

RECHERCHES CONCERNANT LE PERFECTIONNEMENT DU MILIEU
NUTRITIF POUR LA MICROMULTIPLICATION
MÉRISTÉMATIQUE - CLONALE „IN VITRO” CHEZ LA VIGNE

T.SUCIU, STEFANIA GADEA, O.HENEGARIU

Abstract

SUCIU, T., S.GADEA, O.HENEGARIU, 1991, Research regarding the medium contents for „in vitro” meristem micropropagation of grape vine (in French). Not. Bot. Hort. Agrobot. Cluj., XI-XXI, 89-95. The works were aimed at establishing the most adequate methodology for fast „in vitro” meristematic propagation of vines, in order to obtain virus-free planting material. Experimental results are presented concerning the influence of hormonal balance on organogenesis and on newplantlet growing.

Key words: grapes, „in vitro” meristematic, propagation.

Address: Universitatea de Stiințe Agricole, Disciplina de Fiziologia plantelor, 3400 Cluj-Napoca, str. Mănăstur 3, România.

Received: 1. 10. 1991.

La culture „in vitro” chez la vigne est orientée à présent vers plusieurs directions, compte tenant du but suivi. Parmi les domaines à large utilisation pratique on peut citer: la multiplication rapide du matériel végétal à haute valeur biologique, l'obtention du matériel de plantation sans pathogènes, surtout des virus, la conservation „in vitro” de la base de germoplasma de même que dans les travaux d'amélioration et de génétique (1, 2, 3, 4, 5, 6, 9, 10, 11).

Les moyens d'initiation dans la culture „in vitro” diffèrent en fonction du type d'explant utilisé et de la technique de travail. En ce qui concerne la vigne, on a obtenu de remarquables succès en utilisant méristèmes, extrémités de pousses, bourgeons ou portions noeudales, anthères, protoplastes ou même explant ti-géal, virilles, feuilles. On a en pour but l'obtention du callus,

la néoformation des plantules, la prolifération des rejets ou l'obtention des protoplastes (3, 4, 6, 7, 8, 10).

Dans les dernières années, chez nous, on a entrepris des recherches plus amples suivant la réalisation des méthodes efficaces de multiplication clonale rapide de quelques variétés de vigne très méritantes en utilisant la technique de la culture „in vitro”. Dans ce sens on rappelle les travaux qui ont suivi la connaissance en détail des facteurs ayant des repercussions dans le processus de multiplication „in vitro”, à savoir: l'organogenèse du callus, la culture de méristèmes et d'apexes méristématiques, la différenciation de rejets multiples, la formation de rejets d'explant d'organes, etc. (8, 9, 10, 11).

Le but suivi dans nos recherches a été d'établir la technologie la plus adéquate pour la micromultiplication clonale rapide de la vigne et l'obtention du matériel de plantation devirosé par cultures méristématiques et ensuite par minibutures „in vitro”. Dans cet ouvrage on se propose de présenter les résultats concernant l'influence de la balance hormonale sur l'organogenèse et la croissance des néoplantules.

MATÉRIEL ET MÉTHODE

On a récolté des sarments des variétés Perle de Csaba, Chasselas doré, Muscat Hamburg et Cardinal, variétés de table excepté Chasselas doré qui est une variété mixte.

La récolte des sarments s'est faite tard, en automne, en utilisant les vignes pas atteintes de maladies. Avant d'être plongés dans la solution nutritive, les sarments ont été traités de la solution Kryptonol en concentration de 0,5 %. Cette opération a été réalisée à la température de la chambre. Lorsque les rejets ont atteint la dimension de 20 cm on a éloigné les feuilles et on les a introduites en alcool 70 % pour quelques secondes. La stérilisation a été effectuée par immersion en solution d'hypochlorite de Ca 5 % pendant 15 minutes, opération suivie de quelques lavages à l'eau distillée stérile.

Sous une hotte stérile, à l'aide d'une loupe binoculaire, on a prélevé des rejets les méristèmes bourgeonnants après quoi on les a introduits dans des éprouvettes de culture.

Le milieu de culture sur lequel on a inoculé le tissu méristématique a été Murashige-Skoog (1962) avec vitamines et hormones,

Zaccharose et agar (7-8 g/l) et le pH du milieu nutritif a été de 5,6. Le milieu a été stérilisé à l'autoclave à une température de 120 °C pendant 20 minutes. Les variantes sont présentées dans le tableau numéro 1.

Tableau 1

HORMONE (mg/l)	La variante					
	0	1	2	3	4	5
Acid gibberelic	-	0,2	0,2	0,1	-	-
Zeatină	-	0,1	-	0,5	-	-
Benzilaminopurină	-	-	0,2	-	-	0,2
ANA	-	0,05	0,05	-	0,1	-
AIB	-	-	-	0,1	-	0,2

Après l'opération d'inoculation les éprouvettes ont été couvertes d'une feuille de polyéthylène, à flamme. On les a ensuite introduites dans la chambre de culture, à régime spécial de lumière, avec une photopériode de 16 heures.

La source de lumière ayant une intensité de 3000 lux a été assurée par des tubes fluorescents. La température de la chambre de culture a été de 20 ± 2 °C.

RÉSULTATS ET DISCUSSIONS

Pendant la croissance des néoplantules „in vitro” on a fait périodiquement des observations et des mesurages concernant le nombre des racines, le nombre d'étages foliaires, la dimension des racines et des tiges, l'évolution du callus et du processus d'organogenèse. Les données obtenues ont été systématisées et travaillées statistiquement.

On présente d'une manière succincte les résultats concernant l'influence du milieu de culture et de la variété sur la croissance en longueur et sur le nombre d'étages chez les tiges âgées de 6 semaines.

L'influence du milieu nutritif sur l'organogenèse et sur les néoplastules "in vitro" est particulièrement importante, d'où la nécessité de l'équilibre du milieu de culture compte tenant autant du contenu en endogène des constituants tissulaires que des besoins réels de chaque variété et type d'explant, pour pouvoir parcourir, dans de meilleures conditions, toutes les étapes de l'évolution et finaliser avec la régénération de nouvelles plantules.

Chez la vigne on constate une réaction spécifique des variétés sans tenir compte du milieu nutritif utilisé, les conséquences de cette réaction se manifestant dans la vitesse de croissance et dans la formation d'un nombre plus grand ou plus petit d'étages foliaires. La plus sensible à la composition du milieu nutritif utilisé est la variété Chasselas doré, la variété Cardinal ayant une réaction insignifiante.

L'importance de milieu nutritif est prioritaire dans le développement "in vitro" d'ensemble de la vigne. Le plus grand nombre d'étages foliaires a été constaté chez les vignes poussées dans les variantes nutritives 1 et 5; 0,2 mg/l AG_3 , 0,1 mg/l zéatine, 0,05 mg/l ANA pour la variante 1 et 0,2 mg/l benzylaminépurine, 0,2 mg/l AIB pour la Variante 5 (Tableau 3).

Tableau 2

L'influence des variétés sur les étages foliaires, sans tenir compte du milieu nutritif.

variante	Nr. d'étages foliaires	%	Différences \pm	Signification
SCAT HAMBURG (a_1)	3,45	100	-	témoin
RDINAL (a_2)	3,31	95	- 0,14	-
ELA DE CSABA (a_3)	2,96	89	- 0,49	0
ASSELAS DORÉ (a_4)	4,55	132	1,10	xxx
DL 5 %	0,31	11,0		
DL 1 %	0,57	16,5		
DL 0,1 %	0,57	21,9		

Tableau 3

L'influence du milieu nutritif sur les étages foliaires sans tenir compte de la variété étudiée

La variante	Nr. d'étages de la tige	%	Différences \pm	Signification
0	2,60	100	-	témoin
1.	4,05	155	1,45	xxx
2.	3,60	138	1,00	xxx
3.	3,40	130	1,20	xxx
4.	3,17	122	0,57	xx
5.	4,60	176	2,00	xxx
DL 5 %	0,31	11,9		
DL 1 %	0,42	17,3		
DL 0,1 %	0,57	21,9		

Dans la même variété, l'influence de toutes les variantes de milieu, prises séparément est différente. La Perle de Csaba a une réaction positive dans presque tous les milieux nutritifs utilisés, il s'ensuit Chasselas doré et Cardinal, Fandisque Muscat Hamburg présente une réaction insignifiante (tableau 3).

CONCLUSIONS ET RECOMMANDATIONS

Compte tenant des résultats obtenus, nous pouvons formuler quelques conclusions et recommandations:

1. Chez la vigne la multiplication clonale rapide "in vitro" est possible et on obtient du matériel en proportion de masse en utilisant un milieu nutritif formé de macro- et de microéléments, vitamines, hormones, saccharose dans différentes combinaisons.

2. Les meilleurs résultats ont été obtenus dans le cas de l'utilisation du milieu de base Murashige-Skoog, avec une balance hormonale équilibrée, sur un milieu nutritif agarisé.

3. Parmi les variétés de vignes prises étude, les meilleurs résultats ont été obtenus chez la variété Perle de Csaba et Chaselas doré, tandis que la variété Muscat Hamburg, dans nos conditions d'expérimentation, a présenté des résultats insignifiants.

4. On constate une réaction spécifique des variétés envers le milieu nutritif utilisé, spécialement envers la balance hormonale. Cette réaction consiste dans la vitesse plus ou moins grande de l'organogenèse et dans la croissance des néoplantules.

R e z u m a t

SUCIU, T., Ș.GADEA, O.HENEGARIU, 1991, Cercetări privind perfecționarea mediului nutritiv pentru micromultiplicarea meristematică „in vitro” la vița de vie (în franceză). Not. Bot. Hort. Agrobot. Cluj., XX-XXI, 89-95. Scopul lucrării a fost de a stabili cea mai adecvată metodologie pentru micromultiplicarea meristematică rapidă „in vitro” la vița de vie și obținerea de material săditor liber de virusuri. Sînt prezentate rezultate referitoare la influența balanței hormonale asupra organogenezei și a creșterii neoplantulelor.

Bibliografie

1. BARLASS, M., G.M.SKENE, 1978, Vitis, 17:335-340.
2. BARLASS, M., G.M.SKENE, 1979, Australian Grapegrouter and Winemaker, 191:12-13.
3. BONDARCHUK, W., V.MARINESCU, N.O.POPESCU, N.M.ABRAMENCO, 1978, Proc. I. Conf. of virus free grapevine Czeh Acad.Vied.
4. BOUQUET, A., 1982, II^{me} Colloque Intern. de la vigne, Bordeaux, 38-43.
5. GREHAN, S., 1979, Progres. Agric. Vitic., 96:152-157.
6. HARRIS, R.E., J.H.STEVENSON, 1982, Vitis, 21:22-32.
7. KRUL, R.W., J.MYRESONJ, 1980, Proc. Conf. Tissue Culture, Beltsville Maryland, 35-44.
8. BADEA, E.L., P.RAICU, 1981, Analele Univ. București, 30:23-26.

9. BREZEANU, A., M.IORDAN, A.ROSU, D.MIRANCEA, 1982, Probleme de genetică teoretică și aplicată, 14(1):43-76.
10. GACHITA COSMA DORINA, 1985, Lucrările celui de al III-lea Simpozion Național de culturi de celule și țesuturi vegetale, București, 57-71.
11. OPREA, Ș. D.PAMPIL, 1983, Lucrările celui de al II-lea Simpozion Național de culturi de celule și țesuturi vegetale „in vitro”, vol. II., București, 250-261.