Connaissance Vigne Vin, 1979, **13**, N° 2, 125-136.

RHIZOGENESE DE BOURGEONS APICAUX DE BOUTURES DE VIGNE CULTIVEES *IN VITRO*

S. GRENAN

Association Nationale Technique pour l'Amélioration de la Viticulture
Domaine de l'Espiguette
30240 Le Grau du Roi (France)

INTRODUCTION

La culture *in vitro* de la Vigne est utilisée depuis de nombreuses années comme moyen d'étude des problèmes liés à l'amélioration et à la pathologie.

La multiplication classique *in vitro* de fragments de tiges herbacées possédant un bourgeon avec la feuille axillante est pratiquée couramment à une très grande échelle sans difficulté technique.

Généralement lors des opérations de repiquages, on élimine les bourgeons apicaux qui régulièrement manifestent une mauvaise reprise au bouturage. Mais, étant donné le nombre élevé d'yeux que l'on peut ensemencer à partir d'une seule tige, cette élimination est sans inconvénient.

Il n'en va plus de même lorsqu'on veut réaliser des traitements par thermothérapie *in vitro,* afin de supprimer avec une grande efficacité certaines viroses de variétés malades.

En effet la chaleur qui a une action aléatoire sur les virus entraîne, soit leur destruction, soit le blocage ou le ralentissement de leur multiplication à l'intérieur de la plante-hôte sans modifier significativement la croissance de celle-ci.

Le traitement par la chaleur des plants de Vigne infectés par le virus du court-noué permet de les débarrasser entièrement de la présence du virus (GALZY, 1964 ; RIVES, 1970).

Lorsque les plantes renferment d'autres virus, notamment ceux de l'enroulement et de la nécrose des nervures, l'action de la chaleur est moins efficace. Ainsi des plantes enroulées testées par indexage après thermotraitrement montrent une guérison totale : il y a donc dans ce cas destruction du virus ; par contre d'autres plantes enroulées, testées après un traitement identique, extériorisent à nouveau les symptômes de la maladie.

On peut penser, en comparaison avec les résultats obtenus en particulier sur les plantes ornementales (QUAK, 1957 ; HAKKART-QUAK, 1964 HOLLINGS STONE, 1970) et sur les arbres fruitiers (CAMPBELL, 1962) que la thermothérapie associée au prélèvement de fragments apicaux pourrait être chez la Vigne une façon d'éliminer avec une grande efficacité les virus thermorésistants.

La culture de fragments apicaux dans l'intention de sélectionner la zone la plus saine s'avère difficile. La Vigne étant une plante ligneuse, l'enracinement et le développement d'aussi petits fragments sont en général impossibles.

Afin de remédier aux difficultés rencontrées pour faire enraciner sous brouillard des extrémités de tiges prélevées sur des plantes en pots après un traitement thermique, GIFFORD et HEWITT (1961) ont eu l'idée de cultiver des fragments apicaux de 1 à 2 mm de longueur sur un milieu nutritif gélosé enrichi en ajoutant 0,01 mg par litre d'AIA ; seulement 2 p. 100 de ces implants s'enracinent. Des essais plus complets ont été poursuivis par HOEFERT et GIFFFORD (1964) en utilisant une gamme de substances ; les résultats ont été diversement concluants. OTTENWAELTER, HEVIN et DOAZAN (1973) ont amélioré la méthode en prélevant des portions terminales plus grandes de tiges thermotraitées en pots, qui cultivées sur un milieu nutritif gélosé sans apport de substances de croissance s'enracinent dans 82 p. 100 des cas. Ce pourcentage élevé de réussite s'explique sans doute par la taille des fragments prélevés.

A partir de boutures multipliées *in vitro* WOLFSWINKEL (1965) en mettant en culture des méristèmes de 2 mm de longueur sur un milieu liquide contenant 0,001 mg par litre d'ANA a obtenu de 16,8 à 32 p. 100 d'implants enracinés. GALZY (1972) a montré que l'ANA est indispensable à la rhizogenèse de méristèmes à 2 ébauches foliaires de 0,2 mm de longueur chez *Vitis rupestris*. Chez cette même espèce GALZY (1977) a réussi à faire enraciner des méristèmes à 3 ébauches foliaires de 1 mm de longueur cultivés sur un milieu sans substances de croissance mais ayant un rapport $\frac{K^+}{NH_4^+}$ égal à 7 et une faible teneur (0,0024 mg par litre) en nitrate.

A l'ANTAV, où l'on s'occupe de sélection sanitaire, la thermothérapie de nombreuses variétés s'avère obligatoire avant de fournir de nouveaux clones supérieurs aux clones existants.

Afin d'exercer une action efficace sur les clones renfermant des virus thermorésistants (autre que le court-noué) le prélèvement de fragments terminaux de tiges s'avère nécessaire après le passage à la chaleur.

Nous avons pensé tourner la difficulté technique rencontrée par la culture de méristèmes de Vigne en retenant des portions plus grandes de végétal.

MATERIEL ET METHODES

Notre objectif est donc d'augmenter les possibilités d'enracinement et de développement de fragments prélevés sur les plantes en tube à l'issue du thermotraitement et également de simplifier la technique d'excision inhérente à l'isolement d'un méristème de moins de 1 mm de longueur, sans pour autant perdre de vue les exigences sanitaires, c'est-à-dire sélectionner un fragment dont la taille permette de supposer qu'il ne renferme plus de virus.

Dans cet esprit, nous avons prélevé sur des tiges herbacées cultivées *in vitro* les extrémités comportant le bourgeon apical avec sa feuille axillante plus ou moins étalée et un fragment du premier entre nœud allongé. Ces portions, qui ont de 2 à 5 mm de longueur selon le stade de développement de l'extrémité, sont rapidement isolées, sans utilisation de la loupe binoculaire, et constituent les implants initiaux qui seront appelés « boutures apicales ».

Les « boutures apicales » ont été prélevées sur du matériel traité et ayant subi, après le passage à la chaleur, plusieurs multiplications *in vitro* à 21 ° ± 1 °C afin de réunir dès le début de l'expérience le plus grand nombre de tiges herbacées servant à fournir les « boutures apicales ». Malgré tout, chaque tige ne possédant qu'une seule extrémité, il a été difficile de constituer des lots ayant un nombre égal et suffisamment important d'implants initiaux.

Pour tester la capacité rhizogène des « boutures apicales », précédemment définies, nous avons utilisé une variété de *Vitis vinifera* ayant une importance économique dans le Midi : le *Grenache N.* et une variété de porte-greffe très répandue : le *Rupestris du Lot.*

Pour chaque variété, un lot d'implants témoins a été ensemencé sur le milieu de référence : solution minérale de Knop diluée au demi et modifiée par MUR *, micro éléments de BERTHELOT, vitamines de MOREL **, saccharose (15 g par litre), gélose (5 g par litre). Le pH est ajusté à 6,5.

Trois régulateurs de croissance ont été testés vis-à-vis de leur action sur la rhizogenèse : l'acide naphtalène acétique (ANA), l'acide indolacétique (AIA), l'acide indole-butyrique (AB). Chacune de ces substances a été utilisée à la concentration de 10^{-7}M et a été additionnée séparément au milieu de base.

Pour chaque variété un lot d'implants a été ensemencé sur les trois milieux ainsi enrichis. Chaque lot comprend entre 40 et 75 implants. Tous les lots sont placés dans une pièce de culture à 21 ° ± 1 °C et 60 p. 100 d'hygrométrie.

---

* Pour un litre d'eau bidistillée : nitrate de potassium 0,95 g, nitrate d'ammonium 0,36 g, sulfate de magnésium 0,18 g, chlorure de calcium 0,166 g, phosphate monopotassique 0,10 g.

** Thiamine 10^{-6}M, pirydoxine 10^{-6}M, acide nicotinique 10^{-6}M, panthoténate de calcium $^{-6}$M, inositol 10^{-5}M, biotine 10^{-8}M.

L'enracinement des « boutures apicales » a été suivi en comptant à chaque observation le nombre d'implants ayant émis une première racine d'un mm de longueur.

L'enracinement des différents lots est représenté par la distribution des fréquences cumulées du pourcentage des fragments apicaux ayant émis la première racine à chaque observation.

RESULTATS

1) **Cas de clone de** *Vitis vinifera* (fig. 1) :

a — *Milieu de base enrichi par A.N.A. $10^{-7}M$*

L'acide naphtalène acétique en plus de son action rhizogène a montré un fort pouvoir callogène. De nombreux implants présentent à leur base un cal sur lequel apparaissent progressivement des racines disposées perpendiculairement à l'axe de la bouture. De nombreuses racines courtes forment ainsi une figure en étoile.

Lorsque l'implant émet directement des racines sans formation de cal, celles-ci, également disposées radialement, sont grosses, presque tuméfiées et courtes, manifestant donc une croissance en longueur très lente.

b — *Milieu de base enrichi par A.I.A. $10^{-7}M$*

L'émission des racines à la base des implants, sans formation de cals, a été tellement rapide que lors de la première observation, soit 13 jours après la mise en culture, la presque totalité des implants possédait déjà au moins une racine de 1 mm de longueur.

c — *Milieu de base enrichi par A.I.B. $10^{-7}M$*

La base des implants émet des racines, sans formation de cals. Le phénomène débute rapidement pour tendre vers un palier. Les racines possèdent une croissance en longueur normale.

d — *Milieu de référence*

L'apparition de la première racine est relativement lente. Peu de racines se forment par la suite, elles restent petites et courtes ne permettant pas un bon développement de l'implant. Un certain nombre de boutures n'évoluent pas et meurent. Il n'y a jamais de formation de cals.

2) **Cas de clone de** *Vitis rupestris* (fig. 2) :

a — *Milieu de base enrichi par A.N.A. $10^{-7}M$*

Le pouvoir callogène de l'acide naphtalène acétique est encore plus accentué que dans le cas du clone de *Vitis vinifera*. Peu de temps après l'ensemencement la majorité des implants possède un cal. Certains seront capables d'émettre quelques racines à partir du cal, d'autres pas. Aucun implant ne forme de racines sans cal. Les boutures qui n'ont aucune for-

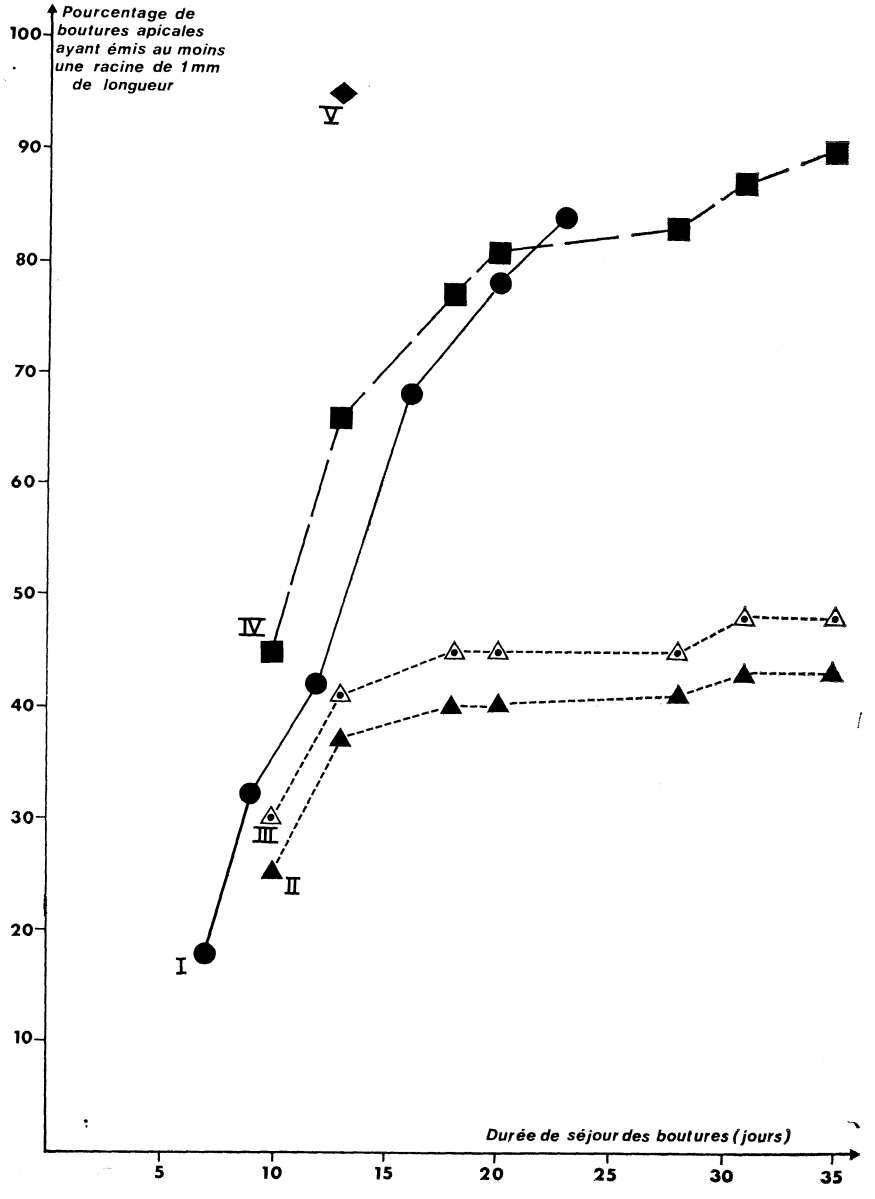


Fig. 1. — Variation du pourcentage de boutures apicales ayant émis au moins une racine de 1 mm de longueur, en fonction de la durée du séjour dans le milieu. Variété Grenache N.

I Milieu de base (50 implants) — Racines
II Milieu de base + ANA (62 implants) — Racines
III Milieu de base + ANA (62 implants) — Cals + Racines
IV Milieu de base + AIB (71 implants) — Racines
V Milieu de base + AIA (43 implants) — Racines

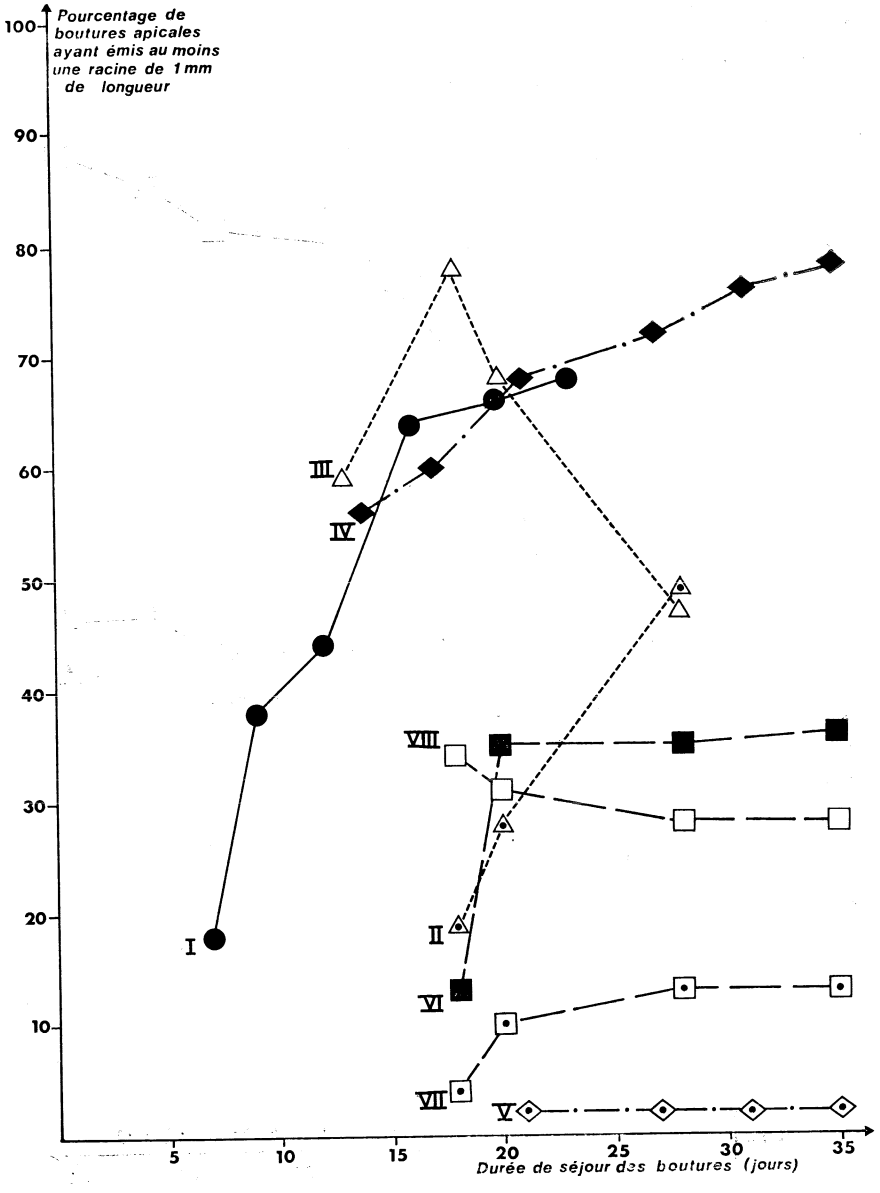


Fig. 2. — Variation du pourcentage de boutures apicales ayant émis au moins une racine de 1 mm de longueur, en fonction de la durée du séjour dans le milieu. **Vitis rupestris** var. Lot.

I Milieu de base (50 implants) — Racines
II Milieu de base + ANA (73 implants) — Cals + Racines
III Milieu de base + ANA (73) implants) — Cals
IV Milieu de base + AIA (50 implants) — Racines
V Milieu de base + AIA (50 implants) — Cals + Racines
VI Milieu de base + AIB (66 implants) — Racines
VII Milieu de base + AIB (66 implants) — Cals + Racines
VIII Milieu de base + AIB (66 implants) — Cals

mation présentent malgré tout un léger gonflement à leur base. Généralement le cal continue de grossir, masquant les racines à croissance réduite lorsqu'elles se forment, et finit par occuper la totalité de la section du tube de culture.

b — *Milieu de base enrichi par A.I.A. $10^{-7}M$*

L'émission des racines est importante et rapide ; elle se fait toujours sans formation de cal, à une exception près.

c — *Milieu de base enrichi par A.I.B. $10^{-7}M$*

L'émission des racines est assez tardive et lente. Une importante formation de cals peut être observée, certains émettent ultérieurement des racines.

d — *Milieu de référence*

Comme dans le cas du clone de *Vitis vinifera,* mais d'une façon plus marquée, un certain nombre de boutures n'évoluent pas et meurent. Lorsqu'il a lieu, l'enracinement est lent et peu important. Il n'y a jamais formation de cals. Ces observations recoupent celles faites par GALZY (1977) sur des boutures de 3 à 4 mm qui s'enracinent de façon irrégulière sur le milieu de référence.

DISCUSSION

L'étude sur la rhizogenèse de portions apicales de Vigne a montré tout d'abord que des implants de 2 à 5 mm de longueur étaient capables de s'enraciner sur le milieu de référence contrairement aux méristèmes. Mais cet enracinement est trop faible pour assurer un développement correct des boutures apicales qui, bien que enracinées, évoluent lentement ou pas du tout ; d'où l'intérêt d'essayer d'acquérir un meilleur enracinement dès le début de la mise en culture des boutures apicales.

L'acide naphtalène acétique a montré un important effet callogène accompagné d'un faible pouvoir rhizogène. Ce résultat est en désaccord avec les conclusions de GALZY qui a obtenu un enracinement satisfaisant avec la même concentration d'ANA. Cette contradiction apparente peut sans doute s'expliquer par la différence de taille des implants de départ. Les méristèmes à 2 ébauches foliaires ayant moins de 1 mm de longueur n'ont pas le même comportement que des portions de végétal, mêmes petites, mais ayant une structure plus complexe. Nos boutures apicales ayant un plus grand nombre de cellules, les phénomènes de corrélation sont différents.

L'enracinement des boutures apicales dans un tel milieu étant nettement inférieur à celui du milieu de référence, et ceci pour les 2 clones utilisés, l'addition d'ANA est donc déconseillée.

La rapidité d'action de l'acide indole acétique, particulièrement nette sur la rhizogenèse du clone de *Grenache,* et son bon comportement sur le clone de *Vitis rupestris* font de cette substance l'agent rhizogène le mieux adapté aux boutures apicales de Vigne.

Si GIFFORD et HEWITT ont obtenu un faible pourcentage de réussite avec l'AIA, cela est sans doute également dû à la taille des implants de départ, et aussi à l'utilisation d'une concentration différente d'AIA.

Pour le clone de *Grenache* l'acide indole butyrique assure un enracinement supérieur par rapport au milieu de référence mais inférieur par rapport au milieu enrichi en AIA. Des essais effectués avec un petit effectif sur trois autres variétés de *Vitis vinifera* donnent des résultats qui vont dans le même sens. L'AIB peut donc être également utilisé pour augmenter la rhizogenèse des boutures apicales de *Vitis vinifera.*

Par contre chez *Vitis rupestris* la faible action rhizogène doublée d'une action callogène de l'AIB font que cette substance est déconseillée pour améliorer l'enracinement des boutures apicales de *Vitis rupestris.*

Deux autres essais portant sur 40 à 50 boutures apicales des deux mêmes clones ont été réalisés, toujours en vue de favoriser leur enracinement.

D'une part, nous avons ajouté au milieu de référence une autre substance de croissance : le 2,4 D à la même concentration de 10^{-7}M. Tous les implants ont répondu de la même façon par l'apparition d'un léger cal formant manchon autour du pétiole de la jeune feuille et également autour du petit fragment d'entre nœud. Il n'y a jamais eu de formation de racines.

D'autre part, en nous inspirant des travaux de VUITTENEZ qui améliore fortement l'enracinement des boutures provenant de l'extérieur lors de leur mise en culture *in vitro* en remplaçant la gélose du milieu de référence par une substance poreuse, nous avons utilisé de la pouzzolane de faible granulométrie à la place de l'agar. L'émission des racines a été très lente et, généralement, seules les boutures apicales les plus grandes ont répondu positivement. La faible taille de l'implant et l'absence de feuille adulte peuvent expliquer la différence des résultats.

L'addition de 2,4 D ou le remplacement de la gélose par une substance poreuse dans le milieu de base ne sont donc pas des moyens favorables à une bonne émission des racines des boutures apicales de Vigne.

CONCLUSION

Cette étude sur la rhizogenèse de boutures apicales de petite taille, issues de plantes *in vitro* de Vigne, en présence de différents régulateurs de croissance a mis en évidence le rôle activateur de l'AIA à la concentration 10^{-7}M. Pour les variété de *Vitis vinifera,* uniquement l'AIB peut également être considéré comme un bon améliorateur.

Les réponses d'enracinement des implants aux diverses hormones auraient peut-être été différentes si nous avions fait varier les concentrations.

Il faut rappeler que ces essais ont été faits à partir de tiges herbacées vigoureuses cultivées *in vitro* à 21 °C, ayant une croissance correcte et portant sans doute des extrémités vigoureuses. Mais si l'on veut se placer dans les conditions correspondant à celles exposées au départ, le prélèvement devrait se faire sur des tiges herbacées sortant du traitement thermique à 35 °C, donc faibles, ayant une croissance ralentie et portant sans doute des extrémités peu vigoureuses. Sur ces dernières, qui sont les boutures apicales normalement utilisées au cours du programme d'élimination des virus, l'action de l'AIA ou de l'AIB est d'autant plus nécessaire. La différence d'enracinement entre les milieux enrichis et le milieu de référence serait plus significative. L'impossibilité d'avoir un tel matériel en grand nombre nous a obligé d'expérimenter à partir de tiges cultivées à 21 °C.

D'autre part, si nous avions utilisé du matériel malade avant thermothérapie les résultats auraient peut-être été moins nets car les plants virosés présentent des exigences nutritives particulières (GALZY), mais l'on peut penser que l'addition d'A.I.A. pourraient être un moyen d'améliorer le développement des boutures de certaines variétés malades dont le maintien en culture *in vitro* à 21 °C s'avère difficile.

Nous n'avons étudié que l'aspect rhizogenèse de la reprise des boutures apicales après bouturage. Mais d'un point de vue pratique il faut savoir que si l'addition de l'AIA ou de l'AIB au milieu de référence favorise grandement l'émission des racines, la croissance de la jeune tige issue de bourgeon terminal est ralentie sur le milieu ainsi enrichi. Aussi, si l'on veut garder et utiliser les tiges issues des boutures apicales il est conseillé de les transplanter après l'émission des premières racines sur un milieu sans substance de croissance. La rhizogenèse étant amorcée, elle se poursuit normalement et la tige se développe correctement. En pratiquant de la sorte, à l'ANTAV, nous guérissons avec un pourcentage élevé de réussite de nombreuses variétés atteintes des principales viroses de la Vigne (autre que le court-noué) que nous multiplions après thermothérapie.

Manuscrit reçu le 4 mai 1979.

RÉSUMÉ

La multiplication végétative de la vigne cultivée *in vitro* à partir de boutures à un œil ayant 1 cm de longueur ne présente aucune difficulté technique. Par contre la propagation d'implants de plus petite taille s'avère délicate et aléatoire. Or l'élimination durable de virus thermorésistants nécessite le prélèvement (à la fin du thermotraitement) de très petites parties terminales de tiges.

Des « boutures apicales » de 2 à 5 mm de longueur de *Vitis Vinifera,*

variété Grenache N. et de *Vitis Rupestris,* variété Lot ont été mises en culture sur un milieu de base additionné de diverses substances de croissance. L'AIA à la concentration 10^{-7}M s'est révélé le régulateur favorisant le mieux la rhizogenèse des « boutures apicales ». Le transfert des « boutures apicales » enracinées sur le milieu de référence facilite leur croissance.

SUMMARY

Vegetative multiplication of vine grown *in vitro* from one-eyed-cuttings one centimeter long, does not present any technical difficulty. On the other hand, propagation of smaller implants is difficult and (random). The trouble is durable elimination of thermoresistant virus needs picking up (at the end of heat treatment) very small shoot tips.

Apical cuttings of *Vitis Vinifera,* var. Grenache N. and of *Vitis Rupestris,* var. Lot two or five millimeters long are grown on a standart medium in which different growing substances are added. AIA at the concentration of 10^{-7} M increases the best rhizogenesis of apical cuttings. The transfer of rooted cuttings upon the standart medium makes their growth easier.

ZUSAMMENFASSUNG

Die vegetative Vermehrung der *in vitro* kultivierten Weinrebe aus einäugigen Ablegern von 1 cm Länge bietet keinerlei Schwierigkeiten technischer Art. Hingegen jedoch erweist sich die Vermehrung von kleineren Stecklingen aus schwierig und ungewiss. Doch erfordert gerade die dauerhafte Eliminierung von thermoresistenten wien das Abschneiden (zwecks) Ende Wärmebehandlung der äussersten Spitzen sehr kleiner Stengel.

« Spitzenstecklinge » von 2-5 cm Länge der *Vitis vinifera,* Varietät Grenache N. und der *Vitis Rupestris,* Varietät Lot, sind auf einer mit diversen Nährsubstanzen angereicherten Gundlage kultiviert worden. AIA bei einer Konzentration von 10^{-7} M hat sich als der Regulator erwiesen, welcher am besten die Wurzelbildung der « Spitzenstecklinge » begünstigt. Das Umpflanzen von « Spitzenstecklingen », die auf der Referenzunterlage Wurzel gefasst haben, begünstigt deren Wachstum.

RESUMEN

La multiplicación vegetativa de la vid cultivada « *in vitro* » a partir de estquillas con un ojo o botón de 1 cm de longitud, no presenta ninguna dificultad técnica. Sin embargo, la propagación durable de virus termoresistentes, necesita la toma de muestras (al final del termatratamiento) de muy pequeñas partes terminales de (pampanos) tallos.

Las « estaquillas apicales » de 2 a 5 mm de longitud de *Vitis vinifera,* variedad Grenache N y de *Vitis rupestris,* variedad Lot, se han cultivado sobre un medio base adicionado de diversas substancias de crecimiento. AIA a concentracion de 10^{-7} M, es el regulador que mejor favorece la rizogénesis. Trasplantar estas « setaquillas apicales » arraigadas sobre el medio de referencia, facilita su desarrollo.

RIASSUNTO

La molteplicazione vegetativa della vite coltivata *in vitro,* da piantoni ad

un'occhio, lunghi un centimetro, non presentono nessuna difficoltà tecnica. Invece la propagazione d'impianti più piccoli sembra delicata ed aleatoria. Però l'eliminazione durabile di virus termoresistenti impone il prelevamento (in fine di termotratamento) di parti terminali di gambi piccolissimi.

« Piantoni apicali », lunghi due o cinque milimetri, di *Vitis Vinifera,* varietà Grenache N. e di *Vitis Rupestris,* Lot, sono stati posti in coltura su un mezzo di base con diverse sostanze di crescenza. L'AIA con la concentrazione 10^{-7} M s'è rivelata il regulatore che favoriva il meglio la rhizogenesi dei « piantoni apicali ». Il trasferimento dei « piantoni apicali » radicati su un mezzo di riferimento facilita la loro crescenza.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

BERTHELOT A., 1934. Nouvelles remarques d'ordre chimique sur le choix des milieux de culture naturels et sur la manière de formuler les milieux synthétiques. *Bull. Soc. Chim. Biol.,* 16, 1553-1557.

CAMPBELL A.I., 1962. Techniques used in the inactivation of some apple virus — apple virus inactivation by heat therapy and tip propagation. *A.R. Long Asthon Agric. hort. res.,* 73 - 76 - *Nature,* 195-520.

GALZY R., 1964. Technique de thermothérapie des viroses de la Vigne. *Ann. Epiph.,* 15(3), 245-256.

GALZY R., 1972. La culture *in vitro* des apex de *Vitis rupestris. C.R. Acad. Sci.,* 271, 210-213.

GALZY R., 1977. Recherche d'un milieu minéral permettant la culture *in vitro* des apex de *Vitis rupestris* comportant trois ébauches foliaires. *La culture des tissus et des cellules des végétaux,* Masson, 134-146.

GIFFORD E.M. et HEWITT W.M.B., 1961. The use of heat therapy and *in vitro* shoot tip culture to eliminate fanleaf virus from the grapevine. *Am. J. Enol. Vitic.,* 12, 129-130.

HAKKAART F.A. - QUAK F., 1964. Effect of heat treatment of young plants on freeing chrisanthemum from virus B by means of meristem culture. *New J. Plant Path.,* 70. 154-157.

HOEFERT et GIFFORD E.M., 1964. Growth *in vitro* of excised stem tips of *Vitis vinifera. Am. J. Bot.,* 51, 677.

HOLLINGS STONE, 1970. Attemps to eliminate chrysanthemum Stunt from chrysanthemum by meristem-tipculture after heat treatment. *Ann. Appl. Bio.,* 65, 311-315.

OTTENWAELTER M.M., HEVIN M., DOAZAN H.P., 1973. Amélioration du rendement du bouturage des extrémités après thermothérapie sur plantes en pots par l'utilisation de la culture sur milieu nutritif gélosé stérile. *Vitis,* 12, 46-48.

QUAK F., 1957. Meristem culture combined with heat treatment in order to obtain virus free carnation plants. *Tydschrift Planteziekten,* 63, 13-14.

RIVES M., 1970. Complete cure of a whole plant of *Vitis rupestris* cv du Lot (St Georges) of grapevine by thermotherapy. *Plant Disease Rep.,* 54 (11), 915-916.

VUITTENEZ A., 1974. Tests virologiques et régénération par thermothérapie, deux voies complémentaires pour la production de plants de Vigne sans virus. *Colloq. Intern. Mult. de la Vigne,* Dijon, 34, 40.

WOLFSWINKEL L.D., 1965. Tissue culture as a possible means to healthier grape propagation material. *Proc. Int. Conf. Viruses. Davis — Calif.,* 318-322.