

**UNIVERSITE SAAD DAHLEB DE BLIDA**

**FACULTE AGRO-VETERINAIRE**  
Département des sciences Agronomique

**MEMOIRE DE MAGISTERE**

Spécialité : Sciences Agronomiques

ESSAIS DE MICRO PROPAGATION IN VITRO CHEZ LA VIGNE

*Vitis vinifera L .*

Par

**M<sup>me</sup> NADJIA REZZOUG née DJAADI**

Devant le jury composé de :

BENMOUSSA M.	Professeur, U. de Blida	Président
BENREBIHA F/Z.	Maître de conférence, U. de Blida	Directrice de la thèse
CHAOUIA C.	M/A Chargée de cours, U. de Blida	Co-directrice
SNOUSSI S/A.	Professeur, U. de Blida	Examineur
MEZIANI S/A.	M/A Chargé de cours, U. de Blida	Examineur

## RÉSUMÉ

La situation actuelle des vignobles algériens est inquiétante, les ressources en viticulture sont en voie de disparition.

Cet état peut être expliqué en partie par le vieillissement des vignobles et la situation sanitaire déplorable due à l'utilisation de plants issus de matériel végétal incertain ainsi que la négligence de cépages locaux adaptées.

Ce travail consiste à maîtriser la technique de micro bouturage des cépages dans un but de lancer la multiplication *in vitro* des souches autochtones à grande échelle.

Les principaux résultats obtenus montrent l'efficacité du protocole de désinfection adopté ainsi que l'efficacité du milieu de culture choisie (milieu de Murachinge et Skoog). Sans hormone de croissance, nous avons obtenus une très bonne aptitude des vitro plants au micro bouturage, avec un taux de reprise de 100% pour les trois cépages autochtones TORKI, ANEB DE KABYLIE et AHMER DE MASCARA.

Des résultats similaires (100%) sont obtenus pour les deux porte-greffes testés 110R et 41B.

Les essais de micro bouturage des plants assainis par culture de méristèmes, permettent de conclure que les vitro plants appartenant au génotype ANEB DE KABYLIE ont une bonne aptitude au micro bouturage.

Mots clés: ressources en viticulture, cépages autochtones, micro bouturage, porte-greffes.

## SUMMARY

The current position of Algerian vineyards is troubling, wine growing resources are becoming extinct.

This situation can be explained partly by the vineyards ageing and the deplorable sanitary situation, which is due to the use of seedling coming from unsettled material plant as well as the carelessness of the adapted local grapes.

This task consists of mastering the technique of grapes micro propagation by cutting, with the aim to launch the increase in vitro of autochthonous stocks on large scale.

The main results obtained show the efficiency of decontamination adopted protocol and the efficiency of the selected culture environment (environment of Muraching and Skoog).

We have obtained a very good ability of vitro seedling to micro propagation by cutting, without growth hormone. 100% of recovery rate for the three autochthonous grapes TORKI, ANEB of KABYLIE and AHMER of MASCARA.

For the two boot stocks tested 110R and 41B the same results are obtained (100%).

The micro propagation by cutting tests of purifying seedlings by meristemes culture allow to conclude that vitro seedlings belonging to the genotype of Kabylie have a good ability to the micro propagation by cutting.

Key words: wine growing resources, autochthonous wine variety, micro propagation by cutting, bot stocks.

## ملخص

حاليا في الجزائر الموارد في صنف العنب للاسف متدهورة و هذا يرجع من جهة لكبر الكروم ومن جهة اخرى لكثرة الامراض نتيجة للاستعمال نباتات ذات اصل مجهول و كذا تجاهل الاصناف المحلية المتأقلمة مع الظروف المناخية المحلية

هذه الدراسة تهدف الى التحكم في تقنية التكاثر الخضري للعنب بهدف تعميم استعمال هذه التقنية على نطاق واسع

أهم النتائج المحصل عليها تبين فعالية مخطط التعقيم المعتمد و كذا اهمية الوسط الغذائي المختار (MURACHING and SKOOG) .

دون هرمون النمو تحصلنا على نمو جد جيد للنباتات المخبرية 100 % فيما يخص الاصناف المحلية الثلاث

TORKI, ANEB de KABYLIE et AHMER de MASCARA

نفس النتيجة تحصلنا عليها بالنسبة لحامل الطعم 110R et 41B

بالنسبة لتجارب التكاثر المخبري للنباتات المحصل عليها بطريقة زراعة الاوج النتائج المحصل عليها تبين ان .

ANEB de KABILIE له قابلية جد جيدة للنمو بطريقة التكاثر المخبري

كلمات المفاتيح التكاثر الخضري. الأصناف المحلية. الموارد في صنف العنب. حامل الطعم

## REMERCIEMENTS

Avant de présenter ce travail, qu'il me soit permis de faire part de gratitude à tous ceux qui de près ou de loin ont contribué à son élaboration.

Que M<sup>eme</sup>BENREBIHA, trouve ici l'expression de ma reconnaissance pour l'encadrement. Je vous remercie pour votre soutien moral durant la réalisation de ce travail.

Je tien a remercier M<sup>elle</sup>CHAOUIA, d'avoir accepter d'être ma co-promotrice.

Ma gratitude et mes vifs remerciements à M<sup>r</sup> BENMOUSSA pour avoir accepter de présider le jury.

Je remercie également M<sup>r</sup> SNOUSSI ainsi que M<sup>r</sup> MEZIANI, pour avoir bien voulu juger mon travail.

Je voudrais aussi témoigner ma reconnaissance à M<sup>elle</sup> DALILA BOULBERHANE chef département ruminant, I.TELV. Pour l'aide et la compréhension.

Je tiens à remercier vivement M<sup>r</sup> AOUANE responsable du laboratoire d'amélioration des végétaux ainsi que les ingénieurs de l'I.T.A.F.V.

Je tiens également à remercier mon mari et mes beaux frères pour l'aide.

Merci.

## SOMMAIRE

<b>INTRODUCTION</b>	1
<b>CHAPITRE 1. SYNTHES BIBLIOGRAPHIQUE</b>	3
<b>1. GENERALITES SUR LA VIGNE</b>	3
1.1 Origine et historique	3
1.2 Répartition	4
<b>2. VARIATION ET AMELIORATION GENETIQUE DES VARIETES DE VIGNE</b>	12
2.1 Méthodes de sélection	12
2.2 Hybridations	16
2.3 Mutations	17
2.4 Culture <i>in vitro</i> et amélioration de la vigne	19
2.5 Application de la génétique moléculaire	20
2.6 Risques et intérêt de la culture <i>in vitro</i>	21
2.7 Conservation des ressources génétiques du genre <i>vitis</i>	23
<b>3. MALADIES DE LA VIGNE</b>	24
3.1 Maladies a virus et à viroïdes	24
3.2 Maladies cryptogamiques	27
3.3 Maladies a mycoplasme	30

<b>4. METHODES D'ASSAINISSEMENT DES VIGNES VIROSES</b>	<b>31</b>
4.1 Thermothérapie	31
4.2 Procédés biotechnologiques	31
4.3 Procédés chimiques	32
4.4 Culture <i>in vitro</i> en présence de virazole	33
<b>CHAPITRE 2. MATERIEL ET METHODES</b>	<b>34</b>
1 Matériel végétal	34
2 Origine du matériel végétal	34
3 Désinfection du matériel végétal	35
4 Milieu de culture	36
5 Prélèvements des boutures herbacées	37
6 Conditions de culture	37
7 Analyse statistique	37
8 Méthode d'analyse statistique	38
<b>CHAPITRE 3. RESULTATS ET DISCUSSIONS</b>	<b>40</b>
<b>1. la micropropagation</b>	<b>40</b>
1.1 Effet de cépages sur le taux de reprise	41
1.2 Effet de cépages sur le taux d'enracinement	43
1.3 Rythme de croissance (cm) en fonction du temps	45
1.4 Effet de l'hormone de croissance ANA sur L'enracinement	48
1.5 Effet de porte-greffe sur le taux de reprise	50
1.6 Effet de porte-greffe sur le taux d'enracinement	52
1.7 Rythme de croissance (cm) en fonction du temps	54

<b>Conclusion partielle</b>	57
<b>2. Micropropagation des plants assainis par culture de méristème</b>	59
2.1 Effet de cépages sur le taux de reprise	59
2.2 Effet de cépages sur le taux d'enracinement	61
2.3 Rythme de croissance (cm) en fonction du temps	63
<b>Conclusion partielle</b>	67
<b>CONCLUSION GENERALE</b>	68
<b>REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES</b>	70
<b>ANNEXE</b>	76
A. Liste de cépages de vigne autorisée à la commercialisation	76
B. Caractérisation du matériel végétal expérimenté	79

## LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Effet de cépages sur le taux de reprise	42
Figure 2 : Effet de cépages sur le taux d'enracinement	44
Figure 3 : Rythme de croissance des cépages	45
Figure 4: Effet de l'hormone ANA sur le taux d'enracinement	49
Figure 5 : Effet de porte-greffe sur le taux de reprise	51
Figure 6 : Effet de porte-greffe sur le taux d'enracinement	53
Figure 7: Rythme de développement des portes greffes	54
Figure 8 : Effets de cépages sur le taux de reprise	60
Figure 9 : Effets de cépages sur le taux d'enracinement	62
Figure 10: Rythme de croissance des cépages.	63

## LISTE DES PLANCHES

Planche 1 : Serre expérimentale Tessala El Merdja, plants-mère âgée d'un an	39
Planche 2 : Evolution d'un vitro plant de TORKI AU 56 <sup>ème</sup> jour	46
Planche 3 : Evolution de vitro plants de ANEB de KABYLIE et AHMER de MASCARA Au 56 <sup>ème</sup> jour	46
Planche 4. Effet de cépage ANEB de KABYLIE sur le taux d'enracinement	47
Planche 5. Evolution d'un vitro plant de 110R après 56 <sup>ème</sup> jour	55
Planche 6. Evolution des vitro plants de 41B après 56 <sup>ème</sup> jour	56
Planche 7. Plants de ANEB de KABYLIE assainis par culture de méristème au 49 <sup>ème</sup> jour de mise en culture	64
Planche 8. Plant de TORKI assainis par culture de méristème au 49 <sup>ème</sup> jour de mise en culture	65
Planche 9. Enracinement d'un vitro plant de ANEB de KABYLIE au 42 <sup>ème</sup> jour	66

## LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1 : Superficie du vignoble dans le monde	4
Tableau 2 : Production mondiale de raisin	5
Tableau 3 : Rendement national	6
Tableau 4 : Milieu de culture	36
Tableau 5 : Analyse de variance du taux d'enracinement	43
Tableau 6 : Analyse de variance du taux d'enracinement	48
Tableau 7 : Analyse de variance du taux d'enracinement	52
Tableau 8 : Analyse de variance du taux de reprise	59
Tableau 9 : Analyse de variance du taux d'enracinement	61

## **LISTE DES ABREVIATIONS**

ADN : Désoxyribonucléique, acide

ANA : Acide naphtalène acétique

FAO : Organisation des Nations unies pour l'alimentation et l'agriculture (en anglais, Food and Agriculture Organization)

I.T.A.F.V. : Institut technique des arbres fruitier et vigne

INRA : Institut national de la recherche agronomique

MS : Milieu de Muraching et Skoog

O.N.C.V.: Office national de commercialisation des produits viti-vinicole

PNDRA : Plan national du développement rural

*A MON FILS : IMAD*

## INTRODUCTION

La vigne *Vitis vinifera* L. présente un intérêt majeur pour les pays du climat tempéré, notamment ceux du Bassin Méditerranéen. L'importance de la vigne en Algérie est principalement liée à son adaptabilité vis-à-vis de la diversité pédoclimatique et topographique du pays (Anonyme ; 2003).

Avant l'indépendance, l'Algérie était le 4<sup>ème</sup> pays viticole du monde par sa production et l'étendue du vignoble et le 1<sup>er</sup> pays exportateur du monde (AOUANE ; 2005).

Aujourd'hui, le pays vit une crise écologique sévère, due à la déforestation, dégradation des ressources en eau, pollution et l'appauvrissement de la diversité biologique (RAHMANI, 2001).

Les ressources en viticulture sont malheureusement dégradées (FAO, 2004). L'état phytosanitaire des vignobles algériens menace l'existence des cépages autochtones. Cela est dû à de multiples facteurs, entre autres le mode de multiplication par voie végétative qui favorise la propagation des maladies et l'introduction de matériel végétal étranger ayant une qualité variétale et sanitaire non contrôlé.

Afin de préserver les cépages autochtones algériens le recours à la culture *in vitro* (micro bouturage, micro greffage d'apex, culture de méristème), est une bonne alternative pour remédier à ces problèmes (FOURNIOUX, HELOIR ; 1999).

Notre travail est une contribution pour l'établissement d'un protocole expérimental de la micropropagation *in vitro* de trois cépages autochtones ; TORKI, ANEB DE KABYLIE, AHMER DE MASCARA et deux porte-greffes 110R et 41B. Ainsi que l'application de technique de micropropagation, sur des plants assainis par culture de méristème de deux cépages TORKI, ANEB DE KABYLIE.

## CHAPITRE 1

### SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE

#### 1. GENERALI TES SUR LA VIGNE

##### 1.1 Origine et systématique

La vigne est l'une des plantes les plus anciennes, les hommes en cultivent depuis longtemps (5000 ans avant J.C.). Certains indices (présence de pollen, de graines, de feuilles fossiles) permettent de dire qu'elle existait à l'ère tertiaire en Asie mineure et en Europe Orientale (RYNNIER ; 2000).

Avant l'introduction de la vigne cultivée, le sol algérien portait des vignes sauvages appartenant toutes à l'espèce commune *Vitis Vinifera*. Une introduction de formes cultivées plus productives a été faite par les différents conquérants de l'Afrique du Nord et qui se seraient croisées avec des formes autochtones aboutissant à des cépages parfaitement acclimatés aux conditions du milieu (Anonyme ; 2003).

La famille des vitacées comprend 12 genres et 700 espèces dont l'ensemble sont des lianes et arbustes (DAMAL ; 2004).

Le genre *Vitis* est le plus intéressant, celui-ci étant divisé en deux sous-genres : *Muscadina* qui possède  $2n = 40$  chromosomes et *Euvitis* à  $2n = 38$  chromosomes. Le quasi totalité des vignes cultivées fait partie de ce dernier genre (HUGLIN ; 1986).

## 1.2 Répartition

### 1.2.1 La viticulture mondiale

La vigne est cultivée dans les deux hémisphères entre 35<sup>e</sup> et 50<sup>e</sup> en parallèles. L'Europe fournit deux tiers de la production mondiale selon les campagnes (BRETAUDEAU et FAURY ; 1990).

### 1.2.2 Superficie

Le vignoble mondial atteint 7.9 millions d'ha en 2001. A signaler que durant ces dernières années il y a eu une progression des vignobles européens (DUTRUC-ROSSET ; 2001).

**Tableau 1 : Superficie du vignoble dans le monde**

Pays	Superficie en milliers d'ha	Répartition en %
Espagne	1180	14.91%
France	917	11.59%
Italie	908	11.47%
Turquie	581	7.34%
Etats-unis	413	5.22%
Iran	270	3.41%
Portugal	261	3.30%
Chine	260	3.29%
Roumanie	248	3.14%
Argentine	209	2.65%
Total mondial	7913	

DUTRUC-ROSSET (2001).

### 1.2.1.1 Production

La production mondiale de raisin pour l'année 2001 est de 642 093 de quintaux. A noter une évolution des rendements ces dernières années : le rendement moyen est passé de 59 qx/ ha à 77 qx/ha (DUTRUC-ROSSET ; 2001).

**Tableau 2 : Production mondiale de raisins**

Pays	Production En millier de (qx)	Répartition en %
Italie	88713	14.21%
France	76266	12.22%
Etats-unis	67920	10.88%
Espagne	66413	10.64%
Turquie	34000	5.45%
Chine	30132	4.83%
Iran	23500	3.77%
Argentine	21911	3.51%
Chili	18999	3.04%
Allemagne	131360	2.10%
Total mondial	624093	

Dutruc-Rosset (2001).

## 1.2.2 La viticulture algérienne

### 1.2.2.1 Superficie

La culture de la vigne en Algérie a bénéficié des avantages accordés dans le cadre du PNDRA. Les superficies se sont accrues de 17% entre 2001 et 2002 et aussi de 17% entre la moyenne des années 1991-2000 et 2002. Du fait de l'arrachage de vieux vignobles, les superficies en rapport ont diminué de -11% entre 2002 et la moyenne des années 1991-2000, mais par rapport à 2001 ces superficies ont augmenté de 5%.

### 1.2.2.2 Rendement national

Les rendements ont favorablement évolué : ils ont augmenté de 14% durant les campagnes 2001 et 2002 et de 39% entre la moyenne des campagnes 1991-2000 et 2002. Cette évolution explique donc la forte croissance de la production, respectivement pour les deux dates précédentes de + 19% et 23%.

Le raisin de table domine avec 52% des superficies complantées en 2002. Depuis la mise en œuvre du PNDRA et aussi grâce à la politique de relance de l'ONCV pour le raisin de cuve, ce dernier, et surtout, le raisin sec progressent plus vite que le raisin de table (respectivement 6%, 22%, et 5%) (Anonyme ; 2003).

**Tableau 3 : Rendement national**

	Moy. 91/ 2000	1999-2000	2000- 2001	2001- 2002	Variation en %	
					2002/ 2001	2002 (1991- 2000)
Sup. complantée	68300	58800	68500	79990	17	17
Sup. en rapport	61100	51000	51500	54200	5	-11
Rendement en qx/ha	31	40	38	43	14	39
Production 1000qx	1902500	2038000	1961600	2344000	19	23

Ministère de l'agriculture ; ( 2003)

### **1.2.3 Encépagement algérien**

L'encépagement algérien est le résultat des brassages des peuples et des civilisations le long de l'histoire de ce pays, ainsi ce sont les croisements des cépages, qui ont donné naissance à des populations locales bien acclimatées aux conditions naturelles de l'Algérie (LEVADOUX ; 1971).

Le classement du patrimoine variétal se fait en trois catégories ;

1.2.3.1 Les cépages de vignes classiques

1.2.3.2 Les cépages de vignes autochtones

1.2.3.3 Les cépages de vignes nouvelles (Annexe A).

#### **1.2.3.1 les cépages Classiques**

Ce sont toutes les introductions de cépages cultivées par les colons et qui occupent les régions privilégiées au dépens des cépages autochtones, ces cépages constituent actuellement la gamme la plus connue et cultivée (LEVADOUX ; 1971).

#### **1.2.3.2. Les cépages autochtones**

Ils se répartissent généralement dans les massifs de la Kabylie et l'Aurès, ou nous trouvons même des cépages sauvages de vigne.

##### **a. Les cépages de Montagne**

Les cépages de cette zone résistent aux gelées tardives, possédant des fruits à chaire ferme, craquante à peau épaisse peu juteuse : AHMAR BOU AMAR, AMESSASSE, AMELLAL, ABERKANE, AHMAR MECHTRAS I et II (LEVADOUX ; 1971).

### **b. Les cépages du Sud**

Ils sont résistants à la chaleur, mûrissent relativement tôt possèdent des fruits à pellicule plus épaisse et plus juteuse, la baie est moins croquante:

BOUNI, SEDDOUK (LEVADOUX ; 1971).

#### **1.2.3.3 Les nouveaux cépages**

L'introduction des nouveaux cépages à grande échelle est une opération sous le contrôle de I.T.A.F.V., c'est ainsi que les cépages PRIMA et ORA ont été introduits en 2004 (CHETOUH ; 2004).

Les objectifs de ces nouvelles introductions sont :

- L'enrichissement de la gamme variétale,
- Tenter de répandre à une tendance à la commercialisation de raisin à grosses baies et à chair sans pépins,
- Etaler la production sur toute l'année.

#### **1.2.4. Les Portes- Greffes**

La nécessité d'utilisation des porte-greffes est liée principalement à deux contraintes majeures :

- La présence du phylloxera, un homoptère auquel l'espèce *V.vinifera* est très sensible (VIDAUD et al ; 1993).l'utilisation des porte-greffes d'origine américaine a pu résoudre le problème.
- La chlorose de la vigne est une maladie physiologique ayant pour origine une carence en fer du système de la plante consécutive à la présence massive dans le sol d'ions bicarbonique (CHIADMI ; 1986).

Le territoire viticole algérien révèle deux problèmes majeurs à savoir :

- La teneur élevée du sol en calcaire actif qui caractérise la région du centre du pays. Il est donc recommandé d'utiliser des porte-greffes tolérants tel que le 41B.
- La sécheresse qui caractérise principalement la région ouest du pays, dans cette région il faudra utiliser des porte-greffes vigoureux et résistants à la sécheresse : 140RU, 110R, 1103P, 99R et SO4 (YAHYAHOUÏ ; 2003) (Annexe B).

## **1.2.5 Multiplication de la vigne**

### **1.2.5.1 La voie sexuée**

Les plantes issues de semis de pépins d'un même cépage sont génétiquement différents les uns des autres. Ils sont différents du cépage parentale du fait de la disjonction des caractères, rendue possible par leur état hétérozygote (RYNIER ; 2000).

Une sélection à l'intérieur au sein d'une descendance est possible en ne retenant que les individus présentant des caractères plus avantageux que ceux existant chez le cépage population. On peut également croiser des cépages différents afin d'augmenter l'hétérogénéité des descendance et d'y voir apparaître des individus qui rassembleraient dans leur génome des caractères intéressants existant chez des variétés distinctes (RYNIER ; 2000).

Ce procédé de multiplication est réservé aux sélectionneurs et aux hybrideurs pour la création de nouveaux porte greffes.

### **1.2.5.2 La voie asexuée**

En partant de fraction de rameaux, dont on essaie d'obtenir l'enracinement et le développement d'une tige, soit directement sans les détacher de la souche-mère (marcottage et provignage), soit par prélèvement sur la souche de boutures qui seront mises en pépinière pour s'enraciner et fournir des plants racinés (bouturage). Dans les régions phylloxérées, il faut impérativement pratiquer le greffage (GALET ; 1977).

Les techniques de multiplication les plus utilisées en viticulture sont le bouturage et le greffage.

- **Le bouturage**

Ce procédé consiste à mettre dans le sol un fragment d'un an, qui est placé dans des conditions déterminées d'humidité, de chaleur et de lumière. Il donne à sa base des racines et à son sommet des rameaux, reproduisant peu à peu un plant identique à celui dont il provient (CHANCRIN ; 1952).

La reprise au bouturage dépend de la qualité des bois utilisés (aoûtement, état sanitaire, état d'hybridation), des conditions de conservation des boutures et la conduite en pépinière (RYNIER ; 2000).

- **Le greffage**

Depuis l'apparition du phylloxéra le greffage est devenu obligatoire (CALVET et GUIRBAL ; 1979) .Il met en œuvre le phénomène physiologique de la callogénèse qui permet la soudure entre le greffon et le porte greffe :

Le greffon a pour rôle d'émettre une tige et doit donc être pourvu d'un bourgeon.

Le porte-greffe ou sujet a pour rôle de développer le système racinaire du plant puis d'alimenter la partie aérienne de la souche (RYNIER ; 1991).

## **2. VARIATION ET AMÉLIORATION GÉNÉTIQUE DES CÉPAGES DE VIGNE**

La vigne sauvage est une plante dioïque. Les cépages cultivés ont été obtenus par sélection d'individus hermaphrodites (monoïques) apparus dans les populations sauvages ou déjà cultivées. Ils ont été multipliés par voie végétative (bouturage, greffage) et ne se trouvent pas trop différents des formes d'origine quant aux autres caractères (HUGLIN ; 1998).

L'amélioration variétale peut se faire par voie végétative en sélectionnant dans les populations existantes les individus ou les cépages qui présentent les caractères recherchés, ou par voie sexuée en créant de nouveaux cépages (RYNIER ; 2000).

### **2.1 Méthodes de sélection**

La sélection peut être obtenue par différentes méthodes :

#### **2.1.1 Hétérogénéité et parenté des cépages**

L'hétérogénéité actuelle des cépages, pourrait être attribuée à l'hypothèse que ceux-ci sont issus de plusieurs plants de semis d'un même croisement spontané.

La cause principale de cette hétérogénéité est la faite des accidents génétiques, connus sous le nom de mutation, qui affectent brusquement les chromosomes (HUGLIN ; 1998).

### **2.1.2 Hétérogénéité sanitaire due aux virus**

Parallèlement à la variabilité intravariétale génétique et se superposant à elle, le matériel végétal de la vigne présente dans la plupart des pays viticoles une importante hétérogénéité sanitaire due à la propagation de viroses.

Cette extension des maladies à virus est due à la circulation intense du matériel de multiplication résultant de l'obligation du greffage (HUGLIN ; 1998).

### **2.1.3. Sélection parcellaire**

Une première méthode approximativement consiste à repérer une vigne du cépage désiré : c'est la sélection parcellaire.

L'examen visuel porte sur l'homogénéité variétale, la vigueur des ceps, leur production régulière et le bon état sanitaire.

Cette sélection parcellaire est forcément incomplète, ne reposant que sur des critères visuels.

Elle a été systématiquement poursuivie entre 1944 et 1950, en France pour l'examen des vignes –mères de porte-greffes, afin d'établir un classement sanitaire des parcelles et faire détruire les mauvaises parcelles constituées par des mélanges variétaux ou atteintes de maladies telle que le court-noué (GALET ; 1977).

#### **2.1.4 Sélection massale**

La sélection massale est une seconde étape plus rigoureuse. Elle consiste à marquer des souches dans la parcelle du cépage considéré, en passant 3 fois par an durant trois années consécutives :

- Le premier passage a lieu pendant la floraison ou après la nouaison pour vérifier l'identification du cépage et observer l'état sanitaire, la vigueur et noter éventuellement la couleur des bails.
- Le second passage se fait avant les vendanges pour examiner l'aspect des grappes, la couleur des raisins, la production et éventuellement le millerandage.
- Le troisième passage est réalisé avant la chute des feuilles pour voir les maladies à virus (enroulement des feuilles) (GALET ; 1977).

#### **2.1.5 Sélection clonale**

Cette méthode de sélection constitue l'application pratique, elle est plus rigoureuse que dans le cas de la sélection massale, de la variabilité intravariétale génétique et de la variabilité sanitaire. Elle implique donc à la fois une sélection clonale génétique et une sélection clonale sanitaire (HUGLIN ; 1998).

Les technologies récentes faisant appel au génie génétique et autres techniques *in vitro*, ne sont pour le moment qu'au stade de la recherche. C'est par la technique de la sélection clonale que sont obtenus les plants certifiés, qui entrent pour plus de 90% dans les plantations actuelles (BOUBAKER ; 1986).

#### **2.1.6. Sélection sanitaire**

La sélection sanitaire *in vitro* (culture d'apex isolés associée ou non à la thermothérapie et micro greffage d'apex), est actuellement utilisée pour la production de matériel certifié. Il apparaît parfois un problème de rajeunissement des plantes ainsi traitées entraînant une diminution et des modifications foliaires (VALAT ; 1986) in (LEBRUN ; 1986).

Cependant, dans la majorité des cas, les plants produits sont sains et conforme vis à vis des caractéristiques variétales et leur fertilité est tout à fait normale. De plus, le micro greffage permet de vérifier rapidement si la plante traitée est indemne de virus (LEBRUN ; 1986).

### **2.1.7 Sélection *in vitro***

Les méthodes classiques de sélection n'ont pas permis d'augmenter significativement le niveau de tolérance au sel pour les plantes cultivées (HANDA et al ; 1982) in (LEBRUN ; 1986).

De très grands espoirs se sont portés sur l'utilisation des cultures *in vitro* pour la création de plantes tolérantes puis pour la caractérisation de cette tolérance au niveau cellulaire (LEBRUN ; 1986).

### **2.1.8 Sélection conservatrice**

La sélection clonale proprement dite, conduite selon les règles précédemment exposées a la mise en place du ou des clones retenus dans un ou plusieurs emplacements susceptibles de les mettre le mieux possible à l'abri de contaminations virale.

Il en sera d'ailleurs de même pour des nouvelles variétés obtenues par croisement sexué qui, au début de leur existence, sont évidemment constituées par un seul clone (RYNIER ; 2000).

Ces plantations dénommées « Prémultiplications » concernent aussi bien des cépages à fruits que des porte-greffes. Les clones devront être plantés par famille, chacune d'entre elle comprenant uniquement des pieds issus soit d'une seule souche de variété à fruits ou de porte-greffe en cas de bouturage, soit d'un pied de chaque en cas de greffage.

Ces parcelles doivent être contrôlé de façon permanente afin de s'assurer visuellement et par des tests virologiques du maintien de leur bon état sanitaire.

## 2.2. Hybridation

Les premiers sélectionneurs ont tout naturellement choisi les géniteurs en fonction des caractères phénotypiques, selon une méthode appelée « correction gamétique », par laquelle on cherchait à corriger les défauts d'un cépage, en le croisant avec une variété ne présentant pas ces défauts (RYNIER ; 2000).

L'échec quasi-total des hybrides producteurs directs a été dû à l'impossibilité de réunir dans une même variété les caractères de résistance et la qualité organoleptique.

Des travaux de sélection sont en cours pour la création de cépages résistants : en ce qui concerne la résistance à l'oïdium et le mildiou, du matériel issu des cycles de recroisement des hybrides résistants portant le gène Run I sont en cours de sélection (RYNIER ; 2000).

Pour le court noué, une résistance a été développée qui concerne préférentiellement le porte-greffe. Il s'agit de coupler la résistance au nématode vecteur (*Xiphinima index*) provenant de *Muscadinia rotundifolia*, avec une résistance au virus apportée par transformation génétique. Des porte-greffes résistants à *Xiphinima index* ont été obtenus (THIS ; 2002).

La création de nouvelles variétés de raisins de table a donné le jour à des centaines de variétés dont seul un petit nombre a abouti ou aboutira peut être au stade commercial. En voici quelques exemples :

- Hongrie : perle de csaba, reine des vignes olimpia
- Italie : italia ou ideal, delizia di vaprio, ignea
- Roumanie : anca
- Union soviétique : 20 nouvelles variétés cultivées
- Etat-unis : perlette, cardinal et calmeria
- France : lival, danlas, ribol, delhro (RYNIER ; 2000).

## **2.3 Mutations**

De nombreux rapports font état de l'apparition de phénotypes nouveaux après culture *in vitro*, sans qu'il y ait changement du nombre chromosomique (AUGE et al ; 1989).

La culture *in vitro* d'une colonie de cellules mutées, pourra conduire à une plante entière sur laquelle la mutation sera étudiée. La recherche de variants peut donc se faire soit, au stade cellulaire, soit au niveau des plantes régénérées (HAMIN ; 1992).

L'origine de ces perturbations peut être constitutive, c'est à dire préexistantes dans la plante, mais aussi en relation avec l'âge de la plante ou encore avec les conditions de culture (HAMDANI ; 1997).

### **2.3.1 Les mutations germinales**

La plupart des auteurs s'accordent pour considérer que des variations du nombre chromosomique se produisent principalement dans les cals indifférenciés ou des cultures de cellules.

Ces variations du nombre chromosomique relèvent, soit de la polyploidie (4n, 8n et 16n), soit de changements chromosomiques structuraux ainsi que des anomalies mitotiques (AUGE ; 1989).

### **2.3.2 Les mutations somatiques**

Une des mutations les plus connues est celle de la couleur des baies. La chimère qui en résulte provient de la couche L1 qui produit l'épiderme. Un exemple typique est celui de la Pinot gris sur lequel des mutants blanc apparaissent annuellement dans chaque parcelle, de même, mais dans une proportion bien moindre, des mutants noirs (HUGLIN ; 1986).

### 2.3.3. Mutagenèses induites

Parallèlement à l'exploitation pour la sélection clonale des mutations spontanées, diverses tentatives de mutagenèse induite ont été réalisées sur la vigne.

Un type de mutation particulièrement fréquent chez les végétaux est la polyploïdie, anomalie due à des divisions cellulaires incomplètes qui conduisent à des cellules où le stock chromosomique est plus grand que 2 : 3n (triploïdie), 4n (tétraploïdie), 6n (hexaploïdie) (HUGLIN ; 1998).

Chez *V.vinifera* et *V.labrusca*, des formes tétraploïdes apparaissent par mutations spontanées. Elles sont connues aussi chez certains grand nombre de cépages : Muscat d'Alexandrie, Sultanine, Carignan et Chasselas. Indépendamment de la polyploïdie spontanée, divers chercheurs ont obtenus des vignes tétraploïdes en utilisant la colchicine.

L'obtention des plantes haploïdes peut se faire soit par culture d'anthères *in vitro* ou par la polyembryonie des graines (graines contenant deux ou plus d'embryons) est une source naturelle d'haploïdie (RYNIER ; 2000).

## **2.4 Culture *in vitro* et amélioration de la vigne**

### **2.4.1 Micro bouturage**

Le micro bouturage chez la vigne est le procédé le plus simple est le plus courant qui consiste à cultiver des boutures herbacées sur un milieu avec ou sans hormones. Cette technique permet de produire environ 10000 plants de vigne en un an à partir d'un seul bourgeon initial (FOURNIOUX et al ; 2002).

### **2.4.2 Culture de méristème**

Chez une plante virosée la répartition du virus semble très variable selon les organes : le méristème en particulier est une structure très protégée et est généralement indemne de virus.

C'est à partir de cette observation que MOREL et MARTIN (1952) ont démontré, sur le dahlia et la pomme de terre, qu'il était possible d'obtenir des clones sains à partir de plants virosés par culture *in vitro* de méristème (SCRIBAN ; 1999).

La thermothérapie est maintenant fréquemment associée aux cultures de méristèmes.

Le principe consiste à soumettre les méristèmes sont après excision à une température létale pour le virus mais compatible avec la survie de l'explant (chocs de longue durée à 37C° ou très brefs à 50°C) (SCRIBAN ; 1999).

Les risques de contamination augmentent proportionnellement avec la taille des méristèmes. Cependant JELLALI (1996); a pu obtenir des plantes saines à partir des plantes atteintes du court-noué de la vigne par culture de méristèmes de 0,1 à 0,2 mm avec deux ébauches foliaires.

### 2.4.3 Embryogenèse somatique

L'embryogenèse somatique *in vitro* a été observée pour une quarantaine de génotypes appartenant au genre *Vitis*. Différents explants présentent des potentialités embryogéniques : les fleurs, les feuilles et les pétioles, les ovules, les ovaires et les anthères. Ces deux derniers organes étant les plus favorables (LEBRUN ; 1986).

Le palier de l'embryogenèse une fois atteint, les recherches ont visé des applications concrètes de ce résultat. La plus importante sur le plan fondamental, est certainement la réussite de transferts de gènes par *Agrobacterium tumefaciens* (RYNIER ; 2000).

Une autre application ayant suscité de sérieux espoirs, c'est l'exploitation de la variation somaclonale observée après culture *in vitro*. Les tissus soumis à ce traitement apparaissent en effet favorables à des modifications génétiques dont certaines pourraient se montrer intéressantes sans pour autant modifier les spécificités qualitatives des variétés (LEBRUN ; 1986).

## 2.5 Application de la génétique moléculaire

### 2.5.1 Le transfert de gènes

Le transfert de gène est l'introduction dans le génome d'une cellule une information génétique étrangère et cela généralement sous forme d'ADN. Le transfert d'un gène dans le génome d'une plante se fait le plus souvent par l'intermédiaire d'un vecteur porté par une bactérie, *Agrobacterium tumefaciens* qui provoque la maladie de crown gall (RYNIER ; 2000).

Les cellules d' *A. tumefaciens* contiennent un plasmide qui est une molécule d'ADN circulaire distincte de l'ADN chromosomique et qui dans ce cas est appelé Ti. Lorsque la bactérie entre en contact avec une cellule de la plante sensible, un fragment de Ti désigné par ADN-T y est injecté et insère dans son ADN natif ; ADN-T contient les gènes initiateurs des tumeurs, une fois intégré dans l'ADN de cette cellule, devenue « transgénique ».

Il existe aussi d'autres techniques de transformation comme le transfert direct d'ADN dans des protoplastes sous l'effet d'un champ électrique (RYNIER ; 2000).

### **2.5.2 Génie génétique appliqué à la vigne**

A l'INRA de Colmar, Krastanova, Walter et *al.* (1993 et 1994) ont pu obtenir des plantes transgéniques des porte-greffes rupestris et 110 R, à partir de culture de cals embryogènes issus d'anthères, en la présence de bactérie contenant dans leur plasmide le gène CP. Celle-ci ont été soumises à des infections effectuées par des nématodes, vecteur naturels du virus GFLV (HUGLIN ; 1998).

## **2.6: Risques et intérêts de la culture *in vitro***

### **2.6.1 Risques de la perte de conformité variétale liée à la culture *in vitro***

Les inconvénients de la multiplication végétative en culture *in vitro* est de permettre l'apparition d'individus nettement différents que l'on désigne généralement sous le nom de « variants ».

Les perturbations dans le nombre chromosomique (polyploïdie et aneuploïdie), peuvent provenir d'aberrations chromosomiques diverses et peut être d'éventuelles modifications affectant les organites cellulaires (mitochondries) ou le cytoplasme. La variation peut être non héréditaire ou se transmettre selon une hérédité non mendélienne (SCRIBAN ; 1999).

La stabilité en culture *in vitro* est fonction de l'espèce et extrêmement variable selon les plantes.

Les variants sont assez fréquemment observés dans les cas de régénération de bourgeons à partir d'un cal ; leur formation paraît favorisée par l'emploi de régulateurs de croissance et notamment par « l'association lait de coco- 2,4 D » (HUGLIN ; 1998).

Remarquons enfin, que la multiplication végétative, réalisée sans discernement, peut encore présenter d'autres risques : par exemple, si l'on ne multiplie qu'un clone d'une certaine espèce d'arbre forestier, le risque est grand de voir apparaître un jour un mutant de parasite particulièrement adapté et dangereux (MARGARA ; 1984).

### **2.6.2. Intérêt de la variation somaclonale ou vitro variation**

Ces variations, difficilement contrôlables, sont exploitables et recherchées dans certains cas. Elles sont intéressantes que toute cellule isolée portant une mutation donnera naissance à une colonie, après culture *in vitro*, pourra conduire à une plante entière sur laquelle la mutation sera étudiée (HUGLIN ; 1998).

Les premiers résultats concernent principalement l'obtention de résistance à des maladies.

Chez la canne à sucre, plante qui est naturellement un complexe polyploïde, Colman et nickel obtiennent, par culture de cals issues de variétés sensibles, des clones résistants à une virose connus sous le nom de maladie de fiji. Les plantes néoformées conservent leur immunité au champ. D'autres variants sont sélectionnés pour des caractères tels que le nombre de chromosomes, la teneur en sucre, les rendements (RAJNCHAPPEL-MESSAI et GUERCHE ; 1985).

### 3.7 Conservation des ressources génétiques du genre *Vitis*

Par suite de son hétérozygotie, la conservation des ressources génétiques de la vigne ne peut se concevoir, sous forme de banque de gènes de graines ce qu'il importe donc de la réaliser sous forme de plantes vivantes.

Les méthodes de conservation les plus utilisées sont :

- La première est celle des collections, nombreuses dans le monde, comme exemple, station de recherches viticoles INRA de Montpellier, qui comprend environ 5200 clones de 2100 variétés de 25 espèces de *Vitis*.
- La seconde est celle de la conservation des génotypes *in vitro*, en utilisant la thermothérapie.
- Une troisième possibilité semble être plus prometteuse, il s'agit d'une technique de cryoconservation d'apex (HUGLIN ; 1998).

### 3. MALADIES DE LA VIGNE

Le dépérissement des vignes est la conséquence de causes diverses (accidents climatiques, erreurs agronomique et attaque parasites) (GALET ; 1992).

L'importance des mesures prophylactiques et la lutte intégrée prennent en compte non le raisonnement de la lutte chimique mais aussi l'ensemble des moyens permet de réduire l'inoculum et la sensibilité induite des vignes (MARTILI ; 1997).

La maladie se déclenche plus facilement si l'organisme est peu résistant, il est donc primordial de développer la vitalité et la résistance naturelle des plantes (SILGUY ; 1994).

#### 3.1 Maladies a virus et a viroïdes

Les virus actuellement détectables sur vigne sont :

##### 3.1.1 Virus de court-noué : *Grapevine Fanleaf Virus (GFLV)*

Le court-noué est la virose la plus importante et la plus répandue. Elle est provoquée par deux virus : le GFLV transmis par le nématode *Xiphinima index* et l'ARMV transmis par *Xiphinima diversicaudatum* (MARROU ; 1995).

#### Symptômes

Provoque un raccourcissement des entre-nœuds des rameaux, aboutissant à des nœuds doubles, ainsi qu'à des fasciations multiples des rameaux et des déformations en zig-zig.

Les feuilles présentent des déformations importantes, les rendant asymétrique avec des dents aiguës et profondes, un accroissement du limbe par dédoublement des nervures ou un rétrécissement du limbe, par diminution des écarts angulaires.

### **3.1.2 Virus de l'enroulement : ou leaf roll (GLRV)**

C'est l'une des plus graves maladies à virus, répandue mondialement, car elle diminue à la fois la quantité et la qualité des raisins. Tous les cépages de vigne à fruits et les porte-greffes peuvent être infectés, mais les symptômes sont surtout visibles sur les cépages rouges (BOVEY ;1980).

#### **Symptômes**

L'enroulement du bord des feuilles débute au milieu de l'été par les feuilles de la base des rameaux et gagne ensuite tout le rameau pendant la maturation des raisins.

Chez les cépages blancs une coloration jaune est observée, souvent plus marquée le long des nervures. Il y a en même temps, un épaissement du limbe qui est riche en hydrates de carbone, mais déficient en potassium.

Chez les cépages noirs, les feuilles se colorent prématurément en rouge. Chez les cépages teinturiers, comme l'Alicante Bouschet, à feuilles normalement enroulées, la teinte est d'un rouge violacé plus foncé, le limbe plus épais et nettement enroulé (GALZY ; 1977).

### **3.1.3 complexe de bois strié de la vigne : ou Stem-pitting (GFV-LR)**

Cette maladie, répandue dans le monde, est grave car elle entraîne un déclin des souches avec réduction de la production et finalement la mort des plants dans les cas ultimes.

#### **Symptômes**

La maladie se manifeste par une diminution de la taille et de la vigueur, un retard au débourrement et un dépérissement (BERNARD W.RIDE et BOUDON-PADOEU ; 2000).

Les plants infectés sont marqués par un manque d'affinité au greffage qui se traduit par un gonflement, le porte-greffe reste mince, la longévité est courte et certaines plantes dépérissent quelques années après leur plantation (MARTELLI ; 1993).

### **3.1.4 Marbrure : ou Fleck (GFLKV)**

Ce virus est largement répandu à l'état latent dans de nombreux cépages et porte-greffes du monde entier (BOVEY ; 1980).

#### **Symptômes**

Elle se caractérise par des décolorations, limitées le long des nervures, pouvant gagner tout l'espace interveineux.

Dans les formes les plus graves, le limbe est ondulé et s'incurve vers le haut, donnant des feuilles « en cuillère » : le port devient plus buissonneux et la vigueur notablement réduite.

## **3.2 Maladies cryptogamiques**

### **3.2.1 Le mildiou**

Cette maladie est provoquée par à un champignon nommé *Plasmopara viticola*

#### **Symptômes**

Au printemps, les premières attaques se produisent sur les rameaux issus du tronc qui traînent à proximité du sol au voisinage de flaque d'eau. Il se forme ainsi des foyers primaires qu'il faut rechercher et détruire pour éviter l'extension de la maladie.

Sur les feuilles, la première manifestation de la pénétration du parasite à l'intérieur des tissus se traduit par une teinte plus jaune, qui va en s'accusant, tranchant de plus en plus sur le vert du limbe : c'est la « tache d'huile ».

Les rameaux contaminés par une feuille ou une inflorescence, sont atteints au voisinage des nœuds ; ceux-ci prennent une teinte brune et finissent par se séparer de la partie saine et tomber (GALZY ; 1977).

### 3.2.2 L'oïdium

Le champignon responsable de cette maladie, est un Ascomycète, *Erysiphe necator*.

#### Symptômes

Les vignes fortement envahies par l'oïdium présentent un feuillage terne, de couleur grise. A la face inférieure de ces taches la trace du mycélium apparaît sous la forme de petites taches brunâtres correspondant aux cellules tuées, ces taches vont s'agrandir et former des plages bien visibles, grâce au développement du champignon qui forme un feutrage blanc grisâtre, finissant par envahir la face supérieure en provoquant un enroulement des bords du limbe vers le haut (GALZY ; 1977).

Les rameaux parasités portent d'abord de petites taches blanches qui vont s'agrandir avec l'extension du mycélium, pour devenir confluentes et former de grandes plages, pouvant couvrir toute la surface du rameau, en prenant une teinte grisâtre ou gris bleuâtre.

### 3.2.3 L'esca

L'esca est la plus vieille maladie de la vigne. Elle est due à plusieurs champignons qui se développent dans le bois et qui donnent des symptômes communs. On observe une forme à évolution lente se manifestent notamment par un affaiblissement progressif avec des symptômes sur feuilles et une forme apoplectique à évolution rapide favorisant le dépérissement en quelques heurs en été.

#### Symptômes

##### Sous sa forme lente

On observe en été l'apparition de taches jaunâtres, ou rougeâtres selon les cépages. Des nécroses marginales peuvent apparaître et entraîner progressivement le dessèchement des feuilles des la base.

### **Sous sa forme d'apoplexie**

Nous observons le dessèchement brut et la mort de quelques souches isolées. Les feuilles se fanent, les grappes flétrissent avec la conséquence la perte de la récolte, les sarments ne s'aoûte pas.

#### **3.2.4 L'excoriose**

Elle est due à *Phomopsis viticola*

#### **Symptômes**

C'est sur les rameaux qu'apparaissent les symptômes caractéristiques de l'excoriose. Au printemps apparaissent des ponctuations noires ou des lésions étendues, brun-marron, avec parfois une striation liégeuse.

En été, il se forme souvent, à l'empatement du rameau, une boursoflure qui se crevasse longitudinalement. A l'automne, l'écorce présente des plages blanchâtres et des ponctuations noires.

Les feuilles peuvent être atteintes et présenter des taches brunes sur le pétiole, les nervures et le limbe ; celui-ci reste petit, vert pale ou chlorotique.

Sur les grappes, la maladie peut être présente sur la rafle, entraînant un dessèchement partiel ou total.

### 3.2.5 Le pourridié

Le pourridié est une maladie parasitaire due à des champignons qui se développent sur les racines.

#### Symptômes

La maladie se présente en taches dans les parcelles, certaines zones présentent une végétation faible, des rameaux courts, de petites feuilles claires.

Les ceps peuvent présenter en fin d'été un rougeau ou une flavescence accompagnés d'un mauvais aoûtement.

L'affaiblissement gagne progressivement les ceps voisins alors que les premiers dépérissent et meurent en été.

### 3.3 Maladies a mycoplasme

- **La flavescence dorée**

Cette mycoplasme est transmise par une cicadelle : *Scaphoideus littoralis*.

#### Symptôme

Les symptômes observés sont le flétrissement des inflorescences, feuilles enroulées vers le bas, dures et cassantes. Un jaunissement doré s'étend à la surface du limbe. Les feuilles de la base tombent prématurément, prennent un aspect pleureur. Les sarments ont une lignification imparfaite qui leur donne une consistance de caoutchouc (BOUDON-DIEU ; 2000).

## **4. METHODES D'ASSAINISSEMENT DES VIGNES VIROSES**

### **4.1 Thermothérapie**

Cette méthode consiste à obtenir dans un premier temps la culture aseptique des vignes sur milieu gélosé *in vitro*. Les cultures sont ensuite placées dans une enceinte de traitement à 36°C pour une période de l'ordre de trois mois, puis elles sont replacées à 20°C pour reprendre une vie active, fournissant des pousses qui seront rebouturées *in vitro*, puis en pots et enfin plantées en plein champs pour reconstituer des individus complets guéris (VUITTENEZ ; 1974).

### **4.2 procédés biotechnologiques**

#### **4.2.1 Culture de méristème**

Le principe de cette méthode est de soumettre les méristèmes à une température létale pour le virus mais compatible avec la survie de la plante (chocs de longue durée à 37°C ou très brefs à 50°C). De nombreuses espèces d'intérêt économique ont été ainsi traitées (pomme de terre, fraisier ail, pois, arachide, citrus, œillet,...) (VIDALIE ; 1989).

#### **4.2.2 Thermothérapie associée à la culture de méristème**

Parmi les nombreuses maladies végétales, les viroses posent un problème particulier : il n'existe aucun moyen curatif si ce n'est la thermothérapie. Celle-ci n'est cependant applicable qu'à un nombre limité d'espèces végétales de virus.

#### **4.2.3 Micro greffage**

Il est utilisé uniquement pour les variétés dont il n'est pas possible d'obtenir de clone sain après la sélection sanitaire, ou pour des clones virosés mais présentant un intérêt agronomique particulier.

Traitement par prélèvement d'apex, issu de la plante virosée et microgreffé en conditions *in vitro* sur un hypocotyle de semis.

Cette technique, l'apex méristématique n'est plus en contact direct avec le milieu de culture, mais avec un porte-greffe spécifique ; par conséquent, il n'est pas sujet à l'influence du milieu sur son patrimoine génétique et, par la même, garde toutes les caractéristiques variétales du matériel d'origine (KEDDAM ;1988)

### **4.3 Procédés chimiques**

- **Chimiothérapie**

Lorsque la culture de méristèmes ne produit pas de plantes saines, l'application de substances qui inhibent la multiplication du virus peut être intéressante. Le Thiouracil, le 2,4D peuvent être appliqués aux plantes dont le méristème sera isolé ultérieurement, ou bien ajoutés au milieu nutritif du méristème (BARBARA ; 1992).

#### **4.4 Culture *in vitro* en présence de virazole**

La virazole est une substance antivirale, elle permet un large spectre d'action. La substance elle-même, ou ses différents métabolites inhibent un certain nombre de processus chimiques conduisant au blocage de la synthèse et de translocation des particules virales (SIDXELL, HUFFMAN ; 1972).

## **CHAPITRE : 2**

### **MATÉRIEL ET METHODES**

Nous avons entrepris notre expérimentation au sein de l'institut technique de l'arboriculture fruitière et de la vigne (I.T.A.F.V) situé à Tessala El Merdja Birtouta (Alger).

#### **1. Matériel végétal**

Les boutures de vigne de l'année constituent un bon matériel végétal pour l'organogénèse. Pour cela, nous avons mis en culture des entre-nœuds de l'année des cépages autochtones suivants :

- TORKI
- ANEB de KABYLE
- AHMER de MASCARA

Des entre-nœuds des portes greffe ont été également testés :

- 110 R
- 41 B

Les caractéristiques du matériel végétal expérimenté figure en annexe B.

#### **2. Origine du matériel végétal**

Le matériel végétal utilisé nous a été fourni par l'institut technique de l'arboriculture fruitière et de la vigne (I.T.A.F.V) (planche 2).

Les cépages proviennent de la station I.T.A.F.V. de Benchicao (Médéa). Le porte greffe 41B issue de culture de méristème (laboratoire central). Le porte greffe 110R introduit d'Italie et utilisé comme un indicateur négatif.

### **3. Désinfection du matériel végétal**

Après la suppression des feuilles et des vrilles, les boutures sont coupées en fragments de 30 mm à 40 mm, portant chacune 1 bourgeon.

Les fragments ont subie :

- Trois rinçages à l'eau courante
- Rinçage à l'eau distillée stérile
- Trempage dans l'alcool 70° pendant 10 minutes, en vue d'éliminer la cire qui couvre les boutures
- trempage dans l'hypochlorite de calcium à 8% + deux gouttes de tween pendant 20 minutes
- trois rinçages successifs de 5 minutes à l'eau distillée stérile.

Les boutures sont laissées et gardées dans l'eau du dernier rinçage pour éviter le dessèchement.

#### 4. Milieu de culture

**Tableau 4 : Composition chimique du milieu de culture (milieu de Murachinge et Skoog 1962).**

Constituants	Concentration en mg/l
<b>Macro-éléments</b>	
KNO <sub>3</sub>	1900
NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub>	1650
CaCl <sub>2</sub> , 2H <sub>2</sub> O	440
MgSO <sub>4</sub> , 7H <sub>2</sub> O	370
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	170
<b>Micro-éléments</b>	
MnSO <sub>4</sub> .4H <sub>2</sub> O	22,30
ZnSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	8,6
H <sub>3</sub> BO <sub>4</sub>	6,2
CuSO <sub>4</sub> .5H <sub>2</sub> O	0,025
NaMoO <sub>4</sub> .H <sub>2</sub> O	0,25
KI	0,83
CoCl <sub>2</sub> .H <sub>2</sub> O	0,025
<b>Chelate de fer</b>	
Na <sub>2</sub> EDTA	37,25
F <sub>e</sub> S <sub>o</sub> 4.7H <sub>2</sub> O	27,85
<b>Vitamines</b>	
Acide nicotinique	0.5
Pyridoxine	0.5
Glycine	2
Thiamine	1
Inositol	100
<b>Hormones</b>	
ANA	0.5
<b>SACCHAROSE</b>	
AGAR	6
pH	5,8

## 5. Prélèvement des boutures herbacées

Les boutures stérilisées sont sectionnées sous la hotte, en micro-boutures d'environ 1cm à 1,5 cm et comprenant un seul bourgeon.

Les explants sont soigneusement mis en cultures dans des tubes à essai contenant le milieu de culture sans hormone de croissance.

Les tubes sont fermés avec des bouchons en plastiques et obturés par du parafilm, pour éviter tout contact avec l'air.

## 6. Les conditions de culture

Les cultures (les micro-boutures) sont transférées dans la chambre de culture (planche 1), où toutes les conditions nécessaires au développement et à la croissance sont réunies, à savoir :

- Une photopériode de 16H/8H jour /nuit
- Une thermopériode de 24/22 ( $\pm 2^{\circ}\text{C}$ ) jour /nuit
- L'intensité lumineuse est fournie par une série des néons.

## 7. Analyse statistique

Les conditions de l'expérimentation étant contrôlées, le dispositif expérimental retenu est un dispositif a randomisation total.

Le nombre de plants expérimenté par répétition est 48. Le nombre de répétition est trois (3).

### Essai 1 : Micropropagation

**Facteur** Cépages et porte-greffe à cinq (5) niveaux :

- TORKI
- ANEB DE KABYLIE
- AHMER DE MASCARA
- 110R
- 41B

**Paramètres étudié**

- Taux de reprise
- Taux d'enracinement
- Rythme de développement en fonction du temps.

**Essai 2 : Micropropagation des plants assainis par culture de méristème**

**Facteur** Cépages à deux (2) niveaux :

- TORKI
- ANEB DE KABYLIE

**Paramètres étudiés**

- Taux de reprise
- Taux d'enracinement
- Rythme de croissance en fonction du temps.

**8. Méthode d'analyse statistique**

La signification des différences entre les traitements est exprimée en fonction de la probabilité ( $p$ ). Erreur à 5%.

$P > 0,05$  : différence non significative.

$P < 0,05$  : différence significative.

$P \leq 0,01$  : différence hautement significative.

$P \leq 0,001$  : différence très hautement significative.

Le test de NEWMAN et KEULS permet de constituer les groupes homogènes en se basant sur les petites amplitudes significatives (P.P.A.S).



**Planche 1. Serre expérimentale Tessala El Merdja  
Plants- mères âgées d'un an**

## CHAPITRE : 3

### RESULTATS ET DISCUSSIONS

#### 1. Micropropagation

En culture *in vitro*, les manipulateurs sont confrontés en premier lieu aux problèmes de contaminations. Durant notre étude, nous avons essayé de surmonter les difficultés rencontrées dans la stérilisation du matériel végétal gênant considérablement le bon déroulement de l'expérimentation.

Le protocole de désinfection, avec un trempage dans l'alcool 70° pendant 10 minutes et un deuxième trempage dans l'hypochlorite de calcium à 8% + deux gouttes de tween pendant 20 minutes a montré son efficacité.

Les explants sont ensemencés sur milieu d'initiation ; milieu de Murachinge et Skoog sans hormones de croissance.

Après 14 jours de mise en culture, de nombreux bourgeons axillaires se sont différenciés. Le bourgeon évolue en une petite tige feuillée développant de nouveaux bourgeons à la base de chaque feuille, ces bourgeons pourront se développer en autant de petites tiges qui à son tour initieront de nouveaux bourgeons.

### **1.1 Effet de cépages sur le taux de reprise**

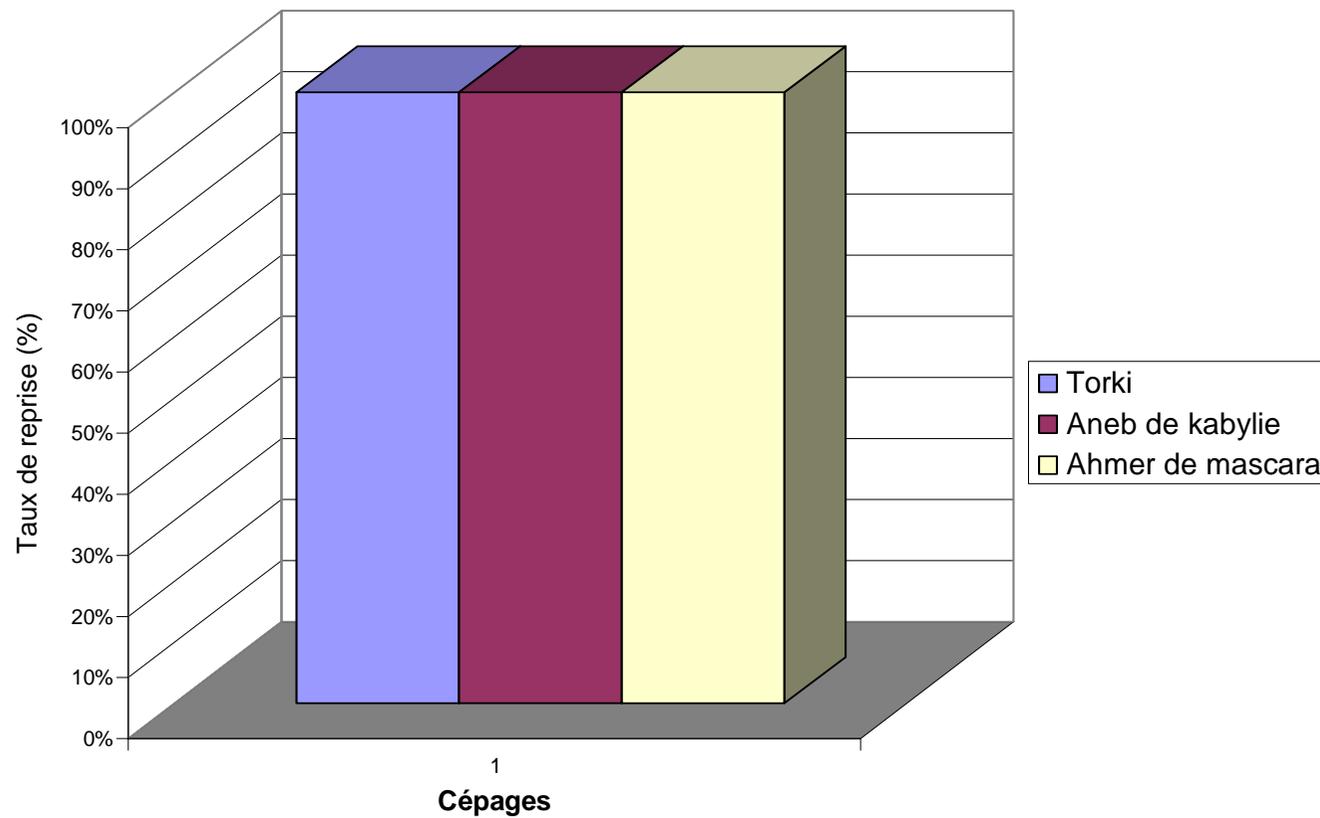
Après un mois de mise en culture, Les résultats relatifs à l'aptitude au micro-bouturage des trois cépages étudiés (TORKI, ANEB DE KABYLIE ET AHMER DE MASCARA) sont 100% (Figure, 1).

En utilisant le milieu de Murachinge et Skoog, SEDIRA (2003), a obtenu un taux de croissance des deux cépages autochtone AHMER BOU AMEUR R<sub>21</sub> S<sub>8</sub> et ADARI de l'ordre de 48 % et 44 % respectivement.

Avec le même milieu, BEMAHREZ (2003) a enregistré un taux de reprise de 25 % chez AHMER BOU AMEUR et 50 % chez MUSCAT DE CHERCHELL.

La reprise des explants sur milieu de Murachinge et Skoog, sans hormones de croissance indique la présence d'un apport endogène des hormones de croissance par ces explants.

Dés la première semaine, nous avons observé un début de bourgeonnement et un développement plus ou moins rapide, les premières feuilles ne tardent pas à apparaître. En effet, quatre semaines après, nous avons pu obtenir des vitro plants ayant des feuilles bien développées d'une coloration verdâtre.



**Figure 1. Effet de cépages sur le taux de reprise**

## 1.2 Effet des cépages sur le taux d'enracinement

La figure 2, montre les résultats relatifs au taux d'enracinement des trois cépages étudiés TORKI, ANEB DE KABYLIE et AHMER DE MASCARA.

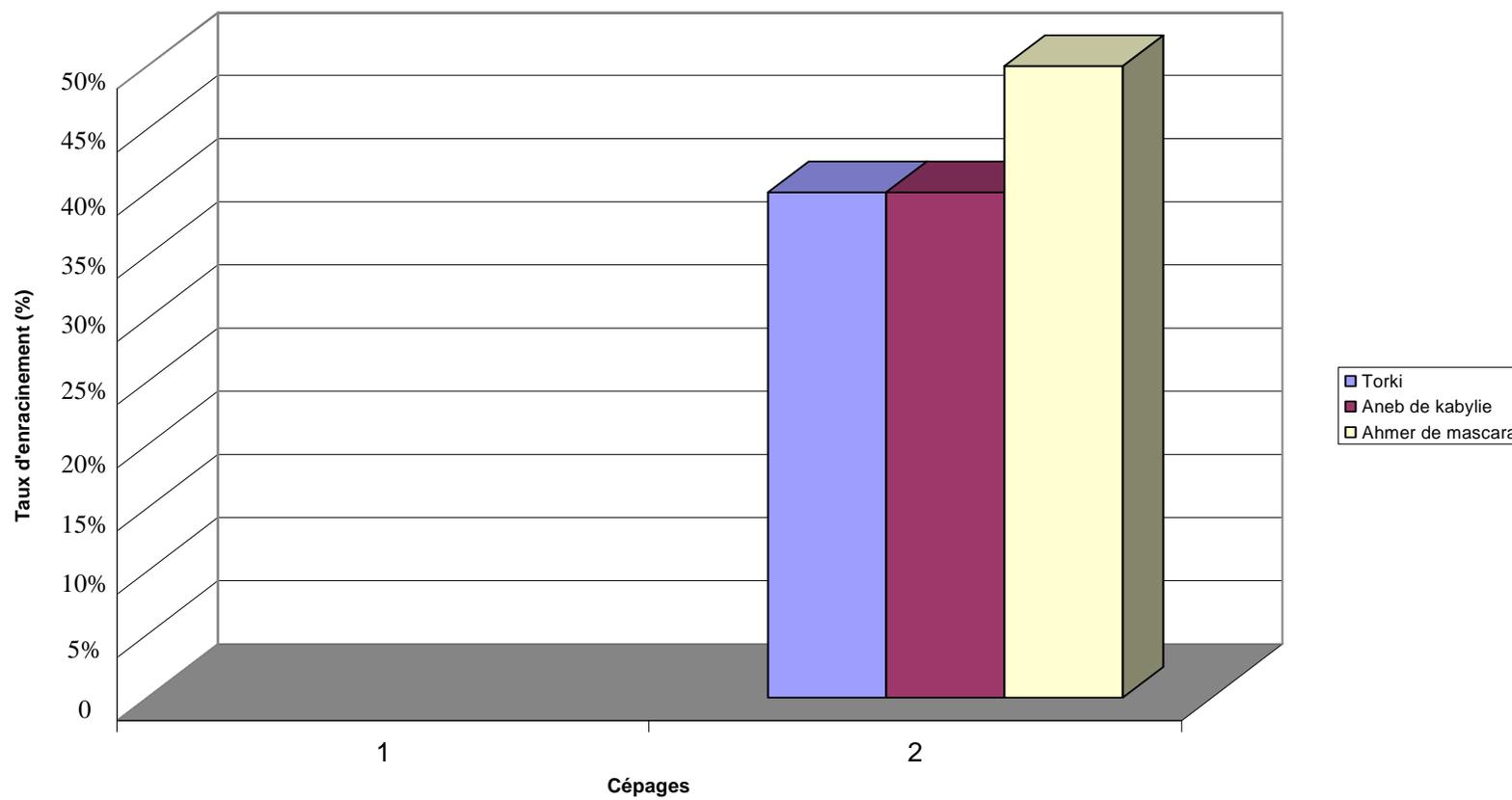
Les résultats obtenus montrent que le cépage AHMER DE MASCARA a un taux d'enracinement le plus élevé 50%, comparé au cépages ANEB DE KABYLIE et TORKI où le pourcentage est de l'ordre de 40% .

Nous pouvons donc conclure que le milieu d'initiation (MS) sans hormone de croissance permet de donner de très bons résultats. Avec un taux de reprise de l'ordre de 100% pour les trois cépages et un taux d'enracinement de 50% pour AHMER DE MASCARA et 40% pour ANEB DE KABYLIE et TORKI.

L'analyse statistique ne révèle aucune différence significative (tableau 5).

**Tableau 5 : Analyse de variance du taux d'enracinement**

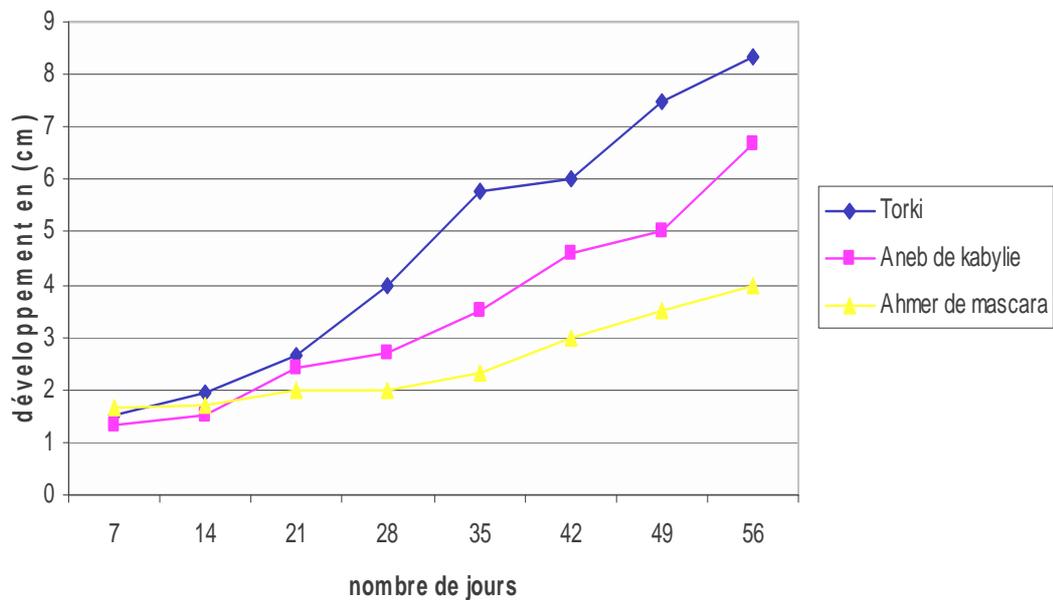
Source des variations	Somme des carrés	Degré de liberté	Moyenne des carrés	F	Probabilité	Valeur critique pour F
Entre Groupes	0,67	2	0,33	0 ,6	0,58	5,14
A l'intérieur des groupes	3,33	6	0,56			
Total	4	8				



**Figure 2. Effet de cépages sur le taux d'enracinement**

### 1.3 Rythme de croissance (cm) en fonction du temps

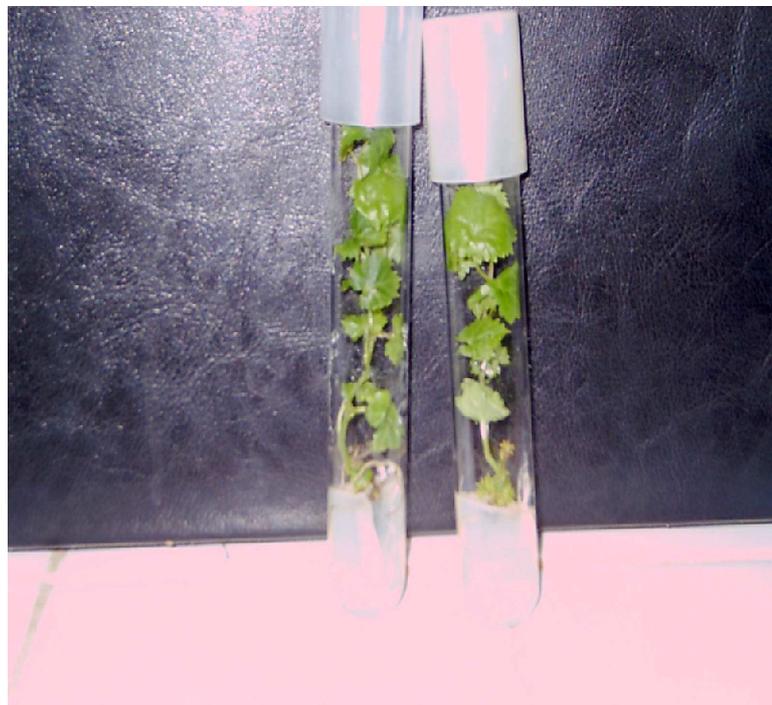
Les résultats obtenus, (figure 3 et planche 3), montrent que le génotype TORKI a un rythme de croissance plus marqué. Au bout de 56<sup>ème</sup> jour les plants atteignent une croissance en moyen de 8,33 cm. Comparé au cépage ANEB DE KABYLIE où nous avons enregistré une croissance de 6,66 cm.



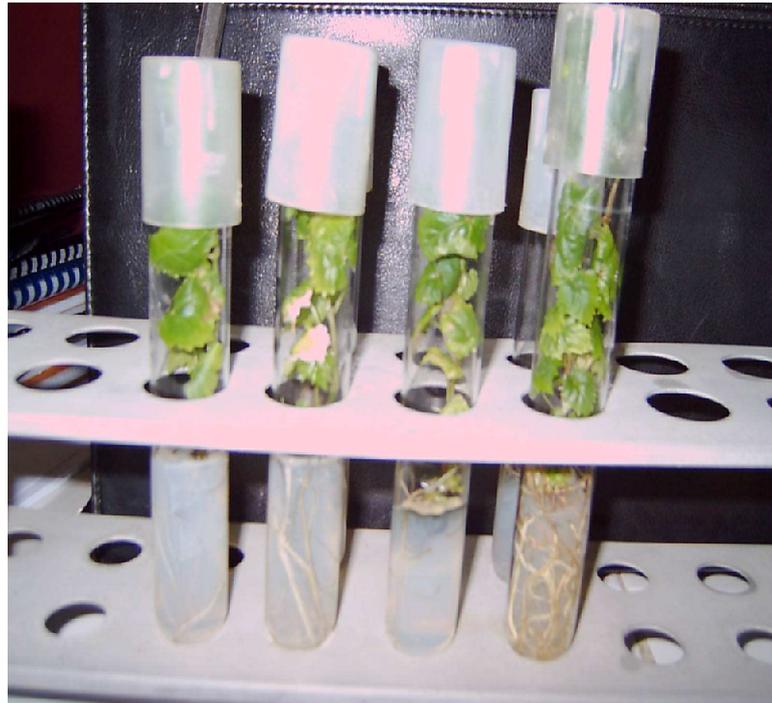
**Figure 3. Rythme de croissance des cépages**



**Planche 2. Evolution d'un vitro plant de TORKI  
Au 56<sup>eme</sup> jour**



**Planche 3. Evolution de vitro plants de ANEB de  
KABYLIE (a gauche) et AHMER de MASCARA (a droite)  
Au 56<sup>eme</sup> jour**



**Planche 4. Effet de cépage ANEB de KABYLIE sur le taux d'enracinement**

#### 1.4 Effet de l'hormone de croissance ANA sur L'enracinement

La figure 4, montre les résultats relatifs au taux d'enracinement où l'hormone de croissance ANA a pour but d'améliorer l'enracinement.

Dans le cas de tissus de vigne, nous pouvons obtenir un bon départ sans auxine, mais le premier repiquage doit être fait sur un milieu contenant l'ANA. C'est pour cette raison que notre milieu d'initiation ne contient pas de l'auxine car elle inhibe le développement des bourgeons où plus rarement elle stimule leur formation (GAUTHERET ; 1959), partant de cette expérience nous avons décidé ensuite d'ajouter cette hormone.

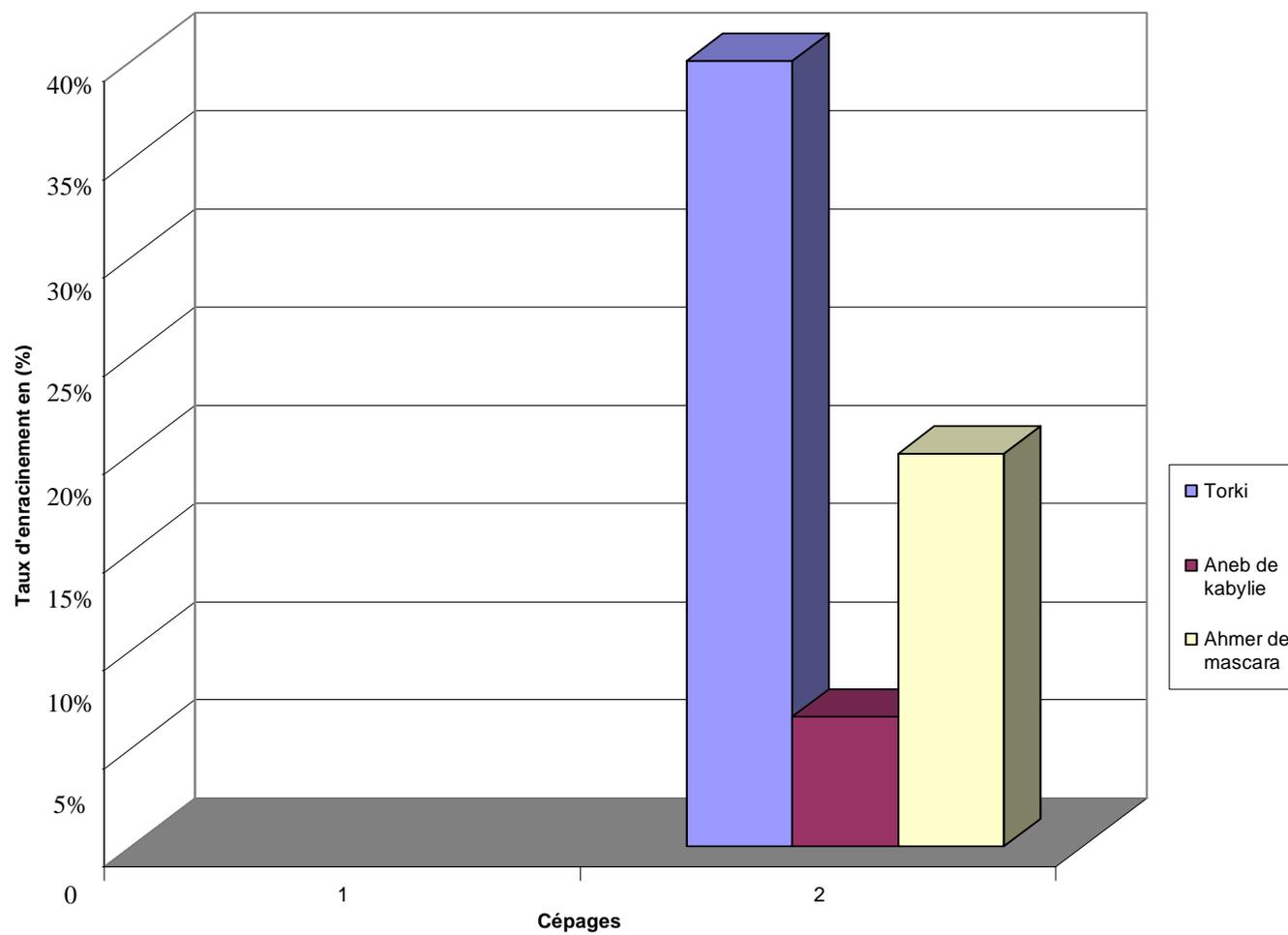
L'utilisation d'hormone de croissance ANA pour améliorer le taux d'enracinement a permis d'obtenir les résultats suivants ; 40% pour TORKI, 20% pour AHMER DE MASCARA et 7% pour ANEB DE KABYLIE.

Nous pouvons dire que le cépage TORKI, a montré une bonne aptitude à la rhizogénèse.

L'analyse statistique ne révèle aucune différence significative (tableau 6).

**Tableau 6 : Analyse de variance du taux d'enracinement**

Source des variations	Somme des carrés	Degré de liberté	Moyenne des carrés	F	Probabilité	Valeur critique pour F
Entre Groupes	1,55	2	0,78	1,4	0,32	5,14
A l'intérieur des groupes	3,33	6	0,56			
Total	4,89	8				



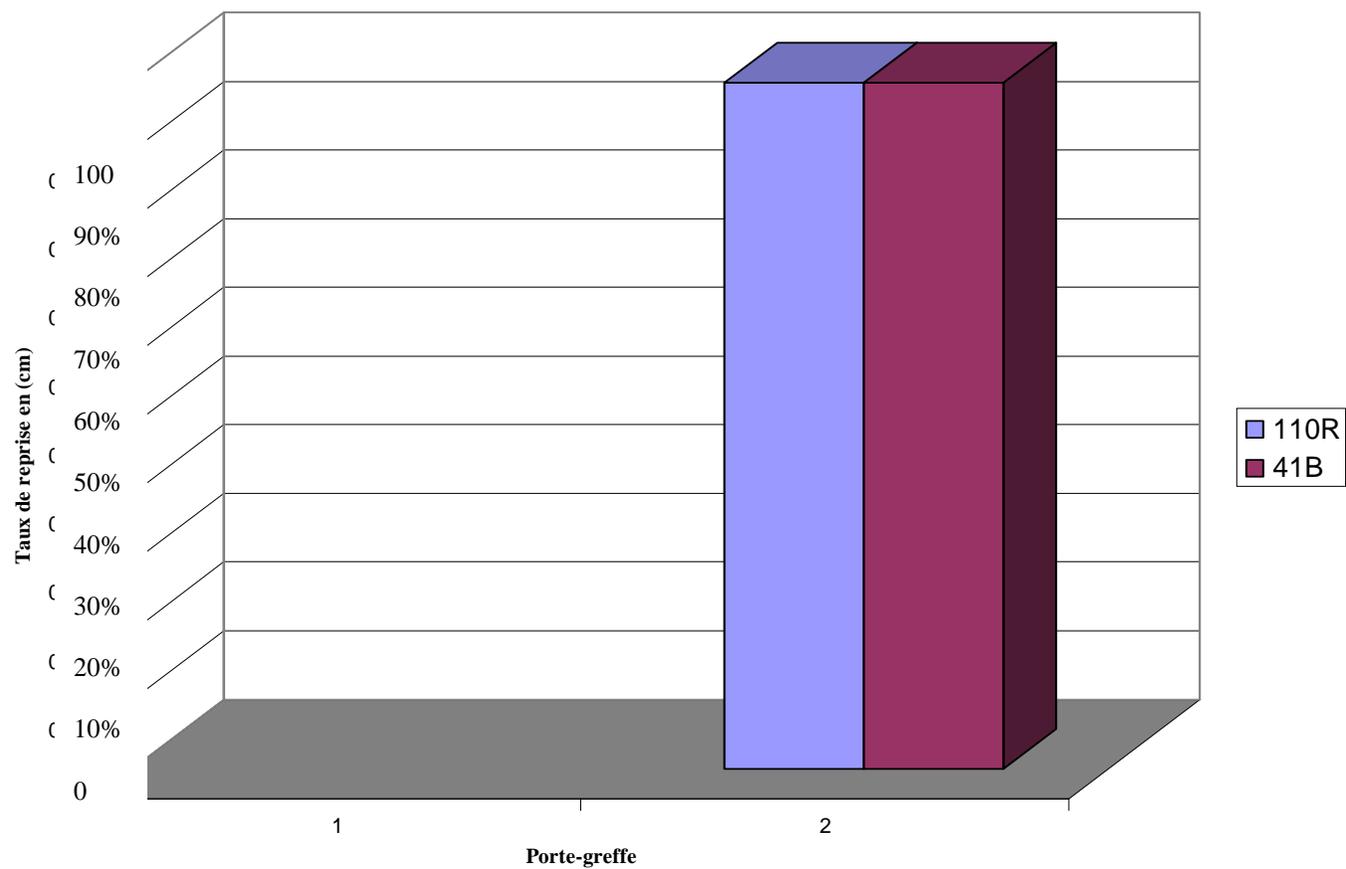
**Figure 4. Effet de l'hormone ANA sur le taux d'enracinement**

### **1.5 Effet de porte-greffe sur le taux de reprise**

D'après la figure 5 ; nous remarquons que le taux de reprise des porte-greffes 110R et 41B est de l'ordre de 100%.

Les deux génotypes testés, montrent une très bonne aptitude au micro bouturage, nos résultats sont en accord avec ceux de KIRDI (2005).

Il est généralement reconnu que la vigne présente une bonne aptitude à la multiplication *in vitro* par rapport aux autres espèces ligneuses notamment avec l'utilisation de matériel végétal herbacé.



**Figure 5. Effet de porte-greffe sur le taux de reprise**

### 1.6 Effet de porte-greffe sur le taux d'enracinement

Pour le taux d'enracinement, Les résultats obtenus (figure 6), montrent que Les deux génotypes ont réagit différemment.

Le taux d'enracinement varie de 30% a 60%. Le meilleur taux est enregistré chez les vitro plants de 110R avec 60% d'enracinement suivie par 30% pour 41B.

L'apparition des racines sur vitro plants sans passer par un milieu d'enracinement (avec auxine), du à l'aptitude de la vigne a l'enracinement. Ces résultats sont en accord avec ceux obtenus par (AMDJKOUH ; 2004).

L'analyse statistique ne révèle aucune différence significative tableau 7.

**Tableau 7 : Analyse de variance du taux d'enracinement**

Source des variations	Somme des carrés	Degré de liberté	Moyenne des carrés	F	Probabilité	Valeur critique pour F
Entre Groupes	1,5	1	1,5	1,5	0,28	7,70
A l'intérieur des groupes	4	4	1			
Total	5,5	5				

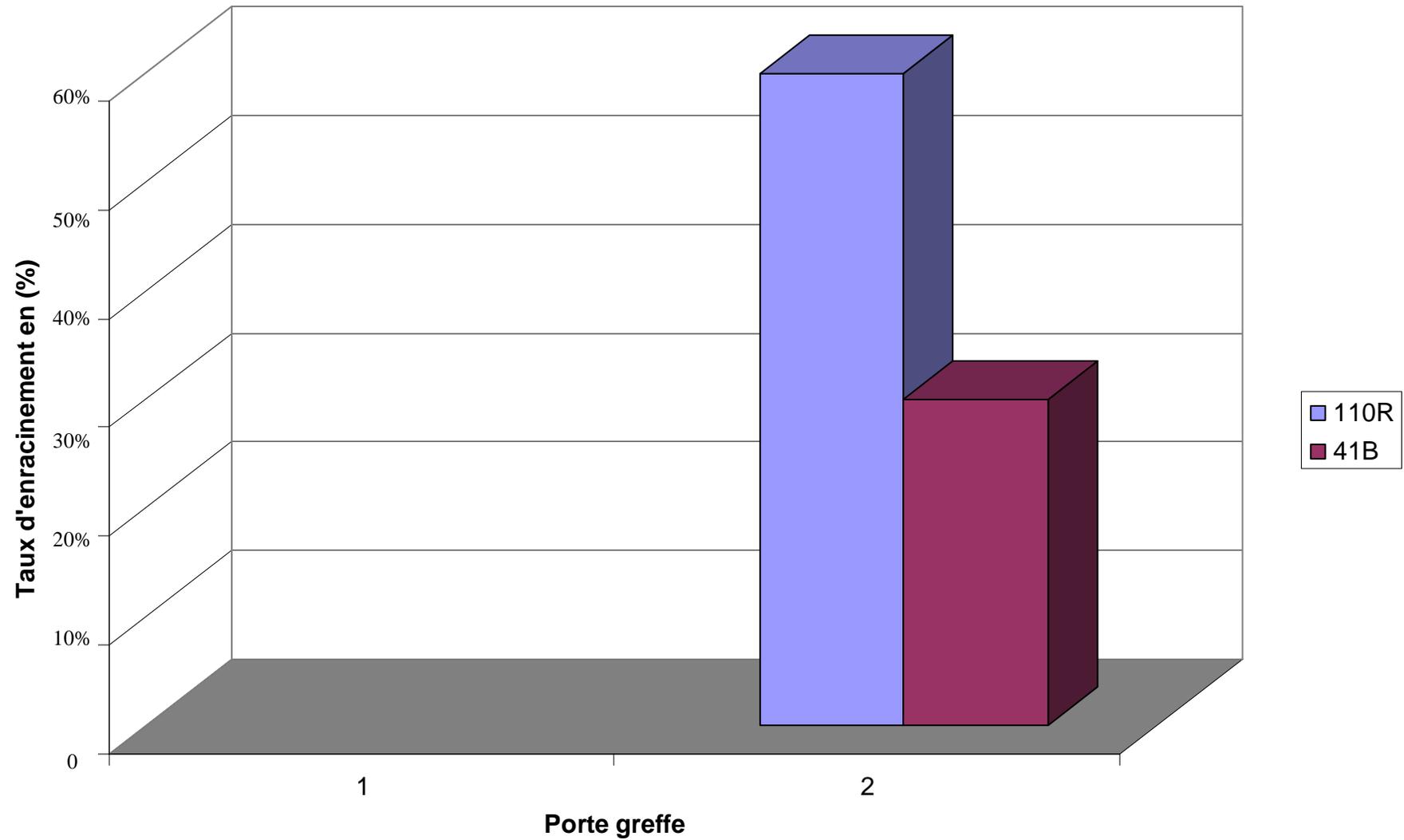


Figure 6. Effet de porte greffe sur le taux d'enracinement

### 1.7 Rythme de croissance (cm) en fonction du temps

Dés la première semaine, les vitro plants ont réagi significativement, nous avons observé la formation de nouvelles ébauches foliaires, élongation de la tige et un gonflement à la base des plants qui donne lieu après à l'apparition des radicelles. Ce processus de croissance se poursuit, au bout de 56<sup>ème</sup> jour les plants atteignent une hauteur de l'ordre de 6 cm chez le porte-greffe 110R.

(Figure 7) (Planche 4).

Cependant, chez les vitro plants de 41B nous notons une élongation moyenne de 4 cm.

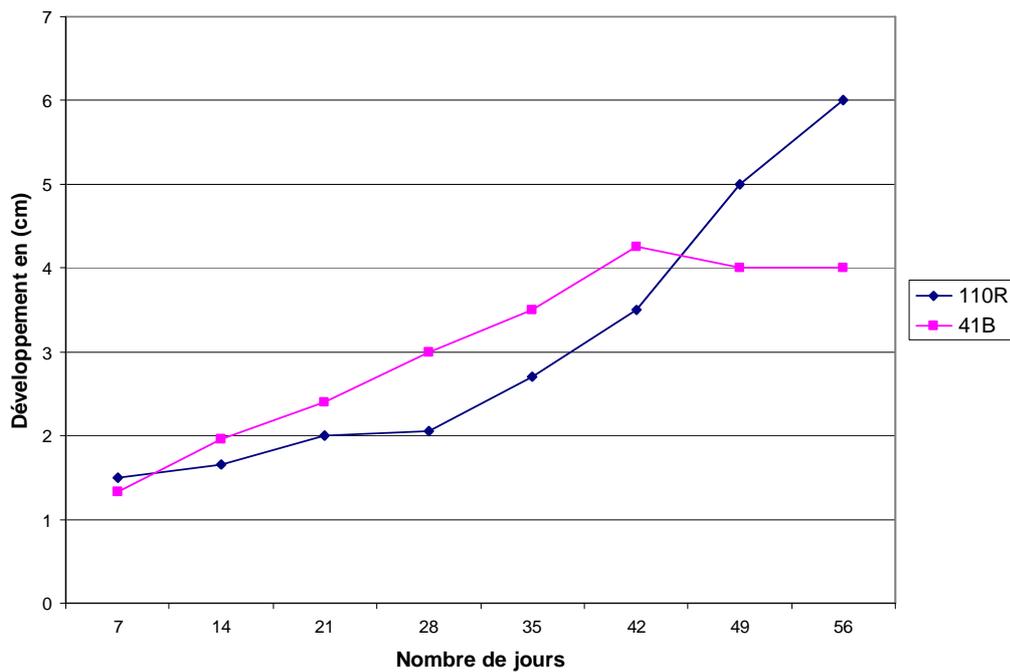
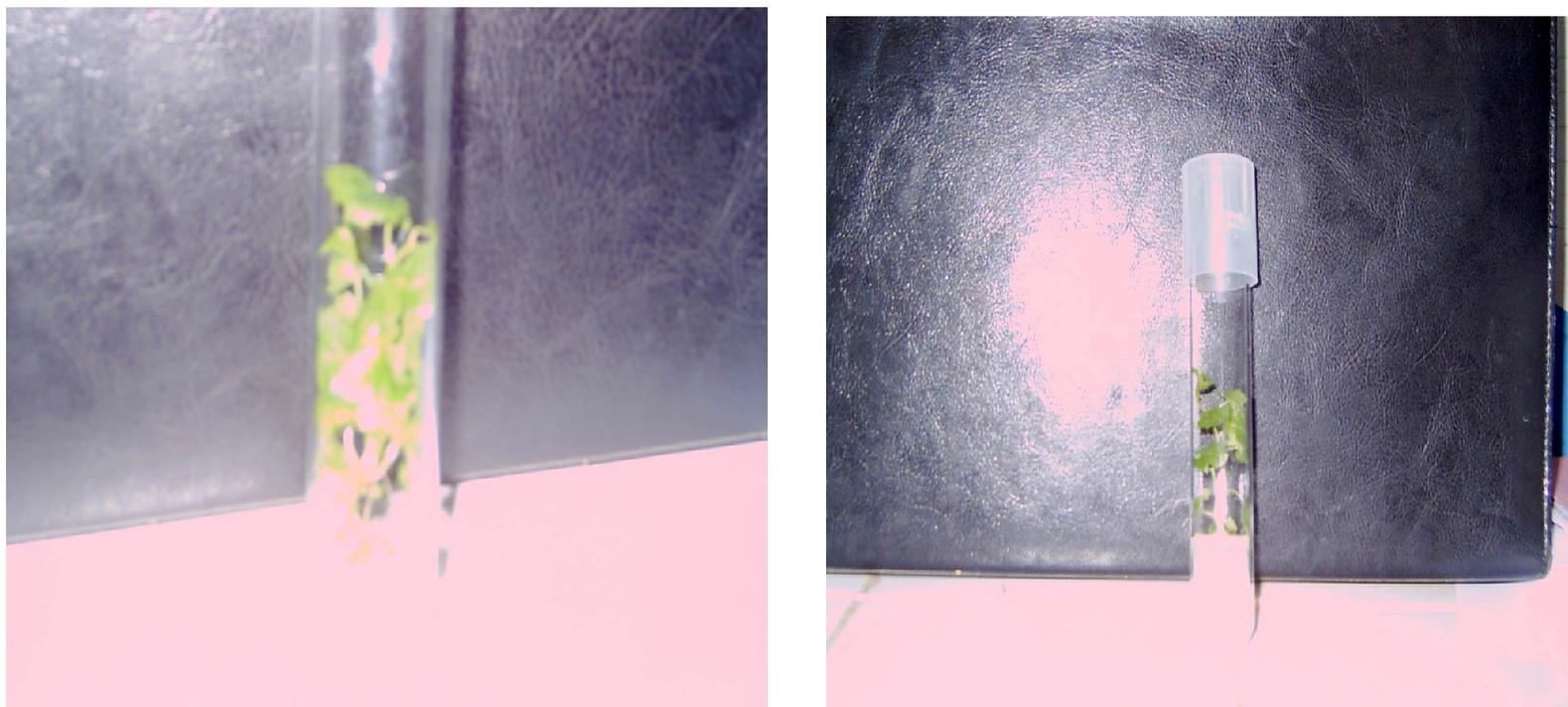


Figure 7. Rythme de croissance des portes greffes



**Planche 5. Evolution d'un vitro plant de 110R  
Après 56<sup>eme</sup> jour**



**Planche 6. Evolution des vitro plants de 41B**  
**Après 56<sup>eme</sup> jour**

### **Conclusion partielle**

Durant notre expérimentation nous n'avons pas eu de problèmes de contamination, ceux qui expliquent les résultats obtenus et l'efficacité du protocole de désinfection adopté.

Les résultats obtenus 100% de taux de reprise pour les trois cépages TORKI, ANEB de KABYLIE et AHMER DE MASCARA mis en évidence l'efficacité du milieu de culture choisi (milieu de Murachinge et Skoog).sans hormone de croissance les vitro plants de vigne ont une bonne aptitude au micro bouturage.

Pour le taux d'enracinement, nous avons enregistré chez le génotype AHMER de MASCARA un pourcentage de 50% des plants qui ont émis des radicelles. Les cépages ANEB de KABYLIE et TORKI enregistrent un taux de 40% pour chacune.

Nous pouvons conclure que les cépages autochtones utilisés ne nécessitent pas l'utilisation d'une hormone de croissance pour pouvoir croître dans les meilleures conditions.

Le génotype TORKI a un rythme de développement le plus marqué. Au bout du 56eme jour les plants atteignent une croissance en moyenne de 8,33cm. Pour les cépages ANEB de KABYLIE, nous avons enregistré une croissance de 6,66 cm.

Concernant le génotype AHMER de MASCARA les vitro plants ont atteints une croissance de 4,00 cm au 56<sup>eme</sup> jour.

L'utilisation d'hormone de croissance ANA pour améliorer le taux d'enracinement a permis d'obtenir les résultats suivants ; 40% pour TORKI, 20% pour AHMER de MASCARA et le plus faible pourcentage est enregistré chez le cépage ANEB de KABYLIE avec 7% seulement.

Nous pouvons dire que le cépage TORKI, a montré une bonne aptitude à la rhizogenèse.

Les deux génotypes testés 110R et 41B montrent une très bonne aptitude au micro bouturage, avec un taux de reprise de 100%.

Le taux d'enracinement varie de 30% à 60%. Le meilleur taux est enregistré chez les vitro plants 110R avec 60% d'enracinement.

Les vitro plants ont réagi significativement, un développement rapide a été observé dès la première semaine. Ce processus de croissance se poursuit et au bout de 56<sup>ème</sup> jour les plants ont atteint une hauteur de l'ordre de 6 cm chez le porte-greffe 110R.

Cependant, chez les vitro plants de 41B nous notons une élongation moyenne de 4 cm.

## 2. Micropropagation des plants assainis par culture de méristème

### 2.1 Effets de cépages sur le taux de reprise

En analysant la figure 8; nous remarquons le bon aptitude du génotype ANEB de KABYLIE au micro bouturage. Avec un taux de reprise de 70 % les vitro plants se sont bien développés sur milieu MS. Au bout du 14<sup>ème</sup> jour, de nombreux bourgeons axillaires se sont différenciés. Le bourgeon évolue en petite tige feuillée développant de nouveaux bourgeons à la base de chaque feuille. A un mois les vitro plants ont atteint leur développement optimum.

Contrairement, le génotype TORKI a enregistré un taux de reprise de l'ordre de 40%.

Il faut signaler que pour le cépage TORKI, les vitro plants à multiplier ont été vitrifiés, ceux qui expliquent les résultats obtenus.

L'analyse statistique ne révèle aucune différence significative tableau 8.

**Tableau 8 : Analyse de variance du taux de reprise**

Source des variations	Somme des carrés	Degré de liberté	Moyenne des carrés	F	Probabilité	Valeur critique pour F
Entre Groupes	3,38	1	3,375	2,45	0,13	5,14
A l'intérieur des groupes	5,5	4	1,375			
Total	8,88	5				

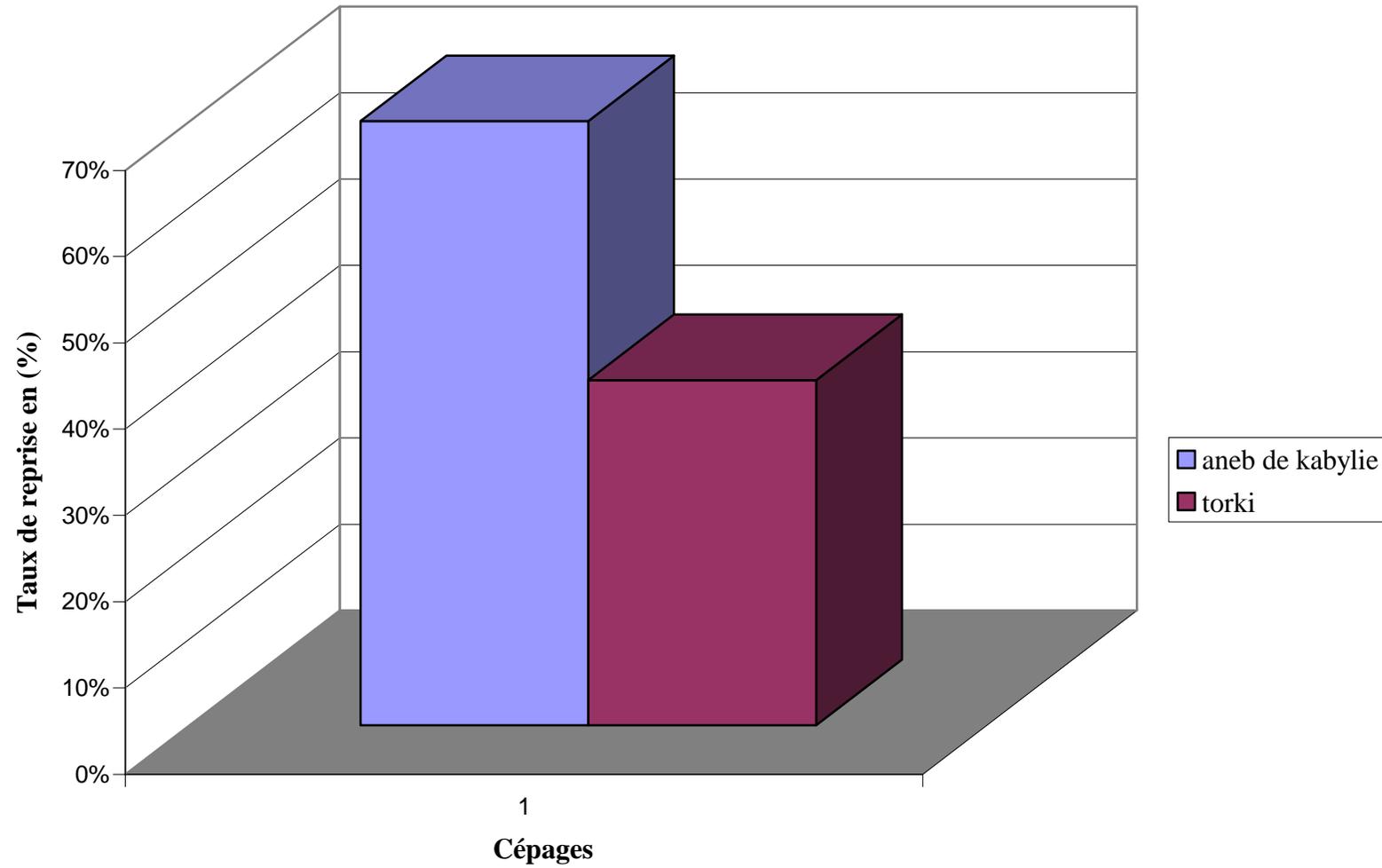


Figure 8. Effet de cépages sur le taux de reprise

## 2.2 Effets de cépages sur le taux d'enracinement

Les résultats présentés par la figure 9, montrent que le taux d'enracinement des vitro plants chez les deux génotypes varie de 5 à 30%, le meilleur résultat est enregistré chez le génotype ANEB de KABYLIE avec un taux de 30%.

Concernant le génotype TORKI, nous enregistrons un taux faible d'enracinement de l'ordre de 5%.

Cet enracinement peut être expliqué par l'absence de GA3 dans le milieu de culture. Selon ZRYDE (1999), le GA3 bloque l'enracinement.

Durant notre expérimentation, nous avons constaté l'absence des vrilles sur les vitro plants, ce caractère qui est un trait de juvénilité est souvent observé chez la vigne. Selon FOURNIOUX et al ;(2004), la micropropagation *in vitro* conduit à des modifications des caractères phénotypiques et physiologiques des cépages. Ces altérations font notamment apparaître des traits de juvénilité (raréfaction ou absence totale des vrilles).

L'analyse statistique ne révèle aucune différence significative tableau 9.

**Tableau 9 : Analyse de variance du taux d'enracinement**

Source des variations	Somme des carrés	Degré de liberté	Moyenne des carrés	F	Probabilité	Valeur critique pour F
Entre Groupes	0,83	1	0,83	1,40	0,30	7,70
A l'intérieur des groupes	2,38	4	0,60			
Total	3,22	5				

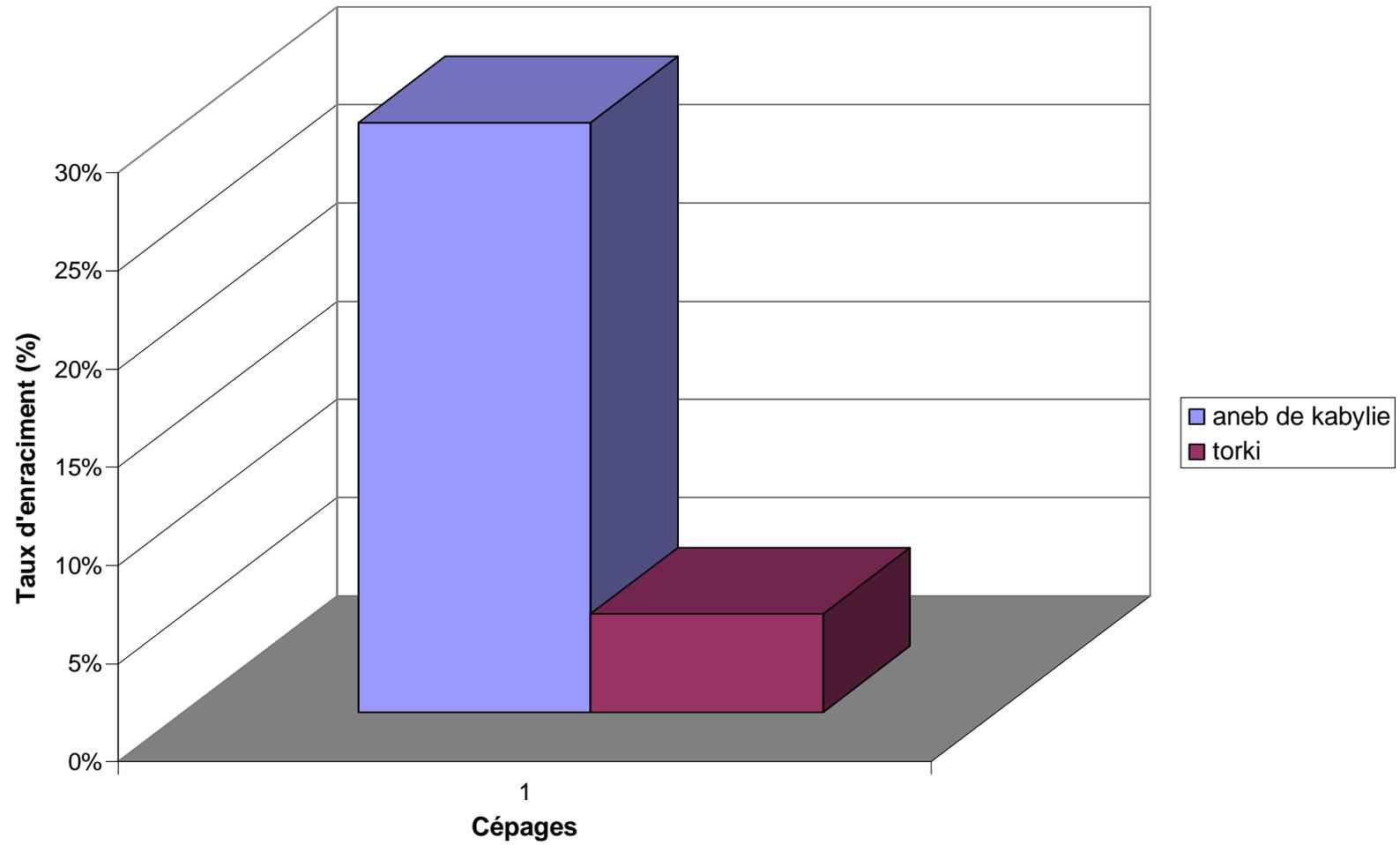


Figure 9. Effet de cépages sur le taux d'enracinement

### 2.3 Rythme de croissance (cm) en fonction du temps

Concernant le comportement et l'évolution des vitro plants des deux génotypes étudiés, la figure 10 et la planche 5 ; montre une bonne moyenne d'élongation de 9.00cm chez ANEB de KABYLIE. Pour le cépage TORKI nous avons enregistré une croissance de l'ordre de 3.66 cm seulement.

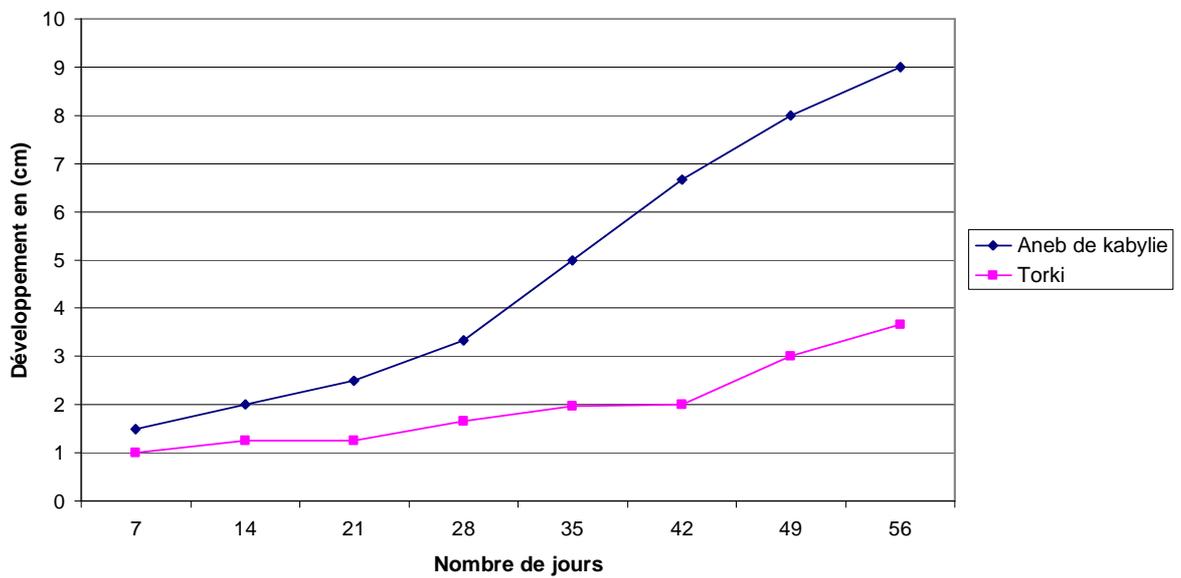
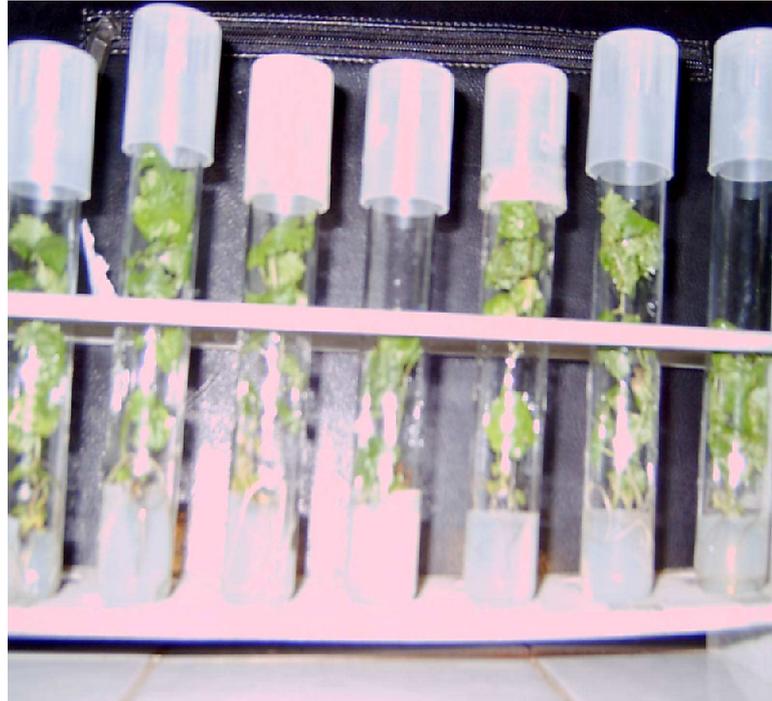


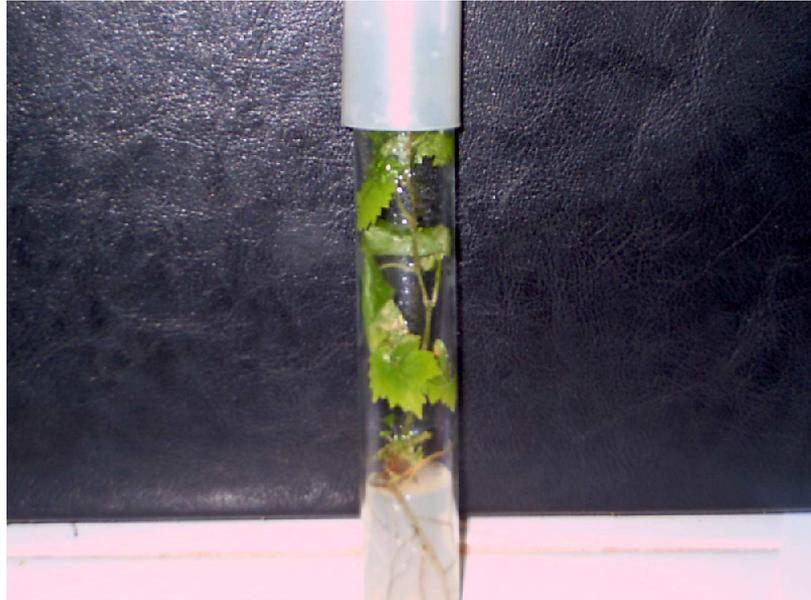
Figure 10. Rythme de croissance des cépages



**Planche 7. Plants de ANEB de KABYLIE assainis par culture de méristème au 49<sup>ème</sup> jour de mise en culture**



**Planche 8. Plant de TORKI assainis par culture de méristème  
au 49<sup>ème</sup> jour de mise en culture**



**Planche 9. Enracinement d'un vitro plant de ANEB de KABYLIE  
au 42<sup>eme</sup> jour**

### **Conclusion partielle**

Les résultats obtenus, nous permettent de conclure que les vitro plants appartenant au génotype ANEB de KABYLIE ont une bonne aptitude au micro bouturage.

Avec un taux de reprise de 70 % les vitro plants sont bien développés sur milieu MS. Au bout du 56<sup>ème</sup> jours, de nombreux bourgeons axillaires se sont différenciés et nous notons une bonne moyenne d'élongation de 9.00 cm chez ANEB de KABYLIE.

Pour le cépage TORKI, nous avons enregistré une croissance de l'ordre de 3.66 cm seulement.

Contrairement, le génotype TORKI a enregistré un taux de reprise de l'ordre de 40%.

L'aptitude des deux génotypes ANEB DE KABYLIE et TORKI à la rhizogenèse, diffère d'un cépage à l'autre. Le meilleur taux d'enracinement est enregistré chez le génotype ANEB DE KABYLIE avec un taux de 30%.

Quant au génotype TORKI, nous enregistrons un taux faible d'enracinement de l'ordre de 5%.

## CONCLUSION GENERALE

Cette étude expérimentale a permis la mise au point d'une méthodologie de désinfection adéquate afin d'éviter les problèmes de contamination en assurant ainsi le bon déroulement de l'expérimentation.

Les résultats obtenus 100% de taux de reprise pour les trois cépages autochtones TORKI, ANEB DE KABYLIE et AHMER DE MASCARA ainsi que pour les porte-greffes testés 110R et 41B, mettent en évidence l'efficacité du milieu de culture choisie (milieu de Murachinge et Skoog).sans hormone de croissance, nous avons obtenus une très bonne aptitude des vitro plants a la micro bouturage.

Les résultats obtenus sur le taux d'enracinement montrent que le cépage AHMER DE MASCARA a le taux d'enracinement le plus élevé 50%, suivie par ANEB DE KABYLIE ET TORKI 40% pour chacune, de vitro plants qui ont émis des racines.

L'utilisation de l'hormone de croissance (ANA) pour améliorer le taux d'enracinement a permis d'obtenir les résultats suivants ; 40% pour TORKI, 20% pour AHMER DE MASCARA. Le plus faible pourcentage est enregistré chez le cépage ANEB DE KABYLIE avec 7% seulement.

Pour les essais de micro bouturage des plants assainis par culture de méristèmes, les résultats obtenus nous permettent de conclure que les vitro plants appartenant au génotype ANEB DE KABYLIE ont une bonne aptitude au micro bouturage. Avec un taux de reprise de 70 % des vitro plants développés et une bonne moyenne d'élongation de l'ordre de 9.00 cm.

L'aptitude des deux géotypes ANEB DE KABYLIE et TORKI à la rhizogenèse, diffère d'un cépage à l'autre. Le meilleur taux d'enracinement est enregistré chez le géotype ANEB DE KABYLIE avec un taux de 30%.

Etant donné que la culture *in vitro* est une technique très coûteuse, l'utilisation d'un seul milieu de culture (milieu de Murachinge et Skoog), pour la microbouturage augmente la rentabilité de cette technique et permet un gain de temps considérable.

Après avoir démontré qu'il est possible de multiplier avec succès par méthode de culture *in vitro* les cépages autochtones étudiés, il serait souhaitable de poursuivre ce travail par une étude d'acclimatation afin de définir les conditions de passage en terre des jeunes plants enracinés.

Nous souhaitons que les résultats obtenus contribueront à lancer un programme de multiplication à grande échelle afin de conserver nos ressources phylogénétiques et approvisionner le marché local en plants sains bien adaptés à nos conditions pédoclimatique.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUE

- ANONYME. ; 2003 (a) :** rapport sur la situation du secteur agricole 2002  
Ministère de l'agriculture et du développement rural ,69p.
- ANONYME; 2003 (b) :** Journées scientifique et technique sur la viticulture  
Tessala El Merdja les 7-8 et 9 mars 2005, 60p.
- AUGE R. BEAUCHESNE G, BOCCON-GIBOD J., DECOURTYE B.,  
DIGART R., JALOUZOT R., MINIER R., MORAND J.CI. ; (1989) :** "la culture *in vitro* et ses applications horticoles", 3<sup>eme</sup> édition .J.B. Bailliére,  
152p.
- AOUANE B. ; 2005 :** " réglementation viti-vinicole Algérienne, Journées  
scientifique et technique sur la viticulture, Tessala El Merdja, (7-  
8 et 9 mars 2005), 5p.
- AMDJOUKOUH. ; 2004 :** essai d'assainissement de trois variétés autochtones  
de vigne de table ( *vitis vinifera* L.) atteintes de viroses, par culture  
*in vitro* de méristème .mémoire de magistère. USTHB. Alger.133p.
- BRETAUDAUDEAU J. et FAUR Y. ; 1990 :** atlas d'arboriculture fruitière"  
Volume 4, édition Lavoisier, 263p.
- BOUBAKER A. ; 1996 :** "méthode de détection et de diagnostique des infections  
virales", édition Lavoisier, 206p.

**BOVEY P. GARTEL W. HEWITT, MARTELLI G.P., et VUITTENNEZ A.; 1980:**

Virus and virus-like diseases of grapevines.  
Édition Lavoisier, 181p.

**BARBARA M., MARTINOL P. CUPIDI A., 1992 :** Il risanamento delle viti :

tritecnico a confronto Rvue vigne et vin n°3, pp.33-36.

**BENMEHREZ N. ; 2003 :** micropropagation in vitro de deux cépages

autochtones AHMER BOU AMAR et MUSCAT de CHERCHELL  
sur milieu Muraching et skoog modifié

Thèse Ing. Institut national agronomique El- Harrach  
(Alger), 82 p.

**BERNARD W. RIDE M. et BOUDON-PADOEU E. ; 2000:**maladies à virus,

bactérie et phytoplasme de la vigne  
Edition FERET, 273p.

**BOUDON-DIEU E. ; 2000 :** les jaunisses à phytoplasme de la vigne

Edition FERET, 175p.

**CHANCRIN E. ; 1952 :** viticulture moderne 6<sup>ème</sup> édition Hachette, 334p.

**CALVET et GUIRBAL ; 1979 :** Manuel d'arboriculture nouvelle

Edition baillièrè Paris, 167p.

**CRESPY A. ; 1992 :** viticulture d'aujourd'hui

2<sup>ème</sup> édition Lavoisier, 240p.

**CHIADMI. ; 1986 :** Physiologie de la vigne. Edition Office National de la vigne

et de vin, Bourdeau, 310p.

- CHETOUH C. ; 2005** : "les cépages autochtones", Journées scientifique et technique sur la viticulture Tessala El Merdja les (7-8 et 9 mars 2005), 3p.
- DAMAL F. ; 2004** : collection biologique. 3<sup>eme</sup> édition, revue corrigée presses polytechnique et universitaire. ROMANDE, 587p.
- DUTRUC-ROSSET G. ; 2001** : extrait du rapport sur la vitiviniculture mondiale Office international de la vigne et du vin, 4p.
- FAO ; 2004** : Erosion de la diversité génétique  
Dossiers de fond. Salle de presse, 3p.
- FOURNIOUX JC.et HELOIR MC. ; 1999** : Micropropagation de la vigne et maîtrise de la fertilité. Progrès agricole et viticole, 116 n°7,10p.  
(Jean- Claude Fournioux @ u-bourgogne).
- FOURNIOUX JC., BARBIER M., HELOIR MC., KINDT S., LANGILIER P., ;2004** : Approches fondamentales et développements appliqués des méthodes de micropropagation de la vigne  
Institut JULES GUYOT, 7p.
- GALET P. ; 1985** : précis d'ampélographie pratique  
5<sup>eme</sup> édition Lavoisier, 229p.
- GALET P. ; 1993** : précis d'ampélographie pratique  
6<sup>eme</sup> édition Lavoisier, 229p.
- GAUTHERET R.J. ; 1959** : la culture des tissus végétaux techniques et réalisations. Edition Masson et cie. Paris, 863 p.

- HAMIN N. ; 1992** : "la sélection sanitaire et clonale de la culture de la vigne : sélection, diagnostique, et assainissement", Revue C.I.H.E.A.M., (1992), 21p.
- HAMDANI F.; 1997**:essais d'obtention de cals embryogènes chez l'*Atiplex halimus*. Thèse Ing. Institut d'agronomie Blida, 60p.
- HUGLIN P. ; 1987** : biologie et écologie de la vigne.  
Édition Payot Lausanne suisse, 371p.
- HUGLIN P. ; 1998** : biologie et écologie de la vigne  
2<sup>ème</sup> édition Lavoisier, 370p.
- JELLALI H. ; 1996** : contribution à l'amélioration des techniques de dépistage et d'assainissement in vitro des viroses de la vigne en Tunisie : thèse de magistère en science agronomique, 125p .
- KEDDAM M.R. ; 1988** : tentative de guérison de la vigne atteinte de clorostovirus et GVI aux moyens de microgreffage d'apex et par la culture *in vitro* de méristèmes en combinaison avec la thermothérapie.  
Mémoire de master of science ; institut agronomique mediterraneen de BARI, 47p.
- KIRDI N. ; 2005** : propagation in vitro de deux cépages de vigne AHMAR BOUAMAR et TORKI et de deux porte-greffes : 41B et 110R.Essai de culture de méristème et acclimatation. Thèse Ingénieur. Blida, 71p.
- LEVADOUX L. ; 1971** : Ampélographie Algérienne cépages de cuve et de table cultivées en Algérie. Edition SNGD, 120p.

- LEBRUN L. ; 1986** : étude de l'embryogenèse somatique in vitro chez la vigne (vitis sp.) Et application à la sélection de plantes tolérant une forte concentration en chlorure de sodium  
Thèse doctorat en science université de Paris-sud centre D'Orsay, 140p.
- MARTILI G.; 1985**: virus and virus like diseases of grapevine in Algeria  
Rome, 1985.FAO, 22p.
- MARTILI G.; 1997**: les maladies virales de la vigne .shema méditerranéen de la vigne. ITAFV. 19P. Rome, 1985.FAO, 22p.
- MARGARA J. ; 1984** : bases de la multiplication végétative  
Edition alençonnaise, 262p.
- MARTELLI G.P.; 1993**: Graft transmissible diseases of grapevines, Handbook for detection and diagnosis Edition Lavoisier, 263p.
- MARROU J.; 1995** : catalogue des variétés et clones de vigne cultivées en France, Edition Copynight- ANTAV, 357p.
- RAHMANI C. ; 2001** : rapport sur l'état et l'avenir de l'environnement.  
Ministère de l'environnement. pp 34-40.
- REYNIER A. ; 1989** : manuel de viticulture  
4<sup>eme</sup> édition Lavoisier, 256p.
- RYNIER A. ; 2000** : manuel de viticulture  
8<sup>eme</sup> édition Lavoisier, 300p.
- RAJNCHAPEL-MESSAI J. et GUERCHE PH. ; 1985** : méthodes in vitro et productions végétales biofuture n°60, 6p.

- SIDXELL A., HUFFMAN J.H.; 1972: Broad** spectrum antiviral activity of virazole. Revue Hort.Science volume 29 n°11 pp.705- 706.
- SILGUY C. ; 1994** : l'agriculture biologique  
Des techniques efficaces et non polluantes. Edition terre vivante Patino Suisse, 186p.
- SCRIBAN R. ; 1999** : biotechnologie. Edition Lavoisier, 200p.
- SEDIRA ; 2003** : essai de régénération de quatre cépages de vigne autochtones par le microbouturage et la culture de méristème  
Thèse Ing. Institut d'agronomie Blida, 103p.
- SCHAEFFER E. ; 1992** : guide pratique de défense des cultures", 4<sup>ème</sup> édition.  
Edition ACTA, 565p.
- THIS P. ; 2002** : diversité et génomes des plantes cultivées rapport d'activité  
École d'AGRO- Montpellier France, 23p.
- VUITTENEZ A. ; 1974** : tests virologiques et régénérations par thermothérapie.  
Deux voies complémentaires pour la production de plants de vigne sans virus.  
Revue suisse. Vitic. Arbo (2) pp.34-41.
- YAHYAOUI ; 2003** : les porte-greffes de vigne en Algérie. Journées techniques de la vigne. ITAFV. 23p.
- ZRYDE JP. ; GAZEAU M. ; DERREUDRE J. ; MONNIER G. ; 1988** : culture de cellules, tissus et organes végétaux : fondement théorique et utilisation pratique .édition presse polytechniques, Romande.307p.

## ANNEXE

### A. LISTE DES CEPAGES DE VIGNE AUTORISEE A LA COMMERCIALISATION

#### 1. Cépages de table

- 1.1 ADARI
- 1.2 AHMER BOUAMAR
- 1.3 ALPHONSE LAVALLEE
- 1.4 BEZOUL EL KHADEM
- 1.5 CARDINAL
- 1.6 CHAOUCH BLANC
- 1.7 CHAOUCH ROSE
- 1.8 HASSELA
- 1.9 DABOUKI
- 1.10 DATTIER DE BAYROUTH
- 1.11 GROS NOIR DES BENI ABBES
- 1.12 GUERBEZ = GROS VERT = SAINT JEANNET
- 1.13 ITALIA
- 1.14 MADELEINE DU SAHEL
- 1.15 MUSCAT D'ALEXANDRIE
- 1.16 MUSCAT DE HAMBORG
- 1.17 OHANS = UVA de ALMERIA
- 1.18 PANSE PRECOCE ou SICILIEN
- 1.19 PERLE DE KSABA
- 1.20 PERLETTE
- 1.21 REINETTE DES VIGNES
- 1.22 SERVANT BLANC
- 1.23 VALENCI ou HOKRANI = PANCE DE PROVINCE

- 1.24 FARRANA
- 1.25 BLACK PEARL
- 1.26 CENTENIAL
- 1.27 ARGENTINA
- 1.28 KING'S RUBY
- 1.29 ALLEDO

## **2. Cépages a raisins sec**

- 2.1 SULTANINE
- 2.2 MUSCAT D'ALEXANDRIE
- 2.3 CORINTHE NOIRE
- 2.4 KING'S RUBY
- 2.5 CENTENIAL

## **3. Cépages de cuve**

### **3.1 Raisins noirs ou roses**

- 3.1.1 ALICANTE BOUCHET
- 3.1.2 ARMON GRIS
- 3.1.3 ARMON NOIR
- 3.1.4 CABERNET FRANC
- 3.1.5 CABERNET SAUVIGNON
- 3.1.6 CARIGNON
- 3.1.7 CINSAULT
- 3.1.8 GRENACHE FRANC
- 3.1.9 GRENACHE ROSE
- 3.1.10 GRENACHE VELU
- 3.1.11 MERLOT
- 3.1.12 MORASTEL
- 3.1.13 PINOT NOIR
- 3.1.14 SYRAH
- 3.1.15 TIPASI- TOUSTRAIN
- 3.1.16 GRENACHE GRIS

### **3.2 Raisins blancs**

- 3.2.1 CHARDONNAY
- 3.2.2 CHENNIN BLANC
- 3.2.3 CLAIRETTE POINTUE
- 3.2.4 FARRANA
- 3.2.5 GRENACHE BLANC
- 3.2.6 MACABEU- MACABEO
- 3.2.7 MERSEGUERRA = LISTAN = PALOMINO
- 3.2.8 MUSCAT D'ALEXANDRIE
- 3.2.9 SAUVIGNON
- 3.2.10 TIZOURINE BOU AFRARA = S. D'ALGERIE
- 3.2.11 UGNI BLANC
- 3.2.12 VALENCY BLANC
- 3.2.13 PINOT BLANC

Source : Centre National de contrôle et certification des semences et plants (CNCC ; 2002).

## **B.CARACTERISATION DU MATERIEL VEGETAL EXPERIMENTE**

### **1. Cépage ANEB de KABYLIE**

Cépage à bourgeonnement glabre épanoui, de couleur vert et légèrement recourbé ; les stipules sont développés et incolores.

Les feuilles du haut sont vertes à larges reflets et sont glabres. La feuille adulte est cunéiforme à dents moyennes. Le limbe est uni légèrement involuté. Le sinus est en U à bords parallèles. Les nervures sont glabres et très proéminentes.

Le rameau est glabre rougissant et de section unie.

Les fleurs sont hermaphrodites, la grappe est ailée avec des ramifications secondaires assez lâches. Elle possède de grosses baies de couleur verdâtre.

### **2. 110R : Hybride**

Réservé aux terres argilo-calcaires se fendillant l'été et dans les coteaux maigres.

Sa résistance au calcaire est de l'ordre de 17%.

Il assure une bonne fructification et donne une grande vigueur aux greffes, mais n'a pas la tendance à provoquer la coulure.

Producteur moyen de bois, sa reprise au bouturage est mauvaise, mais sa réussite au greffage est bonne.

Ce porte greffe mérite d'être développé à l'ouest du pays

### **3. 41B : Hybride**

Très fructifère. Il hâte la maturité, de sorte que l'on peut l'utiliser sur les variétés de raisin de table précoce.

C'est par excellence le porte greffe des sols calcaires 40%.

Il demande des terres profonde, perméables, drainées et fraîche. Craint l'humidité ainsi que les vents chauds et la sécheresse du sol. Il vient bien sur les coteaux.

Producteur de bois moyen, sa reprise au bouturage est assez facile et le greffage sur place est facile.