Journal International des Sciences de la Vigne et du Vin, 1995, **29**, N°1, 1-9

UNE MÉTHODE D'IRRADIATION AUX RAYONS GAMMA APPLIQUÉE A DES PORTE-GREFFES DE VIGNE *IN VITRO*[1]

GAMMA-RAY MUTAGENESIS ON GRAPEVINE ROOTSTOCKS CULTIVATED *IN VITRO*[1]

A. LIMA DA SILVA* et J.P. DOAZAN**

* Departamento de Fitotecnia, UFSC/PIBIO-CNPq, CP 476
88040 Florianopolis, Santa Catarina (Brasil)
** INRA, Station de Recherches de Viticulture, B.P. 81, 33883 Villenave d'Ornon (France)

Résumé : L'efficacité de la mutagenèse induite comme source de variablité génétique a été évaluée sur des vitroplants de deux porte-greffes (Fercal et Gravesac). L'étude comporte les modalités de l'irradiation par rayons gamma ainsi que la façon d'isoler et de caractériser *in vitro* les mutants sur les critères d'activité de croissance et d'intensité de la photosynthèse.

Abstract : The efficiency of γ-irradiation as a tool for breeding grapevine rootstocks was investigated. One-bud cuttings from vitroplants of two varieties (Fercal and Gravesac) were subjected to gamma rays from Cs^{137} source at rates from 10 to 60 Grays (Gy) at intervals of 10. All the parameters observed were affected at 20 Gy and upwards. Varietal susceptibility to irradiation was different since the maximum withstanding dose was 40 Gy for Gravesac and only 30 for Fercal. Besides, shoot development was more lowered than root development. The results showed that an increase of the irradiation dose decreased the rate of survival, the rhizogenesis and the growth of *in vitro* plants. On the V_2 vegetative generation of Gravesac vitroplants changes in size, in leaf form, in plant habits, in growth and chlorophyll deficient mutations were recorded. Moreover, after a 30 Gy irradiation variations of growth, dry weight, leaf area, number of stomata and photosynthesis rates were shown on the V_3 generation. Accordingly this irradiation method is efficient to develop an *in vitro* variability. A sample of the surviving plants was established in the greenhouse for further screening.

Mots clefs : irradiation - porte-greffes - vigne - culture *in vitro*
Key words : irradiation - rootstocks - grapevine - *in vitro* culture

INTRODUCTION

La mutagenèse induite est une technique exploitée sur les végétaux afin d'obtenir des variations génétiques et de permettre une amélioration variétale. Cette voie offre de nombreuses possibilités chez les espèces à multiplication végétative (BROERTJES et HARTEN, 1988) parmi lesquelles, des espèces fruitières (DECOURTYE et LANTIN, 1971 ; LAPINS et HOUGH, 1970 ; RENAUD, 1981) et de très nombreuses plantes ornementales (DECOURTYE, 1978 ; CADIC et *al.*, 1980 ; DURON et DECOURTYE, 1986 ; BROERTJES et HARTEN, 1988) ont pu être améliorées.

Le principal avantage de ce procédé réside dans l'acquisition rapide de résultats intéressants. En effet, d'après BROERTJES et *al.* (1976), DECOURTYE (1978a), BROERTJES et HARTEN (1988) on peut considérer, tout au moins en première approximation, qu'un nombre très restreint de caractères a pu être modifié par mutagenèse et que le mutant conserve les principales aptitudes génétiques de la variété d'origine.

La difficulté primordiale, après l'application d'un traitement mutagène sur des massifs méristématiques, demeure l'isolement de mutants stables, non chimériques, c'est-à-dire dérivant du phénomène mutationnel monocellulaire. La situation idéale serait d'appliquer directement le traitement aux cellules permettant la régénération des plants. Des résultats importants ont été obtenus sur des bourgeons adventifs (BROERTJES et *al.*, 1976 ; CADIC et *al.*, 1980) pour lesquels les mutants sont généralement homogènes.

[1]Communication faite au 6ième Symposium International sur l'Amélioration de la Vigne, à Yalta (Crimée), Ukraine, du 4 au 10 septembre 1994

Plusieurs auteurs comme DECOURTYE (1979) ; BROERTJES et HARTEN (1988) ; CAMBECEDES (1992) utilisent ou préconisent l'emploi d'explants cultivés *in vitro*. Le principal intérêt de cette propagation végétative réside dans la diminution des dimensions de la cible. La taille et le nombre des cellules méristématiques des vitroplants sont nettement plus réduits que ceux des méristèmes de plants cultivés sur le terrain. La réduction des bourgeons axillaires est encore plus marquée (DURON et DECOURTYE, 1977 ; BERNARD et MUR, 1979). De plus, ces structures simplifiées ne sont pas recouvertes par des ébauches foliaires ou des écailles protectrices; ce qui facilite la pénétration des mutagènes chimiques (DECOURTYE, 1978b).

Aussi, il est vraisemblable que les organes cultivés *in vitro*, associés à l'utilisation d'agents mutagènes, peuvent permettre un progrès sensible dans l'amélioration des espèces comme le montrent les travaux de DURON et DECOURTYE (1986), ROEST et BOEKEMANN (1980), WALTER et SAUER (1986), BROERTJES et HARTEN (1988), sur de nombreuses espèces ornementales ou fruitières. Cependant pour la vigne, mis à part le travail de ROSATI et *al.* (1991), les recherches associant la mutagenèse induite et la culture *in vitro* sont limitées.

Nous rapportons ici une méthodologie de traitement mutagène par rayonnement gamma, d'isolement et de caractérisation de mutants obtenus sur des porte-greffes de vigne.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

I — MATÉRIEL VÉGÉTAL

Les porte-greffes utilisés sont le Gravesac et le Fercal. Ces deux variétés sont des créations de l'INRA (Station de Recherches de Viticulture de Bordeaux). Leur généalogie est respectivement, *161-49C x 3309C et BC n° 1 x 333 EM.*

II — CULTURE *IN VITRO*

Les deux variétés considérées ont été mises en culture au mois de juillet 1992 par microbouturage herbacé (GALZY, 1961), dans un milieu nommé DSD1 (DA SILVA/DOAZAN) et contenant (en mg/l), NH_4NO_3 100, KNO_3 1000, $MgSO_4.7H_2O$ 180, KH_2PO_4 100, $Ca(NO_3)_2.4H_2O$ 500, $MnSO_4.4H_2O$ 1,2, H_3BO_3 1, $ZnSO_4.7H_2O$ 1, $FeSO_4.7H_2O$ 27,5, Na_2.EDTA 37,5, $CuSO_4.5H_2O$ 0,025, $CoCl_2.6H_2O$ 0,025, Pyridoxine 1, Thiamine 1, Acide Nicotinique 1, Myo-Inositol 10, Saccharose $20x10^3$, Agar-agar $7x10_3$, pH 6,4. Ce milieu a été mis au point afin d'assurer une propagation optimale des porte-greffes. Les repiquages successifs se font dans des tubes de 22 x 220 mm contenant 15 ml de milieu DSD1. Le système de fermeture des tubes est constitué d'un capuchon qui ne limite pas les échanges gazeux. La chambre de culture est réglée pour une photopériode de 16 h. Le rayonnement (PFD) est de 100 $\mu molm^{-2}s^{-1}$, l'humidité relative de 45-60 p. cent et la thermopériode de 25°C le jour, et 20°C la nuit. La concentration en CO_2 est de 500-550 ppm, en moyenne.

III — IRRADIATION

Des vitroplants de 60 jours sont utilisés dans toutes les expériences de mutagenèse.

Avant chaque application, les plants présentant 10 à 11 entre-noeuds sont sélectionnés suivant l'homogénéité de leur développement. En raison de la faible épaisseur du matériel végétal, les tiges, sans feuilles ni racines, sont placées dans une boite de Plexiglas de 0,5 cm d'épaisseur, de façon à assurer l'équilibre électronique du rayonnement (DURON et DIXON, 1982 ; DURON et DECOURTYE, 1986). Les irradiations ont été effectuées à l'aide d'une source de Cs^{137} (Département de Recherches Biophysiques de l'Université Bordeaux II). Les doses délivrées sont comprises entre 10 et 60 Gy. Après le traitement, les tiges sont fractionnées en microbouture à un bourgeon axillaire. Elles sont ensuite mises en culture pendant deux mois.

L'ensemble des mesures morphologiques et physiologiques, permettant de caractériser les effets des radiations sur le développement des plantes, a été enregistré 60 jours après mise en culture.

IV — MÉTHODE D'ISOLEMENT DES MUTANTS

En étudiant les structures morphologiques des bourgeons à irradier et la phyllotaxie de l'espèce en culture *in vitro*, un principe d'isolement des mutants est développé pour la vigne, de façon à avoir le maximum de chance de conserver un secteur mutant obtenu par une irradiation d'efficacité maximale.

Ce type de méthode a déjà été exploré par plusieurs auteurs, principalement sur les arbres fruitiers (DECOURTYE et LANTIN, 1971 ; DONINI, 1975 ; LACEY et CAMPBELL, 1979 ; RENAUD, 1981) et les plantes ornementales *in vivo* (CADIC et *al.*, 1980) et *in vitro* (CAMBECEDES, 1992).

Différents auteurs (NOZERAN et BANCILHON, 1972 ; BERNARD et MUR, 1979 ; GRENAN, 1982) ont déjà démontré que la vigne cultivée *in vitro* fournit des individus chez lesquels seuls les caractères juvé-

niles sont représentés. La tige miniaturisée ne porte pas de vrilles et les feuilles sont disposées selon une phyllotaxie spiralée de 2/5.

Sur ces vitroplants, les bourgeons axillaires sont très petits et comportent un nombre restreint d'ébauches méristématiques. Des observations histologiques, sur la variété Gravesac, nous ont permis de dénombrer de 2 à 3 primordium foliaires. Ces résultats sont en accord avec ceux de BERNARD et MUR (1979).

Afin d'isoler le maximum de mutants sectoriels (provenant d'une cellule mutée), nous avons donc choisi de multiplier, à partir de la zone néoformée de la génération V1, l'apex et les cinq premiers bourgeons de la base des pousses (phyllotaxie juvénile 2/5, « *in vitro* »). Nous avons constitué ce que nous appelons des familles, c'est-à-dire la génération végétative 2 (V_2). De plus, nous avons micropropagé et intégré dans la méthode d'isolement, les bourgeons axillaires des pousses préformées.

Le protocole utilisé pour l'ensemble des opérations d'irradiation, de propagation par microbouturage et d'isolement des mutants issus du fonctionnement d'un bourgeon irradié est présenté dans la figure 1.

Les vitroplants de la génération V_2 sont suivis pendant toute la période expérimentale. Une partie des plantes obtenues est multipliée pour des essais de caractérisation *in vitro* sur la génération V_3, au travers de paramètres morphologiques et physiologiques. L'autre partie est transplantée sur un substrat horticole constitué de perlite/sable/tourbe (1:1:1) et acclimatée en mini serre pendant 40 jours. Les plants survivants sont ensuite transférés en serre et intégrés dans un programme de sélection des porte-greffes de vigne.

V — CARACTÉRISATION *IN VITRO* DES MUTANTS

Pour caractériser des mutants, nous avons réalisé des mesures de croissance, de poids sec, de densité stomatique sur des feuilles et de photosynthèse. Elles ont été faites sur des vitroplants de la variété Gravesac et des mutants de la génération V_3, obtenus après une irradiation de 30 Gy. Quatre d'entre eux, numérotés 5306, 5327, 5338 et 5339, ont fait objet d'une étude complète. Ils ont montré par rapport à la variété d'origine une croissance et un développement plus faible.

1°) Développement et photosynthèse

Pour l'analyse de la photosynthèse, nous avons utilisé un système de mesure, en circuit ouvert, conçu à la Station de Recherches de Viticulture (HARISCAIN, 1994). Les différences d'assimilation du CO_2 sont mesurées sur huit vitroplants par un analyseur à infrarouge (IRGA) de type ADC-225 MK3. Les expériences sont réalisées à une température de 25°C et pour une PFD de 260 $\mu mol\ m^{-2}\ s^{-1}$. La concentration en CO_2 (50-1000 ppm) est assurée par deux débitmètres et un contrôleur de flux. Les réponses photosynthétiques sont calculées en accord avec l'équation décrite par KOZAI et *al.* (1990).

Ensuite, les vitroplants ont subi des mesures destructives permettant l'évaluation des longueurs des tiges et des racines, des surfaces foliaires et du poids des plants. Les surfaces foliaires sont déterminées par traitement d'image et numération des points noirs sur un système caméra-écran-vidéo.

2°) Densité stomatique

Nous avons prélevé des feuilles en position média-

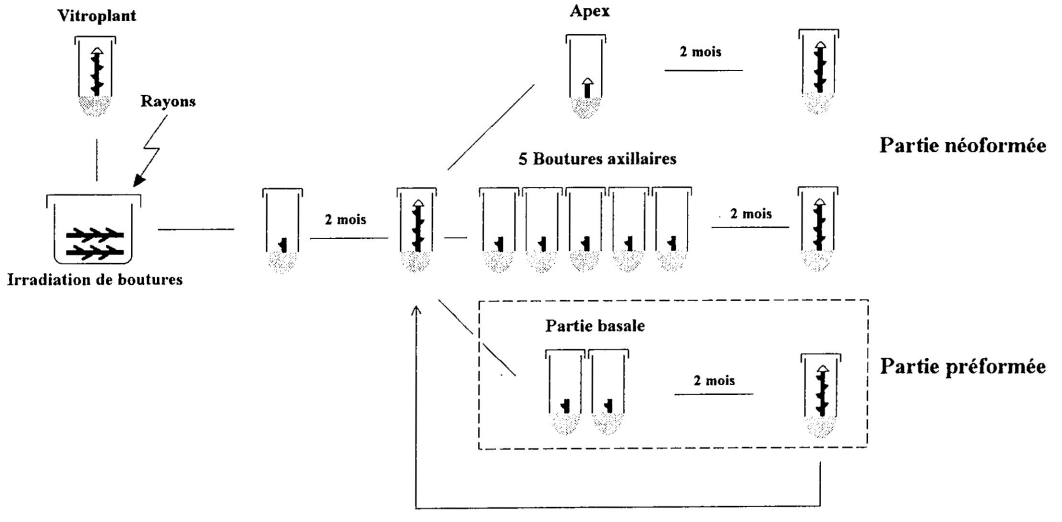


Fig. 1 — Protocole d'irradiation, de propagation et d'isolement des mutants de porte-greffes de vigne

TABLEAU I

Evolution des caractéristiques morphologiques des variétés Gravesac et Fercal en fonction de la quantité de rayonnement gamma reçu - Génération V_1

Doses(1)	Gravesac			Fercal		
	Longueur des tiges(2)	Nombre d'entre-noeuds	Nombre de racines	Longueur des tiges(2)	Nombre d'entre-noeuds	Nombre de racines
Témoin	13,60	9,8	4,2	8,72	9,8	2,8
10	10,94	7,7	3,3	7,66	6,5	2,3
20	6,17	4,8	2,5	4,40	4,2	1,5
30	5,83	5,0	2,2	0,63	1,0	1,3
40	2,30	2,8	1,1	—	—	0,5
50	—	—	1,4	—	—	—

(1)Doses en Gy
(2)Longueur des tiges en cm (mesures effectuées dans les tubes de culture, à 60 jours)

ne, soit la cinquième feuille étalée à partir de l'apex. Les échantillons analysés sont obtenus par une méthode d'empreinte/prélèvement de l'épiderme, en utilisant du vernis à ongle étalé et séché sur la région du limbe située entre les nervures L1 et L2. Les observations ont été faites au moyen d'un microscope optique (OLYMPUS BH-2), sous un grossissement de 200 fois. La densité stomatique a été évaluée sur 8 feuilles par traitement et dix comptages par objet, à différents endroits.

Nous avons soumis les données obtenues à des tests statistiques d'analyse de variance et de comparaison des moyennes (logiciel STATITCF).

RÉSULTATS ET DISCUSSION

I — TAUX DE SURVIE, D'ENRACINEMENT ET DE CROISSANCE *IN VITRO* DES BOURGEONS IRRADIÉS

La survie, l'enracinement et le développement *in vitro* ont été enregistrés sur trois séries d'irradiations pour le Gravesac et deux pour le Fercal. Pour chaque traitement, nous avons utilisé 40 microboutures.

Nous adoptons comme définition de la survie, le pourcentage de bourgeon ayant développé une tige, 60 jours après l'irradiation.

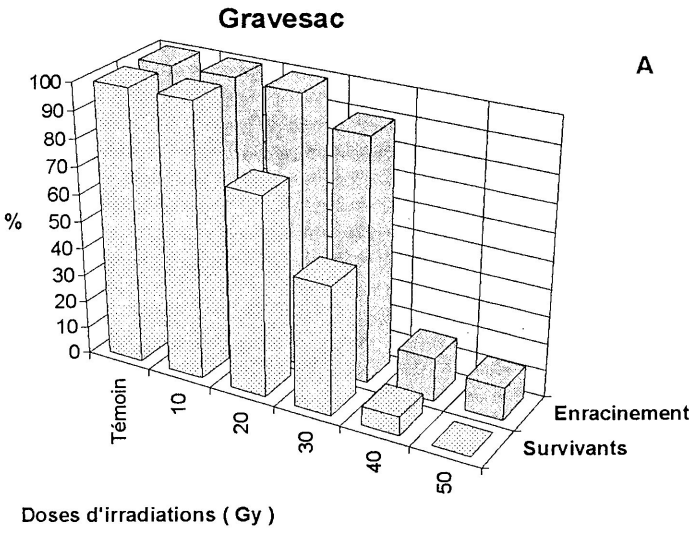
L'observation de la génération V_1 nous a permis de repérer et de noter de fortes manifestations de retard du débourrement et de réduction du développement allant jusqu'à une mortalité accrue des bourgeons. En même temps, nous avons trouvé des anomalies morphologiques comme des déformations foliaires, des fasciations et des gonflements de tiges. Nous avons également remarqué la formation de vrilles, ce qui implique une altération de la phyllotaxie *in vitro*. Ces observations sont en accord avec les travaux de GOMEZ-CAMPO et CASAS-BUILLA (1972), RENAUD (1981), WALTER ET SAUER (1986), CAMBECEDES (1992). Pour DECOURTYE et LANTIN (1971), DECOURTYE (1978), BROERTJES et HARTEN (1988), ce sont des anomalies primaires de nature non génétiques mais reflétant des dommages subis par le méristème. Les analyses permettant de repérer des mutations doivent donc être réalisées sur la deuxième génération végétative (V_2) et *a posteriori*.

Les premiers effets des radiations (réduction de la longueur des tiges, du nombre d'entre-noeuds et de racines) se manifestent à partir de 10 Gy (tableau I). Cependant, la modification des taux de survie et d'enracinement n'apparaît qu'à 20 Gy (figure 2A et 2B). A cette dose, la réduction du développement varie de 41 à 57 p. cent pour les deux variétés.

Nous avons constaté une différence de sensibilité des deux variétés au rayonnement gamma. Le critère de radiosensibilité est établi par la dose permettant la survie et le développement de 50 p. cent des vitroplants au soixantième jour après l'irradiation (Dose Létale 50). La DL50 se situe pratiquement à 30 Gy, pour la

variété Gravesac, et à 20 Gy, pour le Fercal (figure 2A et 2B). Cette différence peut être attribuée à la sensibilité spécifique du génotype et liée au rythme de croissance et au nombre de cellules apicales (DE NETTANCOURT et DEVREUX, 1969), ou bien à une capacité variable des mécanismes de réparations de l'ADN, après l'irradiation.

Les doses de radiosensibilité variétale et la gamme d'irradiation pour les deux variétés sont en accord avec les résultats de WALTHER et SAUER (1986), ROSATI et *al.* (1991), CAMBECEDES (1992), respectivement, pour le Rosier, la Vigne et le Lonira cultivé *in vitro*.



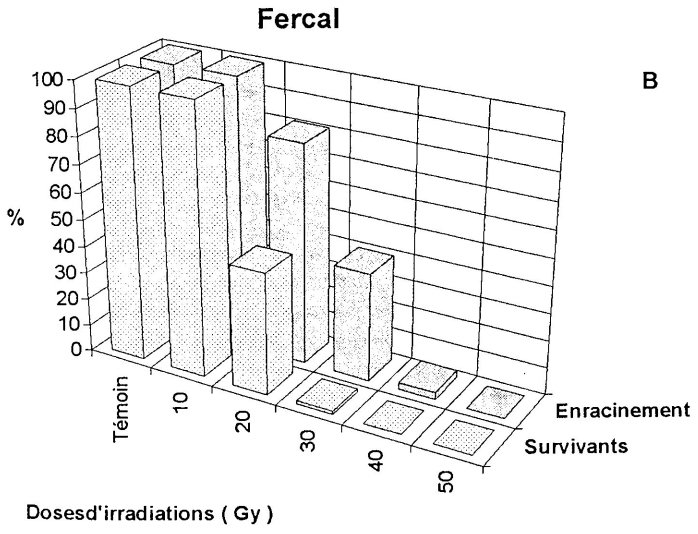


Fig. 2 — Pourcentage d'enracinement et de survivants en fonction du rayonnement reçu (plants de 60 jours)
A) variété Gravesac
B) variété Fercal

Nous constatons une diminution croissante du pourcentage d'enracinement en fonction du rayonnement reçu (figure 2A et 2B) ; néanmoins, il demeure supérieur au taux de survivants pour les deux porte-greffes. Ces résultats montrent que la rhizogénèse est moins perturbée, moins sensible aux effets des radiations. Aussi, la dose mortelle pour les racines diffère de celle des méristèmes. Ces observations sont en accord avec celles de TOMASZEWSKI et *al.* (1988), travaillant avec *D. glomerata in vitro*. Parallèlement, nous avons retrouvé des différences de radiosensibilité entre les deux variétés ; le Fercal étant toujours le plus sensible.

II — DÉVELOPPEMENT ET ACTIVITÉ PHOTOSYNTHÉTIQUE DE MUTANTS DE LA VARIÉTÉ GRAVESAC

La méthode d'isolement des mutants a été appliquée sur la génération V_1 de la variété Gravesac, en créant des familles (V_2), qui ont été suivies pendant la période expérimentale de 60 jours. Le but est de repérer des mutants de vigueur faible et de vérifier la possibilité de les trier suivant des paramètres morpho-physiologiques.

Les observations menées sur les familles provenant des traitements à 10 et 20 Gy, ont révélé quelques manifestations visuelles de ralentissement de la croissance, de changement de forme et de couleur des feuilles et de réduction de l'enracinement. La dose de 40 Gy nous a donné un nombre réduit de familles avec des plants de faible développement, en relation certainement avec une forte létalité des cellules des centres de régénération et de croissance.

L'importance de la variabilité a été plus manifeste pour le traitement à 30 Gy. Les familles ont montré des écarts très marqués de croissance des plants (longueur des tiges), d'enracinement (nombre et longueur de racines) et de surface foliaire (forme et taille). Certaines ont perdu leur dominance apicale ou ont donné des mutations chlorophylliennes. Les familles à 30 Gy ont été repiquées, en créant la génération V_3, pour vérifier la stabilité des mutations et multiplier le matériel végétal afin de réaliser des essais de caractérisation.

1°) Mesure du développement

L'allongement des tiges de ces familles présente des écarts importants et significatifs par rapport à la variété d'origine (figure 3). On peut notamment distinguer, en fonction de ce critère, un premier groupe de trois familles supérieures au témoin (5325, 5329 et 5328) et un second groupe de six familles inférieures (5306, 5339, 5338, 5316, 5314 et 5327). Pour ce dernier ensemble, la réduction de croissance a atteint jusqu'à 50 p. cent.

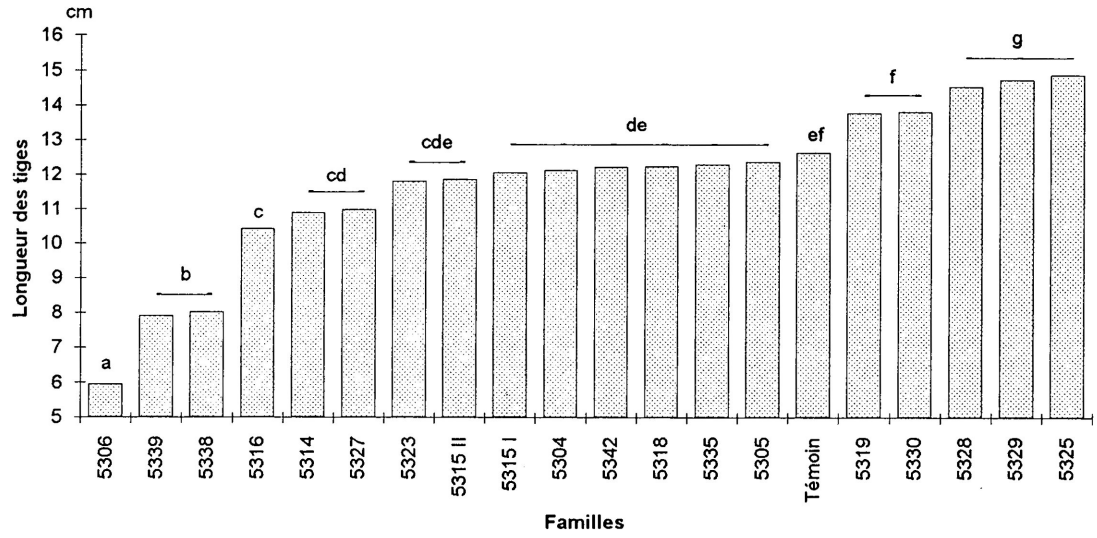


Fig. 3 — Variation de la croissance des tiges de différentes familles des mutants de la variété Gravesac obtenues pour une irradiation de 30 Gy - Génération V_3 (plants de 60 jours)

Cette variabilité de la vigueur sur la génération V_3, estimée par la croissance des tiges, est en accord avec les résultats de DECOURTYE (1978) ; RENAUD (1981) ; CADIC et *al.* (1980) sur le terrain ; WALTER et SAUER (1986) « *in vitro* ». Pour ces auteurs, les mutations les plus couramment observées affectent le développement, c'est-à-dire la vigueur et le port des plants. Les traitements mutagènes se sont avérés efficaces pour provoquer l'apparition de mutants de vigueur faible (CADIC et *al.*, 1980). Pour DECOURTYE (1979), tous les écarts par rapport au témoin ne se maintiennent pas toujours dans les multiplications ultérieures. Pour le pommier, sur 37 mutants de la vigueur, 30 se confirment au cours des multiplications successives.

Les différences significatives de la croissance des mutants de la génération V3 ont été rapportées à d'autres critères morphologiques et physiologiques pour quelques familles caractéristiques (tableau II).

Nous avons constaté que le caractère « vigueur faible » se maintient. Les radiations ont provoqué des modifications génétiques qui s'expriment par une réduction significative, par rapport au témoin, de 1,17 à 1,95 fois pour la longueur des tiges, de 1,56 à 3,11 fois pour le poids sec et de 1,60 à 3,14 fois pour la surface foliaire. Nous attendons des évaluations en serre pour effectuer une étude complète de leurs comportements sous différentes ambiances.

Tous les mutants ont présenté une réduction de 9 à 82 p. cent de la densité stomatique (tableau II). Les valeurs obtenues sont en accord avec les limites citées par SCIENZA et BOSELLI (1981) pour différents porte-greffes de vigne, en serre et en champ.

Plusieurs auteurs comme BARXOLINI et *al.* (1979) sur l'olivier, BERYL BEAKBANE et MAJUMDER (1975) ; PATHAK et *al.* (1976) sur le pommier ont déjà démontré la possibilité d'utiliser les stomates comme éléments taxinomiques dans le but de trier précocement de nouveaux génotypes en relation avec la vigueur.

Il n'apparaît pas jusqu'ici de corrélation entre la densité stomatique des mutants et leur croissance *in vitro*. Ayant pris en compte la forte réduction du nombre de stomates, d'autres études sont envisagées pour évaluer leurs caractéristiques morphologiques (dimensions, surface de l'ostiole et totale, etc.). La connaissance de ces paramètres pourra sûrement nous apporter des informations afin de rechercher un marqueur précoce de sélection, d'autant plus que la fréquence et les dimensions stomatiques sont des caractères hautement héréditaires.

2°) Mesure de la photosynthèse

L'objectif de la mesure *in vitro* de la photosynthèse est de faire un bilan de la capacité photosynthétique des mutants (flux unique de 350 ppm de CO_2) et de le comparer à des mesures analogues en serre, en vue d'établir un test précoce de sélection *in vitro*.

Nous avons observé des écarts importants de l'assimilation photosynthétique par plant (figure 4). Ces résultats sont corrélés avec la croissance des vitroplants. En exprimant la photosynthèse par unité de surface foliaire, nous avons constaté une efficacité de l'assimilation des mutants supérieure ou égale à celle du témoin (figure 4).

TABLEAU II

Caractéristiques morpho-physiologiques d'une série de mutants de la variété Gravesac sélectionnés après une irradiation à 30 Gy - Génération V_3 (plants de 60 jours)

	Gravesac			
	Longueur des tiges (cm)	Poids sec (mg)	Surface foliaire (cm^2)	Densité stomatique (Nbre/mm^2)
Témoin	13,63 a[1]	72,40 a	27,99 a	200,30 a
5306	6,98 e	23,24 d	8,92 c[2]	183,62 b
5327	11,73 b	46,03 b	17,54 b	122,99 c
5338	9,80 c	31,16 c	9,67 c	109,68 d
5339	8,66 d	45,03 b	13,38 bc	143,31 e

[1]Les valeurs suivies des mêmes lettres ne différent pas statistiquement selon le test de Newman-Keuls au seuil de 5 p. cent
[2]50 p. cent de feuilles mortes

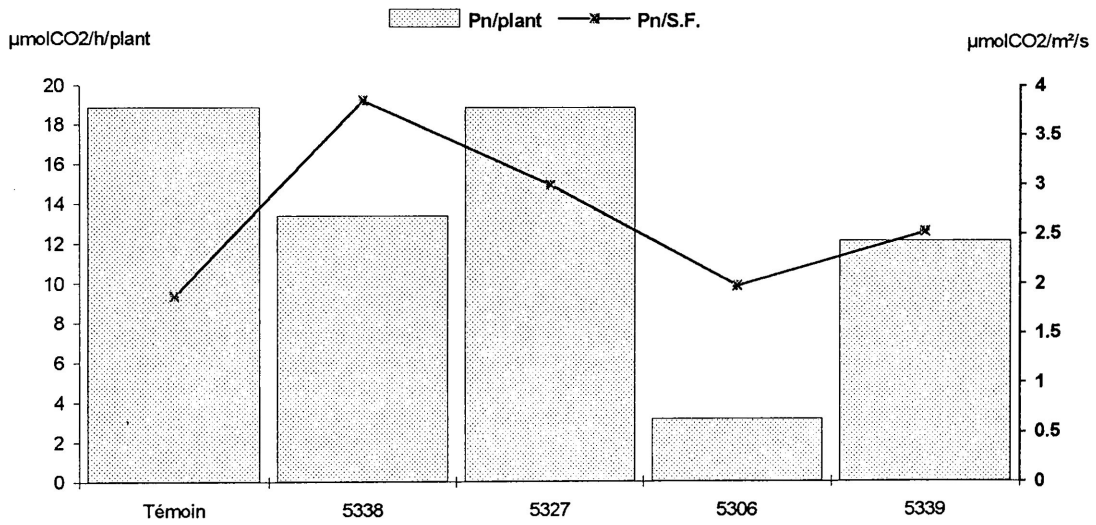


Fig. 4 — Réponses photosynthétiques de différents mutants de la variété Gravesac obtenus pour une irradiation de 30 Gy - Génération V_3 (plants de 60 jours)

Cependant, étant donné le développement inférieur de tous les mutants, nous pouvons supposer qu'ils sont affectés par des modifications physiologiques ne leur permettant pas d'assurer une croissance au moins comparable à celle de la variété d'origine. Ainsi, le mutant 5306 présente des feuilles partiellement nécrosées, n'assurant que peu de temps leur fonction photosynthétique (50 p. cent de feuilles mortes à 60 jours). En comparaison, nous avons observé que la photosynthèse *in vitro* est plus faible que celle de plants en serre. Ces résultats sont en accord avec ceux d'IACONO et *al.* (1992)

Ces résultats préliminaires sont intéressants pour envisager le développement d'études complémentaires en vue d'établir un test précoce de sélection, en liant la vigueur et des paramètres physiologiques sur les échanges gazeux.

CONCLUSION

La mutagenèse induite liée à la culture *in vitro* offre d'importantes possibilités pour la création de variabilité chez la vigne.

L'irradiation gamma et la méthode d'isolement *in vitro* nous ont permis de différencier des mutants dont les aptitudes de croissance sont variées.

Les mesures d'échanges gazeux *in vitro* sont efficaces pour caractériser les comportements photosynthétiques de la variété Gravesac et de ses mutants. Cependant, pour développer un test précoce de sélection, il faut poursuivre des recherches complémentaires.

Remerciements :

Ce travail a été effectué dans le cadre d'une convention de recherches avec le Comité Interprofessionnel du Vin de Bordeaux.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

BARXOLINI G., ROSELLI G., et DI MILLA G., 1979. Relazione tra densità stomatica e vigore dell'olivo. *Rev. Ortoflor.*, **63**, 391-398.

BERNARD A.C. et MUR G., 1979. Observations sur l'organogenèse des bourgeons de plants de *Vitis vinifera* cultivés *in vitro*. *Ann. Amélior. Plantes*, **29**, 311-323.

BERYL BEAKBANE A. et MAJUMDER P.K., 1975. A relationship between stomatal density and growth potential in apple rootstocks. *J. Hort. Sci.*, **50**, 285-289.

BROERTJES C. et HARTEN A.M., 1988. *Applied mutation breeding for vegetatively propagated crops*. Elsevier Science Publishers B.V., 345 p.

BROERTJES C., ROEST S. et BOKELMANN G.S., 1976. Mutation breeding of *Chrysanthemum morifolium* Ram. using *in vivo* and *in vitro* adventitious bud techniques. *Euph.*, **25**, 11-19.

CADIC A., MARTIN D. et RENOUX A., 1980. Amélioration du forsythia par mutagénèse. *Rev. Hortic.*, **204**, 13-19.

CAMBECEDES J., 1992. Méthodologie de la mutagénèse *in vitro* du genre *Lonicera*. Organogénèse et caractérisation de mutants. *Thèse de Doctorat*, Université d'Angers, Angers, 135 p.

DE NETTANCOURT D. et DEVREUX M., 1969. The relationship of growth-rate and apical size to differences in the radiation responses of closely related genotypes of tomatoes. *Rad. Bot.*, **9**, 297-311.

DECOURTYE L., 1978. Amélioration du *Weigela* par mutagenèse, recherche d'une méthode. *Ann. Amélior. Plantes*, **28**, 697-707.

DECOURTYE L., 1978a. Utilisation de la mutagenèse pour l'obtention de nouvelles variétés d'arbustes ornementaux. *C.R. Acad. Agric. Fr.*, **64**, 664-669.

DECOURTYE L., 1979b. Réflexions sur le choix des organes à irradier et sur quelques modalités du traitement. *Acta Hort.*, 291-300.

DECOURTYE L. et LANTIN B., 1971. Considérations méthodologiques sur l'isolement de mutants provoqués chez le pommier et le poirier. *Ann. Amélior. Plantes*, **21**, 29-44.

DONINI B., 1975. Induction and isolation of somatic mutations in vegetatively propagated plants. *In : Improvement of Vegetatively Propagated Plants through Induced Mutation*, Tokai, 1974. International Atomic Energy Agency (ed.), Vienna, 35-51.

DURON M. et DECOURTYE L., 1977. Mutagenesis with plantlets of *Weigela* sp. grown *in vitro*. *In : Proceedings of a Workshop, the use of ionizing radiation in agriculture*, Wageningen, 487

DURON M. et DECOURTYE L., 1986. Effets biologiques des rayons gamma appliqués à des plantes de Weigela cv. Bristol Ruby cultivées *in vitro*. *In : Nuclear Techniques and* in vitro *Culture for Plant Improvement*. International Atomic Energy Agency (ed.) Vienna, 103-111.

DURON M. et DIXON B., 1982. Influence de la dose initiale sur l'étendue et la durée de l'effet protecteur induit chez les feuilles de *Saintpaulia ionantha* (Wendl.) irradiées par des rayons gamma. *C. R. Acad. Sc. Paris*, **295**, 185-189.

GALZY R., 1961. Confirmation de la nature virale du court-noué de la vigne et essais de thermothérapie sur des cultures *in vitro*. *C. R. Acad. Sci.*, **253**, 706-708.

GOMEZ-CAMPO C. et CASAS-BUILLA M., 1972. Some effects of ionizing radiation on plant phyllotaxis. *Rad. Bot.*, **12**, 165-172.

GRENAN S., 1982. Quelques réflexions à propos de modifications morphogénétiques consécutives à la culture *in vitro* chez la vigne (*Vitis vinifera* L.). *Ann. Sci. Nat. Bot.*, **13**, n°4, 135-146.

HARISCAIN P., 1994. Essai de mise au point d'un système de mesure de la photosynthèse nette (Pn) de vitroplants (Var. Gravesac). *Mémoire de D.E.A.*, 50 p., Université de Bordeaux II.

IACONO F., DE MICHELI L., CAMPOSTRINI F., FALCETTI M. et MARTINELLI L., 1992. Comparison between photosynthesis and transpiration of *in vitro* cultured plantlets and *in vivo* cultured plants of genus *Vitis*. Implications of transplanting. *In : Proceeding of the IV International Symposium on Grapevine Physyology*, San Michele all'Adige, Italia, 507-511.

KOZAI T., OKI H. et FUJIWARA K., 1990. Photosynthetic characteristic of *Cymbidium* plantlets *in vitro*. *Plant Cell Tissue Cult.*, **22**, 205-211.

LACEY C.N.D. et CAMPBELL A.I., 1979. The positions of mutated sectors in shoots from irradiated buds of Bramley's seedling apple. *Env. Exp. Bot.*, **19**, 145-152.

LAPINS K.O. et HOUGH L.F., 1970. Effets of gamma rays on apple and peach leaf buds at different stages of development II, Injury to apical and axillary meristems and regeneration of shoot apices. *Rad. Bot.*, **10**, n°1, 59-68

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. *Ann. Amélior. Plantes*, **22**, 167-185.

PATHAK R.H., PANDEY D. et PANDEY V.S., 1976. Stomatal distribution as an index for predicting the growth potential of apple stocks. *J. Hort. Sci.*, **51**, 429-431.

RENAUD R., 1981. Mutagenèse artificielle sur le prunier d'ente. Caractères agronomiques de deux mutants sélectionnés. *In : 1ier Colloque sur les Recherches Fruitières*, Bordeaux., 157-168.

ROEST S. et BOKELMANN G.S., 1980. *In vitro* adventitious bud techniques for vegetative propagation and mutation breeding of potato (*Solanum tuberosum* L.). 1. Vegetative propagation *in vitro* through adventitious shoot formation. *Potato Res.*, **23**, 167-181.

ROSATI P., SILVESTRONI O., INTRIERI C.et MURRI G., 1991. Effects of *in vitro* gamma irradiation on two grapevine cultivars (*Vitis vinifera*). *In : Proceeding of the Vième Intern. Symp. on Grape Breeding. Vitis* Special Issue (ed.), 471-477.

SCIENZA A. et BOSELLI M., 1981. Fréquence et caractéristiques biométriques des stomates de certains porte-greffes de vigne. *Vitis*, **20**, 281-292.

TOMASZEWSKI Z. JR., CONGER B.V., BRUNNER H. and NOVAK F.J., 1988. Effects of Gamma radiation on the *in vitro* response of *Dactylis glomerata* leaf segments. *Envir. Exp. Bot.*, **28**, 335-341.

WALTHER F. and SAUER A., 1986. *In vitro* mutagenesis in roses. *Acta Hort.*, **189**, 37-46.

Manuscrit reçu le 19 novembre 1994 ;
accepté pour publication le 2 janvier 1995