

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE BLIDA 1



FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE
DEPARTEMENT DE BIOTECHNOLOGIE

Mémoire de fin d'étude

En vue de l'obtention Du Diplôme Master académique en Sciences Agronomique.

Spécialité : Agro-ressource et impact environnementale.

Thème

**Contribution à l'amélioration de la
micropropagation de quelques cépages autochtones de
vigne *Vitis vinifera* L.**

Présenté par :

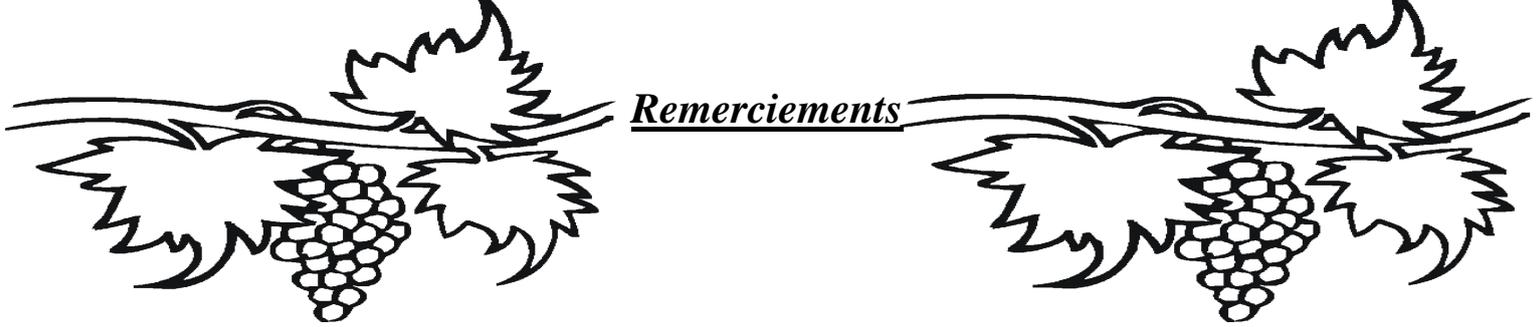
MEDAOUAR Khaoula

Soutenu le : 08-10-2017

Devant le jury :

Mme BENRBIHA F.Z.	Professeur	Université BLIDA 1	Présidente de jury
Mme TOUAIBIA M.	M.A.A	Université BLIDA 1	Examinatrice
Mme CHAOUIA C.	M.C.A	Université BLIDA 1	Promotrice
Mme AITER-HADAD N.	Attachée de Recherche	Chef de service ITAFV	Co-promotrice

Année universitaire : 2016-2017



Remerciements

Je remercie Dieu le tout puissant de m'avoir donné le courage, la patience, la volonté et la santé de mener au terme ce modeste travail.

Je témoigne, en premier lieu, mon énorme respect et gratitude à ma promotrice **Mme Chaouia Cherifa**, M.C.A à l'université de Blida 1 pour avoir bien acceptée de diriger mon travail, pour sa patience, ses orientations, un grand merci pour ses précieux conseils, ses remarques pertinentes et ses suggestions, pour tout ce qu'elle m'a appris scientifiquement et surtout pour la confiance qu'elle m'a accordé.

Je dois remercier particulièrement ma Co-promotrice **Mme AITER NASSIMA** chef de service au laboratoire d'amélioration des végétaux à l'ITAFV de Tesselat EL Merdja. Qui m'accueilli depuis 6 mois dans son équipe et de m'avoir fait confiance tout au long de mon stage de Master. Je lui suis très reconnaissante pour sa disponibilité, sa bienveillance et son soutien permanent, et pour son aide aux différentes entraves rencontrées, pour sa gentillesse ainsi que ses encouragements.

Mes remerciements les plus respectueux vont également à **Mme BENRBIHA F**, professeur à l'université de Blida 1 de me faire l'honneur de présider le jury de soutenance. Et de nous soutenir durant les deux ans de Master.

J'adresse mes plus vifs remerciements à Mme **TOUAIBIA M**, Maître assistante pour avoir accepté d'examiner ce travail.

Mes remerciements les plus chaleureux et fraternels à **Mme TAIBI A** et **Mme RAHEL N** pour leur aides et ses grandes disponibilités à tous moments, leurs encouragement, leurs gentillesse et leurs bonnes humeurs avec moi durant toute la période de mon stage.

Je n'oublierais pas de remercier **Mme BRANECI S**, et **Melle BOUKHALFA S** pour m'avoir fait profiter de ses connaissances, et d'avoir eu la patience de répondre à mes interrogations avec gentillesse. **Mme RADJI** Chef de département du laboratoire et **Mme GHAZLI C** chef de département de production des plantes et le personnel du laboratoire central de l'ITFV sans exception.

Enfin je remercie tous ceux ou celles qui ont participé de près ou de loin à l'élaboration de ce modeste travail.



Toutes les lettres ne sauraient trouver les mots qu'il

Faut... Tous les mots ne sauraient exprimer la gratitude,

L'amour, le respect, la reconnaissance... Aussi, c'est tout

Simplement que.....

Je dédie ce modeste travail.....

A MES CHERS PARENTS

Aucune dédicace ne saurait exprimer mon respect, mon amour éternel et ma considération pour les sacrifices que vous avez consenti pour mon instruction et mon bien être.

Je vous remercie pour tout le soutien et l'amour que vous me portez depuis mon enfance et j'espère que votre bénédiction m'accompagne toujours.

A MES CHERS ET ADORABLE SŒURS ET FRÈRE

Amina la douce, au cœur si grand, Zineb, la prunelle de mes yeux, Ayoub mon petit frère, qui étaient toujours à mes côtés, qui m'ont encouragé et soutenu, orienté, guidé, dans tous pas que je faisais dans cette vie.

À TOUS LES MEMBRE DE MA FAMILLE GRANDS ET PETITS

Surtout mes cousines Hind, Noudjod, Hadjer, Imen, Chaima, Fatma, Amira et Manar. Aussi mes tantes et mes oncles.

Veillez trouver dans ce travail l'expression de mon respect le plus profond et mon affection la plus sincère.

À MES AMIS

A ma sœur Sabiha avant d'être ma copine pour les moments que nous avons partagé durant toutes les années universitaire.

A tous mes aimables amis et collègues d'étude sans exception. Aux personnes qui m'ont toujours aidé et encouragé, qui m'ont accompagnaient durant mon chemin d'études supérieures, mes frères de cœur à toi Djazia, Nawel, Faiza, Fatiha, Amina, Rym, Somia, lila, Walid, Hamid, Amine.

A monsieur bengani pour leur aide, et a toutes les personnes qui ont participé à l'élaboration de ce travail à tous ceux que j'ai omis de mentionner.

Tableau de matière

Résumé	1
ملخص	2
Abstract	2
Introduction	3
Partie bibliographique	
<u>Chapitre1 : Généralités sur la vigne</u>	
1. Historique de la vigne	4
2. Superficie et production des vignobles.....	5
3. Présentation systématique	8
4. Morphologie de la vigne	10
5. Physiologie de la vigne.....	13
6. Importance de la vigne	14
6.1 Dans de monde.....	14
6.2 En Algérie	14
<u>Chapitre2 : Multiplication de la vigne</u>	
1. Multiplication sexuée	16
2. Multiplication asexuée ou végétative	16
2.1 Méthodes classiques	17
2.2 Méthodes modernes	17
2.2.1 Historique.....	18
2.2.2 Méthodes d'applications de la culture <i>in vitro</i>	19
2.2.2.1 Culture de méristème.....	19
2.2.2.2 Embryogenèse somatique	20
2.2.2.3 Micropropagation	20
2.2.2.4 Culture des protoplastes	22
2.2.3. Conditions de la culture <i>in vitro</i>	22
2.2.2 Problèmes liés à la culture <i>in vitro</i>	25
2.2.5 Problème inhérents à la technique	25
<u>Chapitre3 : Matériels et méthodes</u>	
1. Etude et lieu de travail	27
2. Objectif de l'expérimentation	27
3. Matériel végétal utilisé.....	27
4. Milieux de culture utilisés	28

Tableau de matière

5. Préparation des solutions mères	29
6. Préparation du milieu de culture.....	30
7. Stérilisation	31
8. Mise en culture.....	33
9. Paramètres étudiés	35
10. Analyse statistique.....	35

Chapitre4 : Résultats et discussions

1. Désinfection	36
1.1 Désinfection des explants issus du champ.....	36
1.2 Désinfection des explants issus de la serre	38
1.3 Discussion.....	39
2. Phase d'initiation des quatre cépages	42
2.1 Taux de débourrement total des explants	42
2.2 Cinétique de débourrement.....	44
2.3 Effet génotype sur le débourrement	45
2.4 Taux de pousses ayant survécus.....	45
2.5 Discussion.....	48
3. Phase de multiplication et d'allongements	51
3.1 Nombre moyen de pousses par explants.....	51
3.2 Nombre moyens des feuilles de quatre cépages étudiés.....	53
3.3 Longueur moyenne des pousses (L1)	55
3.4 Longueur moyenne des pousses (L2)	56
3.5 Discussion.....	62
Conclusion.....	64
Références bibliographiques.....	65
Annexe	

Résumé

Des pousses herbacées appartenant à quatre cépages autochtones de (*Vitis vinifera* L.) ont été régénérées par micropropagation *in vitro* : Aneb el Kabyle, Mokrani, Bouani et Ferrana noir. Nous avons testé quatre milieux de culture de base MURACHIG et SKOOG (1962), ces milieux sont différents par leur balance en macroéléments, MS0 (témoin), MS1 (Murashige et Skoog), MS2 (MS modifié en KH_2PO_4) et MS3 (MS modifié en NH_4NO_3).

Ce travail expérimental se compose de deux phases l'un d'initiation, les milieux de culture sont additionnés à 1 mg/l BAP et 0,1 mg/l ANA, et l'autre de multiplication et d'allongement additionné à 1,5 mg/l BAP, 0,1 mg/l ANA et 0,1 mg/l GA_3 .

L'utilisation de chlorure de mercure (HgCl_2) à 0,7% pendant 10 minutes, considéré comme la meilleure méthode de désinfection contre le brunissement et la contamination, le taux de débourrement est maximal pour les deux cépages Mokrani et Aneb el Kabyle sur les milieux respectivement MS1 et MS2. Le nombre moyen de feuilles le plus élevé a été enregistré dans le milieu MS2 et le cépage Mokrani. Aussi l'effet de l'interaction (cépage / milieu) a été observé pour le taux de pousses ayant survécus, le nombre moyens de pousses par explant et la longueur moyenne des pousses après 40 et 60 jours.

Mots clés : micropropagation, désinfection, Chlorure de mercure, *Vitis vinifera* L, cépage autochtone, milieu de culture.

الملخص

في إطار هذا العمل, قمنا بتجديد أربعة أصناف من العنب المحلي (*Vitis vinifera* L.): عنب القبائل, مقراني, بوغني وفرانا أسود, بواسطة التداخل الدقيق في المختبر. و قد استعملنا أربعة اوساط زراعية اساسها الوسط ميراشينج و سكوغ (1962) لكنها تختلف في مكونات العناصر الكلية .

ينقسم هذا العمل الى مرحلتين, الأولى إبتدائية ويضاف للأوساط 1 مغ/ل (BAP) و 0.1 مغ/ل (ANA), الثانية مرحلة التكاثر و الاستطالة يضاف للأوساط 1.5 مغ/ل (BAP), 0.1 مغ/ل (ANA) و 0.1 مغ/ل (GA₃) .

استعمال كلوريد الزئبق ب 0.7 % لمدة 10 دقائق هي أفضل طريقة لتطهير المادة النباتية المستعملة. التبرعم بلغ الحد الاقصى عند الصنفين عنب القبائل و مقراني في الوسطين بالترتيب MS2 و MS1. و سجل أعلى متوسط عدد الاوراق في وسط الزرع و في الصنف مقراني, و قد لوحظ تأثير التفاعل (عنب/ وسط الزرع) بالنسبة لعدد البراعم التي نجحت, كذلك متوسط البراعم في كل قطعة و كذا لها تأثير على معدل الاستطالة بعد 40 و 60 يوما.

الكلمات المفتاحية: التكاثر الدقيق، التطهير، كلوريد الزئبق، *Vitis vinifera* L، أصناف العنب المحلية، وسط الزرع.

Abstract

cuttings belonging to four type of grappe vines autochtones (*Vitis vinifera* L.) were regenerated by micropropagation in vitro: Aneb el Kabyle, Mokrani, Bouani and Ferrana black. We tested four basic culture mediums MURACHIG and SKOOG (1962). These mediums are different by their macroelement balance, MS0 (control), MS1 (Murashige and Skoog), MS2 (MS modified in KH₂PO₄) and MS3 (modified MS NH₄NO₃).

This experimental work consists of two phases, one of which is initiated, the culture media are added to 1 mg / l BAP and 0.1 mg / l ANA, and the other is multiplied and extended with 1, 5 mg / l BAP, 0.1 mg / l ANA and 0.1 mg / l GA₃.

The use of mercury chloride (HgCl₂) at 0.7% for 10 minutes, considered the best method of disinfection against browning and contamination, the bud burst rate is maximal for the two Mokrani and Aneb el Kabyle grape varieties on the media respectively MS1 and MS2. The highest average number of leaves was recorded in the MS2 medium and the Mokrani grape variety. The effect of the interaction (grape / medium) was observed for the number of shoots that survived, the average number of shoots per explant and the average shoot length after 40 and 60 days.

Keywords: micropropagation, disinfection, mercury chloride, *Vitis vinifera* L, vines autochtones , culture medium.

Depuis des décennies l'homme ne cesse d'appivoiser des espèces végétales, parmi elles la vigne. En effet, celle-ci est une liane sauvage qui a connu à travers le temps un développement et une adaptation très marquante sur le plans génétique, physiologique et organoleptique, de même qu'une diversification variétale, de nos jours la plus part des cépages cultivées sont tous du genre *Vitis* représentant plus de 10.000 cépages (**ZOHARY et HOPF 2000** et **THIS et al., 2006**).

La vigne (*Vitis Vinifera* L.) présente un intérêt majeur pour les pays du climat tempéré, notamment ceux de 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, particulièrement pour les cépages autochtones.

Entre 2000 et 2006 la production annuelle moyenne de l'Algérie est passée à 275 mille tonnes (**MONTGOMERY, 2009**).

En 2010, la superficie totale des vignobles a engendré une baisse de la production. L'état phytosanitaire dégradé 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 notamment virale. L'introduction de matériel végétal sans contrôle au niveau des frontières avec une qualité variétale et sanitaire non appropriée.

Depuis les débuts de l'agriculture, l'Homme a cherché à améliorer les plantes qu'il cultivait par rapport à des critères de qualité ou de rendement correspondant à ses besoins ; de nombreux chercheurs font appel aux techniques de la culture *in vitro* (**AUGE et al., 1989**).

La culture *in vitro* est une bonne alternative pour remédier à ces problèmes. Afin de préserver les cépages autochtones algériens, la technique la micropropagation est l'une des méthodes les plus promoteurs.

Dans notre travail expérimentale, nous avons testé la technique de microbouturage dans le but de régénérer quatre cépages autochtones de vigne afin d'améliorer la propagation de cette espèce ancestrale.

1. Historique de la vigne

Les origines de la vigne ont pu être étudiées grâce à la découverte des vignes fossiles datant de l'Eocène au Pliocène (**HUGLIN et SCHNEIDER, 1998**).

Avant l'apparition de l'homme sur terre à la fin du tertiaire, soit 3 millions d'années avant l'ère chrétienne, plusieurs indices (présence de pépins et de pollen) prouvent que la vigne était présente en Europe occidentale et en Asie mineure (**GALET, 2000**).

Au cours de quaternaire, certaines espèces ont survécu aux glaciations dans des refuges épargnés par le froid ; on a retrouvé *Vitis silvestris*, regroupant les formes sauvages ou Lambrusque de *Vitis vinifera* dans la flore spontanée de Transcaucasie, Grèce, Italie, France, Allemagne et Espagne (**REYNIER, 2007**).

On ne sait pas exactement à quelle époque les hommes ont commencé à s'intéresser à ramasser les raisins. Dans l'antiquité, ces fruits provenaient de souches qui s'étaient développées spontanément au milieu de la végétation et issues de semis naturel réalisé au hasard (**GALET, 2000**). Ces formes sauvages, dioïques, constituent les Lambrusques, ces dernières persistent jusqu'à aujourd'hui dans plusieurs régions isolées d'Autriche, d'Italie, d'Allemagne, de Grèce, et se trouvent aussi en Kabylie (Algérie).

Selon **REYNIER, (2007)** la culture de la vigne a débuté il y'a 5 à 6 millénaires avant J.C à partir des refuges de Transcaucasie et d'Iran où les hommes se sont sédentarisés et ont découvert l'intérêt alimentaire de cette plante. La vigne a été multipliée par bouturage puis elle a été domestiquée d'où proviennent, les différents cépages, qui sont issus des sélections faites dans les populations de Lambrusques. La migration des hommes vers le sud (Palestine et Egypte) puis vers l'Ouest (Grèce et Empire romain) ont permis le développement de la culture de la vigne et ont assuré le transport de ces premiers cépages vers d'autres régions du monde.

REYNIER, (2007) rapporte que *V. vinifera* présente de grandes qualités pour la production de raisins de cuve, de raisins de table et de raisins secs. Cette espèce est cultivée dans les zones tempérées, et se multiplie principalement par voie végétative.

2. Superficie et production des vignobles

2.1 Dans le monde

La vigne dans son ensemble peut se développer dans presque tous les climats et dans toutes les régions du monde de par les grandes capacités d'adaptation de ses nombreuses espèces (ATTIA, 2007). (Figure 1)

Selon SIMON *et al.*, (1992) les diverses exigences climatiques de la vigne font qu'elle est une plante des pays tempérés et expliquent sa répartition géographique. REYNIER, (1991) souligne que c'est une plante qui se cultive bien dans la partie chaude des zones tempérées et plus de la moitié des vignobles mondiaux sont regroupés dans les pays méditerranéens.

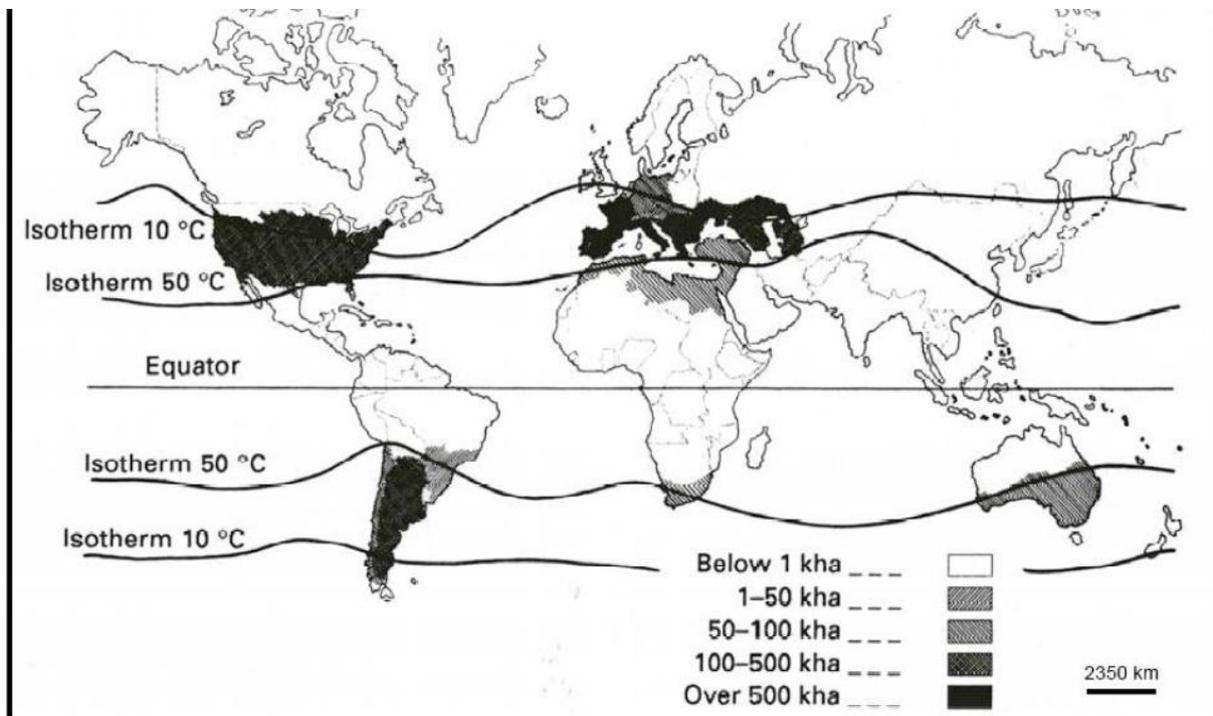


Figure 1 : Répartition mondiale du vignoble (MULLINS *et al.*, 1992).

D'après KRIEDEMANN (1968), STOEV et SLAVTCHEVA (1982), DOWNTON *et al.*, (1987) in LEBON, (2005) l'optimum de température pour la culture de la vigne se situe entre 21 et 32°C selon les régions ; et c'est pour cette raison que le vignoble mondial est principalement localisé dans les hémisphères Nord et Sud compris entre les isothermes 10°C et 50°C (MULLINS *et al.*, 1992).

De son côté **REYNIER, (1991)** souligne que la vigne peut également se cultiver sous d'autres climats tels les régions tropicales et subtropicales. En effet, la vigne est capable de se développer dans une région si celle-ci subit une période sèche suffisamment longue et si les températures au printemps sont supérieures à -5°C , c'est ainsi que l'augmentation des températures à la surface du globe expliquerait l'augmentation de la superficie mondiale des vignobles. **DUTRUC-ROSSET, (2001)** précise que le vignoble s'étend sur 7,9 millions d'hectares et est toujours en progression avec l'augmentation des surfaces notamment en Australie.

Le congrès de l'organisation internationale de la vigne et de vin (**OIV, 2000** in **CARISSE et al., 2006**), mentionne que la superficie viticole mondiale en 2000, atteint 7,9 millions d'hectares, elle est 8 millions d'hectares (ha) selon **DELROT et al., (2008)**.
(Tableau1)

Tableau 1 : Principaux pays viticoles (campagne1999/2000)

Continent	Taux	Pays
Europe	62,%	France 11,6%, Italie 11,5%, Espagne 14,9%,
Asie	19,2%	Chine 3,3%
Amérique	11,9%	Etats-Unis 5,2%, Argentine 2,7%, Chili 2,2%
Afrique	4,3%	Afrique du Sud 1,5%
Océanie	1,9%	Australie 1,8%

CARISSE et al., (2006)

2.2 Origine et évolution du vignoble algérien

En Algérie le développement de la vigne a commencé à partir de 1860, grâce aux échecs, aux crises et au traité commercial de 1860 entre l'Angleterre et la France et enfin à la liberté complète des échanges entre les deux marchés, celui de l'Algérie et celui de la métropole en 1867, ajouté à cela la disponibilité des terres agricoles et les échecs répétées dans l'introduction des cultures tropicales. Le véritable développement viticole en Algérie n'a eu lieu qu'avec la destruction avancée du vignoble Français par le *Phylloxera vastatrix* en 1878 (**EL-HEIT, 1981**).

La viticulture en Algérie était d'un intérêt primordial, ainsi selon **ISNARD, (1951)** in **EL HEIT, 1981**), la vigne était la culture rémunératrice par excellence. Après 5 années de

plantation elle pouvait rembourser en une seule récolte tous les investissements réalisés pour sa culture.

Ainsi, grâce à la longue expérience viti-vinicole accumulée depuis plusieurs années les vins algériens avaient commencé à jouer le rôle de vin « médecin », cela jusqu'à la crise du vin Algéro-Français de 1967 (**EL-HEIT, 1981**).

Selon **AOUF, (1972)** l'Algérie, jusqu'à son indépendance en 1962, était considérée comme faisant partie du territoire français et sa production viti-vinicole était régie par la même réglementation que celle de la métropole. La France importait alors jusqu'à 14 millions d'hectolitres de vin produit sur le sol algérien.

Au lendemain de l'indépendance de l'Algérie, de graves difficultés sont apparues, le vignoble algérien traversait d'énormes problèmes. En effet, la production a atteint de près de 15 millions d'hectolitres de vin et n'avait pas trouvé de preneur pour son écoulement (**AOUF, 1972**).

Au début des années 1967, les liens économiques entre la France et l'Algérie se relâchèrent, les importations de vins furent singulièrement réduites et le gouvernement français a fini de les suspendre complètement. A cela s'ajoute l'économie agricole algérienne, déficitaire en produits à haute valeur nutritive et à faible valeur ajoutée, telles que les céréales, alors que le vin représente une production aux caractéristiques tout à fait opposées et les possibilités d'absorption par le marché local sont très réduites du fait que la population est musulmane. De même que la vigne a été parfois implantée sur des zones où l'irrigation des cultures de substitution peut alors être envisagée. Suite à tous ces problèmes l'arrachage du vignoble s'imposait en de nombreux endroits. Partant de ces constatations la nécessité de la conversion-reconstitution du vignoble algérien était de rigueur (**Tableau 2**).

Tableau 2 : Reconversion du vignoble algérien 1968-1973 (AOUF, 1972)

Rubriques	Secteur socialiste	Secteur privé	Total
Superficie 1968	269 175	35 300	304 475
Arrachages			
-Vignes à vin	71 300	5 000	76 300
Plantations			
-Vignes à vin	8 875	-	-
-Vignes raisin de table	4 750	-	-
-Vignes raisins secs	7 500	-	-
-Pieds mères	1 000	-	-
TOTAL	22 125	4 700	26 825
Différences	-49 175	-300	-49 475
Superficies 1973	220 000	35 000	255 000

Actuellement la viticulture algérienne est localisée essentiellement à l'Ouest du pays, avec environ 8000 ha de vignes plantées contre plus de 14000 avant l'arrachage en 2007, Ain Témouchent est la première wilaya viticole du pays (**KALI, 2010**).

La viticulture est un peu partout à travers le territoire Algérien ou les principales villes productrice sont : à l'Ouest (Tlemcen, Sidi bel Abbes et Ain Timouchent), à l'Est (Skikda et Bejaïa) et au centre (les collines de Sahel, Blida, Média, Mitidja et la Kabylie) (**LERY, 1982**).

3. Présentation systématique

La vigne appartient à la famille des vitacées. Les plantes de cette famille sont des lianes à tiges plus ou moins sarmenteuses, mais parfois herbacées, possédant des vrilles opposées aux feuilles (**REYNIER, 2007**).

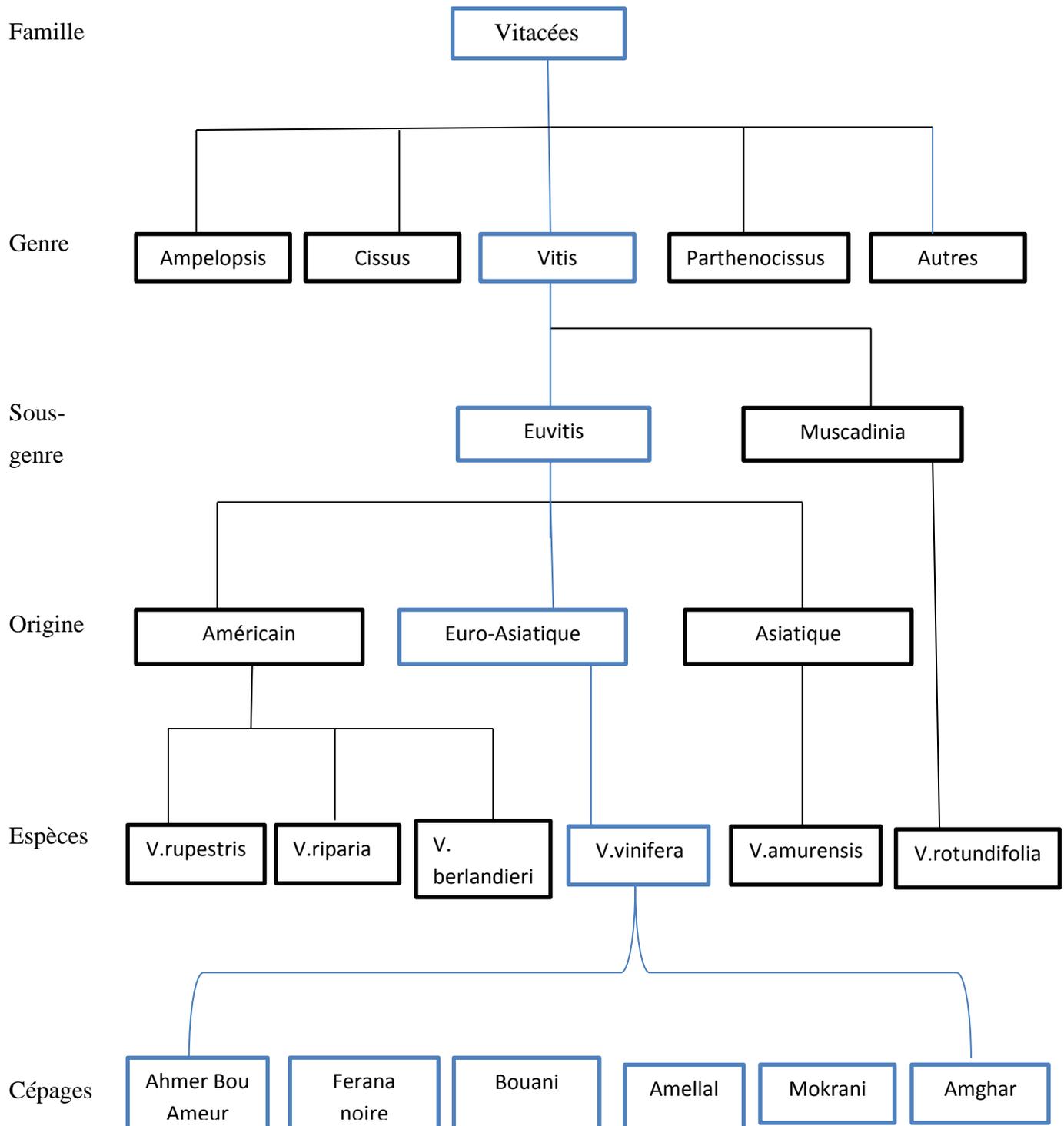


Figure 2 : Classification des vitacées (REYNIER, 2007)

Selon **GALET, (2000)** la famille des vitacées était appelée autre fois Ampélidées ou Ampelidacées et elle compte plus d'un millier d'espèces. Les vitacées sont des phanérogames, elles appartiennent aux angiospermes de la classe des dicotylédones.

Les Vitacées appartiennent à l'ordre des Rhamnales, comprenant 18 genres dont *Vitis*, celui-ci est séparé en deux sous-genres, *Muscadinia* qui possède $2n= 40$ chromosomes et *Euvitis* à $2n = 38$ chromosomes.

A l'intérieur d'*Euvitis* on distingue trois groupes : un groupe euro-asiatique (formé par *Vitis vinifera* Linné et *Vitis vinifera silvestris*), un groupe asiatique (une dizaine d'espèces, peu étudiées) et un groupe américain (une vingtaine d'espèces de grande utilisation comme porte-greffe) (**HUGLIN, 1986 in ATTIA, 2007**).

La vigne cultivée proprement dite, *V.vinifera* L. comprend des milliers de cépages, à l'intérieur desquels il n'a guère été possible de procéder à des classifications plus poussées (**GALET, 2000**).

La vigne américaine, rassemble une vingtaine d'espèces et elle est utilisée comme porte-greffe ou croisée avec *V.vinifera* pour produire des hybrides.

3.1 Classification de la vigne : selon REVEAL et CHASE (2009), la vigne appartient :

- **Embranchement** : Angiospermes.
- **Classe** : Dicotylédones.
- **Sous-classe** : Archichlamydées.
- **Ordre** : Rhamnales.
- **Famille** : Vitacées.
- **Genre** : *Vitis*.
- **Espèce** : *Vitis vinifera* L.

4. Morphologie de la vigne

HUGLIN et SCHNEIDER (1998), soulignent que les organes de la vigne, indépendamment de leur rôle ontogénique proprement dit, c'est-à-dire de leur influence spécifique sur le développement de la plante, la variabilité morphologique de certains de ces organes est utilisée pour la description des cépages basés sur diverses méthodes

ampélographiques plus ou moins objectives (l'objet principal de l'Ampélographie est la description morphologique des cépages par les bourgeonnements (apex), les rameaux herbacés, les feuilles adultes, les grappes, les sarments, etc. Pour pouvoir les identifier).

La vigne est une liane qu'il faut palisser si on veut l'élever au-dessus du sol (REYNIER, 2007).

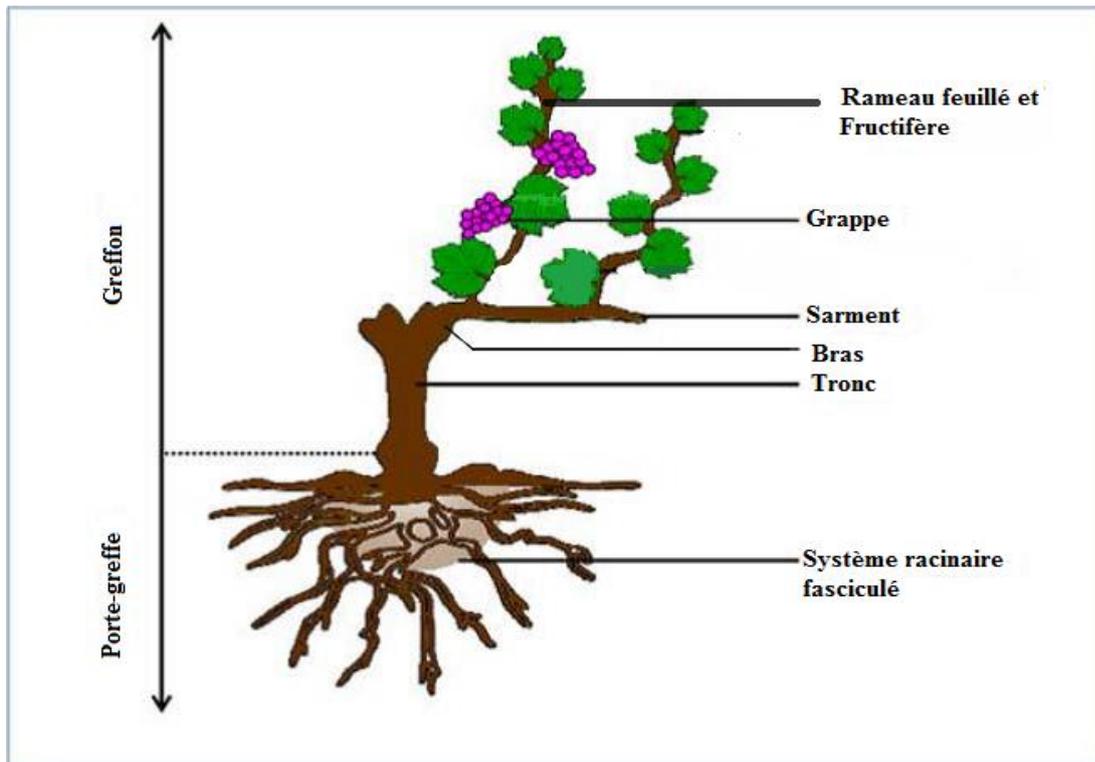


Figure 3: Morphologie du cep de vigne (PETIT, 2008)

4.1 Racines

GALET (2000), souligne qu'en plus la fonction principale dont elles disposent à puiser l'eau et la matière minérale dans le sol et à fixer la vigne, elles ont aussi tendance à produire des hormones de croissance (gibbérellines et cytokinines) et elles constituent aussi un organe de réserve dans leurs tissus ou s'accumule l'amidon.

Chez les vignes issues de semis, on observe une racine principale ou pivot provenant de l'allongement de la radicule sur laquelle naissent des racines secondaires ou radicelles.

Chez les vignes produites par la multiplication végétative (boutures et greffe-boutures), il naît plusieurs racines principales au niveau des nœuds (Figure 3). Ces racines divergent à

partir de leur point d'insertion dans plusieurs directions et elles se ramifient plusieurs fois (GALET, 2000). Elles atteignent généralement 2 à 5 m de longueur, mais elles peuvent s'enfoncer dans le sol jusqu'à 12 à 15 cm (MORLAT, 1981). Il est bien évident que sa répartition est conditionnée par la nature du sol, sa profondeur, sa compacité et la quantité d'eau disponible (RIBEREAU-GAYON et PEYNAUD, 1980).

4.2 Tronc

Le tronc de la vigne ou cep est toujours flexueux, (GALET, 2000). Il est recouvert d'une écorce crevassée ou rhytidome d'autant plus épaisse que la vigne est plus âgée.

A l'état sauvage, il peut atteindre des dimensions considérables, plus d'un mètre de circonférence (RIBEREAU-GAYON et PEYNAUD, 1980). Si les vignes cultivées dérivent de *Vitis Vinifera*, leur développement serait faible ou moyen, cela tient au mode de conduite adoptée et à la taille d'hiver réalisée (GALET, 2000).

4.3 Rameaux

Au début de la période végétative, les rameaux longs ont un aspect herbacé, ils sont verts, flexibles, riche en eau et ils sont composés d'une succession d'entre nœuds, séparés par des nœuds plus ou moins renflés (RIBEREAU-GAYON et PEYNAUD, 1980).

La croissance de ces rameaux se poursuit jusqu'à la fin de cycle en été, et il se produit alors un phénomène de maturation, appelé aoûtement, qui aboutit à la formation des sarments. Ces derniers se présentent sous une forme plus dure, d'une couleur qui tend vers le marron foncé.

4.4 Bourgeons

Les bourgeons sont des petits rameaux en réduction recouvertes d'organes protecteurs, sont destinés à assurer la pérennité de la vigne d'une année à l'autre par leur croissance en donnant des rameaux, des feuilles, des inflorescences et des nouveaux bourgeons. Ils sont également indispensables pour assurer la multiplication végétative de la vigne (bouturage, greffage et marcottage) (GALET, 2000).

4.5 Feuilles

Les feuilles apparaissent sur les rameaux dès le débourrement et leur nombre augmente jusqu'à l'arrêt de croissance. Elles jouent un rôle physiologique primordial, puisqu'elles

permettent l'élaboration des sucres qui vont s'accumuler dans les baies (BRETAUDEAU et FAURE, 1990).



Figure 4: Feuille de vigne.

4.6 Vrilles

Les vrilles sont des organes d'une extrême utilité, puisqu'elles permettent à la plante de grimper en s'attachant aux arbres à l'état naturel (ARTHAUD, 1858).

Selon GALET (2000), les piquets ou les fils de fer servent aussi de support pour la vigne afin de s'élever et gagner les sommets et de pouvoir étaler sa végétation et assurer une bonne assimilation chlorophyllienne par les feuilles.



Figure 5 : Vrilles de vigne.

4.7 Inflorescence

L'inflorescence est une grappe composée dont la dimension et la ramification dépendent de l'espèce, du cépage, de sa position sur le rameau et de sa vigueur. Elle comprend un axe principal sur lequel partent des ramifications secondaires qui peuvent se ramifier à leur tour pour se terminer par un bouquet de deux fleurs ou par une fleur isolée (REYNIER, 2007).



Figure 6: Inflorescence de vigne

4.7.1 Fleurs

La grande majorité des cépages à fruits possède des fleurs hermaphrodites (**HUGLIN et SCHNEIDER, 1998**). Avant la floraison, elles ont l'apparence des petites valves cylindriques, parfois un peu conique et d'une couleur verte. Celles de *V.labrusca* ont 4 à 5 mm de hauteur, celles de *V.vinifera* 3 à 4 mm et celles des autres espèces américaines 2 à 3 mm (**HUGLIN et SCHNEIDER, 1998**).

4.7.2 Grappes et baies

Après la nouaison, les inflorescences se transforment en grappes. Elles sont composées d'un ensemble de ramifications qui dépendent de l'espèce, du cépage, de la position sur le rameau et de la vigueur (**REYNIER, 2005**).

5. Physiologie de la vigne

La vigne est une plante pérenne ayant une longévité dépassant les 30 ou 40 ans et peut vivre jusqu' à un siècle si elle est bien conduite, elle entre en production après 3 ou 4 ans de plantation.

Pendant la vie active de la vigne, un cycle végétatif et un cycle reproducteur ont lieu au même temps au cours d'une campagne agricole. Le cycle végétatif est caractérisé par un développement de rameaux et des feuilles, tandis que le cycle reproducteur est déterminé par un développement des inflorescences, puis des grappes de fruits (**ZIANI, 2008**).

GIRARD (2001), ajoute que ces deux phases s'accomplissent simultanément et se reproduisent chaque année pendant toute la durée de vie de la vigne.

6. Importance de la vigne

6.1 Dans de monde

La vigne est l'espèce la plus cultivée dans le monde (**MARCHIVE, 2006**), son importance économique considérable se situe au niveau de la production des fruits, le raisin est commercialisé comme le raisin de table, de cuve ou même sec.

Le vignoble mondial a atteint une superficie totale de 7528000 ha, tandis que la production globale de raisin est de 691 Mqx. Cette production augmente, malgré le fait que la superficie mondiale plantée en vignes a continué de diminuer. Cette situation peut s'expliquer par une tendance à la hausse des rendements et par les conditions climatiques plus favorables.

Il existe également d'autres utilisations des produits issus de la culture de la vigne comme la production des dérivés de la vinification (mouts, alcool de distillation), des boissons à base de raisin, des dérivés alimentaires (huile de pépins de raisin) et des produits cosmétiques.

6.2 En Algérie

L'Algérie est une importante source de richesse en ressources génétiques. Elle est constituée de nombreux cépages autochtones issus de (*Vitis vinifera* ssp. *vinifera*) grâce aux populations naturelles isolées de la vigne sauvage (*Vitis vinifera* ssp. *Silvestris*), à sa situation géographique et à sa diversité pédoclimatique (**FOUDIL, 1989**).

Pendant la colonisation, l'agriculture a été orientée beaucoup plus vers la culture des cépages allochtones introduits par les français, destinés presque entièrement à la production du vin avec 14 à 18 millions d'hectolitres par an, y consacrant 390 000ha de terre fertiles (**DUPARC, 2013**). A cette époque, l'Algérie était le quatrième pays producteur de vin après la France, l'Italie et l'Espagne.

Après l'indépendance, l'économie vinicole a été vite bouleversée par un arrachage massif dans les années 70, les terres libérées ont été utilisées pour les cultures maraîchères, les fourrages et l'arboriculture (**DIEMER, 2005**). La situation dépressive de la vigne sur l'exploitation, l'âge avancé, l'arrachage, les difficultés de commercialisation et les situations climatiques se sont traduites par une chute importante de la production (**TAYEB, 1990**).

TAYEB, (1990) souligne que les pouvoirs publics ont adopté la politique de reconversion, de reconstitution du vignoble et de la production de raisin de table et du raisin sec pour satisfaire les besoins de la consommation intérieure. Un effort particulier est fait pour développer et étendre cette culture dans la partie nord du pays, même dans les oasis sahariennes avec le recours à l'irrigation. En 2012 le vignoble algérien a occupé une superficie de 74114 ha (**Tableau 3**).

Tableau 3: Superficie, production, rendement et taux d'accroissement des vignobles en Algérie (2011-2012) (INRA, 2013)

	2011			2012			Taux d'accroissement (%) 2012/2011		
	Sup. ha	Prod. qx	Rdt qx/ha	Sup. ha	Prod. qx	Rdt qx/ha	Sup.	Prod.	Rdt
Vigne de cuve	28049	525 120	19.5	26827	697404	26.9	-4	33	38
Vigne de table	49338	3 499150	77.7	47224	4732566	111	-4	35	43
Vigne à raisin sec	74	1 650	23.9	63	1720	29.7	-15	4	24
Vignobl es totaux	77461	40 25920	71.7	74114	5431690	74.2	-4	35	3

Notons que le génotype de ces cépages autochtones d'Algérie peut présenter un intérêt œnologique et agronomique approprié aux conditions climatiques.

La multiplication de la vigne peut se réaliser par deux grands procédés: sexuée et asexuée

1. Multiplication sexuée

C'est la reproduction qui met en jeu la fusion de cellules haploïdes (gamètes mâles et femelles) produit par la méiose et donnant un zygote diploïde. Elle s'effectue dans les fleurs qui contiennent les organes reproducteurs ; après la pollinisation la rencontre des cellules gamétiques mâle et femelle (la double fécondation) suivie de la transformation de l'ovule fécondé en graine (renfermant la plante miniature embryonnaire) et de l'ovaire en fruit, la germination de la graine engendrera un nouvel individu. Le semis à partir des graines ne permet pas de conserver les caractères de la plante; ce procédé de multiplication est réservé aux sélectionneurs et aux hybrideurs pour la création de nouveaux cépages et de porte-greffes.

2. Multiplication asexuée ou végétative

La multiplication végétative est un mode de reproduction asexuée, à la différence du semis qui donne une population hétérogène, la multiplication végétative génère des clones homogènes.

Le viticulteur est plus directement intéressé par les procédés de multiplication végétative (**REYNIER, 2007**).

Cette reproduction permet la création de plantules à partir d'un seul organisme parentale de la même espèce. Elle n'implique que des mitoses à partir d'une plante mère en réformant les différentes parties de l'organisme qui s'isole en individu complet et génétiquement identique à l'individu parental. La multiplication végétative est permise grâce à la présence des méristèmes et la capacité d'en produire de nouveaux par la dédifférenciation et redifférenciation des cellules vivantes (**MARGARA, 1989, MAYER et al., 2004 ; PEYECRU et al., 2007**).

La multiplication végétative elle s'effectue par des méthodes traditionnelles (bouturage, greffage et marcottage) et modernes (la culture *in vitro*, des méristèmes, protoplastes et micropropagation).

2.1 Méthodes classiques

2.1.1 Provignage : Le provignage consiste à coucher en terre le cep entier, afin de permettre l'enracinement des sarments qu'il porte ; c'est un procédé qui était utilisé avant l'invasion phylloxérique mais abandonné depuis.

2.1.2 Marcottage: Il suffit de coucher dans le sol un rameau de vigne âgé d'un an, tout en maintenant l'extrémité hors de terre. Afin de faciliter la transplantation, il est recommandé de coucher le sarment dans un panier grillagé qui permettra l'arrachage en mottes. Les marcottes peuvent être séparées des plantes mères dès l'automne (**ROBERT et al., 1998**).

2.1.3 Bouturage: Les rameaux boutures sont coupés en janvier et conservés en stratification dans du sable, à exposition nord, jusqu'au moment de leur plantation. Les boutures à talon s'enracinent plus facilement que les boutures simples. Les yeux munis d'une portion de sarment de 10 à 15 mm sont enfoncés en terrine, dans du sable humide; le tout étant ensuite placé à chaud en serre à multiplication ou sur couches. Les rameaux boutures s'enracinent facilement en plein air, il suffit de les enterrer presque complètement dans une terre riche et légère, que l'on maintient convenablement humide (**PEYECRU et al., 2007**).

2.1.4 Greffage: c'est le procédé classique de multiplication. Les systèmes de greffage les plus utilisés sont :

- Greffe bouture à l'anglaise compliquée; ces greffes s'opèrent sur table durant le mois d'avril et le début de mai, la soudure et l'enracinement sont obtenus dans des chambres chaudes (25 à 28°C) durant les 10 premiers jours.
- Greffes d'yeux: on opère à œil dormant, fin août début septembre, soit à la main, soit à l'aide de machines spéciales.

2.2 Méthodes modernes

La culture *in vitro* consiste à cultiver des tissus ou des cellules dans des conditions totalement artificielles, qui s'appliquent à la plante entière qu'à des fragments de plantes (tissus ou organes), ainsi qu'à des cellules isolées (**AUGE, 1989**).

C'est une technique qui s'améliore progressivement, et a un avenir certain. Ses objectifs sont de résoudre les problèmes de reproduction et de coût de production des plants horticoles notamment les fruitiers, ainsi que de satisfaire rapidement les exigences des professionnels. Elle permet aussi la régénération de la plante entière autonome et fertile à partir de la propriété des cellules végétales « la totipotence ». La multiplication *in vitro* trouve son fondement dans le concept de totipotence cellulaire, énoncé au début du siècle par **HABERLANDT en 1902 in BEAUCHESNE, 1989**, où toute cellule végétale vivante, quelle que soit sa « spécialisation » du moment qu'elle est vivante et possède un noyau, est capable de reproduire la plante entière d'où elle provient.

Durant les 25 dernières années la culture des tissus végétaux s'est développée, offrant un ensemble d'outils technologiques au service de la production végétale. Ces techniques (micropropagation) s'utilisent aujourd'hui par exemple pour la propagation par clonage des meilleurs individus, l'obtention de plantes indemnes de virus et de maladies, l'amélioration génétique par culture d'anthères et fusion de protoplastes, ou encore la conservation de ressources phylogénétiques (**ROSELL et VILLALOBOS, 1992**).

2.2.1 Historique

En 1878, il y a donc plus de 139 ans **BERMARD in NOZERAN et BANCILHON, 1972** formulait les principes théoriques de la création d'un système artificiel dans lequel les organes pourraient survivre hors de l'influence de l'organisme entier. Depuis cette orientation de recherche lentement d'abord, d'une manière plus rapide ensuite, a permis de grands développements à la biologie.

La culture indéfinie des tissus des végétaux a été réalisée il y a 70 ans, c'est en effet au printemps 1937 que fut isolée la première souche tissulaire dans l'activité est maintenue jusqu'à présent grâce à des repiquages réguliers. Dès 1941, on savait obtenir des plantes entières à partir de petits fragments d'organes ou colonies tissulaires ; leur enracinement ne posait aucun problème grâce aux auxines rhizogènes dont le maniement était connu depuis assez longtemps (**MARGARA, 1989**).

En 1944, **BUVAT** par les techniques de culture de tissus met en évidence le phénomène de dédifférenciation appelée la juvénalisation.

En 1949, LIMASSET et CORNUET in BOXUS, 1978 notent l'absence de virus dans les méristèmes de tabacs virosés.

En 1955, la découverte de la kinétine, substance douée d'une puissante activité caulogène, puis d'autres cytokinines ont permis de provoquer presque à volonté la néoformation de bourgeons adventifs. Cette multiplication végétative *in vitro* fut enfin facilitée par la mise au point à partir de 1962 de solutions minérales particulièrement appropriées (MARGARA, 1989).

En 1966, GUHA et MAHESHWARI en Inde obtenaient des plantes haploïdes de *Datura innoxia* M.LL à partir de culture d'anthères. En 1971, au Japon, TAKEBE et al régénéraient des plantes entières de *Nicotina tabacum* à partir de protoplaste (ANONYME, 1996).

2.2.2 Méthodes d'applications de la culture *in vitro*

La culture *in vitro* permet différentes applications (Figure 4).

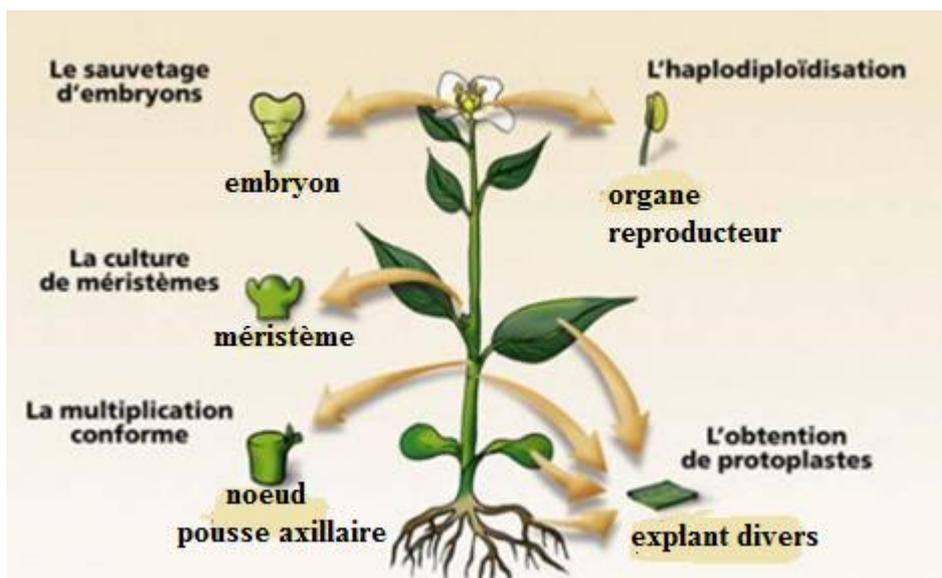


Figure 7 : Les méthodes d'applications de la culture *in vitro*.

2.2.2.1 Culture de méristème

Le méristème est un petit organe composé de cellules mériématiques à division rapide, il constitue le matériel idéal de départ étant donné que le méristème se développe d'une manière génétiquement stable et réduit le niveau d'infection virale (ESPINOSA et al., 1992).

Dès 1952, **GEORGE MOREL** de l'INRA de Versailles in **OCHATTE, (2005)** réussit à obtenir une plante entière à partir d'un méristème. Selon **TEOULE, (1999)** chez une plante virosée la répartition du virus semble très variable selon l'organe, le méristème en particulier est une structure très protégée et est généralement indemne de virus. Cette technique est donc utilisée pour obtenir des plantes saines à partir des plantes virosées (**AUGE, 1992**), notamment si elle est associée à la thérapie (**GRIFFITHS *et al.*, 1990**).

2.2.2.2 Embryogenèse somatique

Un apport important de la technique des cultures *in vitro* à la biologie a montré que des cellules somatiques pouvaient produire des structures comparables à des embryons, méritant l'appellation d'embryons somatiques (**MARGARA, 1984**). Ces embryons peuvent se développer à partir des cellules à 2n chromosomes issues de feuilles, racines ou tiges (**BOCCON-GIBOD *et JALOUZOT*, 1989**).

2.2.2.3 Micropropagation

Un grand classique de la culture végétale *in vitro* est le microbouturage ou micropropagation, les plantes se multiplient par semis ou par multiplication végétative, ce dernier est indispensable quand on veut conserver les caractères d'une variété donnée. La micropropagation *in vitro* apporte un progrès considérable par rapport aux méthodes traditionnelles avec un taux de multiplication de 100 à 1000 fois plus élevé (**OCHATTE *et al.*, 2002**).

La micropropagation consiste en une prolifération des bourgeons axillaires préexistants sur l'explant mère. Ceci offre une bonne garantie de conformité génétique et une bonne stabilité des caractères au cours de repiquages successifs (**ZRYD, 1988**).

L'application de la technique de la micropropagation des plantes ligneuses, fruitières forestières, permet l'amélioration de leurs capacités d'enracinement notamment sur le porte greffe reconnue difficile (**LÊ *et al.*, 2005**).

Cette technique permet la multiplication végétative de plusieurs plantes horticoles, arboricoles, viticoles et agroforesteries (**BRETAUDEAU, 2006**).

➤ Principe de la technique

Face aux limites des méthodes de multiplication classiques. La culture *in vitro*, en particulier le microbouturage constitue une meilleure alternative soit à des fins de

recherche, soit pour une production accélérée et en masse d'arbres sélectionnés afin de contribuer à la restauration et la régénération rapide.

Cette technique est basée sur le développement des microboutures dans des milieux de culture qui favorisent l'initiation, la multiplication et l'enracinement des explants récupérés à partir d'arbres mères sélectionnés.

Le principe est que, théoriquement, chaque cellule est totipotente, c'est-à-dire capable de devenir n'importe quel type de cellule différenciée au sein d'un organe, cellule de racine, tige, feuille ou fleur. Toutes les cellules d'une plante possèdent intégralement le même patrimoine génétique (les mêmes chromosomes).

En fonction de nombreux facteurs internes (hormones) ou externe (température et lumière), les gènes pourront ou non s'exprimer, conférant à la cellule un rôle dans l'organe où elle se trouve.

➤ **Avantages et inconvénients**

La micropropagation *in vitro* d'arbres ligneux a de nombreux avantages par rapport aux méthodes de propagation classiques. Elle fournit une bonne alternative pour la conservation et la multiplication rapide, dans un espace limité, de nombreux arbres précieux, rares, ou menacés de disparition en utilisant différentes stratégies telle que la culture des bourgeons axillaires. Elle est également utile pour la production en masse d'arbres génétiquement identiques, physiologiquement uniformes, et exempts d'agents pathogènes, afin de répondre plus rapidement aux exigences de production et de restauration du système agro-forestier (**BARLASS et SKENE, 1982 in SASSON, 1993**).

Cette technique peut fournir également un approvisionnement constant en matériel végétal pour les manipulations et transformations génétiques, les études de pathologie et celles de la conservation *in vitro* (**PEREZ-TORNERO et al., 2010; MARUTANI-HERT et al., 2011**).

Les techniques *in vitro* sont également utiles pour la conservation des stocks de germoplasmes et permettent la multiplication d'arbres sélectionnés indépendamment de la

saison et du stade de floraison ou de production de graines ce qui aide à contourner les cycles de vie longs (reproducteur et végétatif), spécifiques aux arbres ligneux.

Cependant, la contamination, la croissance lente, et les exsudations des composés phénoliques constituent d'importants obstacles de la multiplication des arbres ligneux (**RAI et al., 2010**). Malgré toutes ces difficultés, un certain nombre de recherches rapportent la réussite de la technique de micropropagation sur plusieurs types d'arbres ligneux (**GIRI et al., 2004** in **PANDEY et al., 2006**, **PHULWARIA et al., 2011**).

2.2.2.4 Culture des protoplastes

Un protoplaste est une cellule chlorophyllienne isolée et débarrassée de sa paroi squelettique. Ces protoplastes sont des matériaux de base très intéressants pour la recherche sur le fonctionnement cellulaire. Ils permettent également la réalisation d'hybride somatique après leur fusion (**BOUTHERIN et BRON, 2002**).

L'intérêt de la technique consiste à introduire dans un délai assez court des molécules assez diverses telles que l'AND des organites (**CAMARA et KESSAR, 2004**).

2.2.3. Conditions de la culture *in vitro*

La réussite de la culture de tissus végétaux dépend de la composition chimique des milieux de culture utilisés ainsi que d'autres facteurs ambiants :

2.2.3.1 Composition des milieux de culture

Les milieux de cultures sont constitués :

- **Eléments minéraux** : les macroéléments tels que l'azote (N), le calcium (Ca), soufre (S), phosphore (P), magnésium (Mg), et le potassium (K). Des microéléments ou les oligoéléments le fer (Fe), le cuivre (Cu), le zinc (Zn), le manganèse (Mn), le molybdène (Mo), le bore (B), le chlore (Cl), le cobalt (Co), et le nickel (Ni).
- **Eléments organiques** : les éléments organiques les plus prépondérants sont :

-Sucres : Dans le cas des tissus végétaux placés en culture *in vitro*, l'assimilation chlorophyllienne est nulle ou insuffisante pour assurer la survie et le développement de l'explant ; l'adjonction des sucres (le plus souvent du saccharose) dans le milieu de culture est nécessaire pour fournir à l'explant une source de carbone (**GAUTHERET, 1959**).

-Vitamines : L'emploi de diverses vitamines favorise fréquemment le développement des cultures *in vitro*. Donc les plus courantes sont : la vitamine B1 (la thiamine-HCl), la vitamine

B6 (la pyridoxine), la biotine, la pantothénate de calcium et le myo-inositol (GAUTHERET, 1959).

- **Régulateurs de croissance** : appelés généralement hormones de croissance, les tissus présentent des besoins spécifiques vis-à-vis des régulateurs de croissance (**Figure 5**). En effet, ces substances ont une influence très sensible sur la croissance ou le développement des tissus pour de très faibles variations de concentration (de l'ordre du 1/100 mg/l).

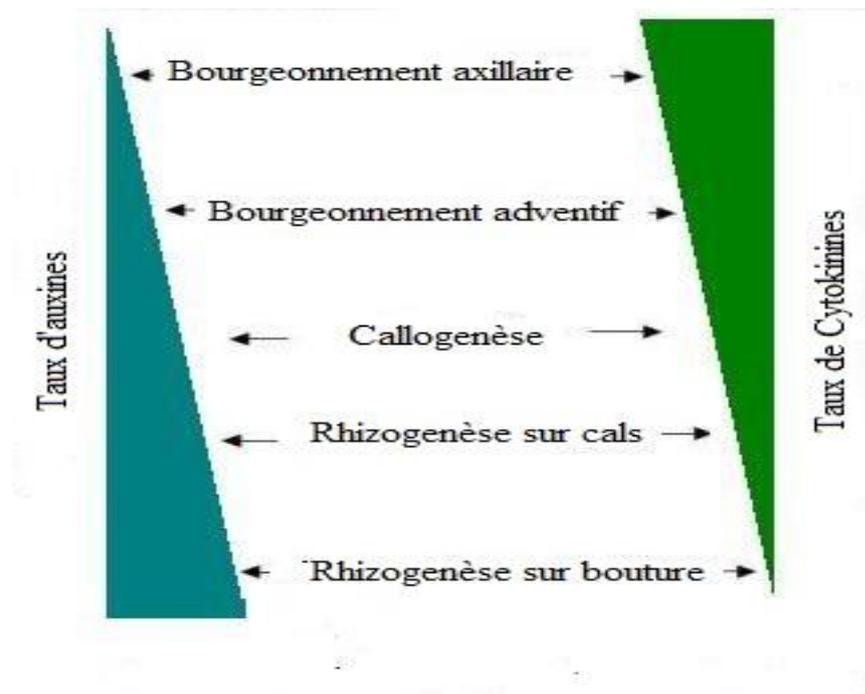


Figure 8 : Représentation schématique de l'influence de l'équilibre hormonal entre les auxines et cytokinines sur les différentes réponses morphologiques

(GEORGE et SHERRINGTON, 1984).

➤ Les auxines

L'auxine est un composé à noyau indole dont la formule brute est $C_{10}H_8O_9N$. L'acide Indole Acétique (AIA) est une hormone dont la synthèse de l'auxine se situe au niveau des très jeunes feuilles, dans les bourgeons en activité, au niveau des ébauches forales et des jeunes fruits.

De nombreux composés de synthèse présentent des propriétés similaires à celle de l'auxine naturelle l'AIA : Acide 2,4-dichlorophénoxyactique (2,4-D), Acide Indole 3 butyrique (AIB), Acide 1 Naphtalène Acétique (ANA).

Les auxines stimulent l'élongation des tiges, la différenciation et la croissance des racines, la maturation des fruits et l'abscission des feuilles et des fruits (**ZRYD et al., 1988 ; AUGÉ, 1989 ; HELLER et al., 1995**).

➤ Cytokinines

Les cytokinines sont des adénines substituées dont la zéatine (Zéa) est naturelle ; élaboré essentiellement par les racines et au niveau des embryons.

Les cytokinines les plus généralement utilisées sont : la kinetine (Kin), la benzyladénine (BAP), la 2 isopentényl adenine (2IP), le Thidia-zuron (TDZ). Elles sont synthétisées dans les tissus de croissance active plus particulièrement dans les racines, les embryons et les fruits (**ZRYD et al., 1988 ; HELLER et al., 1995**).

Les cytokinines sont souvent utilisées pour stimuler la prolifération des tissus en culture, déclencher la néoformation des bourgeons sur des cals.

➤ Gibbérellines

En culture des tissus, seul l'acide gibbérellique (GA3) est utilisé, il favorise la croissance cellulaire, l'allongement des entre nœuds et la levée de la dormance des graines (**HELOIR, 1999**).

2.2.3.2 Facteurs de milieu

➤ Stérilisation

Les conditions stériles sont obtenues par une désinfection des explants, une stérilisation du milieu de culture et des flacons ou tubes de culture. Les différentes opérations de mise en culture sont réalisées dans un environnement stérile obtenu par une hotte à flux laminaire horizontal. Les conditions stériles sont primordiales à obtenir afin qu'aucun champignon ou bactérie ne viennent coloniser les milieux de culture, très favorables à leur prolifération, entraînant la nécrose de l'explant.

➤ Photopériode

La lumière est un facteur déterminant pour la culture *in vitro* des plantes, elle a une grande influence de par la durée d'exposition (photopériode. **HUSSEY et al., (1981)** souligne d'autre part que la longueur de jour affecte la vigueur et le développement des proliférations et la croissance des cals. Cette dernière pourrait aussi contribuer à la formation des cals (**BRIGGS, 1964**). Le début de croissance nécessite en général une faible intensité lumineuse (500 à 1000 lux) avec 12 à 16 heures de photopériodes. (**BOMMENENI et JAUHAR, 2003**). Mentionnent que lorsqu'il s'agit de préparer la plantule au repotage en serre, il apparaît souvent préférable d'augmenter l'intensité de l'éclairage (par exemple 10000 lux).

➤ Température

La température des chambres de culture est en générale constante, elle est de l'ordre de 22 à 25°C (**MARGARA, 1989**).

2.2.4 Problèmes liés à la culture *in vitro*

Certains accidents, non prévisibles au départ, peuvent intervenir en cours de la culture *in vitro*, comme des malformations dues à un déséquilibre hormonal.

La production répétée de grands nombres de plants uniformes (clones) peut entraîner la perte des gènes nécessaire, par exemple, à la résistance aux maladies nouvelles. Il est nécessaire donc de conserver le pied mère et par une reproduction sexuée pour reconstituer et reprendre le patrimoine génétique.

2.2.5 Problème inhérents à la technique

2.2.5.1 Asepsie

La technique de culture *in vitro* exige beaucoup de soins pour le maintien des cultures en condition d'asepsie. Lorsque des cultures sont infectées par un champignon, on voit un développement mycélien ayant une texture feutrée, souvent blanche ou grisâtre. Quand les cultures infectées par une bactérie, présentent un voile d'aspect laiteux, développé à l'intérieur du milieu et à la surface. Si l'infection part de la zone de contact entre les tissus et le milieu, ce sont les tissus eux-mêmes qui sont la source de l'infection. Si l'infection part d'un point quelconque du milieu, la source de l'infection peut être due à l'environnement

une mauvaise stérilisation du milieu ou une infection de l'air ambiant par l'intermédiaire de l'eau de condensation au niveau du couvercle (AUGE.R *et al.*, 1989).

2.2.5.2 Acclimatation

Passé les jeunes vitro plants des chambres de laboratoire climatisées en serres nécessite une étape intermédiaire de quelques semaines pendant laquelle la plante développe son système racinaire. Cette phase d'acclimatation se déroule dans des locaux spécifiques permettant un contrôle précis des conditions d'éclairage, de température et surtout d'humidité.

Le passage à des conditions de culture normale est parfois délicat. En effet, en culture *in vitro*, la plante est à l'abri des stress.

À ce stade, les plantules sont logées en plaques alvéolées. Les substrats utilisés sont désinfectés à la vapeur afin d'éliminer tout risque pathogène ; cette stérilisation crée un vide microbiologique favorable à une bonne installation de la biotisation : les microorganismes non bienveillants sont remplacés par les microorganismes bénéfiques au développement du plant.

1. Etude et lieu de travail :

L'expérimentation a été menée au niveau du laboratoire central, service culture *in vitro* de l'Institut Technique de l'Arboriculture Fruitière et de la Vigne (ITAFV) à Tessala El Merdja (Alger), durant la période mars-septembre 2017.

2. Objectif de l'expérimentation :

Ce travail vise à régénérer *in vitro* quatre cépages autochtones de *Vitis vinifera* par la technique de microbouturage afin d'élaborer un protocole de régénération et de multiplication *in vitro* de ces cépages. Dans ce contexte quatre milieux différents par leur balance en macroélément ont été étudiés et comparés. Nous avons utilisé des explants herbacés contenant un bourgeon axillaire.

3. Matériel végétal utilisé

Le matériel végétal utilisé appartient à l'espèce vigne *Vitis Vinifera L.* Les cépages autochtones proviennent de la ferme de démonstration de Tighennif (Mascara). Le matériel végétal a été prélevé en période de végétation (avril 2017). Il est mis dans des sachets en plastique et transportés au froid afin d'éviter leur dessèchement.

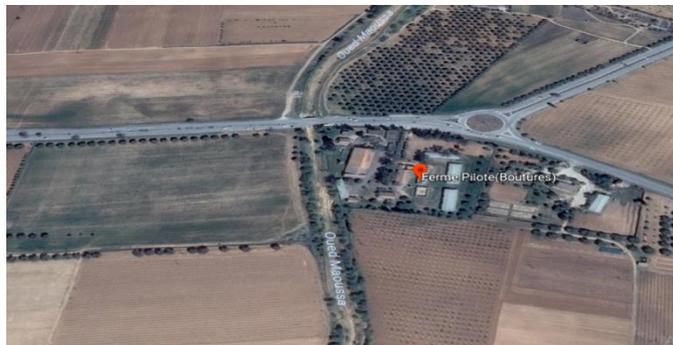


Figure 9 : Carte géographique représente la ferme de Tighennif.

D'autres échantillons ont été prélevés de la serre d'élevage du laboratoire central de l'ITAFV.

Les cépages étudiés sont :

- Aneb kabyle (NKB).
- El Mokrani (M).
- Ferrana noir (FN)
- Bouani (VBN).

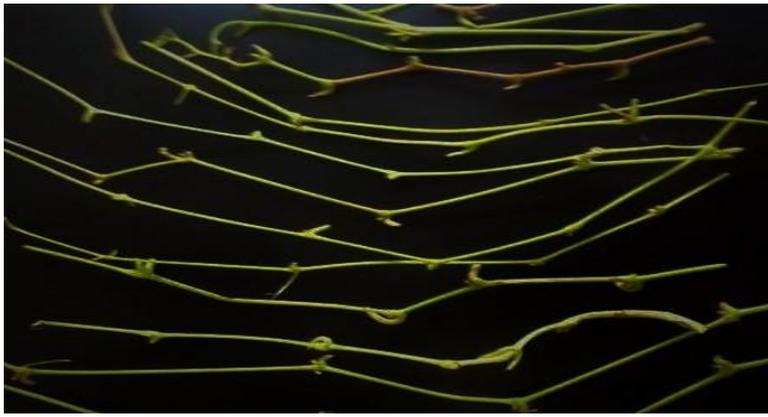


Figure 10 : Fragments de vigne.

4. Milieux de culture utilisés

Afin d'améliorer la multiplication végétative *in vitro* de quatre cépages autochtones de vigne, nous avons testé leur réponse vis-à-vis du milieu de culture le plus riche Murashige et Skoog, (1962) enrichi de 1mg BAP et 0.1 ANA, nous avons modifié sa balance en macroéléments en premier lieu en augmentant la quantité de phosphate (KH_2PO_4) et en deuxième lieu en diminuant la quantité des nitrates (NH_4NO_3). Les autres constituants du milieu en microéléments, vitamines, chélates et hormones de croissance n'ont pas été changés. En outre un milieu dépourvu d'hormones de croissance a été utilisé comme témoin.

Le saccharose a été utilisé comme source de carbone. Le milieu est solidifié par une substance naturelle d'extrait d'algue agar-agar. Le pH est ajusté à froid à 5,7-5,8.

Tableau 4: Constituants du milieu MS (Murashige et Skoog, 1962).

	Composants	Solutions mères	Volume de prélèvement
Macroéléments	KnO ₃ CaCl ₂ H ₂ O MgSO ₄ 7H ₂ O KH ₂ PO ₄ NH ₄ NO ₃	1900 mg/l 440 mg/l 370 mg/l 170 mg/l 1650 mg/l	100 ml
Microéléments	MnSO ₄ 4H ₂ O ZnSO ₄ 7H ₂ O H ₃ BO ₃ CuSO ₄ 5H ₂ O Na ₂ MoO ₄ 2H ₂ O CoCl ₂ 6H ₂ O KI	22.3 mg/l 8.6 mg/l 6.2 mg/l 0.025 mg/l 0.25 mg/l 0.025 mg/l 0.83 mg/l	10 ml
Chélates de fer	FeSO ₄ 7H ₂ O Na EDTA	27.85 mg/l 37.25 mg/l	10 ml
Vitamines	Myo-inositol Acide nicotinique Pyridoxine Thiamine Glycine	100 mg/l 0.5 mg/l 0.5 mg/l 1 mg/l 2 mg/l	10 ml

Saccharose.....30g.
 Agar7g.
 pH.....5,7-5,8.

Constituants du milieu MS modifié en phosphates (MS2)

KnO₃.....1900 mg/l
 CaCl₂H₂O..... 440 mg/l
 MgSO₄7H₂O..... 370 mg/l
 KH₂PO₄..... 340 mg/l
 NH₄NO₃..... 1650 mg/l

Constituants du milieu MS modifié en phosphates (MS3)

KnO₃.....1900 mg/l
 CaCl₂H₂O..... 440 mg/l

MgSO ₄ 7H ₂ O.....	370 mg/l
KH ₂ PO ₄	170 mg/l
NH ₄ NO ₃	825 mg/l

5. Préparation des solutions mères

5.1 Préparation de la solution mère de macroéléments (x10) et microéléments (x100)

Elle consiste à :

- Verser 500 ml de l'eau distillée dans une éprouvette de 1 litre;
- Peser et dissoudre chacun des sels indiqués dans des petits béchers avec l'eau distillée et en chauffant légèrement au besoin ;
- Transférer les solutions dans un flacon et compléter à 1 litre avec l'eau distillée ;
- Identifier le flacon puis le ranger au réfrigérateur.

5.2 Préparation de la solution mère de chélates de fer (x100)

Elle consiste à :

- Verser 500 ml de l'eau distillée dans une éprouvette de 1 litre ;
- Peser et dissoudre chacun de FeSO₄7H₂O et Na EDTA dans deux béchers différents ;
- Ensuite transférer les solutions dans un flacon teinté de 500 ml et compléter jusqu'à 500 ml ;
- Identifier le flacon et ranger au réfrigérateur.

5.3 Préparation de la solution mère des vitamines (x100)

Elle consiste à :

- Verser 100 ml de l'eau distillée dans un bécher de 100ml ;
- Peser et dissoudre chacun des vitamines indiquées précédemment ;
- Ensuite transférer les solutions dans un bécher de 100 ml et compléter jusqu'à 100 ml et agiter bien ;
- Verser dans des tubes à vis 10 ml de cette solution de vitamine et organiser dans un portoir ;
- Identifier le portoir des tubes et ranger au congélateur.

- la myo-inositol est apporté lors de la préparation du milieu pour éviter sa dégradation.

5.4 Préparation de la solution mère des hormones (V/V)

Elle consiste à :

- Peser les régulateurs de croissance désirés et les dissoudre dans quelques gouttes de solvant approprié ;
- Étendre avec un peu d'eau, vérifier l'état de solution et ajouter un peu de solvant au besoin ;
- Transférer la solution dans un bécher de 50 ml et compléter à 50 ml avec l'eau. (50mg de l'hormone avec 50 ml de l'eau) ;
- Partager cette quantité dans des épindorf de 1 ml puis le ranger au congélateur.

Lors de la préparation des solutions mères, les différents éléments sont apportés dans l'ordre décroissant de leur concentration afin d'éviter tout risque de précipitation. Ensuite toute les solutions mères sont étiquetées, puis conservées au froid.

6. Préparation du milieu de culture

A partir de la solution mère, on procède à la préparation du milieu de culture selon le protocole suivant :

- verser dans un bécher de 1 litre 100 ml de macroéléments, 10 ml microéléments et 10 ml FE-EDTA ;
- Peser 30 g de saccharose, 0.1 g de myo-inositol et 7g d'agar ensuite on les ajoute au milieu ;
- Ajouter 10 ml de vitamine et 1 ml BAP, 0.1 ml ANA puis agiter ;
- le volume prélevé est en fonction de la concentration de la solution mère préparée ;
- Compléter à 1 litre avec l'eau distillée ;
- Ajuster le PH à 5.7-5.8 avec du HCL (0,1N) ou NaOH (0,1N) ;
- Chauffer le milieu jusqu'à ébullition ;
- verser dans des tubes à essais.

7. Stérilisation

La technique de la culture *in vitro* exige beaucoup de soins et d'asepsie afin d'éviter tout type de contaminations.

7.1. Stérilisation du milieu de culture

La stérilisation de milieu de culture, est assurée par l'autoclave à une température de 120°C, et une pression de 1 bar pendant 20 minutes, ces deux conditions éliminent tous les agents de contamination (bactéries et champignons).

7.2. Préparation et stérilisation des explants :

7.2.1. Echantillonnage

Deux types d'échantillonnages du matériel végétal ont été testés :

- Des rameaux lignifiés provenant d'un vignoble de Tighennif
- Des rameaux herbacés issus de la serre d'élevage de l'ITAFV.

Les rameaux lignifiés et herbacés, sont prélevés de chaque cépage, puis mises en sachets en plastiques transparents. Les cépages sont identifiés (en précisant le nom commun, la rangée et le cep).

7.2.2 Au laboratoire

Les rameaux sont lavés à l'eau courante, défeuillés, puis coupés en portions de deux à trois bourgeons axillaires ensuite mises dans des béciers et lavés trois fois à l'eau de robinet contenant 1ml d'hypochlorite de sodium NaClO(0.7%) et 2gouttes de détergent pendant 5mn chacun, sont ensuite trempage à l'eau distillée pendant 30mn.

7.2.3 Stérilisation :

La stérilisation a été effectuée dans des conditions aseptiques, elle est réalisée sous hotte à flux laminaire horizontal. La désinfection des explants est faite selon plusieurs essais.

7.2.3.1 Essai de désinfection des rameaux lignifiés :

Les rameaux lignifiés provenant du champ des 04 cépages ont été désinfectés selon le protocole suivant (Tableau 5).

Tableau 5 : Désinfection des rameaux lignifiés.

1 ^{ere} essai	2 ^{eme} essai	3 ^{eme} essai	4 ^{eme} essai	5 ^{eme} essai	6 ^{eme} essai
Trempage dans l'alcool à 70° pendant quelques secondes					
Trempage dans l'hypochlorite de sodium	Trempage dans le chlorure de mercure 0,3%		Trempage dans le chlorure de mercure 0,5%		Trempage dans chlorure de mercure 0,7%
15 min	15 min	20 min	15 min	20 min	15min
Rinçage à l'eau distillée stérile 5 fois pendant 3 min chacun.					

7.2.3.2 Essai de désinfection des rameaux herbacés

Les rameaux herbacés ont été désinfectés comme suit (**Tableau 6**) :

Tableau 6 : Désinfection des rameaux herbacés.

1 ^{ère} essai	2 ^{ème} essai
Trempe dans l'alcool à 70° pendant quelques secondes	
Trempe dans l'hypochlorite de sodium	Trempe dans chlorure de mercure 0,7%
15 min	10 min
Rinçage à l'eau distillée stérile 5 fois pendant 3 min chacun.	

8. Mise en culture

8.1. Phase de l'établissement de la culture (phase d'initiation)

Les explants sont déposés sur du papier stérile, ils sont fragmentés en segments à un bourgeon axillaire chacun sous la hotte à flux laminaire horizontal. La base de l'explant est coupée à l'aide d'un scalpel stérile (**Figure 11**).



Figure 11 : Segments d'explants comportant un bourgeon.

Le repiquage des explants sur les milieux de culture est effectués à l'aide de pinces stérilisées et près de la flamme du bec bunsen, les fragments de tige à 1 bourgeon sont prélevés et repiqués à raison d'un explant par tube à essai et 15 tubes par traitement. Les explants sont repiqués de façon que la coupe soit en contact du milieu de culture tout en flambant l'ouverture du tube avant et après l'opération, la fermeture étanche du tube se fait avec du parafilm (**Figure 12**).



Figure 12: Mise en culture d'explant.

Les tubes sont placés dans la chambre de culture, dans les conditions de 16 heures de lumière et 8 heures d'obscurité et une température de $24 \pm 1^\circ\text{C}$. Les observations sont faites chaque deux jours.

8.2. Phase d'allongement

Après 20 jours de l'établissement de la culture des quatre cépages autochtones, les explants ayant débouffés sont retirés de leurs milieux de culture, débarrassés de la partie végétale sous hotte. Ils sont transférés sur des milieux frais d'allongement additionné de 1.5 mg/l BAP, 0.1 mg/l ANA et 0.1 de GA₃. Cette phase dure 40 jours.

9. Paramètres étudiés :

Les observations ont porté sur le suivi des explants notamment :

- Taux des contaminations exprimé en pourcentage (%).
- Taux de brunissements exprimé en pourcentage (%).
- Taux de débouffement exprimé en pourcentage (%).
- Cinétique de débouffement.
- Taux des pousses ayant survécus exprimé en pourcentage (%).

- Nombre moyen des pousses par explant.
- Nombre moyen des feuilles par explant.
- Longueur moyenne des pousses (cm).

10. Analyse statistique

Les résultats obtenus lors de deuxième phase sont traités statistiquement. Le logiciel choisi est « Statistica »ver.6, afin d'analyser tous les paramètres étudiés.

Pour le traitement de nos résultats, nous avons utilisé des méthodes statistiques à savoir :

- Analyse de la variance (ANOVA).
- Test de Newman et Keuls (pour classer les traitements en groupes Homogènes).

Afin de rechercher le milieu approprié pour l'établissement d'un protocole efficace à la régénération *in vitro*, nous avons testé les différentes phases de micropropagation de quatre cépages autochtones de vigne. Pour cela, nous avons suivi les étapes suivantes :

1. Désinfection :

Dans notre travail, nous avons établi un protocole expérimental de désinfection. Nous avons rencontré plusieurs difficultés, la plus importante est le problème de contamination causé par les agents infectieux qui entravent sérieusement la réussite des explants, la deuxième difficulté qu'on a eu est le brunissement des explants. **QUOIRIN, (1974)** indiquait qu'il s'agissait des principaux facteurs limitant la micropropagation surtout chez les plantes ligneuses.

Dans le but de rechercher la meilleure méthode de désinfection qui consiste à éliminer de l'explant les agents pathogènes externes (bactéries et champignon), les essais entrepris nous ont révélé les résultats suivants :

1.1 Désinfection des explants issus du champ :

Les résultats de la désinfection des explants de différents essais sont illustrés dans le tableau 7.

Tableau 7 : Désinfection des explants issus du champ.

Essais de désinfection	Nombre d'échantillons	Taux de contamination	Taux de brunissement
1 ^{ère} essai	125	90%	100%
2 ^{ème} essai	106	98,11%	1,89%
3 ^{ème} essai	98	97,96%	2,04%
4 ^{ème} essai	91	68,13%	31,87%
5 ^{ème} essai	106	61,32%	38,68%
6 ^{ème} essai	91	42,86%	38,88%

Nous remarquons que la désinfection avec l'hypochlorite de sodium à 7% pendant 15 min (1^{ère} essai) n'a pas permis de stériliser notre matériel végétal et elle a donné un taux de contamination et de brunissement respectivement de 90% et 100% (**Figure 13**).

Concernant l'utilisation de chlorure de mercure (2^{ème} au 6^{ème} essai), le taux le plus élevé de contamination a été enregistré avec la dose de chlorure mercurique à 0,3% pendant 15 et 20 minutes avec respectivement 98,11% et 97,96%, par contre le taux de brunissement a diminué en donnant successivement 1,89% et 2,04%. Alors que pour la dose de 0.5% pendant 15 et 20 minutes et la dose de 0,7% pendant 15 minutes, en registre les taux de contaminations plus ou moins réduits avec respectivement 68,13, 61,32 et 42,86 %. Cependant, le taux de brunissement était un peu élevé avec respectivement 31,87, 38,68 et 38,88%.

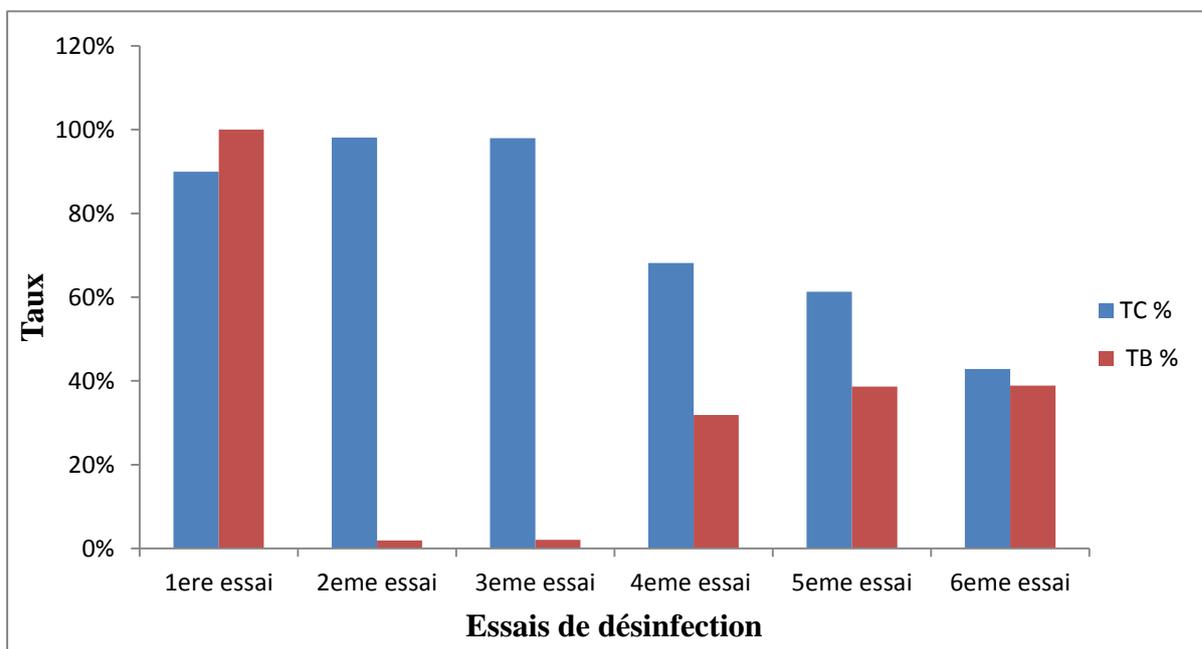


Figure 13 : Effet de la désinfection des explants du champ sur le taux de contamination (TC%) et de brunissement (TB%).

Vu les résultats de la désinfection du matériel prélevé du champ nous avons abandonné le prélèvement de cet origine et nous sommes dirigés vers le prélèvement herbacé (juvénile) du matériel végétal de la serre.

1.2 Désinfection des explants issus de la serre :

Les résultats concernant la désinfection des explants de la serre sont illustrés dans le tableau 8.

Tableau 8 : Désinfection des explants issus de la serre.

Essais de désinfection	Nombre d'échantillons	Taux de contamination	Taux de brunissement
1 ^{ère} essai	100	68%	80%
2 ^{ème} essai	125	13,54%	0%

La désinfection avec l'hypochlorite de sodium à 7% pendant 15 min dans le 1^{er} essai, donne un taux de contamination et de brunissement de 68 et 80%.

Le traitement par HgCl₂ à 0.7% pendant 10 min de ces explants dans le 2^{ème} essai, a montré des résultats efficaces de décontamination avec un taux de 13,54%, avec élimination totale du brunissement (0%) pour les explants prélevé de la serre (**Figure 14**). Nous avons retenu donc cette méthode la plus appropriée pour désinfecter le reste de matériel végétal pour les autres essais de micropropagation des explants juvéniles.

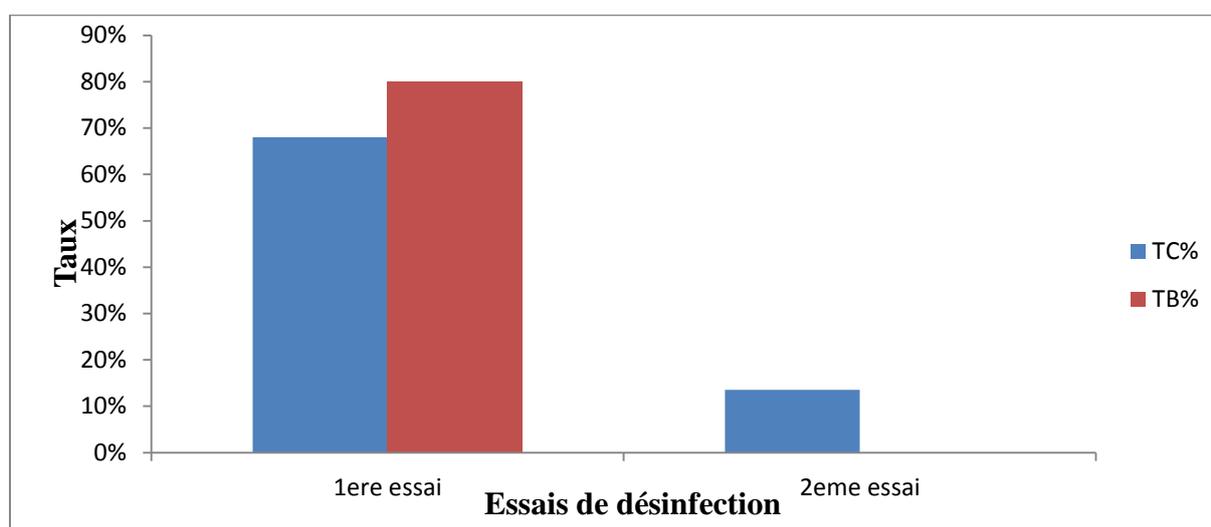


Figure 14: Effet de la désinfection des explants issus de la serre sur le taux de contamination (TC%) et de brunissement (TB%).

1.3 Discussion

La désinfection par l'hypochlorite de sodium des explants soit du champ ou de la serre, a manifesté un taux de brunissement supérieur.

D'après **MARGARA (1989)**, le brunissement de l'explant est dû à la sécrétion des composés phénoliques qui provoquent une inhibition de la croissance. **BOCCON-GIBOD (1989)**, signale que l'hypochlorite de sodium concernant les ions de sodium peuvent dans certains cas gêner la croissance, d'où le brunissement et le dessèchement des tissus mise en culture *in vitro*.

La désinfection du matériel végétal provenant du champ par le HgCl_2 a donné un taux de contamination très élevé pour la dose 0,3%, alors lorsqu'en augmentant la dose de 0,5% et 0,7%, les contaminations ont légèrement diminués. Pour ce désinfectant, l'augmentation du taux de brunissement est proportionnelle à l'augmentation de sa dose. Ceci peut être expliqué par la concentration et le temps de trempage dans le chlorure de mercure.

La désinfection des explants herbacés par le chlorure de mercure à 0,7% pendant 10 mn, a diminué le taux de contamination en a permis d'éliminer complètement le brunissement de ces explants.

Nous pouvons déduire que le chlorure de mercure a prouvé son efficacité de décontamination. Ces résultats sont confirmés par les travaux de **RUGINI (1984)** et **MARGARA (1989)**. De même, des résultats similaires sont obtenus chez l'olivier par **GRIGORIADOU et al., 2002**.

Les explants lignifiés (champs) étaient moins réactifs car ils manifestaient une réaction rapide de brunissement après leur mise en culture, en effet ces résultats corroborent avec ceux de **AIT-CHITT (1969)** qui a constaté que l'âge des tissus est l'une des causes du brunissement. Les tissus les plus jeunes brunissent moins que les tissus âgés lignifiés.

Il apparaît donc que les explants prélevés de la serre sur des tiges herbacées de l'année, cultivés en serre sont des explants qui présentent le moindre risque de contamination. Ces résultats sont en accord avec ceux de **DORION et al., 1987** qui signalent que les explants provenant d'un matériel végétal préparé en serre sont plus réactifs alors que des explants âgés en plein air sont inhibés par les fortes contaminations. De même (**KLUNGER, 1984**), a

utilisé un matériel végétal préparé, issu de la serre pour établir le meilleur protocole de désinfection pour parer à l'inconvénient des contaminations.

Nous avons confirmé que le prélèvement des explants sur les rameaux jeunes ou sur des tiges non encore lignifiées, diminue les infections et le taux de brunissement. Nos meilleurs résultats de désinfection sont obtenus avec ce type d'explant (juvénile). Selon **DAVIS, (1986)** et **SAADI, (1991)** les explants les plus jeunes à l'état juvénile semblent offrir le plus de possibilités de régénération.

Donc nous avons retenu ce type d'explants issus de la serre pour la suite de l'expérimentation.

Pour la nature des contaminations, nous avons constaté deux types :

- Origine bactérienne qui prend naissance autour de l'explant sous forme d'un anneau laiteux de couleur blanchâtre (**Figure 15A**).
- Origine fongique qui se présente par un développement mycélien de couleur blanchâtre parfois noir ou verdâtre (**Figure 15B**).

Apparition de nécroses dues à la sécrétions de phénols accélérant le dessèchement de l'explant surtout chez les végétaux ligneux (**Figure 15C**).

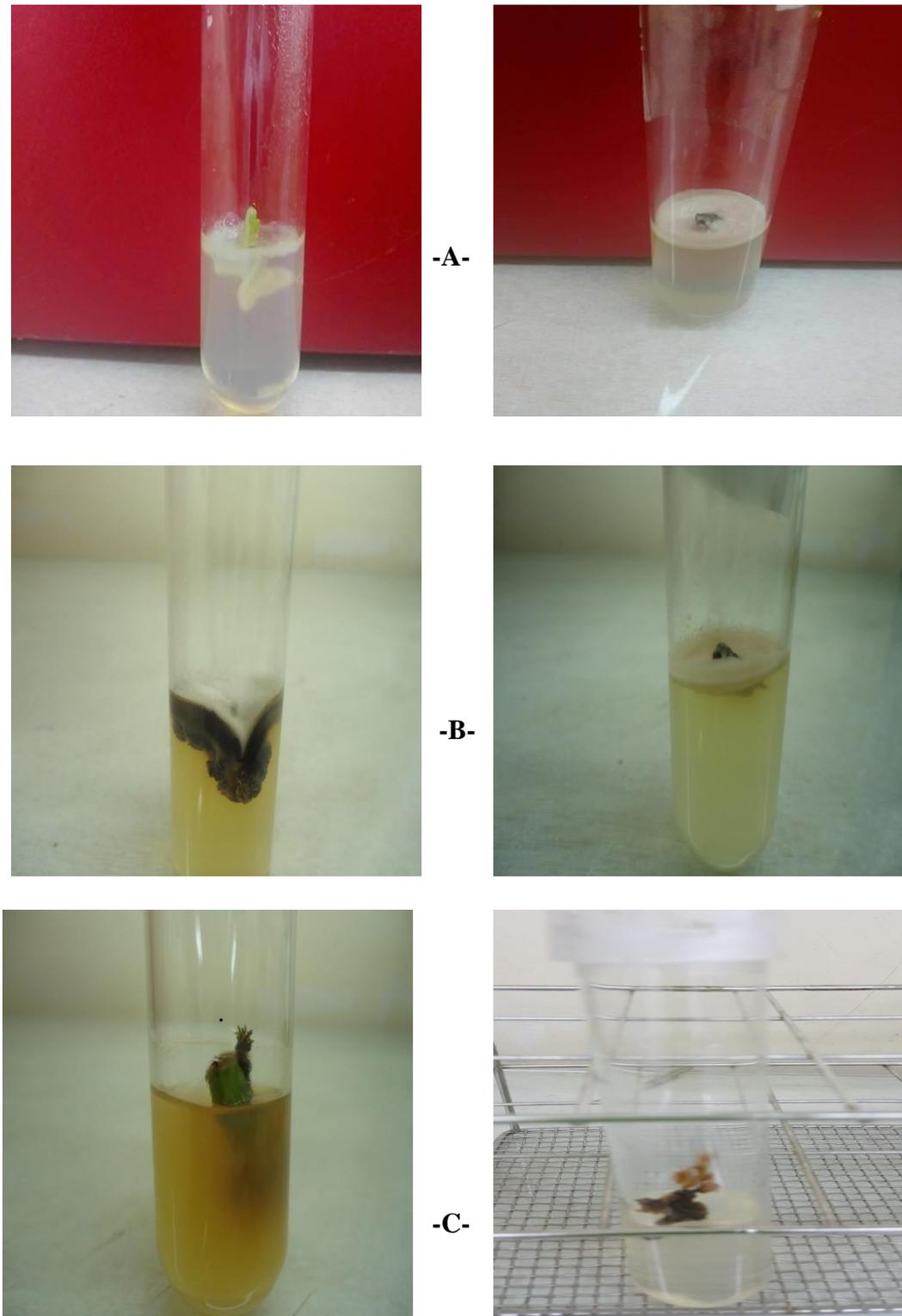


Figure 15: Contaminations et brunissement des explants.

A : contamination bactérienne.

B : contamination fongique.

C : sécrétion des phénols et dessèchement de l'explant.

2. Phase d'initiation des quatre cépages

La phase de mise en culture constitue la phase d'initiation pour l'établissement des cultures *in vitro*. Les explants de quatre cépages autochtones de vigne Aneb el Kabyle (NKB), Mokrani (M), Ferrana noir (FN) et Bouani (VBN), sont mis en culture pendant 20 jours dans quatre milieux à base de **Murashige et Skoog, 1962** (MS0, MS1, MS2, MS3), possédant la même balance hormonale et différents par la composition minérale des macroéléments. Les résultats révélés selon les paramètres étudiés sont les suivants :

2.1 Taux de débourrement total des explants (%)

Trois répétitions ont été réalisées à raison de 6 explants pour chacune, soit 18 explants par essai. Les résultats de débourrement relevés après 20 jours de culture sont illustrés dans le tableau 9.

Tableau 9 : Taux de débourrement de quatre cépages étudiés.

Cépages	Milieux	Nombre total d'explant	Taux de débourrement
Aneb el Kabyle	MS0	18	10%
	MS1	18	80%
	MS2	18	100%
	MS3	18	80%
Mokrani	MS0	18	11%
	MS1	18	100%
	MS2	18	90%
	MS3	18	90%
Bouani	MS0	18	0%
	MS1	18	75%
	MS2	18	90%
	MS3	18	70%
Ferrana noir	MS0	18	4%
	MS1	18	42%
	MS2	18	40%
	MS3	18	66%

Nous remarquons qu'il y'a une différence de débourrement entre les milieux dans le même cépage, chez Aneb el kabyle le milieu MS2 présente un taux de débourrement de 100% et sur le milieu MS3 le taux est de 80% (**Tableau 9**).

De même, nous avons remarqué que cette différence existe pour les mêmes milieux chez les cépages différents, comme pour le milieu MS2 chez les cépage Aneb el Kabyle, Mokrani, Bouani et Ferrana noir présente des taux respectivement de 100, 90, 90 et 40% .

Pour confirmer cette variation, nous avons analysé les résultats de débourrement obtenus pour ces quatre milieux testés et pour les quatre cépages étudiés. Les résultats d'analyse sont enregistrés dans la figure 16 et le tableau 10 suivants :

Tableau 10: Analyse de variance du taux de débourrement.

	SC	Degré. de	MC	F	p
Cépages	7975,5	3	2658,5	924,70	0,00
milieux	45145,5	3	15048,5	5234,26	0,00
Cépages/milieux	5118,0	9	568,7	197,80	0,00

L'analyse de variance ANOVA a montré un effet hautement significatif ($P=0,00^*$, Tableau 10) de l'interaction (cépages /milieux) sur le taux de débourrement. On peut conclure que le taux de débourrement diffère en fonction du cépage et du milieu.

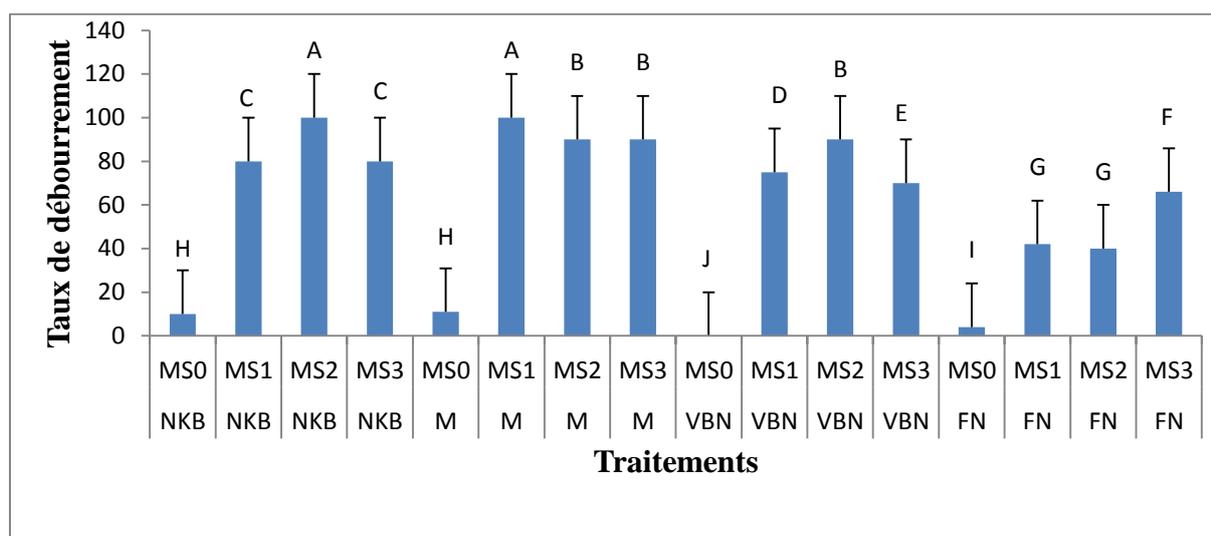


Figure 16: Effet de l'interaction (cépages /milieux) sur le taux de débourrement.

Le test NEWMAN et KEULS (au seuil 5%) pour ce paramètre a permis de classer les différents traitements en 10 groupes homogènes : A, B, C, D, E, F, G, H, I et J.

Les résultats montrent que les traitements (M /MS1) et (NKB /MS2) ont enregistré un taux de débourrement élevé avec 100 % d'explants débourrés pour chacun, suivi de (VBN /MS2), (M /MS2) et (M /MS3) avec 90%, par contre les traitements (FN /MS3), (FN /MS1) et (FN /MS2) ont montré des taux plus ou moins faibles avec respectivement 66, 42 et 40%. En comparant les résultats aux traitements témoins (cépages /MS0) dont toutes les interactions cépage avec milieu sans hormone (M /MS0), (NKB /MS0), (FN /MS0) et (VBN /MS0) ont donné les taux de débourrement le plus faible voir nul avec respectivement 11, 10, 4 et 0%.

2.2 Cinétique de débourrement:

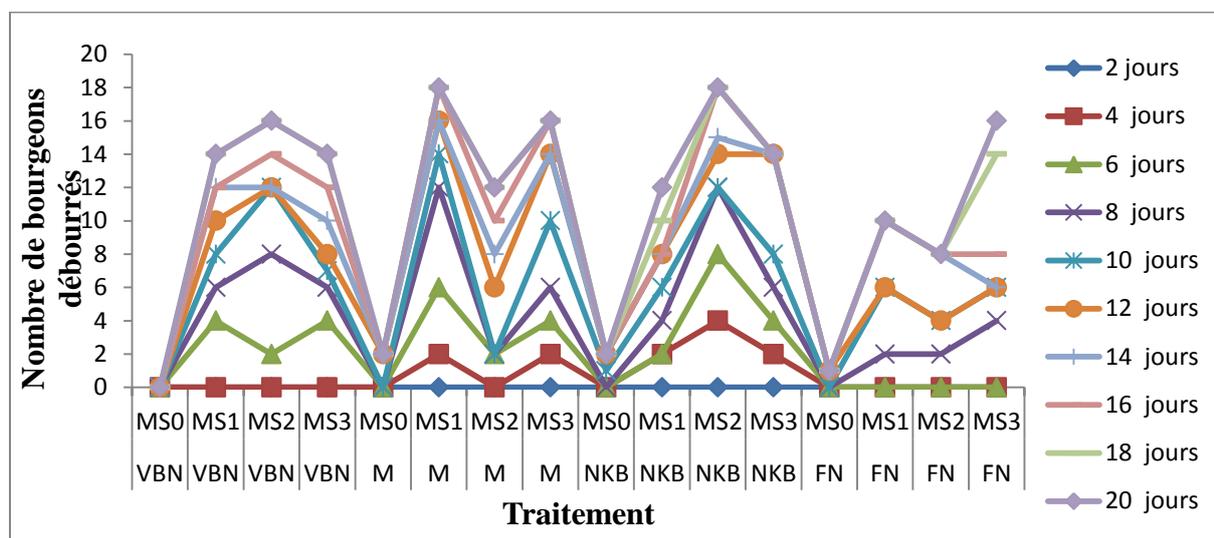


Figure 17: Cinétique de débourrements de quatre cépages autochtones de vigne (NKB, M, VBN et FN).

La phase d'initiation a duré 20 jours. Des observations concernant le nombre d'explants débourrés par cépage et par milieu ont été relevées tous les deux jours. Nous avons constaté au cours de cette phase que le débourrement axillaire varie en fonction du milieu de culture et du cépage.

Chez le cépage Aneb el Kabyle le gonflement des bourgeons axillaires a été observé chez tous les milieux d'une manière précoce (3^{ème} jour) comparé au milieu témoin (MS0 au

10^{ème} jour). A partir du 6^{ème} jour, on a commencé à enregistrer les premiers éclatements des bourgeons pour les trois milieux testés.

Nos résultats ont montré aussi que chez le cépage Mokrani, le débourrement a démarré après le 4^{ème} jour pour les milieux MS1 et MS3 et le 6^{ème} jour pour le MS2. Le débourrement n'a commencé qu'après le 11^{ème} jour pour le milieu sans hormones (MS0).

Cependant, le cépage Bouani a commencé son premier gonflement des bourgeons dès le 4^{ème} jour et ce chez les milieux additionnés d'hormones de croissance MS1, MS2 et MS3. A partir du 8^{ème} jour, on a assisté à l'apparition des premiers éclatements des bourgeons et aucun débourrement marqué pour le milieu témoin (MS0).

Alors que chez le cépage Ferrana noir, le débourrement n'a démarré qu'après le 8^{ème} jour pour les milieux MS1, MS2 et MS3, Comparant aux explants cultivés dans le milieu dépourvu d'hormones qui n'ont commencé à débourrer qu'après le 12 jours.

2.3 Effet génotype sur le débourrement

Malgré que toutes les microboutures aient été mises en culture en même temps, des différences de débourrement entre les cépages et les milieux, ont été observées.

D'après nos observations quotidiennes (**Figure 17**), nous avons remarqué que sur le même milieu MS1 les deux cépages Aneb el kabyle et Mokrani se sont développés rapidement (16 jours), en présentant un débourrement plus important respectivement avec 100 et 80%, et le cépage Bouani avec un taux de 75% après 20 jour, comparant au Ferrana noire qui a révélé un développement peu important après 20 jours avec 42%.

Nous distinguons donc une précocité de débourrement des deux premiers cépages Aneb el Kabyle et Mokrani par rapport aux deux autres cépages Bouani et Ferrana noir qui se sont montré un peu tardifs pour ce paramètre.

2.4 Taux de pousses ayant survécus

Après 20 jours de mise en culture, nous avons relevé le nombre d'explants ayant survécus et non contaminés évalué en pourcentage. Les résultats de ce paramètre sont enregistrés dans le tableau suivant :

Tableau 11 : taux de pousses ayant survécus des quatre cépages étudiés.

Cépages \ Milieux	Aneb el Kabyle	Mokrani	Bouani	Ferrana noir
MS0	10%	11,11%	0%	4,16%
MS1	62,5%	72,20%	50%	41,66%
MS2	66,66%	62,50%	70%	40%
MS3	50%	61,10%	55%	62,50%

Nous remarquons qu'il y a une différence pour le taux de pousses ayant survécus entre les quatre cépages étudiés (**Tableau 11**).

L'analyse de la variance des résultats ANOVA obtenus pour le taux de pousses survécus a indiqué un effet très hautement significatif ($P= 0,00^*$) du l'interaction (cépages/milieu). (**Tableau 12**)

Tableau 12 : Tests Univariés de Significativité pour Taux de pousses survécus

	SC	Degré. de	MC	F	p
Cépage	1501,40	3	500,47	42,219	0,000000
Milieu	24421,56	3	8140,52	686,722	0,000000
Cépage*Milieu	2639,19	9	293,24	24,738	0,000000

Pour mieux comprendre cette différence nous avons analysé ceux résultats par analyse descriptive selon le test de NEWMAN et KEULS au seuil de risque de 5%, ces résultats sont représentés dans la figure 18.

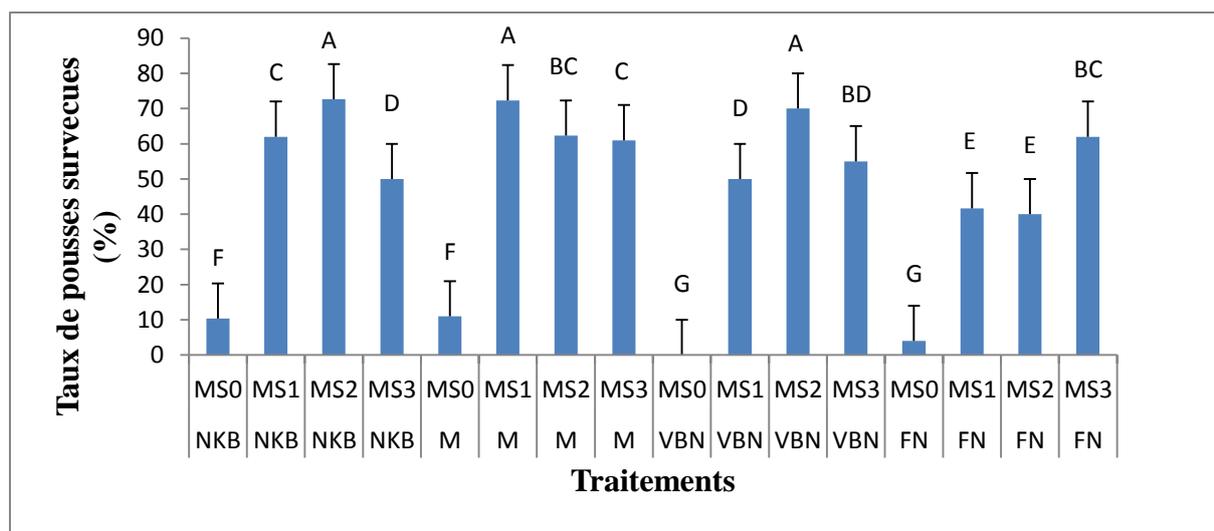


Figure 18: Effet de l'interaction (cépage /milieu) sur le taux de pousses.

Le test de NEWMAN et KEULS a permis de classer ces résultats en six groupes homogènes représentés en ordre croissant A, C, D, E, F, G, et deux groupes chevauchants BC et BD. Le groupe A représenté par les traitements (NKB /MS2, M /MS1 et VBN /MS2) qui ont enregistré des meilleurs taux avec respectivement 72,66, 72,33 et 70% comparant au témoin. Le groupe BC comprend les traitements (M /MS2 et FN /MS3) avec respectivement 62,33 et 62%. Le groupe C représentant les traitements (NKB /MS1 et M /MS3) avec 62 et 61% respectivement. Le groupe BD s'individualise par le traitement (VBN /MS3) avec un taux de 55%. Le groupe D représenté par les traitements (VBN /MS1) et (NKB /MS3) avec un taux de 50% pour chacun. Le groupe E comprenant les traitements (FN /MS1) et (FN /MS2) avec respectivement ayant 41,66 et 40%. Les deux derniers groupes F et G ont donné les plus faibles taux de pousses survécus, représentés par les traitements de l'interaction de quatre cépages étudiés (M, NKB, FN et VBN) avec le milieu sans hormones avec respectivement les taux de 11, 10,33, 4 et 0%.

2.5 Discussion

Les résultats obtenus lors de cette phase nous ont permis de mieux connaître l'effet de différents milieux sur le débourrement des explants de quatre cépages étudiés : Aneb el kabyle, Mokrani, Bouani et Ferrana noir. En effet, à travers cette étude, nous déduisons la supériorité des deux milieux (MS1 et MS2), concernant le paramètre de débourrement. Ces résultats confirment ceux de plusieurs auteurs (**LEVA et al., 1992, COZZ et al., 1997, ETSE et al., 2011**) qui ont montré que le succès de la culture *in vitro* d'une espèce végétale est influencé par plusieurs facteurs dont la composition minérale du milieu de culture.

En général, les milieux MS1 et MS2 sont riches en nitrates, se révèlent être plus favorables au débourrement des bourgeons avec un taux maximal de 100%, par contre le milieu MS3 moins riche en nitrates a donné un débourrement moins important. Ces résultats confirment ceux de **PITEKELABOU et al., (2013)**, qui ont montré que *Nauclea latifolia* qui est une espèce ligneuse s'est bien développée sur le milieu Murashige et Skoog riche en nitrates.

Les milieux testés sont différents essentiellement par leur teneur en potassium (K), en ammonium (NH_4^+) et en nitrate (NO_3^-) qui selon **BOCCON-GIBOD (1980)** ont des influences prépondérantes sur la croissance et le débourrement des explants.

Le milieu témoin (MS0) dépourvu d'hormones, a présenté un taux de débourrement faible. Ceci montre l'importance de l'apport d'hormones comme utilisé dans nos essais (BAP additionnée de l'ANA) sur le débourrement de bourgeons. Ces résultats sont similaires à ceux de **LININGTON, (1991)** qui a montré que la BAP était la cytokinine qui accroissait le débourrement et la multiplication des différentes espèces de *Shorea*. Par contre, nos résultats ne sont pas en accord avec ceux de **BEDDEK, (2009)** qui a obtenu un taux de débourrement de 86% sur *Olea europea L.* sur milieu sans apport d'hormones.

La différence dans la vitesse de débourrement entre les quatre cépages étudiés montre que les deux cépages Aneb el Kabyle et Mokrani sont plus réactifs que Ferrana noir et Bouani. Ceci peut être lié au génotype d'où l'effet génotypique (**CAI et BUTLER, 1990; DEVI et STICKLEN, 2001**) ont également souligné que la régénération par micropropagation dépend du génotype. Ce résultat est confirmé aussi par (**DEVI ET AL., 2000, SRIVASTAV et KOTHARI 2002**) qui signalent une relation étroite entre les

génotypes et la réponse *in vitro*. **CHLYAH et al., (2001)** rapporte aussi que la réponse sur la régénération des plantes *in vitro* diffère selon le génotype.

De même, **VASIL et VASIL, (1986)** ont suggéré que la réponse différentielle des génotypes peut être due à une expression différentielle qui, à son tour, dépend de la répartition spatiale et temporelle, de leurs stades physiologiques et de développement.

Le retard de débourrement des bourgeons axillaires pourrait s'expliquer par le temps nécessaire pour établir l'équilibre des substances internes engendré par l'absence du bourgeon terminal (**STAFSTROM, 2000**).

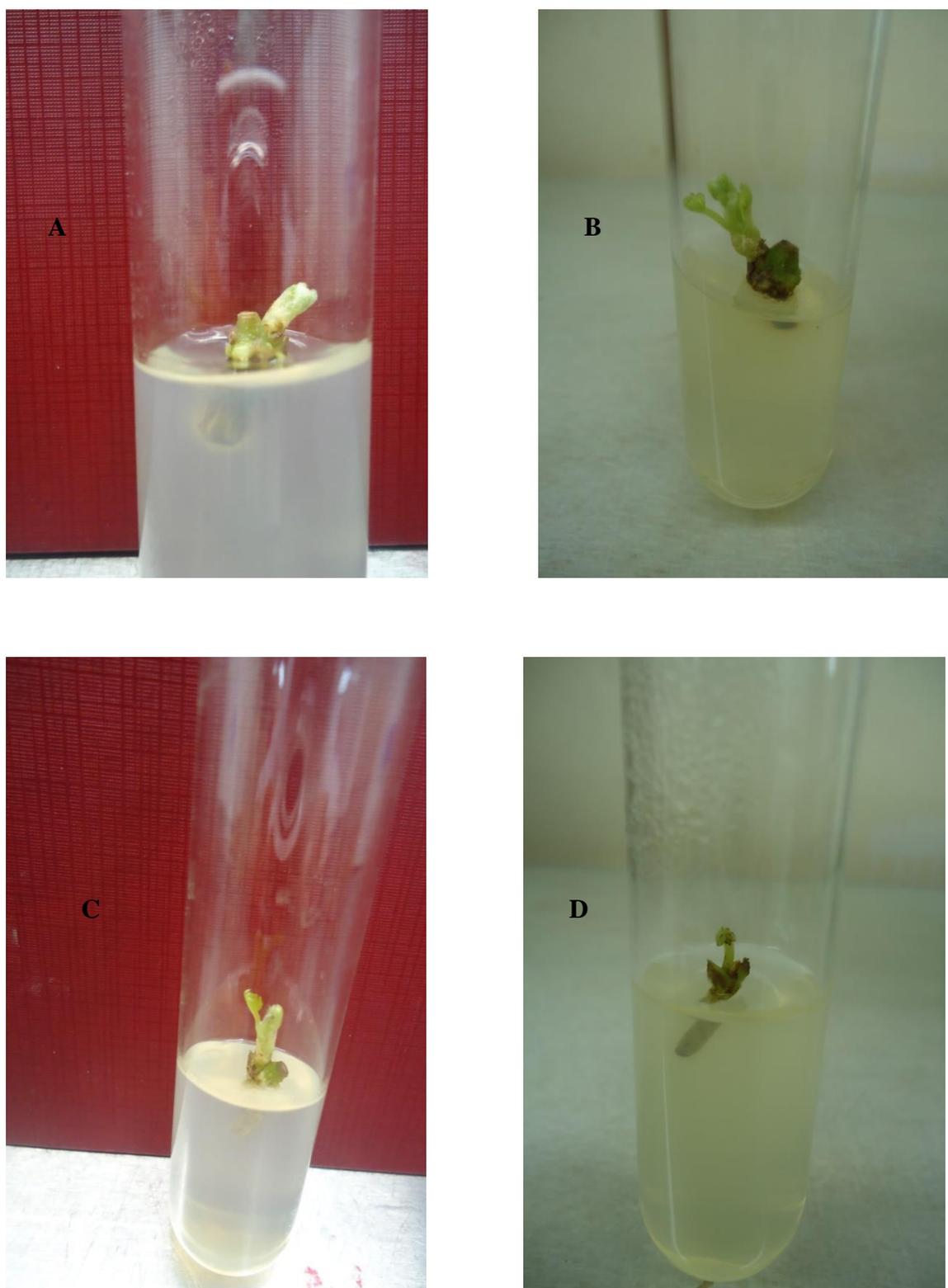


Figure 19: Débourrement des quatre cépages après 10 jours de mise en culture.

A : Bouani. **B :** Aneb el kabyle. **C :** Mokrani. **D :** Ferrana noir.

3. Phase de multiplication et d'allongements :

Après 20 jours dans le milieu d'établissement de la culture, les explants débouffés ont été transférés sur un milieu de multiplication, de même composition minérale que les précédents mais additionnés de 1,5 mg BAP, 0,1 mg ANA et 0.1mg GA₃. Une autre subculture a été réalisée sur le même milieu considéré comme milieu d'allongement, afin de favoriser un bon allongement des pousses ainsi qu'un auto-enracinement. Cette phase a duré au total 40 jours.

Dans cette phase nous avons évalué les paramètres liés directement à l'élongation comme le nombre moyen de pousses par explant, le nombre moyen de feuilles et la longueur moyenne de pousses.

3.1 Nombre moyen de pousses par explants

Pour le nombre moyen de pousses par explant, les résultats obtenus diffèrent d'un traitement à un autre qui varie de 0,1 à 1,9 pousses.

L'analyse de la variance ANOVA montre un effet très hautement significatif ($P=0,00^*$, Tableau 13) de l'interaction (cépage /milieu) sur ce paramètre.

Tableau 13: Nombre moyens des pousses par explants.

	SC	Degré. de	MC	F	p
Cépage	2,3502	3	0,7834	7,007	0,000198
milieu	32,0778	3	10,6926	95,631	0,000000
Cépage*milieu	3,7330	9	0,4148	3,710	0,000330

L'analyse descriptive selon le test de NEWMAN et KEULS au seuil de risque de 5%, a donné les résultats représentés par la figure 20 :

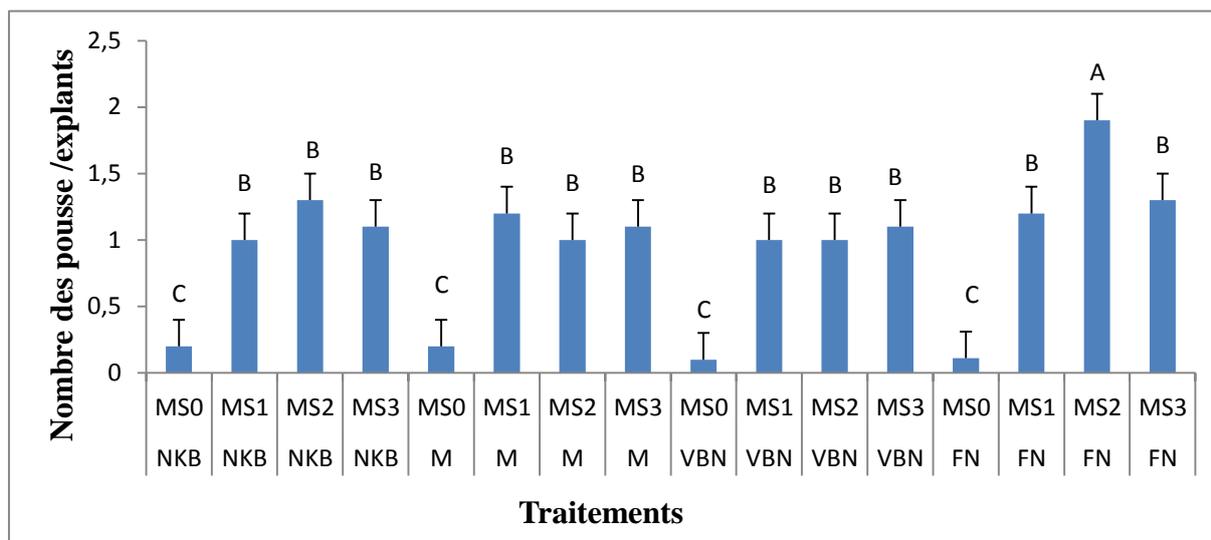


Figure 20 : Interaction (cépage / milieu) sur le nombre moyen de pousses par explant.

Le meilleur résultat a été enregistré chez le traitement (FN /MS2) avec 1,9 contre 1,2 pousse pour l'interaction (FN /MS1). Les traitements (NKB /MS2) et (NKB /MS1) ont donné respectivement 1,3 et 1 pousse. Pour le cépage Mokrani où les traitements (M /MS1) et (M /MS2) ont également donné des taux rapprochés avec respectivement 1,2 et 1. Le traitement (VBN /MS3) a donné 1,1 de pousses contre 1 pousse pour le traitement (VBN /MS1). Tandis que le milieu MS0 (témoin) a donné seulement en moyenne 0,2 pousse pour les traitements (NKB /MS0) et (M /MS0) et 0,1 pousse en moyenne pour les traitements (VBN /MS0) et (FN /MS0).

Le test de NEWMAN et KEULS a permis de classer les traitements en trois groupes homogènes distincts :

- **Groupe A** : s'individualise par le traitement de l'interaction (FN /MS2) en enregistrant le meilleur nombre moyen de pousse avec en moyenne 1,9.
- **Groupe B** : englobant les traitements (NKB /MS2) et (FN /MS3) avec une moyenne de 1,3, et les traitements (FN /MS1) et (M /MS1) avec un nombre moyen de pousses de 1,2, suivi des traitements (NKB /MS3), (M /MS3) et (VBN /MS3) avec une moyenne de 1,1, en fin les traitements (VBN /MS2), (VBN /MS1), (M /MS2) et (NKB /MS1) avec un nombre moyen de 1 pousse.
- **Groupe C** : comprend tous les traitements de l'interaction de quatre cépages étudiés avec le milieu dépourvu d'hormones (témoin) (M /MS0, NKB /MS0) et (FN /MS0,

VBN /MS0) en enregistrant les plus faibles nombre moyen de pousses respectivement de 0,2 et 0,1.

3.2 Nombre moyens des feuilles de quatre cépages étudiés

L'ANOVA n'a révélé aucun effet significatif d'interaction (cépage /milieu) ($p=0,07$, **Tableau 15. Annexe2**) au seuil de 5%, sur le nombre moyen de feuilles. Les résultats de l'interaction sont enregistrés dans la figure suivante :

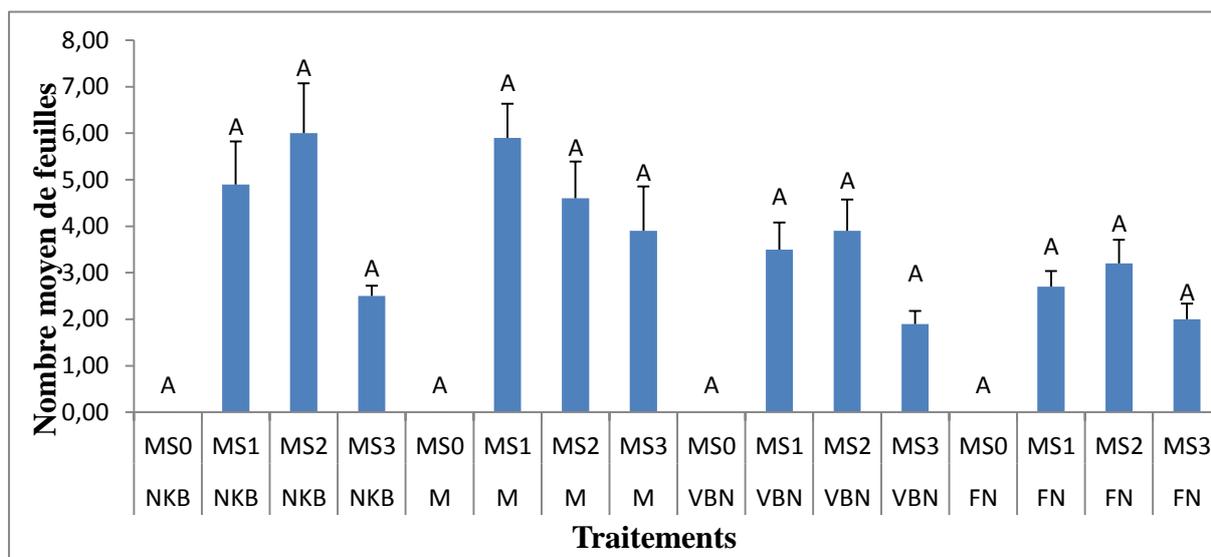


Figure 21 : Effet de l'interaction (milieu /cépage) sur le nombre moyen de feuilles.

Selon le test de NEWMAN et KEULS tous les traitements appartiennent au même groupe A. (**Figure 21**)

En étudiant l'effet de chaque facteur séparément sur le nombre moyen de feuilles, l'ANOVA a montré un effet très hautement significatif ($P=0,00^*$).

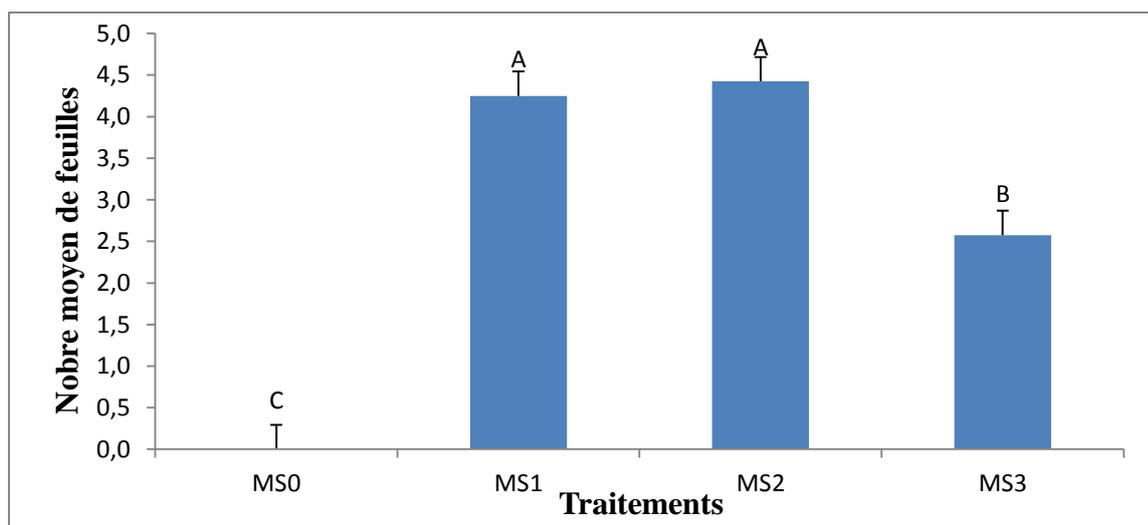


Figure 22 : Effet du milieu sur le nombre moyen de feuilles.

Les résultats concernant le facteur milieu montrent une légère différence en nombre moyen de feuilles entre les quatre milieux étudiés (**Figure 22**). En effet, le test de NEWMAN et KEULS a permis de classer les résultats en trois groupes homogènes distincts. Les meilleurs résultats sont enregistrés par le groupe A regroupant les milieux MS2 et MS1 avec une moyenne respective de 4,42 et 4,25 suivi par le milieu MS3 (2,57) représentant le groupe B, alors que le groupe C comprend le milieu témoin (MS0) qui n'a enregistré aucune formation de feuilles.

Pour l'effet des cépages, ces derniers ont réagi différemment, confirmé par l'analyse descriptive (**Figure 23**).

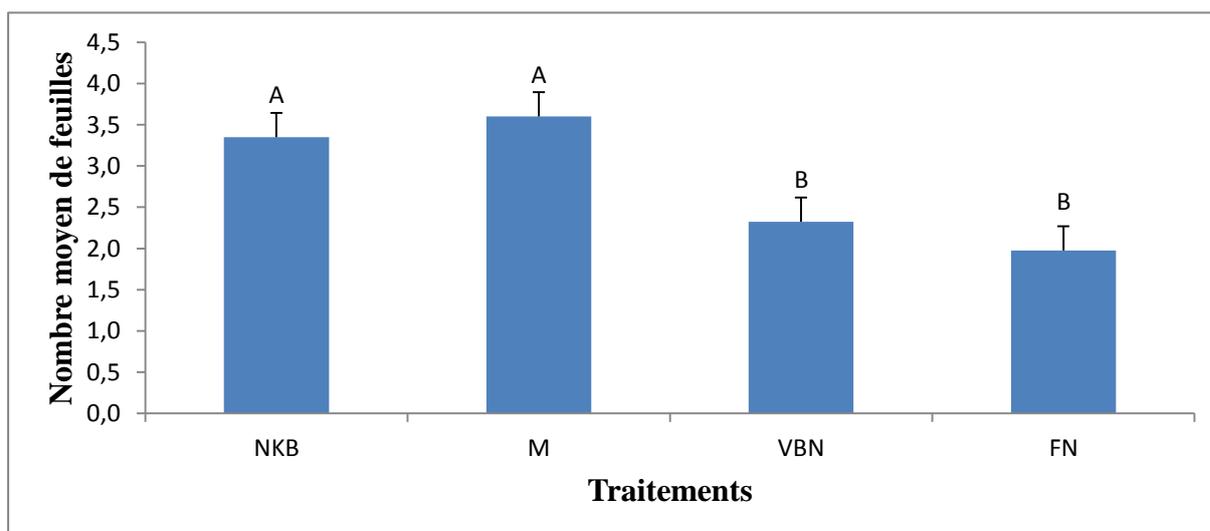


Figure 23 : Effet du cépage sur le nombre moyen de feuilles.

En effet, le test de NEWMAN et KEULS révèle que les cépages se répartissent en deux groupes homogènes distincts (**Tableau 16. Annexe2**), dont le groupe A comprenant les cépages Mokrani et Aneb el Kabyle qui se sont révélés les meilleurs avec une moyenne respective de 3,6 et 3,35 feuilles, comparant au groupe B regroupant les deux cépages Bouani et Ferrana noir où ont enregistré des moyennes respectives de 2.32 et 1,97 feuilles.

3.3 Longueur moyenne des pousses (L1) :

Afin de provoquer l'élongation des pousses des vitro plants de quatre cépages autochtones de vigne étudiés, une subculture de 20 jours a été réalisée sur le milieu multiplication. A la fin de cette phase nous avons mesuré la longueur (L1) de ces pousses issues *in vitro*.

L'analyse de la variance ANOVA a révélé des effets significatifs ($P=0.0061$. **Tableau 17. Annexe2**) de l'interaction (cépage /milieu) sur la longueur moyenne (L1) des pousses.

Les résultats montrent que les moyennes obtenues varient de 0,00 à 2.21 cm. Le traitement (M /MS1) a enregistré la valeur la plus élevée (2,21 cm) tandis que le traitement (FN /MS0) n'a enregistré aucune moyenne (0,00 cm).

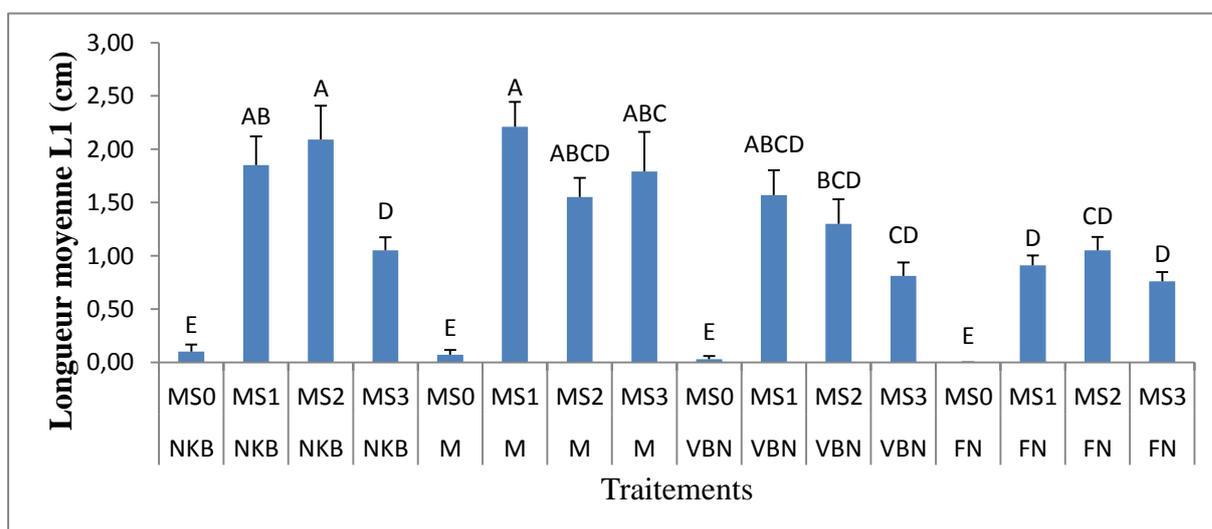


Figure 24: Effet de l'interaction (cépage /milieu) sur la longueur moyenne de pousses L1.

Le test NEWMAN et KEULS nous a permis de dégager trois groupes homogènes distincts et cinq groupes chevauchants (**Figure 24**):

- **Groupe A** : comprenant les traitements (NKB /MS2) et (M /MS1) avec une moyenne respective de 2,09 et 2,21 cm. Ce groupe se révèle le meilleur longueur moyenne des pousses.
- **Groupe AB** : s'individualise avec un seul traitement (NKB /MS1) avec une moyenne de 1,85 cm.
- **Groupe ABC** : comprenant le traitement (M /MS3) avec une moyenne de 1,79 cm.
- **Groupe ABCD** : regroupant les traitements (M /MS2) et (VBN /MS1) avec une moyenne respective de 1,55 et 1,57 cm.
- **Groupe BCD** : contenant le traitement (VBN /MS2) avec une moyenne de 1,3 cm.
- **Groupe CD** : comprenant les traitements (VBN /MS3) et (FN /MS2) avec une longueur moyenne respective de 0,81 et 1,05 cm.
- **Groupe D** : constitué des traitements (FN /MS1), (FN /MS3) et (NKB /MS3) avec une moyenne respectivement de 0,91, 0,76 et 1,05 cm.
- **Groupe E** : comprend tous les traitements de l'interaction de quatre cépages autochtones étudiés avec le milieu sans apport d'hormones (MS0 /NKB), (MS0 /M), (MS0 /VBN) et (MS0 /FN) avec une moyenne de longueur très faible à nulle allant de 0,1 ; 0,07 ; 0,03 et 0,00 cm.

3.4 Longueur moyenne des pousses (L2)

Les vitro plants retirés du milieu de multiplication ont été transplantés sur un milieu d'allongement de même composition minérale et hormonale afin de promouvoir d'avantage l'élongation des pousses tout en évitant le phénomène de chute de feuilles suite à l'épuisement des composants du milieu de culture. Aussi, cette subculture permet aux vitro plants d'induire l'auto enracinement qui va favoriser de plus la croissance en longueur. Des mesures de la longueur moyenne de pousses (L2) ont été relevées après 20 jours.

L'analyse de la variance ANOVA montre que l'interaction (cépage /milieu) est significative ($P=0.0063$, **Tableau 18. Annexe2**) sur la longueur moyenne (L2) de pousses.

Les résultats montrent une différence dans la moyenne entre les quatre cépages étudiés sont illustrés dans la figure 25 :

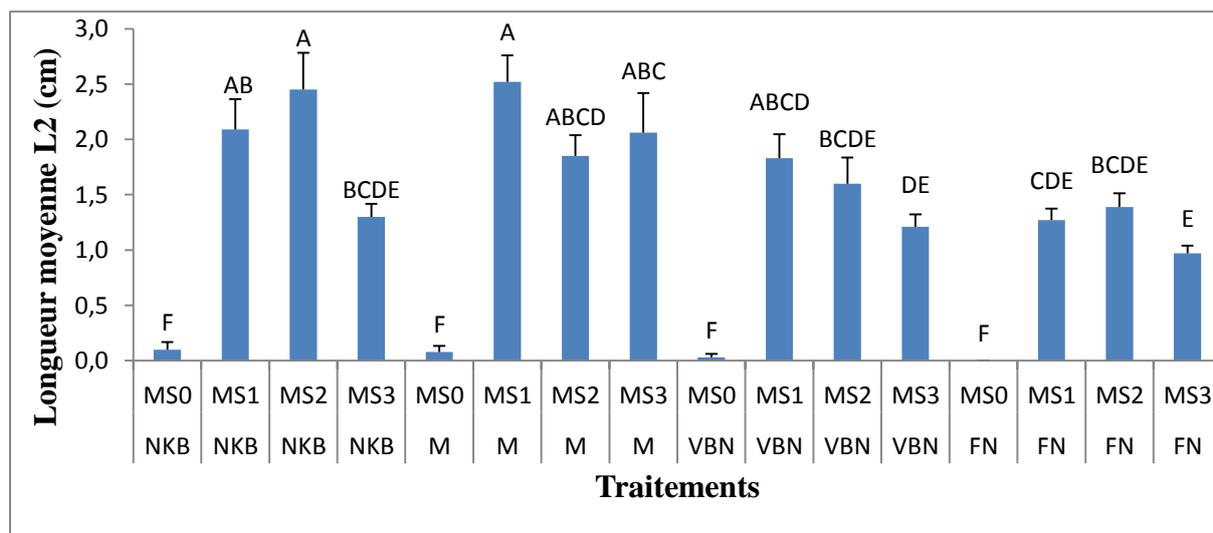


Figure 25 : Effet de l'interaction (cépage / milieu) sur la longueur moyenne (L2) de pousses.

L'analyse descriptive a mieux identifié cette différence, en effet, le test de NEWMAN et KEULS a classé les différents traitements en trois groupes homogènes distincts et six groupes chevauchants :

- **Groupe A** : englobe les interactions des traitements (NKB /MS2) et (M /MS1) avec une moyenne supérieure respective de 2,45 et 2,52 cm, comparé aux témoins.
- **Groupe AB**: comporte uniquement le traitement (NKB /MS1) avec une moyenne de 2,09 cm.
- **Groupe ABC**: s'individualise par le traitement (M /MS3) avec une moyenne de 2,06cm.
- **Groupe ABCD** : constitué des traitements (M /MS2) et le (VBN /MS1) avec une moyenne respective de 1,85 et 1,83 cm.
- **Groupe BCDE** : comporte les traitements (NKB /MS3), (VBN /MS2) et (FN /MS2) avec une moyenne respective de 1,3, 1,6 et 1,39 cm.
- **Groupe CDE** : contient le traitement (FN/MS1) avec une moyenne de 1,27 cm.
- **Groupe DE** : constitué du traitement (VBN /MS3) avec une moyenne de 1,21cm.
- **Groupe E** : renferme le traitement (FN /MS3) avec une moyenne de 0,97cm.
- **Groupe F**: regroupant toutes les interactions de quatre cépages étudiés avec le milieu dépourvu d'hormones (MS0 /NKB), (MS0 /M), (MS0 /VBN) et (MS0 /FN) où nous enregistrons les plus faibles longueurs moyennes et même nulles avec respectivement 0.1 ; 0,08 ; 0.03 et 0,00 cm.

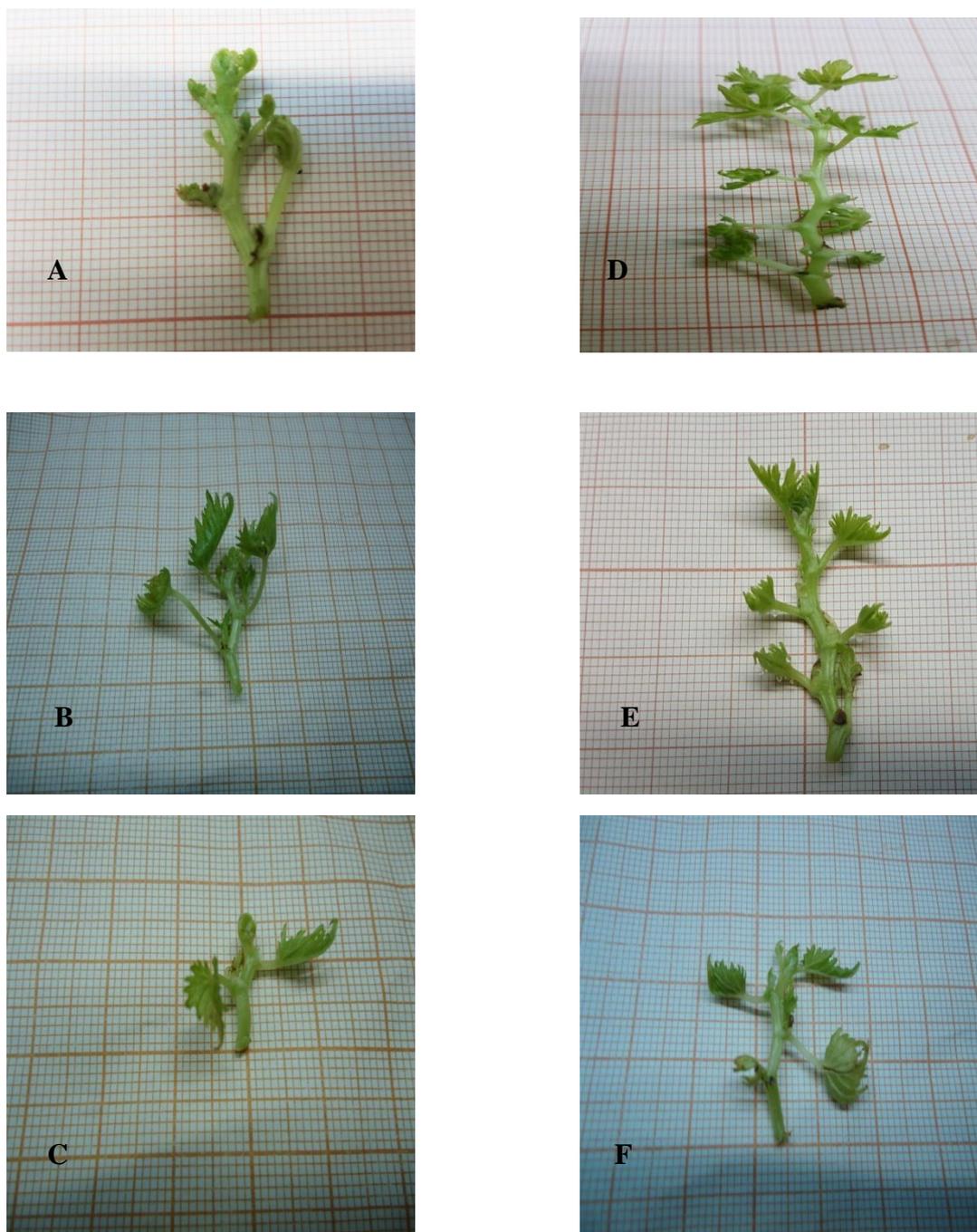


Figure 26: Elongation des vitro-plants de cépage Aneb el Kabyle.

Après 40 jours

A : MS2

B : MS1

C : MS3

Après 60 jours

D : MS2

E : MS1

F : MS3

MS1 : (MS Murashige et Skoog).

MS2 : (MS modifié en KH_2PO_4).

MS3 : (MS modifié en NH_4NH_3).

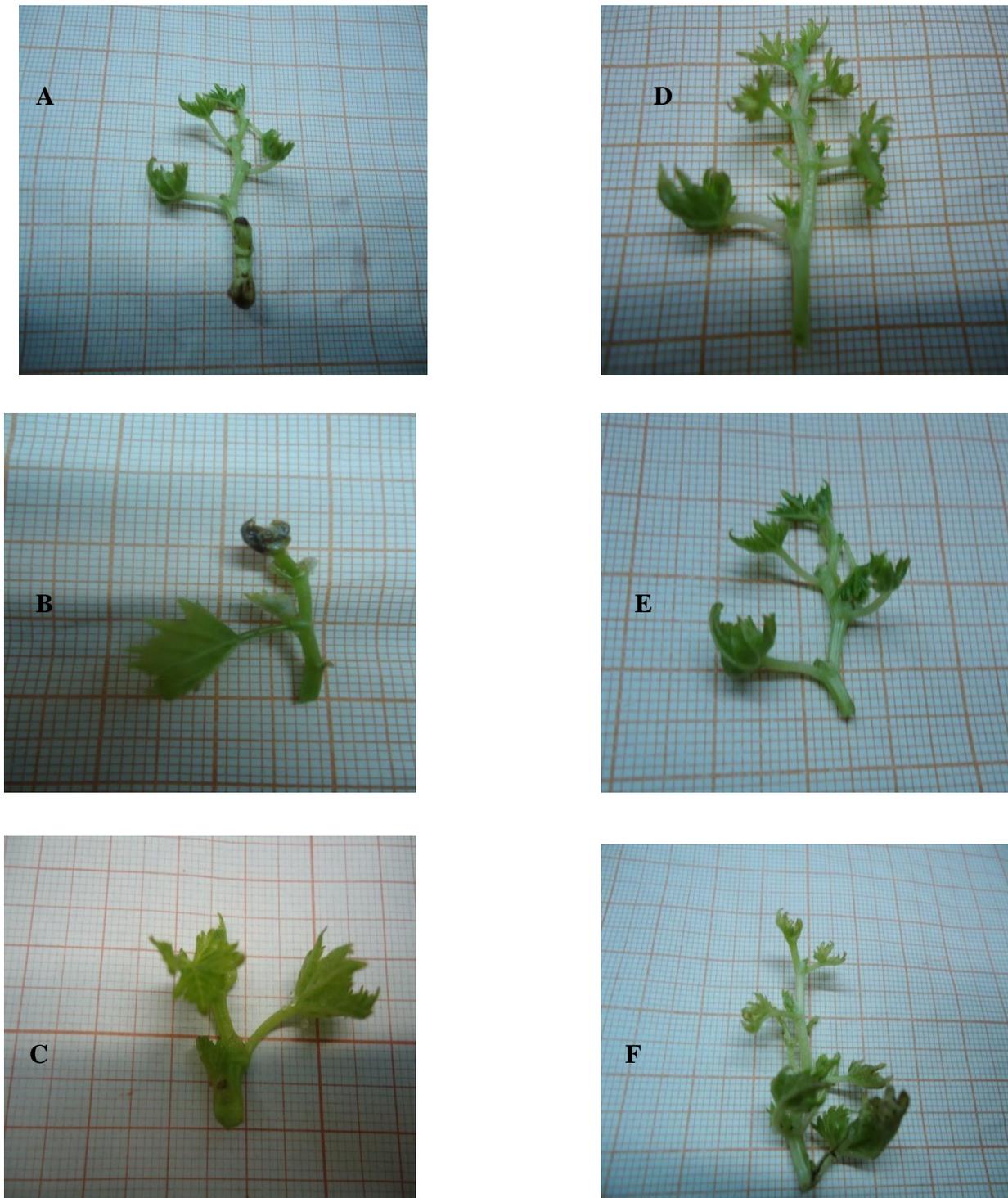


Figure 27 : Elongation des vitro-plants de cépage Mokrani.

Après 40 jours

A : MS1

B : MS2

Après 60 jours

D : MS1

E : MS2

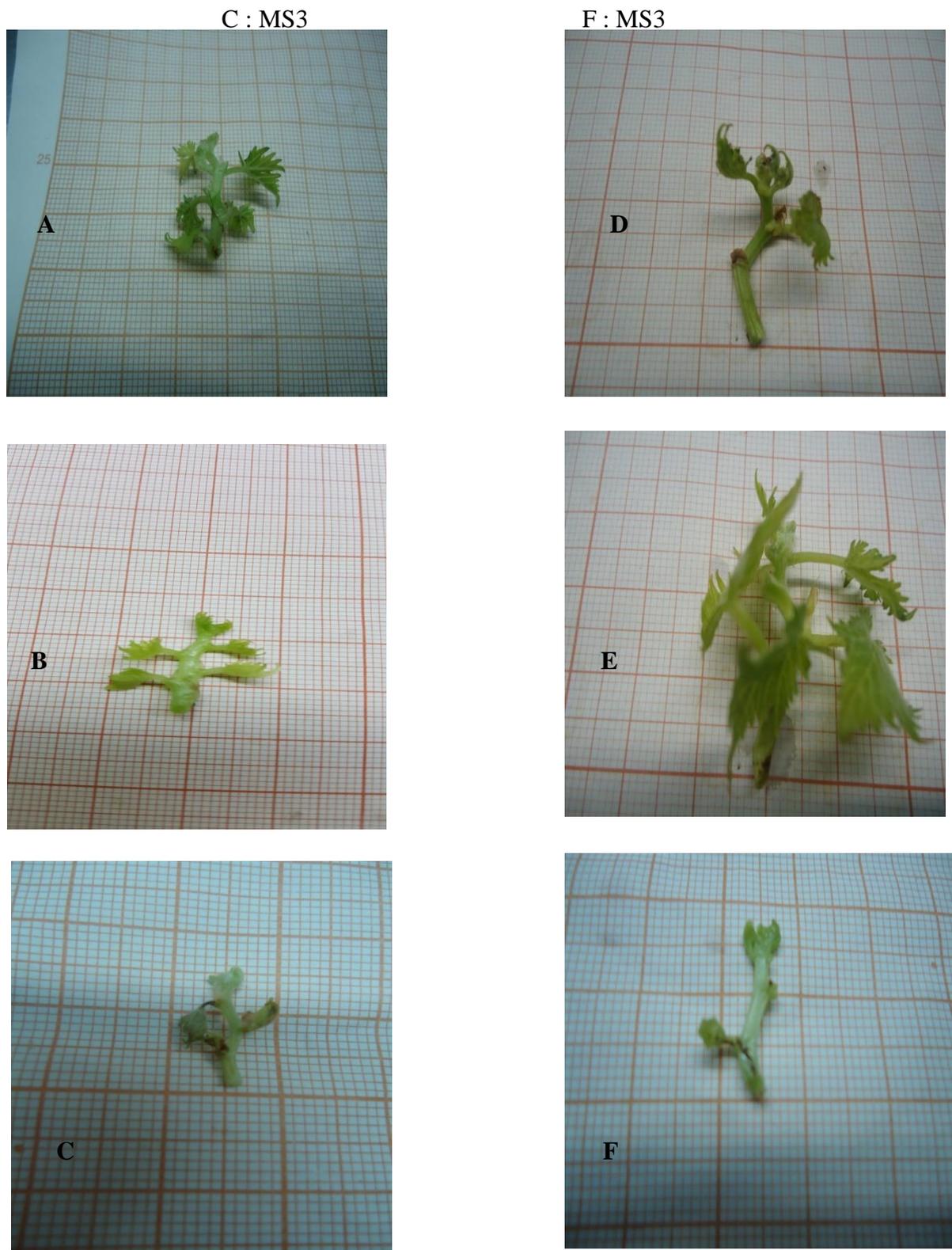


Figure 28: L'élongation des vitro-plants de cépage Bouani.

Après 40 jours

A : MS2

B : MS1

Après 60 jours

D : MS2

E : MS1

C : MS3

F : MS3

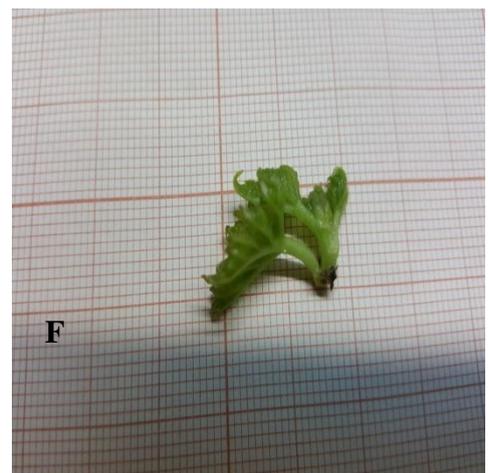
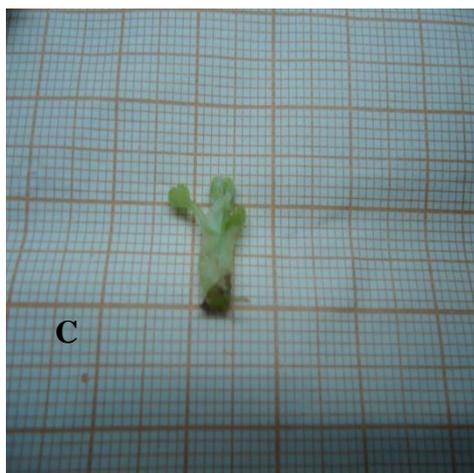
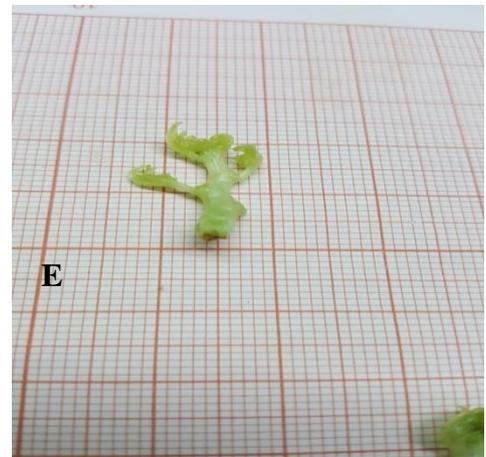
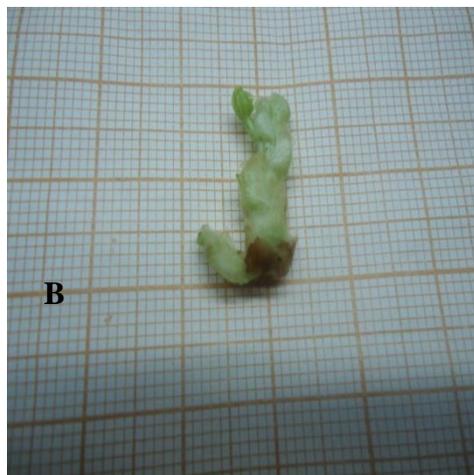
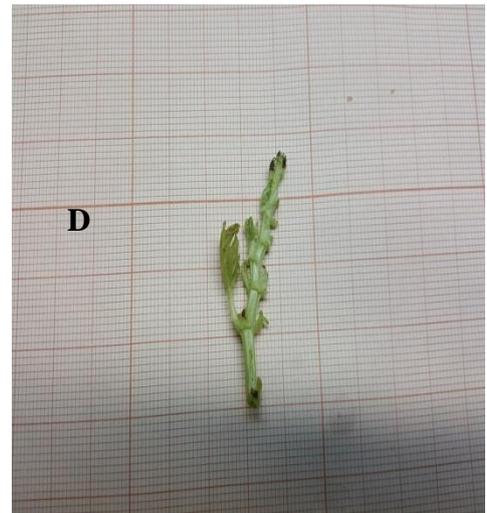
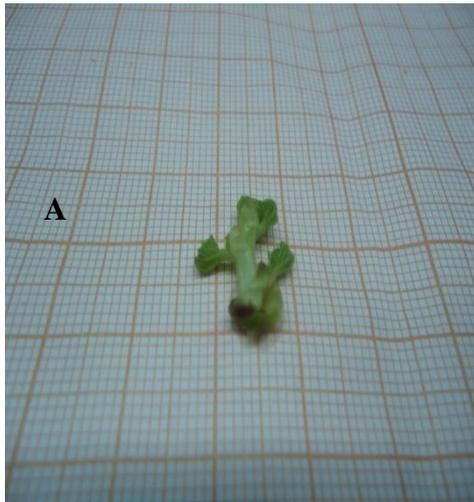


Figure 29: L'élargissement des vitro-plants de cépage Ferrana noir.

Après 40 jours

Après 60 jours

A : MS2

D : MS2

B : MS1

E : MS1

C : MS3

F : MS3

3.5 Discussion :

Dans cette phase de l'expérimentation, concernant l'élongation des pousses, le rythme de développement des vitro plants a diminué dans le temps, ceci est dû à l'épuisement des nutriments des milieux de culture. Ces résultats sont en accord avec ceux obtenus par (ABROUS, 1983) qui a signalé qu'à partir du 20^{ème} jour de culture, les milieux sont épuisés de leur source en métabolites. A ce moment, le transfert des pousses sur des milieux frais de même composition s'est avéré indispensable et semble stimuler davantage le développement des vitro plants régénérées.

La supériorité du cépage Aneb el Kabyle sur le milieu MS2 par rapport aux trois autres cépages concernant le taux de pousses ayant survécus indique l'effet du génotype et l'effet de milieu sur ce paramètre.

Le cépage Ferrana noir sur milieu MS2 s'est révélé le plus réactif pour le paramètre du nombre moyens des pousses.

Cependant le cépage Mokrani a enregistré des résultats supérieurs concernant le paramètre nombre moyen de feuilles. Pour le même paramètre le milieu MS2 a été plus réactif comparant aux autres milieux.

Les deux cépages Mokrani et Aneb el Kabyle cultivés *in vitro* sur les milieux respectifs (MS1) et (MS2) ont révélé une supériorité vis-à-vis de paramètre longueur moyenne de pousses par rapport aux autres cépages et aux autres milieux étudiés.

Les milieux (MS1) et (MS2) ont favorisé la multiplication, la production foliaire et la longueur des pousses, ce critère est probablement lié à la richesse de ces milieux en éléments minéraux tels que l'azote et le potassium. D'après MARGARA, (1989) Ces deux composants, interviennent fortement dans le développement des plantes. En outre, l'azote est l'élément minéral qui favorise le développement végétatif, tandis que le potassium favorise la division cellulaire. De même, l'effet stimulateur de l'azote dans le phénomène d'organogenèse a été signalé par BRHADDA et *al.*, (2003) chez l'olivier.

Dans nos essais, les quatre cépages autochtones testés se sont manifestés différemment, ces résultats révèlent l'effet du génotype, ce dernier est démontré par de

nombreux auteurs sur différentes espèces comme le poivre et le pin (**CHRISTOPHERE et RAJAM, 1996**) et (**TANG et GUO, 2001**).

Le génotype a prouvé son influence sur les paramètres étudiés, ce qui est en accord avec des résultats antérieurs qui ont rapporté des différences importantes dans l'allongement *in vitro* entre les génotypes que ce soit pour *A. spinosa* (**NOUAIM et al., 2002**), ou pour d'autres plantes ligneuses (**VIEITEZ et al., 2009**). D'après **SAADI ET HAMDANI, (2007)** il existe parfois des génotypes récalcitrants qui répondent très mal à la micropropagation.

Concernant le milieu dépourvu d'hormones de croissance (témoin), qui a révélé des résultats inférieurs à nuls par rapport aux autres milieux testés. Le témoin étant défavorable pour tous les paramètres de l'élongation des pousses. Cela est dû à l'importance de l'apport hormonal du milieu qui influence fortement le processus d'élongation des vitro plants. En effet, la combinaison des cytokinines avec les auxines a amélioré le processus de multiplication *in vitro* de plusieurs espèces (**GEORGE, 1993**). Selon **SHAHZAD et al., (2011)** et **PHULWARIA et al., (2012)**, un simple traitement par la BAP était très approprié pour l'induction de multiples pousses à partir des bourgeons axillaires. Les cytokinines ont un rôle majeur dans l'élongation des microboutures ceci est confirmé par **RUGINI, 1990** chez l'olivier. L'addition de faibles concentrations d'auxines a amélioré la formation des cals. **MARGARA, (1989)** affirme que gibbérelline (GA3) stimule l'allongement des tiges.

On a remarqué aussi des variations d'allongement entre les différents vitro-plants dans le même milieu, ce phénomène peut être attribué à la position de leur bourgeon sur la tige. Selon **HU et WANG (1983)**, le débourrement le plus favorable est celui où les bourgeons se situent au niveau du nœud cotylédonaire par rapport au nœud de l'apex. De même **LAMBARDI et RUGINI, (2003)** affirment que le choix du type des microboutures selon leurs positionnements est déterminant pour la réussite de la micropropagation

En apportant les auxines, la vigne s'enracine facilement (auto-enracinement). Dans notre expérimentation, les racines n'ont pas eu lieu dans la phase d'allongement, ceci peut être expliqué par la présence de GA3 dans le milieu testé. D'après **ZRYD, (1988)** le GA3 bloque l'enracinement. De même, la non induction des racines peut être liée à l'âge des plants, du moment qu'ils étaient prélevés d'une vieille collection du vignoble. Nos résultats ne corroborent pas avec ceux de **AMEDJKOUH (2004)**, qui a obtenu un taux d'enracinement au cours de la phase d'allongement.

Conclusion

Dans le cadre des travaux de recherche de l'ITAFV sur la production de plantes par micro propagation, nous avons entrepris notre expérimentation qui rentre dans les programmes et axes de recherche de ce centre.

Cet essai a été réalisé pour régénérer *in vitro* quatre cépages autochtones de (*Vitis vinifera* L.) Aneb el kabyle, Mokrani, Ferrana noir et Bouani.

La réussite de la culture *in vitro* nécessite essentiellement l'asepsie, c'est pour cela que nous avons essayé de rechercher une meilleure méthode de désinfection. De ce fait, il s'est avéré que la meilleure méthode de désinfection est le trempage des microboutures herbacées dans une solution contenant 0,7 mg/l de chlorure de mercure ($HgCl_2$) pendant 10 minutes suivi par 5 rinçages (3 minutes par rinçage) successifs dans de l'eau distillée stérilisée.

Pour la phase d'initiation, les milieux MS1 (Murashige et Skoog) et MS2 (MS modifié en KH_2PO_4) semblent être les plus performants du point de vue taux de débourrement et une rapidité de cette réponse physiologique pour les cépages Mokrani et Aneb el Kabyle.

Au cours de la phase d'allongement nous avons constaté que pour le taux de pousses ayant survécus, le cépage Aneb el Kabyle sur le milieu MS2 a enregistré les meilleurs résultats, nous avons par ailleurs obtenu un nombre moyens des pousses important sur le milieu MS2 pour le cépage Ferrana noir. Nous avons obtenu un bon résultat sur le milieu MS2 et le cépage Mokrani sur le nombre moyens des feuilles. En ce qui concerne la longueur moyen des pousses après 40 et 60 jours, les meilleurs résultats ont été enregistrés pour le génotype Mokrani sur le milieu MS2.

Nous n'avons pas pu initier la phase d'enracinement pour obtenir des vitro-plants enracinés. Par manque de temps et vue que cette opération est longue à réaliser nous souhaitons la reprendre dans autres études de recherche.

PERSPECTIVES

Nous proposons donc de :

Etudier la phase d'enracinement en additionnant aux milieux de culture des auxines rhizogénèse.

Utiliser d'autres combinaisons et concentrations qui s'avèrent nécessaires.

Au terme de notre travail de recherche nous pouvons conclure que la technique de micropropagation in vitro semble prometteuse et ouvre de nouvelles voies dans le domaine biologique et agricole.

Afin de préserver et conserver les cépages autochtones, il est souhaitable de confirmer et poursuivre les travaux déjà entrepris.

Références bibliographiques

ABROUS M., 1983. Contribution à l'étude de la culture *in vitro* de trois porte greffes d'agrumes : *Citrus aurantium* L. *Poncirus trifoliata* L. (Raf.) et Citrange Troyer ; Thèse DEA Production et traitement des matières végétales. 67P.

AIT-CHITT M., 1989. Problèmes rencontrés en culture *in vitro* du palmier dattier (*Phoenix dactylifera* L.) par les techniques d'organogénèse. Compte rendu du deuxième séminaire maghrébin sur la multiplication rapide du palmier dattier par les techniques de culture *in vitro*; Projet de lutte contre Bayoud. FAO/PNUD ; Marrakech octobre 1989 ; 142. Pp. 9-12.

AMEDJKOUH H., 2004. Essai d'assainissement de trois variétés autochtones de vigne de table (*Vitis vinifera* L.) atteintes de viroses, par culture *in vitro* de méristèmes. Mémoire de magister. USTHB. 133P.

AOUF M.B., 1972. La conversion-reconstitution du vignoble algérien. Option méditerranéenne. Pp. 65-67.

ARTHAUD., 1858. De la vigne et ses produits. Ed. Bordeaux Henri Muller, librairie.

ATTIA F., 2007. Effet du stress hydrique sur le comportement ecophysiologique et la maturité phénolique de la vigne *Vitis vinifera* L: étude de cinq cépages autochtones de Midi-Pyrénées. Thèse de Doctorat. Institut national polytechnique de Toulouse. 185P.

AUGE D., 1992. La culture *in vitro* et ses applications horticoles, 3ème édition. Technique et documentation, Lavoisier, Paris, 225P.

AUGE R., 1989. les phénomènes physiologiques liés à la réalisation des cultures *in vitro* « la culture *in vitro* et ses applications horticoles ». Ed. Tec. Doc. Lavoisier, Paris. Pp.7-2.

AUGE R., BEAUCHENSE G., BOCCON-GIBOD J., DECOURTYRE L., DIGET B., JALOUZOT R., MINIER R., MORAND J., REYNOIRD J.P., STRULLU D.G., VIDALIE H., 1989. La culture *in vitro* et ses applications horticoles. 3ème ED. Tec. Doc. Lavoisier. 207P.

BEAUCHESNE G., 1989. La culture *in vitro* et ses applications horticoles. 269P.

BEDDEK A., 2009. Contribution à l'étude de la micropropagation de l'olivier (*Olea europea* L.) CV. Chemlal. Mémoire d'ingénieur. UMMTO. 98P.

Références bibliographiques

- BOCCON-GIBOD J., 1980.** Régénération du crosne du Japon (*Stachys sieboldii* Miq.) par culture de méristèmes : multiplication et conservation in vitro des clones. In : Congrès sur ‘l’application de la culture in vitro à l’amélioration des plantes potagères ‘, EUCARPIA section légumes, Versailles, 16-18 avril. Pp. 31-41.
- BOCCON-GIBOD J., JALOUZOT R., 1989.** Les biotechnologies en horticulture, possibilités et perspectives. In La Culture in Vitro et ses applications horticoles. ed JB Bailliére. Pp. 91-131.
- BOMMINENI U R., JAUHAR PP., 2003.** Regeneration of plant through isolated scirtelum culture of durum. Wheat .plant sci. Pp.16; 197.
- BOUTHERIN D., BRON G., 2002.** Multiplication des plantes horticoles Ed : 2 Tec et Doc. 248P.
- BOXUS PH., 1978.** Cultures de tissus et assainissement. Extrait du compte rendu de la journée d’étude belgian. I.S.H.S. Pp 75-80.
- BRETAUDEAU A., 2006.** Les techniques de culture in vitro et la micropropagation des espèces végétales .IPR/Kolibougou Koulikoro B. 06P.
- BRETAUDEAU J., FAURE Y., 1990.** Atlas d’arboriculture fruitière. Vol 4. Edition Lavoisier Tec & Doc. 363P.
- BRHADDA N., ABOUSALIM A., ELMANCE D., LOUDIYI W., BENALI D., 2003.** Effet du milieu de culture et de la lumière sur l’embryogenèse somatique de l’olivier (*olea europea* L.) CV Piccholine marocaine. Fruit 28 (3). Pp. 1-14.
- BRIGGS, D.E., 1964.** Origin and distrubution of a amylase in malt.J. Inst Brew ,70. 14P.
- BUVAT R., 1944.** Recherche sur la dédifférenciation des cellules végétales : plantes entières et boutures. Ann.Sci.Nat N°11(5). P 1_130. Ed lavoisier Tec et Doc. J.B BAILLIERE. 225 P.
- CAI T., et BUTLER L., 1990.** Plant regeneration from embryogenic callus initiated from immature inflorescences of several high tannin sorghums. Plant Cell Tissue Organ Culture, 20 : Pp.101-110.

Références bibliographiques

CAMARA M., KESSAR Z., 2004. Micropropagation et préservation de deux cépages autochtones de vigne *Vitis vinefera.L* (Torki et Aneb El kabyle).Thèse Ing, Biologie, Blida.57P.

CARISSE O., BACON R., LASNIER J., MCFADDEN-SMITH W., 2006. Guide d'identification des principales maladies de la vigne. Agriculture et agroalimentaire Canada, Publication. pp29- 32.

CHLYAH H., CHERKAOUI S., SAIDI N., LAMSAOURI O., MDARHI-ALAOUI M., CHLYAH O., BENKIRANE H., AMAIL, O., CHLYAH, A.B., 2001. Production d'haploïdes chez le blé dur et sélection en milieu salin. In : Hamon Serge (éd.). Des modèles biologiques à l'amélioration des plantes. Paris (FRA), IRD, AUF, Montréal. Pp. 235-254.

CHRISTOPHERE T., ET RAJAM MV., 1996. Effect of genotype explant and medium on *in vitro* regeneration of *red papper*. Plant cell Tissue and Organ culture. 46 (3) : Pp 245-250.

COZZA R., TURCO D., BRICCOLI-BATI C., et BITONTI B., 1997. Influence of growth medium on mineral composition and leaf histology in micropropagated plantlets of *Olea europaea*. Pl. Cell Tissue Organ Cult., 51: Pp.215-223.

DELROT S. OLLAT N. BRIEN F., 2008. La génomique une réponse aux enjeux actuels de la viticulture. Le manuel européen de biotechnologie N°294. pp31-34

DEVI PB., et STICKLEN MB., 2001. Culturing shoot tip clumps of Sorghum bicolor and optimal microprojectile bombardment parameters for transient expression. J. Cytol. Genet., 2 : Pp.89-96.

DEVI PB., ZHONG H., et STICKLEN MB., 2000. In vitro morphogenesis of pearl millet (*Pennisetum glaucum* (L.) R Br). Efficient production of multiple shoots and inflorescences from shootapices. Plant Cell Rep., 19 : Pp. 546-550.

Références bibliographiques

DIEMER H, 2005. Algérie, terre promise. Les vins d'Algérie en Bretagne : le vignoble Algériens des années << coloniales>>. 1p

DORION N. Danthu P et Bigot C., 1987 : Multiplication végétative *in vitro* de quelque espèces d'Ormes. Ann. Sci. For.,44 (1) : 103-118.

DUPARC T, 2013. Le poids des données économique dans l'Algérie de demain. Noir & Rouge, n^o 18. France. 7p.

DUTRUC-ROSSET G., 2001. Extrait du rapport sur la vitiviniculture mondiale, 26^{ème} Congrès, n^o3.20P.

EL HEIT K., 1981. Le vignoble algérien : problèmes de la reconversion. Thèse de Doctorat de 3eme cycle. Université de la Sorbonne. 272P.

ESPANOZA N., LIZZARRAGA R SIGUNA S.C., BRAYN J., DODDS H ., 1992. Tissu culture: Micropropagation .Conservation and export of potato gerplasm .CIP Reshjerche Ghide, edtCIP.19P.

ETSE K.D., AÏDAM A.V., DE SOUZA C., CRECHE J., et LANOUE A., 2011.In vitro propagation of *Zanthoxylum zanthoxyloides* Lam., an endangered African medicinal plant. Acta Botanica Gallica 158 (1). Pp.47-55.

FOUDIL O., 1989. Les cépages autochtones en Algérie. Vol 13 n^o 1. Pp.235-240.

GALET P., 2000. Précis de viticulture. Ed. JF. 7^{ème} edition.597P.

GAUTHERET R., J., 1959. Sur la possibilité de réaliser les cultures indéfinies des tissus de tubercules de carottes. C.R. Acad. Sci. 208. Pp118-129.

GEORGE EF., 1993. Plant Propagation by tissue culture:Part I: the technology. Edington, UK: Exegetics Ltd, Pp. 273–291.

Références bibliographiques

GEORGE F et SHERRINGTON P.D., 1984. Plant propagation by tissue culture. Exegetic Ltd.England. Pp.125 -129.

GIRARD G., 2001. Manuel : base scientifique et techniques de la viticulture. Ed. Lavoisier. Londre. Paris. New York. 334P.

GRIFFITHS H M., SLACK S.A., DODDS J H., 1990. Effect of chemical and heat therapy on virus concentration *in vitro* plantlets. Can. J. Bot. 68: Pp.1515-1521.

GRIGORIADOU K. MILTIADIS V ET ELEFThERIOU E., 2002. *In vitro* propagation of the Greek olive cultivar «Chondrolia chalkidikis». Plant cell, tissue and organ culture, 71 : Pp.47-54

GUHA S., MAHESHWARI S.C., 1966. Cell division and differentiation of embryos in the pollen grains of *Datura in vitro*. Nature, 212: Pp. 97-98

HELLER R., ESNAULT R., LANCE C., 1995 : Physiologie végétale. Vol. (1)Nutrition ; Edite.Dunod, Paris. 322P.

HELOIR MC., 1999. Micropropagation de la vigne et maîtrise de la fertilité. Progrés Agricoles et Viticoles 116 : Pp. 115-160.

Hu CY., Wang PJ., 1983. Handbook of plant cell culture. In: Evans DA, Sharp WR, Ammirato PV, Yamada Y (eds.) Meristem shoot tip and bud culture. New York, Macmillan, Pp.177-227.

HUGLIN P., SCHNEIDER C., 1998. Biologie et écologie de la vigne. Ed Lavoisier Tec &Doc. 2ème Ed. . 365P.

HUSSEY G., et STACEY ,N J., 1981. *In vitro* propagation of potato (*Solanum tuberosum*) of potato of photoperiod on *in vitro* tuberisation of potato- *S tuberosum*- .JEA Seabrook shirlyn m CD. levey .1993 .plant cell m tissue and organe culture .1993.34; Pp. 43-51.

INRA., 2013. Récapitulatif des superficies, des productions, des rendements et les taux d'accroissement 2011/2012.

Références bibliographiques

KALI M., 2010. El Watan week-end.

KLUNGER S., 1984. Recherche sur la multiplication végétative in vitro da quelques variétés de Pommiers. Thèse 3ème cycle, Clermont II, 125P.

LAMBARDI M., et E. RUGINI., 2003. Micro Propagation of Olive(*Olea europaea* L.). In: Micropropagation of Woody Trees and Fruits. Kluwer Academic Publisher Netherland, Editor: Daniel Mohan Bienstock, Katsuaki Ishii(Editor), ISBN-13:9781402011351, Pp. 621-646.

LÊ C.L., JULMI C., NOWBUTH L., MANIERE M., THOMAS D., JOFFREY J.P., TSCHUY F., 2005. AgroscopeRAC Changins : 25 ans de culture in vitro .Revue suisse Agric .37(3) : Pp.133-136.

LEBON G., 2005. Importance des glucides lors de la floraison chez la vigne *Vitis vinifera* L. Exemples de cépages présentant une sensibilité différente à la coulure. Thèse Doctorat de l'Université de Reims Champagne-Ardenne. 131P.

LERY F., 1982. L'agriculture au Maghreb G.P. Ed. Maisonneuve et Larose. pp 284-286.

LEVA A.R., PETRUCCELI R., PANICUCCI M., 1992. Ruolo di alcuni microelementie carboidrati nella proliferazione in vitro di cv Di olivo (*Olea europea* L) Atti quatita olio extravergine di oliva, Firenze, 1-3 decembre.333P

LININGTON I.M., 1991. In vitro propagation of *Dipterocarpus alatus* and *Dipterocarpus intricatus*, Plant Cell Tiss. Org. 27 (1). Pp. 81–88.

MARCHIVE C., 2006. Identification et caractérisation fonctionnelle d'un gène codant un facteur de transcription de type WRKY chez la vigne. Thèse de doctorat. Université de Bordeaux1. France. 152P.

MARGARA J., 1989. Base de la multiplication végétatives .Les méristèmes et l'organogenèse. Institut National de la recherche Agronomique.

Références bibliographiques

- MARGARA, J.** (1984) Bases de la multiplication végétative. INRA, Paris, 262 p.
- MARUTANI-HERT M, EVENS TJ, GREGORY T, MCCOLLUM GT, NIEDZ RP, 2011.** Bud emergence and shoot growth from mature citrus nodal stem segments. *Plant Cell Tissue and Organ Culture*. **106**: Pp.81-91.
- MAYER S., REED C., ET BOSDEVEISC R., 2004.** Botanique : Biologie et physiologie végétale. Edit. Maloine, Paris, Pp. 258-288.
- MONTGOMERY R., 2009.** Statistique en bref Eurostat. KS-SF-09-012-FR-N. Pp 1-7.
- MORLAT R., 1981.** Effet comparés de deux techniques d'entretien du sol sur l'enracinement de la vigne et sur milieu édaphique. *Agronomie*, Vol1 n° 10. Pp. 887-896.
- MULLINS MG., BOUQUET A., WILLIAMS L.E., 1992.** Biology of the grapevine. Ed. Mullins University Press, Cambridge, UK. 239.P
- NOUAIM R., MANGIN G., BREUIL M.C. et CHAUSSOD R., (2002).** The argan tree (*Argania spinosa*) in Morocco : Propagation by seeds, cuttings and in vitro techniques. *Agrofor. Syst.* 2002 ; 54 : Pp.71 – 81.
- NOZERAN R., et BANCILHON L ., 1972.** Les cultures in vitro en tant que technique pour l'approche de problèmes posés par l'amélioration des plantes .In *Ann. Amélioration .Plantes* 22(2), Pp 167-185.
- OCHATT S J., MUNEAUX E., MACHADO C., JACAS L., et PONTÉCAILLE C., 2002.**The hyperhydricity of in vitro regenerants of grass pea (*Lathyrus sativus L.*) is linked with an abnormal DNA content. *J Plant Physiol* 159: Pp.1021-1028.
- OCHETTE C., 2005.** growth, quality and biotechnology, WFP publisher .Finland.

Références bibliographiques

- PANDEY S., SINGH M., JAISWAL U., et JAISWAL VS., 2006.** Shoot initiation and multiplication from a tree of *Terminalia arjuna* Roxb. *In Vitro Cellular and Developmental Biology Plant.* **42:** Pp. 389-393.
- PEREZ-TORNERO O., et TALLON CI, PORRAS I., 2010.** An efficient protocol for micropropagation of lemon (*Citrus limon*) from mature nodal segments. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture.* **100.** Pp.263-271.
- PETIT A-N., 2008.** Effets de fongicides anti-botrytis sur les organes végétatifs et reproducteurs de la vigne. Thèse Doctorat, Univ, Reims.129P.
- PEYECRU P., BECHR J. C., CARION F., PERRIN D., et PERRIER C., 2007.** Biologie. Ed. Dunod. Paris. 110P.
- PHULWARIA M., RAI MK., HARISH GAK., et KHETARAM SNS., 2012.** An improved micropropagation of *Terminalia bellirica* from nodal explants of mature tree. *Acta Physiol Plant.* ;34: Pp.299–305
- PHULWARIA M, RAM K, GAHLOT P, SHEKHAWAT NS, 2011.** Micropropagation of *Salvadora persica*- A tree of arid horticulture and forestry. *New Forests.* **42:** Pp.317-327.
- PITEKELABOU R., ETSE D. K., et AÏDAM A.V. 2013.** Micropropagation et rhizogenèse in vitro chez *Nauclea latifolia* smith (Rubiaceae). *European Scientific Journal*, 9 (24) :Pp.296-307.
- QUOIRIN M., 1974.** Premiers résultats obtenus dans la culture in vitro du méristème apical des sujets porleiJreffes de Pommier. *Bull. Rech. Agron. Gembloux.* 9, Pp. 189-192
- RAI MK., ASTHANA P., JAISWAL VS., et JAISWAL U., 2010.** Biotechnological advances in guava (*Psidium guajava*L.): Recent developments and prospects for further research. *Tree Struct Funct.* 24:Pp.1–12.

Références bibliographiques

- REYNIER A., 1991.** Manuel de viticulture. Edition J.B Bailliére. Paris. 6^{ème} Ed.411P
- REYNIER A., 2005.** Manuel viticulture. 9eme éd. Lavoisier Tec & Doc. Vol1 n° 626. France. 554P.
- REYNIER A., 2007.** Manuel de viticulture. Edition TEC & DOC. Paris. 10^{ème} Ed. 527P.
- RIBEREAU-GAYON J., et PEYNAUD E., 1980.** Sciences et techniques de la vigne, traitée d'ampélogie. Tome1. Ed. DUNOD. Paris. 725P
- ROBERT D., DUMAS C., et BAJON C., 1998.** La reproduction. Ed. Doin. Paris. 384P
- ROSELL C.H., et VILLALOBOS A., 1992.** Fondement théoriques et pratiques de la culture des tissus végétaux, FAO Rome.163P.
- RUGINI E., 1984.** *In vitro* propagation of some olive (*Olea europaea* L.) cultivars with different root-ability, and medium development using analytical data from developing shoot and embryo. *Sci. Hort i c.* 24, Pp. 123–134.
- RUGINI, E, 1990.**in-vitro of the olive on overview of the present scientific status. *Acta. Hort* .286P.
- SAADI A., 1991.** Régénération de plantes de pois *Pisum sativum* L. par embryogenèse somatique. Thèse de doctorat. Paris. Grignon. 162P.
- SAADI A., et HAMDANI F Z., 2007.** Régénération in vitro du *Scorpiurus muricatus* ssp. *Subvillosus* via la caulogenèse. *Biotechnol Agron SocEnviron* 11 (3) : Pp. 185-191.
- SASSON A, 1993.** Biotechnologies in developing countries: Present and future. UNESCO Publishing, Paris. 764P.
- SHAHZAD A., et PARVEEN S., 2011.** A micropropagation protocol for *Cassia angustifolia* Vahl.from root explants. *Acta Physiologiae Plantarum*;33(8), Pp. 789-796

Références bibliographiques

- Simon J-L., EGGENBERBER W., MISCHLER M., et SCHWARZENBA CH.J., 1992.** Viticulture. 3^{ème} Ed. Payot Lausanne la Maison Rustique. Paris. 223P.
- SRIVASTAV S., et KOTHARI SL., 2002.** Embryogenic callus induction and efficient plant regeneration in pearl millet. Cereal Research Communications, 30 : Pp. 69-80.
- STAFSTROM, J.P. 2000.** Regulation of growth and dormancy in pea axillary buds. (Angers: J. D. Viemont, J. Crabbé), Pp. 331–346.
- TAKEBE I., LABIB G., et MELCHERS G., 1971.** Regeneration of whole plants from isolated mesophyll protoplasts of tobacco. Naturwissenschaften 58: Pp. 318–320.
- TANG W., et GUO Z., 2001.** *In vitro* propagation of loblolly pine via direct somatic organogenesis from mature cotyledons and hypocotyls. Plant Growth Regulation. 33 : Pp.25-31.
- TAYEB Be. M., 1990.** Le secteur viticole et vinicole en Algérie : marché interne et commerce international. MEDIT, vol 1 n° 1. Pp. 33-36.
- TEOULE E., 1999.** Biotechnologie et Amélioration des plantes in Biotechnologie Seriban R.Edt TEC &DOC. Pp. 565-589.
- THIS P., LACOMBE T., et THOMAS MR., 2006.** Historical origins and genetic diversity of wine grapes. Trends in genetics , vol 22 (n°9). Pp. 511-519.
- VASIL IK., et VASIL V., 1986.** Regeneration in cereals and other grass species. In: Cell Culture and Somatic Cell Genetics of Plant (Vasil, I.K. ed.), Academic Press, New York.Pp. 121-150.
- VIEITEZ A.M., CORREDOIRA E., BALLESTER A., MUÑOZ F., DURAN J., IBARRA M., 2009.** *In vitro* regeneration of the important North American oak species Quercus alba, Quercus bicolor and Quercus rubra. Plant Cell Tissue and Organ Culture 98(2): Pp. 135–145.

Références bibliographiques

ZIANI J., 2008. Application de *Beauveria bassiana* contre la punaise terne *lygus lineolaris* (Palisot de beauvois) (Hémiptères: mérides) dans les vignobles. Mémoire comme exigence partielle de la maîtrise en biologie université du Québec à Montréal. 70P.

ZOHARY D., ET HOPE M., 2000. Domestication of plants in the Old World. Oxford University Press. ISBN : Pp. 3-19

ZRYD J P., 1988. Culture de cellules, tissus et organes végétaux. Fondements théoriques et utilisations pratiques. Lausanne, Suisse : Presses Polytechnique Romandes, 305P.

ZRYD J.P. GAZEAU M., DERREUDRE J., MONNIE, R., 1988. Culture de cellules, tissus et organes végétaux : fondements théoriques et utilisation pratiques. Presses Polytechniques. Romande. 307P.

Annexe

Annexe1 : Matériel utilisés en laboratoire.

Tableau 14 : Appareillage et matériel utilisés

grand matériel	petit matériel	infrastructures
Plaques chauffantes	Béchers gradué	Hotte à flux laminaire horizontal Hotte chimique Chambre de culture Chambre de lavage La serre d'élevage
Agitateurs magnétiques	Eprouvettes gradué	
PH mètre	Baro magnétiques	
Bec benzène	Tubes à essais	
Balance à précision	Tube à vis	
Autoclave	Pinces	
Stérilisateur à bille	Scalpels	
Etuve	Papiers buvard	
	Papiers millimètre	
	Papiers aluminium	
	Flacons	
	épindorf	
	lames à bistouri	



Figure 27 : Etuve.



Figure 28 : Autoclave.

Annexe



Figure 29 : PH mètre.



Figure 30 : Stérilisateur à bille.

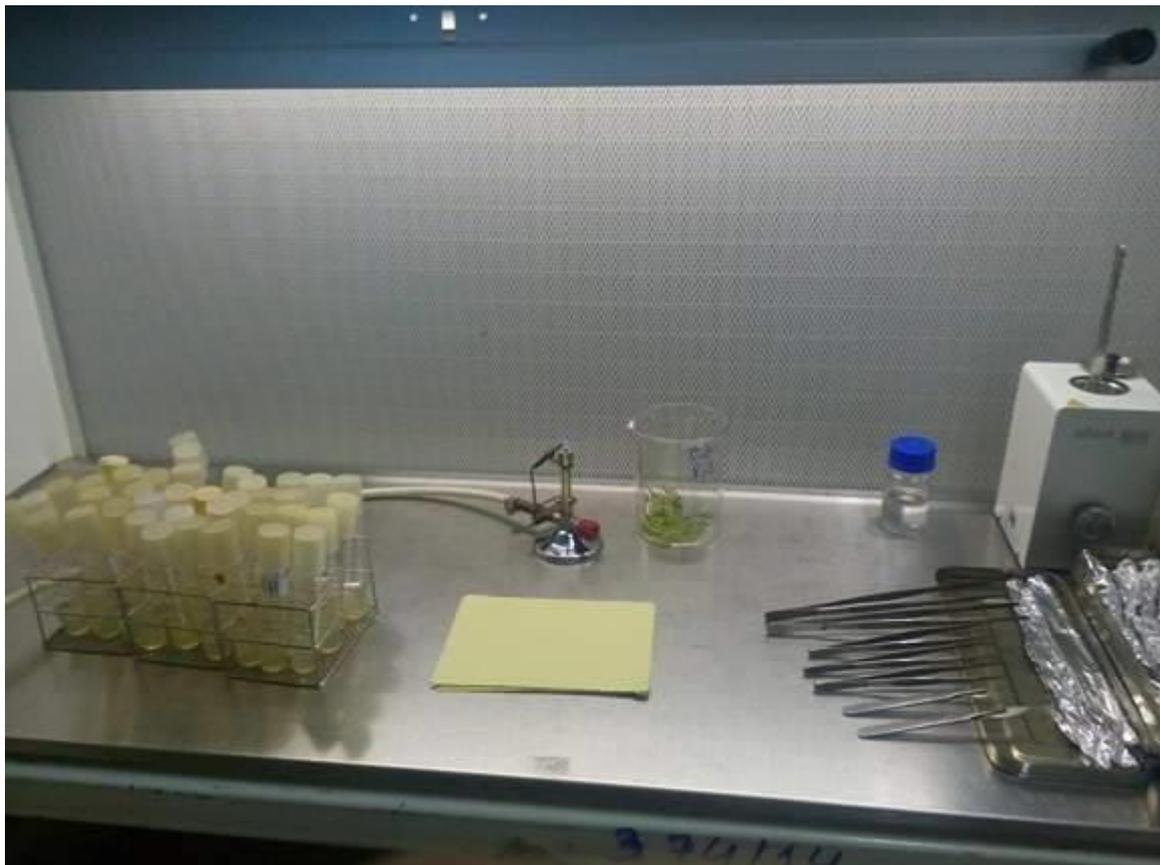


Figure 31 : la surface de travail (hotte à flux laminaire horizontale).

Annexe

Annexe 2 : Analyse statistique.

Tableau 15 : Tests Univariés de Significativité pour le nombre moyens des feuilles.

	SC	Degr. de	MC	F	p
Cépage	73,9	3	24,6	7,16	,000*
Milieu	505,3	3	168,4	48,94	0,000*
Cépage*Milieu	55,5	9	6,2	1,79	0,074

Tableau 16: Test de Newman-Keuls pour effet du cépage sur le nombre moyen de feuilles.

Cépage	NBF	1	2
FN	1,975000	****	
VBN	2,325000	****	
NKB	3,350000		****
M	3,600000		****

Tableau 17 : Tests Univariés de Significativité pour la longueur moyenne de pousses L1.

	SS	Degr. of	MS	F	p
Cépage	13,0253	3	4,3418	11,9883	0,000000
Milieu	61,7373	3	20,5791	56,8221	0,000000
Cépage*Milieu	8,8133	9	0,9793	2,7039	0,006151

Tableau 18: Tests Univariés de Significativité pour la longueur moyenne de pousses L2

	SS	Degr. of	MS	F	p
Cépage	12,5222	3	4,1741	11,6222	0,000001
Milieu	89,2082	3	29,7361	82,7966	0,000000
Cépage*Milieu	8,7011	9	0,9668	2,6919	0,006365

Liste des abréviations

ANA	→	Acide naphthalène acétique.
ANOVA	→	Analysis of variance.
BAP	→	6-Benzylaminopurin
FN	→	Ferrana noir
GA₃	→	Acide Gibbérellique 3
HgCl₂	→	Chlorure de mercure
ITAFV	→	Institut Technique d'Arboriculture Fruitière et de la Vigne
KH₂PO₄	→	Potassium dihydrogen phosphate
M	→	Mokrani
Mqx	→	Million de quintaux
MS1	→	Milieu MURASHIGE et SKOOG (1962)
MS2	→	Milieu MURASHIGE et SKOOG modifié en KH ₂ PO ₄
MS3	→	Milieu MURASHIGE et SKOOG modifié en NH ₄ NO ₃
NaClO	→	Hypochlorite sodium
NH₄NO₃	→	Nitrate d'ammonium
NKB	→	Aneb el Kabyle
TB	→	Taux de brunissement.
TC	→	Taux de contamination.
VBN	→	Bouani

Liste des figures

Figure 1 : Répartition mondiale du vignoble.....	5
Figure 2 : Classification des vitacées.....	9
Figure 3 : Morphologie du cep de vigne.....	11
Figure 7 : Les méthodes d'applications de la culture <i>in vitro</i>	19
Figure 8 : Représentation schématique de l'influence de l'équilibre hormonale entre les auxines et cytokinines sur les différentes réponses morphologiques.....	23
Figure 9 : Carte géographique représente la ferme de Tighennif.....	27
Figure 10 : fragments de vigne.....	28
Figure 11 : segments d'explants comportant un bourgeon.....	33
Figure 12 : mise en culture d'explant.....	33
Figure 13 : Effet de la désinfection des explants du champ sur le taux de contamination et de brunissement	37
Figure 14 : Effet de la désinfection des explants issus de la serre sur le taux de contamination et de brunissement	38
Figure 15 : Contaminations et brunissement des explants	41
Figure 16 : Effet de l'interaction (cépage / milieu) sur le taux de débourrement.....	43
Figure 17 : Cinétique de débournements de quatre cépages autochtones de vigne (NKB, M, VBN et FN)	44
Figure 18 : Effet de l'interaction (cépage / milieu) sur le taux de pousse survécus.....	47
Figure 19 : Le débourrement des quatre cépages après 10 jours de la mise en culture.....	50
Figure 20 : Effet de l'interaction (cépage /milieu) sur le nombre moyen de pousses.....	52
Figure 21 : Effet de l'interaction (milieu /cépage) sur le nombre moyen de feuilles.....	53
Figure 22 : Effet du milieu sur le nombre moyen de feuilles.....	54
Figure 23 : Effet du cépage sur le nombre moyen de feuilles.....	54
Figure 24 : Effet de l'interaction (cépage / milieu) sur la longueur moyenne de pousses L1.....	55
Figure 25 : Effet de l'interaction (cépage /milieu) sur la longueur moyenne de pousses L2.....	57
Figure 26 : Elongation des vitro-plants de cépage Aneb el Kabyle.....	58
Figure 27 : Elongation des vitro-plants de cépage Mokrani.....	59
Figure 28 : Elongation des vitro-plants de cépage Bouani.....	60
Figure 29 : Elongation des vitro-plants de cépage Ferrana noir.....	61
Figure 30 : Etuve.....	Annexe 1
Figure 31 : Autoclave.....	Annexe 1
Figure 32 : PH mètre.....	Annexe 1
Figure 33 : Stérilisateur à bille.....	Annexe 1
Figure 34 : la surface de travail (hotte à flux laminaire horizontal).....	Annexe 1

Liste des tableaux

Tableau 1 : Principaux pays viticoles (campagne 1999/2000)	6
Tableau 2 : Reconversion du vignoble algérien 1968-1973.....	8
Tableau 3 : Superficie, production, rendement et taux d'accroissement des vignobles en Algérie (2011-2012) (INRA, 2013).....	15
Tableau 4 : Constituants du milieu MS (Murashige et Skoog, 1962).....	28
Tableau 5 : Désinfection des rameaux lignifiés.....	32
Tableau 6 : Désinfection des rameaux herbacés.....	32
Tableau 7 : Résultats de la désinfection des explants issus du champ.....	36
Tableau 8 : Résultats de la désinfection des explants issus de la serre.....	38
Tableau 9 : Taux de débourrement de quatre cépages étudiés.....	42
Tableau 10 : Analyse de variance du taux de débourrement.....	43
Tableau 11 : taux de pousses survécus des quatre cépages étudiés.....	46
Tableau 12 : Tests Univariés de Significativité pour Taux de pousses survécus.....	46
Tableau 13 : Nombre moyens des pousses par explants.....	51
Tableau 14 : Appareillage et matériel utilisés	Annexe1
Tableau 15 : Tests Univariés de Significativité pour le nombre moyens des feuilles.....	Annexe2
Tableau 16 : Test de Newman-Keuls pour effet du cépage sur le nombre moyen de feuilles.....	Annexe2
Tableau 17 : Tests Univariés de Significativité pour la longueur moyenne de pousses L1.....	Annexe2
Tableau 18 : Tests Univariés de Significativité pour la longueur moyenne de pousses L2.....	Annexe2