

Polymorphisme des génotypes sauvages et cultivés de *Vitis vinifera* L. détecté à l'aide de Marqueurs RAPD

Autor(en): **Perret, Mathieu**

Objektyp: **Article**

Zeitschrift: **Bulletin de la Société Neuchâteloise des Sciences Naturelles**

Band (Jahr): **120 (1997)**

PDF erstellt am: **25.04.2024**

Persistenter Link: <https://doi.org/10.5169/seals-89457>

Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Inhalten der Zeitschriften. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern.

Die auf der Plattform e-periodica veröffentlichten Dokumente stehen für nicht-kommerzielle Zwecke in Lehre und Forschung sowie für die private Nutzung frei zur Verfügung. Einzelne Dateien oder Ausdrucke aus diesem Angebot können zusammen mit diesen Nutzungsbedingungen und den korrekten Herkunftsbezeichnungen weitergegeben werden.

Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. Die systematische Speicherung von Teilen des elektronischen Angebots auf anderen Servern bedarf ebenfalls des schriftlichen Einverständnisses der Rechteinhaber.

Haftungsausschluss

Alle Angaben erfolgen ohne Gewähr für Vollständigkeit oder Richtigkeit. Es wird keine Haftung übernommen für Schäden durch die Verwendung von Informationen aus diesem Online-Angebot oder durch das Fehlen von Informationen. Dies gilt auch für Inhalte Dritter, die über dieses Angebot zugänglich sind.

POLYMORPHISME DES GÉNOTYPES SAUVAGES ET CULTIVÉS DE *VITIS VINIFERA* L. DÉTECTÉ À L'AIDE DE MARQUEURS RAPD

MATHIEU PERRET

Laboratoire de Phanérogamie, institut de Botanique, Université de Neuchâtel. Chantemerle 18, 2007 Neuchâtel, Suisse.

Mots-clés: vigne, *Vitis vinifera* subsp. *sylvestris*, RAPD, marqueurs moléculaires, diversité génétique.

Key-words: grapevine, *Vitis vinifera* subsp. *sylvestris*, RAPD, molecular markers, genetic diversity.

Résumé

Sept cépages de *Vitis vinifera* et 27 individus de *V. vinifera* subsp. *sylvestris* ont fait l'objet d'analyses RAPD dans le but d'évaluer leur variabilité génétique. Quelque 24 amorces de 10bp ont été utilisées dans les réactions RAPD-PCR. Les analyses de groupement et le test de Mantel basés sur les données de présence/absence des fragments d'ADN justifie la séparation taxonomique établie entre les sous-espèces *sylvestris* et *sativa* de *Vitis vinifera*. La différence entre ces deux sous-espèces est essentiellement due à la présence de marqueurs RAPD spécifiques à une ou plusieurs variétés cultivées du subsp. *sativa*. Au sein du subsp. *sylvestris*, le polymorphisme des génotypes est aussi important à l'intérieur d'un même domaine géographique qu'à l'échelle de l'ensemble des domaines étudiés. Aucun indice sûr de flux de gènes entre vignes cultivées et vignes sauvages n'a été décelé au Valais. L'étude du polymorphisme des profils RAPD constitue un moyen utile d'analyser les relations génétiques existant entre les génotypes de *Vitis vinifera* s.l.

Summary

Seven *Vitis vinifera* cultivars and 27 *V. vinifera* subsp. *sylvestris* individuals were subjected to the RAPD analysis in order to estimate the genetic diversity existing within these genotypes. 24 decamer primer of arbitrary sequence were used for the RAPD-PCR reactions. Clusters analysis and Mantel test based upon presence/absence data of the polymorphic DNA bands divided the genotypes in two groups corresponding to the cultivated and wild grapevines. The difference between these two types of *Vitis vinifera* is essentially due to the presence of RAPD markers specific for one or several grapevine cultivars. Within the subsp. *sylvestris*, the results did not permit to distinguish the different geographical origins of the individuals. Nonetheless the high capacity of this technique to generate DNA markers offers a reliable possibility for analysing genetic relationships in the *Vitis vinifera* species.

INTRODUCTION

Subordonnée au genre *Vitis* - un membre de la famille des Vitacées - la vigne européenne, *Vitis vinifera* L., est une espèce importante d'un point de vue tant culturel qu'économique. Elle appartient au contingent des premières plantes cultivées en Eurasie et compte de nos jours un nombre impressionnant de variétés, ou cépages, utilisées pour la production de raisins de table et de cuve dans la plupart des régions tempérées du globe. Si les formes cultivées de la vigne font l'objet de nombreuses études, la vigne croissant à l'état sauvage, *Vitis vinifera* subsp. *sylvestris* Gmel., a suscité beaucoup moins d'intérêt. Elle est pourtant l'une des espèces les plus remarquables de quelques forêts alluviales d'Europe centrale et méridionale (HEGI, 1965). En forte régression depuis le début du siècle, ses populations, dont l'existence est indépendante de toute activité humaine (LEVADOUX, 1956), nécessitent des mesures de conservation et même, dans certains cas, de réintroduction (ISSLER, 1938; DAVID & KLEIN, 1994).

Malgré les menaces pesant sur la vigne sauvage dans la plupart de ses populations européennes, peu de recherches ont été entreprises pour comprendre son polymorphisme génétique et vérifier son originalité taxonomique, encore controversée (GALET, 1990), par rapport à la vigne cultivée. L'analyse des liens génétiques entre les variétés cultivées et la vigne sauvage vise aussi à identifier les flux de gènes potentiels et effectifs entre les génotypes sauvages et cultivés de *Vitis vinifera*.

Jusqu'ici, l'ampélographie a recouru essentiellement à la morphologie pour décrire la diversité génétique de *Vitis vinifera*. Cependant, au cours des dernières années, des critères nouveaux, d'ordre biochimique, ont été appliqués à l'identification des cépages. Ils reposent en particulier

sur l'étude de la diversité des isoenzymes, des composés secondaires et de l'ADN (BOURQUIN *et al.*, 1993; SCIENZA *et al.*, 1994; VALENTI *et al.*, 1993). Aujourd'hui, l'étude du polymorphisme de l'ADN connaît une grande faveur. Elle offre l'avantage, en particulier, de fournir un nombre presque illimité de marqueurs. De plus, ces marqueurs ne sont pas influencés par les conditions environnementales ou par l'état phénologique de la plante (THOMAS *et al.*, 1994). Les distances génétiques (liens de parenté) entre taxons peuvent alors être établies avec une sécurité beaucoup plus grande.

Dans cette note, nous nous proposons d'évaluer le polymorphisme génétique de *Vitis vinifera* subsp. *sylvestris* provenant de plusieurs domaines géographiques et, pour un domaine (Valais, CH) de le comparer à celui de quelques cépages indigènes. La technique de Random amplified polymorphic DNA (RAPD), utilisée ici, est fondée sur le principe de la polymérase chain reaction (PCR) (WILLIAMS *et al.*, 1990). Elle consiste à amplifier des régions non spécifiques du génome à partir de courtes amorces d'ADN (10 pb). La comparaison des patrons de présence ou absence des fragments amplifiés entre les différents génotypes permet d'identifier des séquences polymorphes, sans qu'aucune connaissance préalable du génome ne soit nécessaire.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Matériel végétal et échantillonnage

Les jeunes feuilles de vigne ont été récoltées sur le terrain puis placées directement dans des sachets contenant du silicagel. Après complète déshydratation, les feuilles ont été conservées à -20 °C. La liste des individus utilisés dans cette étude est donnée dans le Tableau 1. Les individus de vigne sauvage proviennent de plusieurs régions d'Europe centrale, alors

Vitis vinifera subsp. *silvestris*

Individu	Pays d'origine	Localité
ORT6	Autriche	Orth an der Donau
ORT7	Autriche	Orth an der Donau
ORT9	Autriche	Orth an der Donau
MAR1	Autriche	Marchegg, Réserve WWF
MAR2	Autriche	Marchegg, Réserve WWF
MAR3	Autriche	Marchegg, Réserve WWF
MAN2	Allemagne	Mannheim, Reissinsel
KET1	Allemagne	Ketch, Rheinwald
KET2	Allemagne	Ketch, Rheinwald
KET3	Allemagne	Ketch, Rheinwald
RUS1	Allemagne	Russheim, Bonsel
SVI1	Roumanie	Svinitia
CER1	Roumanie	Baile Herculane, Valea Cerna
CER2	Roumanie	Baile Herculane, Valea Cerna
CER3	Roumanie	Baile Herculane, Valea Cerna
CER4	Roumanie	Baile Herculane, Valea Cerna
TOP1	Roumanie	Toplet
TOP2	Roumanie	Toplet
OTT1	Suisse	Martigny, Mont d'Ottan
OTT2	Suisse	Martigny, Mont d'Ottan
OTT3	Suisse	Martigny, Mont d'Ottan
OTT7	Suisse	Martigny, Mont d'Ottan
OTT8	Suisse	Martigny, Mont d'Ottan
OTT9	Suisse	Martigny, Mont d'Ottan
OTT10	Suisse	Martigny, Mont d'Ottan
OTT12	Suisse	Martigny, Mont d'Ottan
OTT16	Suisse	Martigny, Mont d'Ottan

Vitis vinifera subsp. *sativa*

cépage	Provenance
ARVINE HUMAGNE BLANC PAIEN REZE AMIGNE PINOT NOIR CHASSELAS	Station cantonale de viticulture du Valais Châteauneuf

Tableau 1: Liste des individus sauvages et des cépages de *Vitis vinifera* L. intervenant dans l'analyse des marqueurs RAPD.

que les échantillons de vignes cultivées appartiennent tous à des cépages cultivés en Valais. A l'exception des Pinot noir et Chasselas dont la culture s'étend bien au-delà du Valais, les Amigne, Arvine, Rèze et Humagne blanc appartiennent en propre au vignoble valaisan (CARRUZZO, 1991).

Extraction de l'ADN

L'ADN des feuilles déshydratées a été extrait selon la méthode de ROGERS & BENDICH (1988) basée sur l'utilisation de l'hexadecyltriméthylammonium bromure (CTAB). Une étape supplémentaire de

purification de l'ADN a été réalisée à l'aide de microconcentrateur du type Microcon-100 (Amicon company). La concentration en ADN des extraits a été mesurée avec un fluorimètre TKO 100 (Hofer Scientific Instrument). Tous les extraits d'ADN ont été ajustés à une concentration de 10 ng/μl puis utilisés pour les amplifications par PCR.

Conditions d'amplification RAPD-PCR

Les réactions d'amplification par PCR ont été réalisées dans un mélange réactionnel de 25 μl contenant 75mM Tris-HCl

pH9, 20mM (NH₄)₂SO₄, 1.5 mM MgCl₂, 0.2mM d'amorce et 0.2 U de Taq polymérase (Supertaq, Eurogentec). L'amplification a été réalisée dans un thermocycler Perkin Elmer programmé comme suit: un cycle initial de 3 min à 94 °C, 40 cycles comportant chacun une étape de dénaturation de 1mn à 94 °C, une étape d'hybridation de 1mn à 37 °C et une étape d'élongation de 2mn à 72 °C. La réaction était achevée par une dernière étape de 7mn à 72 °C. Après amplification, 12 µl de la solution de réaction ont été chargés sur un gel d'agarose 1.6%. Les fragments d'amplifications ont été séparés par électrophorèse dans du TBE 0.5X sous une tension de 80V puis visualisés et photographiés sous lumière UV après coloration au bromure d'ethidium.

Quelque 24 oligonucléotides de 10 bases (série P, A, B, et T, Operon Technologie Inc. Alameda, CA, USA) ont été utilisés pour les amplifications RAPD-PCR.

Analyse des données

La lecture des données a été réalisée visuellement à partir de l'observation des gels colorés au bromure d'ethidium. Sur le gel, chaque bande a été nommée et enregistrée dans une matrice comme étant présente (1) ou absente (0). Seules les bandes bien visibles et reproductibles ont été prises en considération. Les similarités ont été calculées à partir de la matrice des présences/absences à l'aide du coefficient de similarité de Jaccard. La matrice de similarité obtenue a ensuite été utilisée pour le calcul des groupements, basé sur la méthode dite Unweight Pair-Group Method with arithmetical Averages (UPGMA).

Afin de mettre en évidence une éventuelle différenciation génétique au sein de *Vitis vinifera* subsp. *sylvestris*, quatre ensembles d'individus ont été définis selon leur origine géographique (tab. 1). La signification de ces groupes a été déter-

minée grâce au test Mantel. Les groupes géographiques de géotypes ont été comparés deux à deux. Pour ce faire, une matrice définissant les groupes "Autriche", "Allemagne", "Roumanie" et "Suisse" a été comparée à la matrice des similarités basée sur les présences/absences des marqueurs RAPD. A chaque comparaison, seules les valeurs des matrices correspondant aux individus des deux groupes comparés ont été prises en compte. La même démarche a été appliquée pour vérifier la signification des deux groupes réunissant les géotypes des taxons *sylvestris* et *sativa*.

Pour tous les tests de Mantel effectués, le seuil de signification pour le rejet de l'hypothèse nulle a été fixée à 0.05 (5%). La signification de cette valeur a été corrigée par le test séquentiel de Bonferroni selon la méthode proposée par RICE (1989). Le calcul des similarités, les analyses de groupements ainsi que les tests de Mantel ont été réalisés à l'aide du programme Prologiciel R (LEGENDRE & VAUDOR, 1991).

RÉSULTATS

Profil des RAPDs

Les réactions d'amplification par RAPD ont produit des fragments d'ADN avec la majorité des amorces testées. La taille des fragments obtenus varie de 300 pb à 2.5 kb. Parmi les 24 amorces testées, seules 8 d'entre elles ont montré un polymorphisme entre les géotypes de *Vitis vinifera* (tabl. 2). A partir de ces amorces, 35 fragments d'ADN polymorphes (ou marqueurs RAPD) ont été décelés parmi les différents individus de *Vitis vinifera* échantillonnés.

Analyse phénotypique des marqueurs RAPD

Les géotypes de vigne sauvage et ceux des variétés cultivées ont montré un degré de polymorphisme différent au niveau des

Amorce	Séquence (5'--->3')	Nombre de bandes d'ADN polymorphes
P-03	-CTGATACGCC-	7
P-04	-GTGTCTCAGG-	3
P-05	-CCCCGGTAAC-	5
P-09	-GTGGTCCGCA-	7
P-15	-GGAAGCCAAC-	1
P-19	-GGGAAGGACA-	8
B-06	-TGCTCTGCC-	2
T-04	-CACAGAGGGA-	2
Total		35

Tableau 2: Liste des oligonucléotides capables de produire des fragments d'ADN polymorphes parmi les génotypes de *Vitis vinifera*.

marqueurs RAPD. Une plus grande homogénéité génétique a été trouvée parmi les individus sauvages. En effet, chez la vigne sauvage, seuls 15 des 35 marqueurs RAPD (42,8%) se sont révélés polymorphes. En revanche, dans le cas des cépages, le polymorphisme affectait 27 des 35 marqueurs recensés (77,1%).

La plus grande variabilité des cultivars se traduit également par un nombre élevé de marqueurs propres au subsp. *sativa*. Parmi ceux-ci, les marqueurs P9-E et P15-A, présents chez la majorité des cépages, permettent une facile distinction entre génotypes d'origine cultivée ou sauvage (fig. 1).

D'autres marqueurs présentent un intérêt pour l'identification des cépages en n'étant présents que chez un cépage particulier. Ainsi, P3-D et P3-F caractérisent respectivement les cépages Amigne et Rèze. (fig. 2).

Analyse de groupement

Les groupements UPGMA des similarités de Jaccard ont révélé une nette différence entre les génotypes de vigne cultivée et ceux de vigne sauvage (fig. 3). En effet,

dès la première dichotomie du dendrogramme, à une distance génétique de 0.7, les génotypes de *Vitis vinifera* sont séparés en deux groupes correspondant aux cépages d'une part et à la vigne sauvage d'autre part. A un niveau de comparaison plus fin, l'analyse des génotypes de vigne sauvage n'a pas mis clairement en évidence un regroupement des individus issus d'une même origine géographique. Toutefois, certaines tendances se manifestent chez les individus de la population suisse (série OTT).

Signification des taxons *sativa* et *sylvestris* et validité des groupes géographiques au sein de la subsp. *sylvestris*

La matrice des similarités et la matrice qui définit les deux groupes correspondant aux génotypes sauvages et aux variétés cultivées ont présenté une corrélation hautement significative ($p=0.001$). Parmi les individus de vigne sauvage, les comparaisons des quatre groupes géographiques ont nécessité six tests de Mantel dont les résultats sont figurés dans le tableau 3. Nous constatons que seuls les tests de Mantel

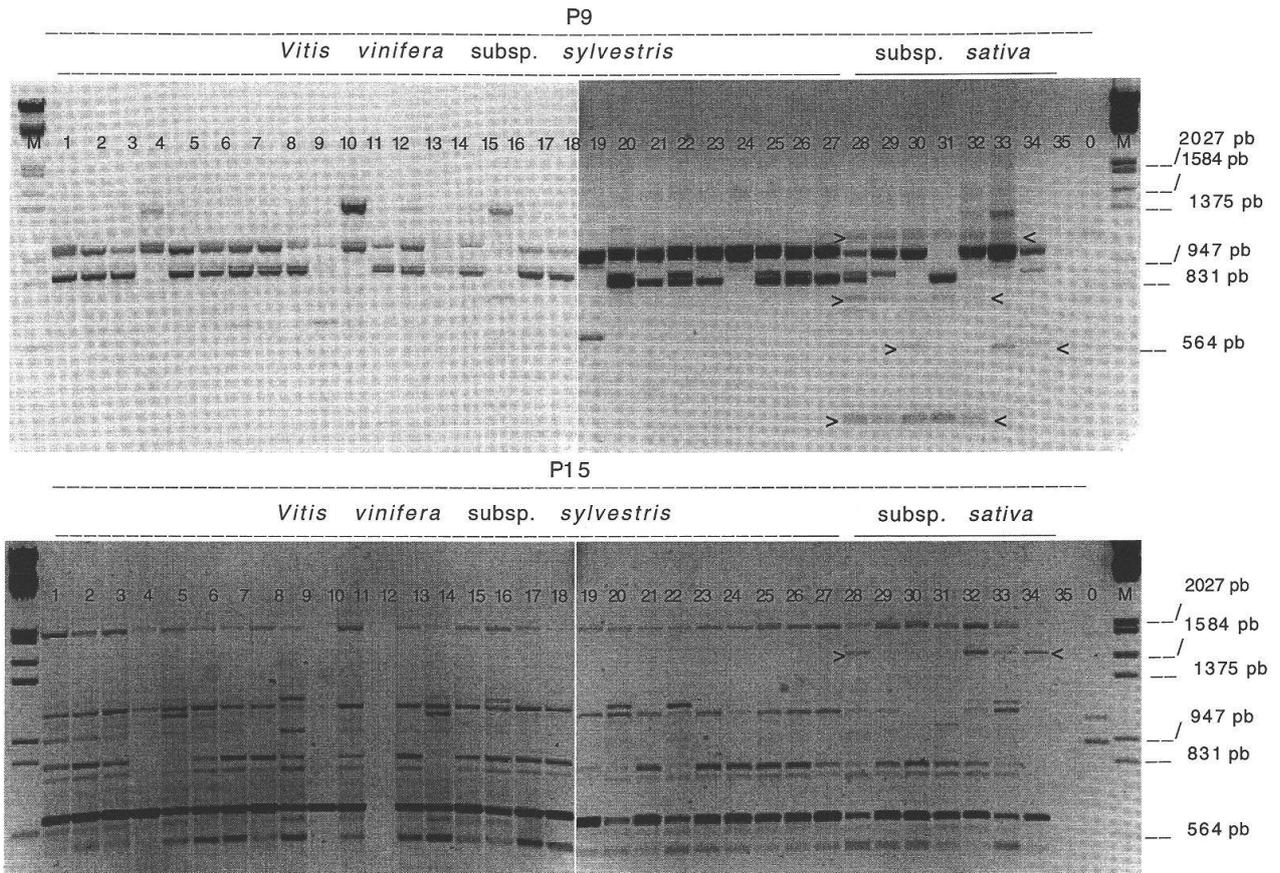


Figure 1: Profils RAPD produits par les amorces P9 et P15. Lignes 1 à 27: *Vitis vinifera* subsp. *sylvestris*; 1-6 Autriche, 7-10 Allemagne, 11-17 Roumanie, 18-27 Suisse. Lignes 28 à 34: *Vitis vinifera* subsp. *sativa*; 28 Arvine, 29 Humagne blanc, 30 Païen, 31 Rèze, 32 Amigne, 33 Pinot noir, 34 Chasselas. 35 *Parthenocissus quinquefolia*; 0 contrôle sans ADN; M marqueur III (Boehringer). Les flèches signalent les bandes spécifiques aux variétés cultivées.

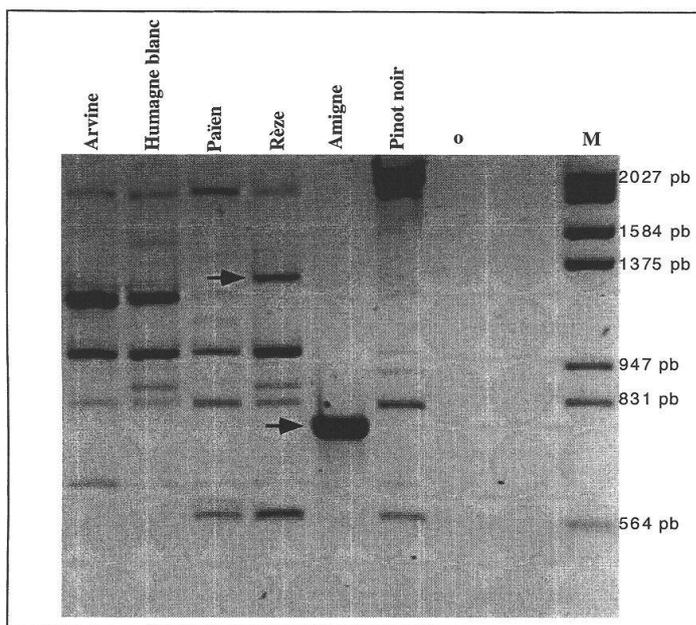


Figure 2: Profils d'amplification RAPD de 6 variétés de *Vitis vinifera* obtenus en utilisant l'amorce P3. 0: contrôle sans ADN. M: marqueurs III (Boehringer). Les flèches indiquent deux bandes permettant d'identifier les cépages Rèze et Amigne.

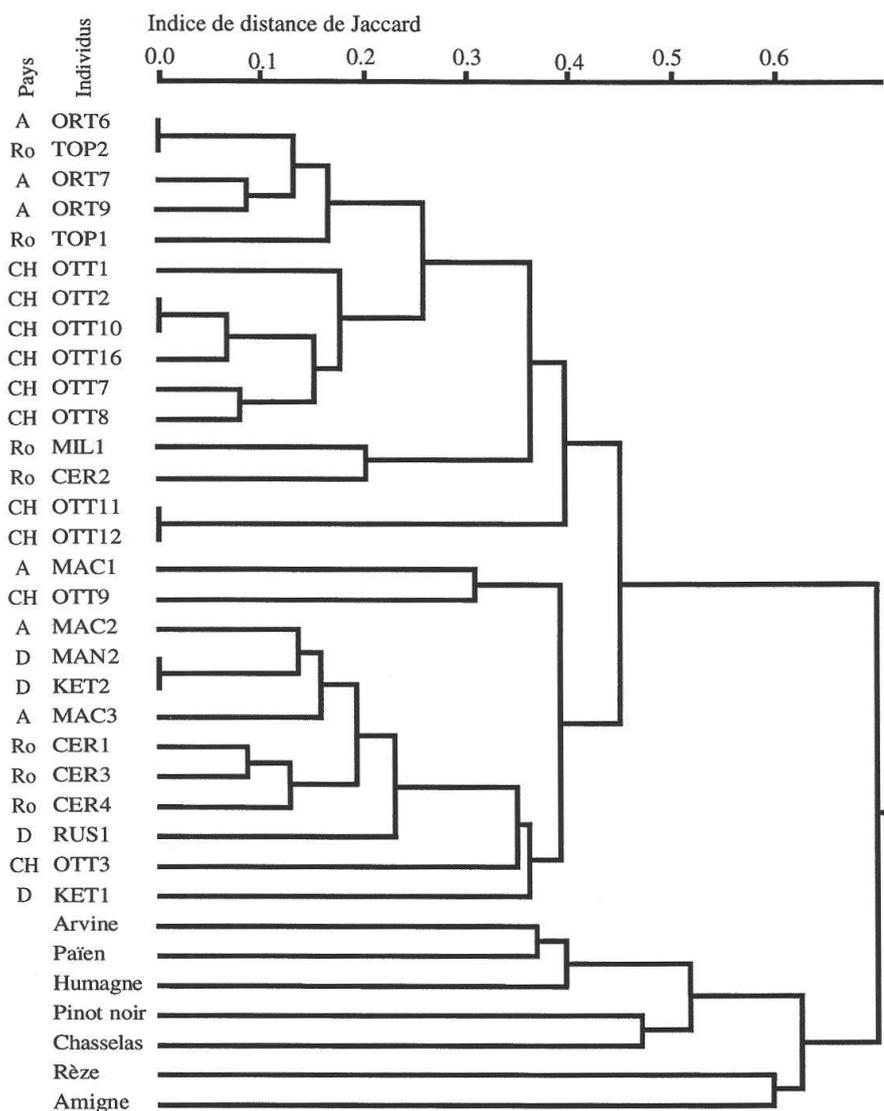


Figure 3: Groupement par association moyenne (UPGMA) des similarités de Jaccard des résultats RAPD obtenus pour les 34 génotypes échantillonnés. La provenance des individus de *Vitis vinifera* subsp. *sylvestris* est mentionnée (A: Autriche, D: Allemagne, Ro: Roumanie, CH: Suisse).

	Allemagne	Roumanie	Suisse
Autriche	0,155	0,407	0,011*
Allemagne		0,251	0,002*
Roumanie			0,003*

Tableau 3: Signification selon le test Mantel des groupes géographiques des génotypes de *Vitis vinifera* subsp. *sylvestris*. Pour toutes les comparaisons $r=0.27$. Le seuil de signification $\alpha=0.05$ a été corrigé selon le test séquentiel de Bonferroni. Les valeurs significatives sont suivies d'un * et répondent à la condition $P < \alpha$ corrigé.

incluant le groupe correspondant aux individus de Suisse montrent des différences significatives avec tous les autres groupes. L'originalité génétique des groupes "Autriche", "Allemagne" et "Roumanie" n'a, en revanche, pas été établie.

DISCUSSION

Comparaison entre les taxons sativa et sylvestris

Pour l'échantillon encore restreint étudié ici, le polymorphisme génétique de la vigne, apprécié par RAPD, justifie la distinction taxonomique établie entre la vigne sauvage (subsp. *sylvestris*) et les variétés cultivées (subsp. *sativa*). Il est particulièrement intéressant de constater que l'indépendance de deux taxons est maintenue lorsque les génotypes sauvages et cultivés proviennent de la même région. Il en est ainsi des individus de la population valaisanne de vigne sauvage (série OTT) et des cépages Humagne blanc, Arvine, Amigne, Rèze et Païen dont l'histoire et la distribution géographique sont propres au Valais (fig. 3).

Les individus sauvages provenant du Valais (OTT) se regroupent avec les génotypes d'Allemagne, d'Autriche et de Roumanie du subsp. *sylvestris*, ce qui confirme leur identité taxonomique. L'hypothèse, parfois avancée, du caractère subsontané d'une partie au moins des populations dites sauvages n'est pas vérifiée sur notre échantillon. Cette remarque, fondée sur des arguments moléculaires, est d'ailleurs renforcée par l'existence de traits morphologiques, comme la dioécie, qui permettent de distinguer la vigne sauvage de la vigne cultivée (DESFAYES, 1989).

Les deux fragments permettant de différencier la plupart des cépages de la vigne sauvage ouvrent une voie prometteuse quant à la caractérisation de la vigne sauvage par des méthodes moléculaires. Il serait cependant prudent, avant de tirer des conclusions définitives, de vérifier la pré-

sence de ces marqueurs sur un plus grand nombre de cépages.

Origine des cépages cultivés en Valais

La diversité génétique des variétés cultivées, estimée par RAPD, est supérieure à celle des génotypes de vigne sauvage. Ce phénomène a également été remarqué par GRANDO *et al.* (1995) pour des vignes provenant d'Italie. La diversité génétique des cépages est certainement une conséquence de l'ancienneté de leur histoire et de la diversité initiale du matériel intervenant dans l'élaboration des variétés. Des différences génétiques entre cépages d'origine distincte sont donc attendues. Cependant, le polymorphisme élevé constaté parmi des cépages considérés comme autochtones au Valais est plus étonnant. La variabilité élevée des marqueurs RAPD parmi les cépages Arvine, Amigne, Humagne blanc et Rèze nous incite à penser que, en dépit de leur appartenance à un même terroir, ces cépages ont une origine et une histoire indépendante. Il est donc plus vraisemblable que les cépages valaisans doivent leur existence à de multiples importations au cours de l'histoire de la viticulture qu'à la domestication d'une unique source de gène fournie par la vigne sauvage autochtone.

Enfin, l'absence des marqueurs RAPD propres aux cépages parmi l'ensemble des individus de vignes sauvages échantillonnées en Europe centrale nous laisse penser que l'origine des variétés cultivées que nous avons étudiées serait à chercher dans des vignes plus lointaines, méditerranéennes ou orientales.

Polymorphisme des génotypes de vigne sauvage

L'analyse des matrices des données RAPD en vue de l'établissement des indices de similarité n'a pas confirmé les groupes géographiques définis a priori. Ce fait, démontré par les tests de Mantel (tab. 3),

nous indique que le polymorphisme des génotypes à l'intérieur d'un même domaine géographique est tout aussi important que celui existant entre les groupes différents. Les individus de Suisse constituent en ce sens une exception. En effet, les vignes sauvages valaisannes se démarquent significativement de tous les autres. Cependant, il est fort probable que le regroupement des individus suisses provienne de leur appartenance à une seule population (série OTT), de surcroît petite, par opposition aux autres groupes géographiques qui sont constitués par des individus prélevés dans diverses populations.

Identification des cépages

L'étude du polymorphisme relatif aux cépages a permis la caractérisation moléculaire des cépages Réze et Amigne par la mise en évidence de marqueurs spécifiques à ces variétés. Ce premier résultat ainsi que les résultats obtenus par plusieurs groupes de chercheurs étudiant la vigne confirme que l'utilisation des marqueurs RAPD permet une identification moléculaire des cépages aussi précise que peu coûteuse (GOLLINS *et al.*, 1993; JEAN-JAQUES *et al.*, 1993; BÜSCHER *et al.*, 1993).

CONCLUSION

Sur la base d'un échantillonnage encore restreint, l'utilisation des marqueurs identifiés par RAPD justifie la séparation taxonomique établie entre les sous-espèces *sylvestris* et *sativa* de *Vitis vinifera*. Les variétés cultivées ont montré une plus grande diversité génétique que les génotypes sauvages. Ces différences tiennent sans doute à l'histoire très complexe de la domestication et des sélections subséquentes de la vigne qui ont conduit à un fort brassage génétique.

L'originalité taxonomique de la vigne sauvage reste sujette à caution. La zoochorie importante, la persistance de la vigne après l'abandon d'anciennes cultures, l'enracinement de déchets de taille (bois de porte-greffes ou de cépages de cuve) dans des milieux naturels ou seminaturels, l'allogamie obligatoire de la vigne sauvage dioïque sont autant de facteurs favorisant le flux de gènes de la vigne cultivée vers la vigne sauvage. GALET (1990), l'un des meilleurs ampélographes actuel, écrit même: «*on peut donc admettre qu'actuellement les vignes sauvages trouvées en Europe sont issues de graines des variétés cultivées, graines transportées par les oiseaux, les moutons, les chèvres ou les humains dans leurs déjections*». Nos résultats contrastent avec cette affirmation. Sur notre matériel, nous n'avons décelé aucun indice sûr de flux de gènes entre vignes cultivées et vignes sauvages. La "pollution génétique" des populations sauvages, si elle existe, n'altère pas profondément l'originalité de la vigne sauvage. Cette observation, nécessaire à la mise en place de plans de conservation de la vigne sauvage et indispensable aussi à la mise en place des procédures d'autorisation et de surveillance des cultures de vignes transgéniques, doivent encore être confirmées sur un nombre étendu de populations et complétées par d'autres méthodes.

REMERCIEMENTS

Je tiens à exprimer ma vive reconnaissance au Professeur Philippe Küpfer pour son soutien dans ce travail. Je tiens encore à remercier le Dr. Alain Defontaine pour ses conseils pratiques sur la technique RAPD et les Professeurs C. Dragulescu, G. Wendelberger et G. Philippi pour leur aide dans la récolte de vigne sauvage.

BIBLIOGRAPHIE

- BOURQUIN, J.-C., SONKO, A., OTTEN, L. & WALTER, B. 1993. Restriction fragment length polymorphism and molecular taxonomy in: *Vitis vinifera* L.. *Theor. Appl. Genet.* 87: 431-438.
- BÜSCHER, N., ZYPRIAN, E. & BLAICH, R. 1993. Identification of grapevine cultivars by DNA analyses: pitfalls of random amplified polymorphic DNA techniques using 10mer primers. *Vitis* 32: 187-188.
- CARRUZZO, C.-H. 1991. Cépages du Valais. *Edition Ketty & Alexandre, Chappelle-sur-Moudon*.
- DAVID, L. & KLEIN, J.P. 1994. Réintroduction expérimentale de la vigne sauvage (*Vitis sylvestris* C. Gmel.) dans les réserves naturelles d'Erstein et d'Offendorf. *Bull. Société Ind. Mulhouse* 832: 73-76.
- DESFAYES, M. 1989. La vigne sauvage en Valais. *Bull. Murithienne* 107: 161-165.
- GALET, P. 1990. Cépages et Vignobles de France, T. II - L'Ampélographie Française, 2^e éd. *Edition Pierre Galet, Montpellier*.
- GOLLINS, G.G. & SYMONS, R.H. 1993. Polymorphisms in grapevine DNA detected by the RAPD PCR Technique. *Plant Mol. Biol. Reporter* 11/2: 105-112.
- GRANDO, M.S., DE MICHELI, L., BIASETTO, L. & SCIENZA, A. 1995. RAPD markers in wild and cultivated *Vitis vinifera*. *Vitis*: 34, 37-39.
- HEGI, G. 1965. *Vitis* L. Weinstock, Rebe, Traubenstock. Frans.: Vigne; engl.: Vine; ital.: Vite. *Illustrierte Flora von Mitteleuropa* 5: 359. *Carl Hanser Verlag, München*.
- ISSLER, E. 1938. La vigne sauvage (*Vitis silvestris* Gmelin) des forêts de la vallée rhénane, est-elle en voie de disparition? *Bull. Ass. Phil. Alsace Lorraine* 8: 413-416.
- JEAN-JAQUES, I., DEFONTAINE, A., & HALLET, J.N. 1993. Characterization of *Vitis vinifera* cultivars by Random Amplified Polymorphic DNA markers. *Vitis* 32 :189- 190.
- LEGENDRE, P. & VAUDOR, A. 1991. Le progiciel R - Analyse multidimensionnelle, analyse spatiale. *Département des sciences biologiques, Université de Montréal*.
- LEVADOUX, L. 1956. Les populations sauvages et cultivées de *Vitis vinifera* L. *Ann. Amélior. Pl.* 59-118.
- RICE, W.R. 1989. Analysing tables of statistical tests. *Evolution* 43: 223-225.
- ROGERS, S.R. & BENDICH, A.Z. 1988. Extraction of DNA from plant tissues. *Pl. Molec. Biol. Manual*, 6:1-10.
- SCIENZA, A., VILLA, P., FEDESCO, G., PARINI, L., ETTORI, C., MAGENES, S. & GIANAZZA, E. 1994. A chemotaxonomic investigation on *Vitis vinifera* L. II. Comparison among ssp. *sativa* traditional cultivars and wild biotypes of ssp. *silvestris* from various Italian regions. *Vitis* 33: 217-224.
- THOMAS, M.R., CAIN, P. & SCOTT, N.S. 1994. DNA typing of grapevines: A universal methodology and data base for describing cultivars and evaluating genetic relatedness. *Plant Mol. Biol.* 25: 939-949.
- VALENTI, L., MATTIVI, F., MASTROMAURO, F., ANZANI, R. & SCIENZA, A. 1993. Caratterizzazione della *Vitis v. silvestris* italiana attraverso i pigmenti antocianici. *Vignevini* 9: 42-46.
- WILLIAMS, J.G.K., KUBELIK, A.R., LIVAK, K.J., RAFALSKI, J.A. & TINGEY, S.V. 1990. DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. *Nucleic Acids Res.* 18: 6531-6535.