisée par le centre de sélection ou par un opérateur délégué par le centre de sélection

L'expérimentation des clones candidats menée au vignoble dans la zone de culture traditionnelle de la variété est appelée « Collection d'étude ».

**Collection d'étude** : parcelle expérimentale dont l'objectif est le suivi des clones issus de prospections ou de conservatoires en vue de leur éventuel agrément. Installée suivant un protocole décrit ci-après, elle n'est composée que de clones ayant satisfait aux tests sanitaires vis à vis du complexe de la dégénérescence infectieuse (court-noué) et de la maladie de l'enroulement, et installée uniquement à partir du matériel introduit en centre de sélection ou, le cas échéant, de la souche d'origine du conservatoire après vérification préalable de son état sanitaire.

### **Protocole d'implantation de la collection d'étude**

Le dispositif d'implantation est fonction du nombre de clones déjà agréés pour la variété objet de la sélection :

- Aucun clone agréé : pas de collection d'étude obligatoire, la sélection d'un premier clone agréé est uniquement sanitaire. Le centre de sélection met à la disposition de la section vigne du CTPS les données agronomiques de base recueillies dans ses collections, dans les conservatoires ou sur la souche d'origine. Les performances du clone candidat doivent cependant être représentatives de la variété.
- De 1 à 5 clones agréés : 6 répétitions de 5 souches minimum, un clone agréé de référence (le plus diffusé de préférence),
- De 6 à 15 clones agréés : 6 répétitions de 5 souches minimum, deux clones agréés de référence (largement diffusés et aux caractéristiques complémentaires),
- Plus de 15 clones agréés : 6 répétitions de 5 souches minimum, trois clones agréés de référence complémentaires et représentatifs de la diversité intra-variétale (rendement notamment),

Dans tous les cas, la collection d'étude est installée en une seule fois sur un même clone de porte-greffe de catégorie base. Le plan de l'essai est établi suivant un dispositif en blocs randomisés.

L'annexe 2 définit les conditions de suivis viticole et œnologique des clones et de l'appréciation de leurs qualités organoleptiques.

## **C. Vérification de l'identité variétale**

L'utilisation de marqueurs microsatellites permet l'identification des variétés à fruits et des porte-greffes.

L'analyse consiste à comparer les profils moléculaires obtenus à partir de 10 à 25 marqueurs microsatellites avec une référence. Il s'agit alors de vérifier la conformité du clone candidat par rapport à la variété.

## Annexe 1

### **Conditions de réalisation et de validation de la sélection sanitaire selon les méthodes utilisées et les maladies virales recherchées**

#### **A. La méthode de référence : l'indexage**

Les variétés indicatrices sont précisées ci-dessous:

L'usage de toute autre variété indicatrice devra préalablement avoir été validé par la section vigne du CTPS.

Dégénérescence infectieuse (court-noué) :

La variété indicatrice est le Rupestris du Lot.

Maladie de l'enroulement :

Il est obligatoire de réaliser, pour tout clone candidat, les indexages en utilisant deux variétés indicatrices à choisir parmi Cabernet-Sauvignon N, Cabernet franc N, Merlot N, Pinot noir N ou Gamay N.

Marbrure (GFkV) :

La variété indicatrice est le Rupestris du Lot.

Kober Stem Grooving (KSG) :

La variété indicatrice est le 5BB.

Grapevine Rupestris Stem Pitting (GRSPaV) :

La variété indicatrice est le Ruspestris du Lot.

Grapevine Corky Bark (GCB) :

La variété indicatrice est le LN33.

Grapevine Vein Mosaic (GVM) :

La variété indicatrice est le Riparia Gloire de Montpellier.

Grapevine Vein Necrosis (GVN) :

La variété indicatrice est le 110 R.

Dans tous les cas, la mention du clone de la variété indicatrice utilisée est portée à la connaissance de la section vigne du CTPS et son état sanitaire est précisé.

Pour chaque maladie virale recherchée par indexage, il est obligatoire de :

- Réaliser un nombre suffisant de greffes-boutures afin d'observer, in fine, les symptômes sur au moins 3 plants (y compris les témoins positifs):
- Procéder de manière concomitante au greffage d'au moins 2 variétés témoins négatifs et 2 variétés témoins positifs pour les indexages ligneux, 1 variété témoin positif et 1 variété témoin négatif pour les indexages herbacés,
- Observer les indexages ligneux durant 2 saisons consécutives minimum si les symptômes sont indiscutablement visibles sur les témoins positifs,
- Observer les indexages herbacés dans l'année qui suit le greffage si les symptômes sont indiscutablement visibles sur les témoins positifs.

Le type d'indexage, ligneux ou herbacé, est spécifié pour chaque test réalisé.

Pour les virus qui s'observent sur feuilles, il est nécessaire d'observer les indexages ligneux durant 2 saisons minimum si les symptômes sont indiscutablement visibles sur les témoins positifs. Dans le cas contraire, une année supplémentaire sera ajoutée.

Pour les indexages herbacés réalisés pour le dépistage du GCB et du GVN, les observations peuvent être réalisées dans l'année du greffage si les symptômes sont indiscutablement visibles sur les témoins positifs.

#### **B. Méthodes complémentaires**

L'indexage est complété par des tests de dépistages par méthodes ELISA et/ou RT-PCR / PCR.

## **Tests ELISA**

Le test ELISA est un test immuno-enzymatique, basé sur la réaction anticorps (IgG) – antigène (virus). Il permet de détecter spécifiquement un virus dans des échantillons de feuilles, bois ou racines.

Les tests ELISA portent sur :

- La dégénérescence infectieuse : ArMV, GFLV,
- La maladie de l'enroulement : GLRaV-1, GLRaV-2, GLRaV-3, GLRaV-4 + variants du 4 et GLRaV-7,
- La marbrure : GFkV,
- Le complexe du bois strié : GVA.

La matrice utilisée pour les tests ELISA ainsi que les kits de détection sont précisés lors de la production des résultats.

## **Tests RT-PCR**

Les tests RT-PCR / PCR permettent de détecter la présence des virus par amplification spécifique de petits fragments d'ARN ou d'ADN viral. Elle peut être complétée par de la PCR quantitative.

Les tests RT-PCR / PCR portent sur :

- La dégénérescence infectieuse : ArMV, GFLV,
- La maladie de l'enroulement : GLRaV-1, GLRaV-2, GLRaV-3, GLRaV-4 et variants (GLRaV-5 + GLRaV-6 + GLRaV-9 + GLRaV- Pr + GLRaV-Car), GLRaV-7,
- La marbrure : GFkV,
- Le complexe du bois strié : GRSPaV, GVA, GVB.

La matrice utilisée pour les tests RT-PCR / PCR ainsi que les amorces et conditions d'amplification sont précisées lors de la production des résultats.

La restitution des résultats de la sélection sanitaire est présentée à la section vigne du CTPS selon un format standardisé.

## Annexe 2

### **Conditions du suivi viticole et œnologique des clones à usage de cuve et de l'appréciation de leurs qualités organoleptiques**

Le suivi commence à la quatrième ou à la cinquième année après la plantation selon la durée de la taille de formation et portent, *a minima*, sur la collecte des éléments suivants :

Le renseignement des éléments suivants est obligatoire :

- Charge en bourgeons à l'hectare puis comptage du nombre de rameaux développés,
- Poids des bois de taille,
- Port des rameaux
- Stades phénologiques : floraison, véraison, date de récolte
- 3 contrôles de maturité avant récolte,
- Composantes du rendement (fertilité, poids des grappes, poids des baies),
- Analyse des constituants du raisin à la vendange,
- Etat sanitaire à la récolte,
- Sensibilité aux maladies et aux ravageurs,
- Caractéristiques analytiques des vins,
- Qualités organoleptiques des vins.

Les contrôles viticoles sont effectués pendant cinq ans minimum. Les vinifications et les dégustations sont réalisées pendant 3 ans minimum. Lors de la dernière année du suivi, il est procédé à une vérification sanitaire des clones candidats vis-à-vis des viroses réglementées.

Lors de la production des résultats, il est obligatoire de présenter le dispositif complet et de justifier l'exploitation partielle ou la présentation de résultats pour une partie seulement des clones installés.

Le renseignement des éléments suivants est facultatif et fonction des particularités de la variété étudiée :

- Coulure et millerandage,
- Différences d'ordre ampélographique,
- Architecture des grappes : compacité, taille et forme,
- Taille et forme des baies.

#### **Stades phénologiques**

L'observation de la collection aux différents stades phénologiques doit permettre des notations visuelles suivant les stades repères de la vigne établis par Eichhorn et Lorenz. Les stades floraison, véraison et pleine maturité sont spécifiés, les autres stades étant facultatifs.

#### **Charge en bourgeons**

La charge en bourgeons doit être identique pour l'ensemble des clones mis en comparaison. Au cours de ces années de contrôle, on établit également le coefficient de fertilité du clone qui est le rapport :  
nombre total de grappes / nombre d'yeux francs laissés à la taille

#### **Poids des bois de taille**

Au cours de la quatrième et de la cinquième année de contrôle, on procède à la pesée, souche par souche ou sur l'ensemble des souches d'une même parcelle élémentaire, des bois de taille.

#### **Contrôles de maturité**

En préalable à la récolte, des contrôles de maturité sont effectués, à trois reprises, toujours au même moment de la journée. Le premier contrôle a lieu environ trois semaines avant la date présumée de récolte. Le dernier contrôle est effectué au moment de la récolte.

#### **Récolte de l'essai**

La récolte se fait le même jour pour l'ensemble de la parcelle expérimentale. Les données recueillies sont les suivantes :

- date de récolte,
- poids moyen par souche,
- nombre de grappes par souche,
- poids de 200 baies.

La pesée de la récolte se fait :

- soit par pied si le protocole le permet,

- soit sur l'ensemble des souches d'une même parcelle élémentaire dans le cas de protocole plus lourd.  
Dans le cas d'un dispositif minimum (parcelles élémentaires de 5 pieds et 6 répétitions), le dénombrement des grappes et la pesée de récolte se font sur tous les pieds de la parcelle élémentaire, et dans toutes les répétitions. Ces mesures peuvent être réalisées et archivées pied par pied ou pour les 5 pieds de la parcelle élémentaire.

Dans le cas d'un dispositif plus lourd (nombre de pieds par parcelle élémentaire > 5), le dénombrement des grappes et la pesée de récolte peuvent être limités à 5 pieds par parcelle élémentaire, dans au moins 6 des répétitions du dispositif. Ces mesures peuvent être réalisées et archivées pied par pied ou pour l'ensemble des pieds contrôlés de la parcelle élémentaire.

### **Etat sanitaire**

L'appréciation visuelle de la qualité sanitaire de la vendange (fréquence et intensité) doit permettre de procéder à la sélection suivante :

- si le taux de *Botrytis cinerea* est inférieur à 20 %, le tri peut être réalisé après pesée des souches et établissement des rendements,

- si le taux de *Botrytis cinerea* est supérieur à 20 %, le tri est réalisé et le choix de vinifier est apprécié en fonction des caractéristiques du cépage et du type de vinification envisagé.

Toute autre altération de la vendange pourra être prise en considération.

Ces critères ne s'appliquent pas à la vinification de vins liquoreux.

### **Suivi œnologique**

#### **Analyse des constituants du raisin**

Le choix de la méthode de prélèvement (baies ou fractions de grappe) est laissée à l'appréciation de l'opérateur en fonction de ses méthodes de travail, son équipement et de la spécificité du cépage.

Pour le degré probable, les résultats sont exprimés en grammes de sucres par litre de moût ou en T.A.P (en mentionnant le taux de conversion utilisé). L'acidité totale est exprimée en g/L d'H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>.

Les analyses complémentaires sur moût portent sur :

- le pH

- composés phénoliques totaux (IPT),

- teneur en anthocyanes (mg/L),

- acide tartrique, acide malique, K,...

#### **Suivi de la vinification**

Le choix des clones à vinifier est déterminé en fonction des objectifs poursuivis et des résultats des premières années de suivi viticole. Sont également prises en compte les informations recueillies par le suivi viticole et l'analyse des constituants du raisin.

Les vinifications sont conduites selon une méthodologie éprouvée et sont obligatoirement effectuées pendant 3 ans au minimum. On veillera à ce que tous les lots soient vinifiés dans des conditions rigoureusement identiques (sauf correction, voir ci-dessous).

Chaque lot à vinifier doit être représentatif du dispositif de la parcelle. Ainsi, il sera procédé à un assemblage des différents blocs récoltés afin d'en tirer la quantité nécessaire à la vinification et en respectant le même mode d'échantillonnage pour les différents blocs. Dans la mesure du possible, il est recommandé de vinifier 50 kg par modalité.

Sulfitage : l'apport de SO<sub>2</sub> se fait à une dose identique sur tous les lots, sauf si des taux de *Botrytis cinerea* très différents ont été relevés entre les différentes modalités.

Correction de la vendange (chaptalisation ou acidification) : pour chaque modalité, si le TAP est inférieur à un minimum fixé par l'expérimentateur en fonction de sa connaissance de la variété, alors il est possible de corriger en ajoutant au maximum l'équivalent d'un degré alcoolique.

Opérations préfermentaires : Les phases avant vinification (pressurage, égrappage, macération pelliculaire, débouillage) se feront dans des conditions rigoureusement identiques notamment en ce qui concerne la durée, la température et les adjuvants ajoutés au moût. Si l'égrappage est réalisé, il se fait dans les mêmes conditions pour tous les lots d'un même essai.

Levurage : il est réalisé systématiquement avec le même type de levures sèches actives sur tous les lots. On utilisera préférentiellement une levure (relativement neutre) couramment utilisée dans la région viticole.

Phases fermentaires : Les conditions de cuvaision (type de contenant, durée de macération, température) seront rigoureusement identiques pour tous les lots. Les opérations d'extraction sont effectuées à la même fréquence et à la même intensité sur tous les lots. La fermentation est suivie quotidiennement pour l'ensemble des modalités.

Soutirage - Pressurage : Le soutirage se fait au même moment pour tous les lots et dans le même ordre que l'encuvage. La proportion jus de goutte - jus de presse sera relevée pour chaque échantillon. L'opération de pressurage sera effectuée dans les mêmes conditions (durée et intensité faible requises).

Fermentation malolactique : lorsqu'elle est recherchée, elle sera initiée par ensemencement direct.

Opérations de clarification et stabilisation : elles se feront dans les mêmes conditions pour tous les lots.

Elevage : l'élevage sera réalisé dans les mêmes conditions pour tous les lots.

Mise en bouteille : Les teneurs en SO<sub>2</sub> seront ajustées et contrôlées au même niveau pour tous les vins d'un même essai.

### **Caractéristiques analytiques des vins**

L'analyse sur vins finis comprend obligatoirement:

- TAV (Titre Alcoométrique Volumique),
- sucres résiduels (g/L),
- acidité totale (g/L d'H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>),
- pH,
- acidité volatile (g/L d'H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>),
- Acide Malique (g/L)
- IPT : DO 280 nm,
- Nuance : DO 420 / DO 520 nm (uniquement pour les rouges),
- Intensité colorante : DO 420 + DO 520 + DO 620 nm (exprimée sous trajet optique de 10 mm),
- SO<sub>2</sub> libre et total: mg/L.

D'autres paramètres peuvent également être mesurés :

- Tanins (g/L),
- Anthocyanes (mg/L),
- Autres : Arômes, Acide Tartrique, Potassium, ...

### **Qualité organoleptique des vins**

Les vins sont soumis à un collège de dégustateurs jugé compétent sous la responsabilité d'un organisme technique. Il est souhaitable que la dégustation réunisse un nombre minimum de 12 personnes pour un nombre maximum de 20 échantillons. Une dégustation préalable pourra permettre de vérifier la qualité des échantillons.

La dégustation de clones candidats à l'agrément doit renseigner sur le respect de la typicité du cépage ; elle doit permettre également une interprétation statistique fiable.

### **Analyse des résultats**

Les résultats annuels sont communiqués au centre de sélection ainsi que les données du millésime. Pour chacune des variables mesurées, les résultats doivent comporter les éléments statistiques permettant la validation de l'essai. Pour les variables pour lesquelles il y a une mesure par répétition, il est demandé notamment de noter l'écart type résiduel et le coefficient de variation.

Pour les mesures pour lesquelles il y a des répétitions, l'analyse statistique demandée est le test de Newman-Keuls. D'autres analyses statistiques peuvent compléter les résultats si l'expérimentateur les juge pertinentes.