

Estimation de la capacité photoautotrophique de vitroplants de porte-greffe de vigne (var. Gravesac): mise au point d'un système de mesure de la photosynthèse nette de vitroplants

par

A. LIMA DA SILVA¹), P. HARISCAIN²), NATHALIE OLLAT²) et J. P. DOAZAN²)

¹) Departamento de Fitotecnia, UFSC/PIBIO-CNPq, Florianópolis, Santa Catarina, Brasil

²) INRA, Unité de Recherches sur les Espèces Fruitières et la Vigne, Villenave d'Ornon, France

Résumé : La capacité photosynthétique de vitroplants de vigne (var. Gravesac) a été déterminée à l'aide d'un dispositif de mesures des échanges gazeux en circuit ouvert. L'activité photosynthétique et la respiration de la plante sont importantes en culture *in vitro*. La photosynthèse nette maximale est de $2 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ à $500 \mu\text{l l}^{-1}$ de CO_2 . A $350 \mu\text{l l}^{-1}$ de CO_2 la photosynthèse est de $1,6 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. La respiration à l'obscurité est de $0,018 \mu\text{mol s}^{-1} \text{g}^{-1}$ de poids sec total. La quantité totale des sucres solubles dans le milieu de culture reste constante pendant les deux mois de culture. Le saccharose est totalement hydrolysé en glucose et en fructose. Les vitroplants de Gravesac ne prélèvent pas de sucres dans le milieu, ce qui confirme leur degré élevé d'autotrophie dans ces conditions de culture. La comparaison entre les échanges gazeux de vitroplants et des plantes cultivées en serre met en évidence une réduction de 80 % de l'activité *in vitro*.

Evaluation of the photoautotrophic ability of *Vitis* plantlets (rootstock var. Gravesac): Set-up of a special open flow gas exchange system

S u m m a r y : The photosynthetic ability of *Vitis* rootstock plantlets (var. Gravesac) was estimated *in vitro* with an open flow system specially designed for *in vitro* culture. CO_2 response curves were established and respiration was also measured. The maximum net photosynthetic rate, reached at $500 \mu\text{l l}^{-1}$ of CO_2 , is $2 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. At $350 \mu\text{l l}^{-1}$ CO_2 the photosynthetic activity is $1.6 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. The dark respiration rate is $0.018 \mu\text{mol s}^{-1} \text{g}^{-1}$ of total dry weight. The total amount of soluble carbohydrates in the medium remains the same whether plantlets were present or not. In the medium with plantlets, the sucrose is entirely hydrolysed in glucose and fructose within two months. No carbohydrate uptake from the medium was recorded indicating an autotrophic behaviour. Measurements of CO_2 exchange were also performed at leaves of plants cultivated in a greenhouse. The photosynthetic activity of *in vitro* plants accounts only for 20 % of the level of greenhouse-grown plants.

Key words : *in vitro*, *Vitis*, rootstock, photosynthesis, respiration, autotrophy.

Introduction

Dans le cadre d'une étude de la variabilité de la vigueur, induite par mutagenèse artificielle, une des directions de sélection actuellement testée est l'association de la photosynthèse nette et des paramètres de croissance de mutants de porte-greffe de vigne en culture *in vitro* (LIMA DA SILVA et DOAZAN 1995). Les voies d'entrée du carbone sont un point essentiel du métabolisme caractéristique des vitroplants. D'après GALZY (1990) et GALZY et COMPAN (1992), la plantule dispose du CO_2 atmosphérique mais utilise également le sucre présent dans le milieu de culture. Il en résulte un état mixotrophe généralement marqué, entre autres, par une photosynthèse nette limitée (LANFORD et WAINWRIGHT 1987; CAPELLADES *et al.* 1991). Les différences génétiques et les modifications de l'environnement (éclairage d'intensité et de qualité convenable, teneur en CO_2 élevée et absence de sucre, principalement) modulent ce constat et donnent une photosynthèse et une vigueur élevées (KOZAI *et al.* 1988 et 1990). Cependant, l'assimilation du CO_2 reste plus faible *in vitro* par rapport aux plantes *in vivo* (LEES *et al.* 1991; IACONO *et al.* 1992).

L'objectif de ce travail est de présenter une méthode permettant d'évaluer l'activité photosynthétique de vitro-

plants (entrée du CO_2) pour essayer de sélectionner des mutants en fonction de leurs paramètres de croissance (utilisation du CO_2). Nous avons donc mis en place un système de mesure des échanges gazeux de vitroplants entiers. Il a été mis au point à partir des travaux de FALQUE *et al.* (1991). Ce circuit se caractérise par sa conception simple, sa facilité d'utilisation et sa fiabilité. De plus, nous avons étudié l'utilisation des sucres par les vitroplants afin de déterminer la part de la photosynthèse. Enfin, un parallèle doit être fait entre le comportement de plantes cultivées *in vitro* et *in vivo*.

Matériels et méthodes

Matériel végétal : Le matériel végétal utilisé est la variété Gravesac (161-49 C x 3309 C). Il provient d'une collection de plantes mères mises en culture *in vitro* au mois de juillet 1992. La multiplication des vitroplants se fait par microbouturage suivant la méthode décrite par GALZY (1961). Des explants à un noeud et sans feuille sont placés dans des tubes en Pyrex (22 x 220 mm) qui contiennent 15 ml de milieu DSD1 (LIMA DA SILVA et DOAZAN 1995). Ils sont ensuite clos par des capuchons en Polycarbonate translucide. La

fermeture n'est pas hermétique et assure un échange gazeux avec l'atmosphère extérieure. Les microboutures sont placées dans une chambre de culture pendant deux mois. La photopériode est 16 h. L'éclairage incident représente environ $100 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ au niveau des récipients de culture (tubes fluorescents Sylvania Gro-Lux). La température est maintenue à $25 \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$, le jour et à $20 \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$, la nuit. L'humidité relative de la chambre varie de 45 % à 60 % au cours de cette même période tandis que la concentration en CO_2 oscille de 500 à $550 \mu\text{l l}^{-1}$.

Dispositif expérimental de mesure *in vitro*: Deux bouteilles contenant de l'air comprimé (80 % N_2 + 20 % O_2) et un mélange de CO_2 ([100-x] % N_2 + [x] % CO_2 , avec [x] = 0,3 ou 1 %) permettent l'alimentation en gaz du circuit principal (Fig. 1: 1 et 2) qui est constitué de tubes en Téflon FEP (Cole Parmer) de 6,4 mm de section (diamètre interne de 4,8 mm). Ils sont stérilisables et leur perméabilité au CO_2 est faible. Les flux d'air et de CO_2 sont réglés par deux débitmètres (FC 260 - Tylan Général) de 0 à 500 ml min^{-1} et de 0 à 50 ml min^{-1} , respectivement, sous une pression de 0,8 bar (Fig. 1: 3 et 3'). Leur contrôle est assuré par une centrale (RO-28 - Tylan Général) qui ajuste en permanence les débits en fonction de la concentration en CO_2 désirée (Fig. 1: 4). Le flux total est fixé à 500 ml min^{-1} . Les deux fractions gazeuses obtenues vont se mélanger dans un volume "tampon", composé par deux Erlenmeyers de 1000 ml (Fig. 1: 5). Ce système assure une stabilité satisfaisante de la concentration en CO_2 lors des mesures. Après son homogénéisation, une partie du gaz va balayer le circuit secondaire contenant les tubes de culture des plantes (branche d'analyse = ANA) tandis que l'autre partie sert de référence au dispositif de mesure (branche de référence

= REF). L'égalité des flux est assurée par les deux débitmètres réglables de l'analyseur de CO_2 MK3 (ADC) car la résistance au passage des fluides du segment ANA est nettement plus importante. Avant d'être analysés les gaz sont séchés par passage sur une colonne (Fig. 1: 11) contenant du sulfate de calcium. Cette opération permet d'améliorer la stabilité des mesures (GARY 1988).

Les mesures sont effectuées simultanément sur 8 tubes de culture balayés en parallèle grâce à un manifold constitué de tubes en Téflon FEP de 3,2 mm de section (diamètre intérieur: 1,6 mm). Chaque tubulure pénètre dans un des tubes de culture du montage et est positionnée à 1 ou 2 cm au-dessus du milieu gélosé. Le balayage de la plantule se fait du bas vers le haut. Les récipients de culture sont fermés hermétiquement par des bouchons pré-perçés d'un diamètre supérieur de 24 mm. Le circuit comporte deux filtres "Hepa-Vent" (Whatman), placés à l'entrée et à la sortie des tubes (Fig. 1: 8), qui permettent de conserver des conditions maximales de stérilité lors de la mise en place du système et au moment des mesures.

La source lumineuse est une lampe à halogénure métallique (SONT, 400 W, Philips) placée au-dessus des plantes à une distance réglable. Pour homogénéiser la lumière reçue, les vitroplants sont entourés par un réflecteur blanc qui forme un angle de 45° avec le rayonnement incident. La mesure de l'éclairage est faite à l'aide d'une cellule photoélectrique (Li-cor 185). La température du gaz, vérifiée par un thermocouple (cuivre-constantan) placé dans l'un des tubes (Fig. 1: 13), est contrôlée grâce à l'action d'un ventilateur (Turbofée) ou, à l'inverse, par l'utilisation d'un radiateur (Atlantic). L'humidification du système (Fig. 1: 6) se fait par barbotage du mélange gazeux dans un tampon

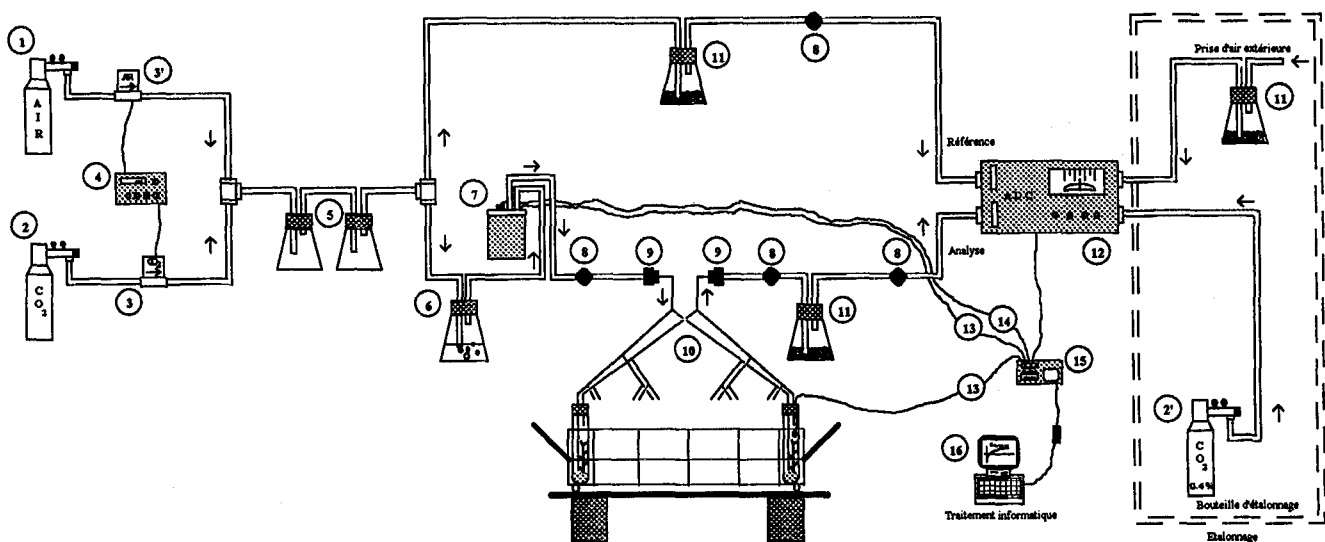


Fig. 1: Dispositif expérimental pour la mesure de la photosynthèse nette (P_n) de plantes *in vitro*, en circuit ouvert. (1): Bouteille d'air (80 % N_2 - 20 % O_2) - (2) et (2'): Bouteilles de CO_2 (N_2 - CO_2) - (3) et (3'): Débitmètres de 50 et 500 ml min^{-1} - (4): Centrale de contrôle - (5): Volume tampon - (6): Système d'humidification - (7): Hygromètre, connecté à (15) par (14) - (8): Filtres - (9): Réducteur - (10): Circuit secondaire - (11): Déshumidificateur - (12): Analyseur de CO_2 à infrarouge - (13): Thermocouples - (15): Centrale reliée à un ordinateur (16).

Experimental set-up of an open flow gas exchange system for *in vitro* culture. (1): Air supply (80 % N_2 - 20 % O_2) - (2) and (2'): CO_2 supply (N_2 - CO_2) - (3) and (3'): Mass flow controllers of 50 and 500 ml min^{-1} - (4): Power supply unit - (5): Volume buffers (6): Citrate-phosphate buffer to moisten the air - (7): Hygrometer, connected to (15) by (14) - (8): Filter - (9): Reduction of tube diameter - (10): Secondary system - (11): Flasks containing CaSO_4 to dry the air - (12): CO_2 analyzer - (13): Thermocouples - (15): Data logger connected to a computer (16).

Citrate-Phosphate à pH 3,0 (FALQUE *et al.* 1991). Un hygromètre à miroir refroidi (DEW-10-XXX-R, version électronique séparée, Général Eastern) et un deuxième thermocouple permettent de calculer l'humidité relative du fluide (Fig. 1: 7).

L'appareil de mesure est un analyseur de CO₂ à infrarouge (ADC 225 MK3; Hoddesdon, Herts UK) (Fig. 1: 12) qui fonctionne en mode différentiel. Il est relié à une centrale de mesures 21X Micrologger (Campbell Scientific Ltd.) qui enregistre les données transmises (Fig. 1: 15), puis les transmet à un ordinateur (Fig. 1: 16). Les résultats bruts permettent de calculer la photosynthèse nette ou la respiration des vitroplants. Les caractéristiques photosynthétiques du Gravesac sont ensuite déterminées à partir de la courbe de réponse de la photosynthèse des plantes à la concentration en CO₂.

Mesures in vitro: L'essai porte sur plusieurs lots de 20 plantes mis dans les mêmes conditions de culture *in vitro*. Une sélection de 10 plantes en fonction de leur longueur est effectuée sur chaque répétition après 60 jours de culture (intervalle de confiance de la moyenne pour le risque $\alpha = 0,05$). Les caractérisations morphologiques portent sur les vitroplants retenus dont 8 sont placés dans le dispositif de mesure de la photosynthèse. Leur insertion dans le circuit se fait stérilement sous une hotte à flux laminaire.

La courbe de réponse de la photosynthèse de vitroplants de Gravesac aux variations de CO₂ est établie à partir de mesures réalisées à différentes concentrations en CO₂ en partant des teneurs les plus élevées. Pour chaque concentration, l'activité photosynthétique est enregistrée pendant une demi-heure, après une heure de stabilisation. L'éclairement incident est de 260 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ à l'extérieur des tubes, ce qui correspond à environ 100 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ dans les tubes. L'humidité relative est voisine de 100 % et la température de 25 \pm 1 °C.

Les calculs de photosynthèse se font à partir de la formule développée par KOZAI *et al.* (1990) qui ne dépend que des conditions de température et de concentration en CO₂ du système. Les données expérimentales sont ajustées à une équation de type monomoléculaire (logiciel STAT-ITCF).

Les longueurs des tiges et des racines sont mesurées à l'aide d'un pied à coulisse électro-numérique (Falcom). Chaque partie de la plante est pesée séparément à l'aide d'une balance MC1-RC 210P (Sartorius). Les feuilles des plantes sélectionnées sont photocopiées et numérisées à l'aide d'un scanner. Les données sont traitées par le logiciel Optimas 4.0 ou par un système de caméra vidéo couplée à un ordinateur. Ensuite, les organes sont lyophilisés sous vide, pendant 72 h, par un appareil DURA-TOP, couplé à un microprocesseur de contrôle DURA-DRY (FTS Systems inc.). A la fin de cette phase, les différentes parties des plantes sont pesées comme précédemment.

Mesures sur plantes en serre: L'évaluation de la photosynthèse et de la respiration à l'obscurité est réalisée en serre sur des feuilles adultes à l'aide d'un analyseur de CO₂ portable (LCA3, ADC) durant la journée (10 h solaire). L'éclairement est saturant (800 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) et la température est de 33 \pm 2 °C. La concentration en CO₂ de

l'air est de 350 $\mu\text{l l}^{-1}$. L'alimentation en eau et en éléments minéraux est non limitante. Pour chaque essai, nous mesurons les échanges gazeux de 3 plantes différentes (3 feuilles par plante). La détermination de la respiration est faite en recouvrant la feuille par un carton opaque.

Analyse des sucres solubles dans le milieu: La concentration des différents sucres solubles dans le milieu (saccharose, glucose et fructose) a été évaluée durant la période de culture (de 0 à 60 jours). Leur extraction est réalisée suivant les méthodes de LEES *et al.* (1991) et de MOING *et al.* (1992). Après homogénéisation du milieu dans un mortier, 0,25 g est immergé dans 5 ml d'eau. Les tubes sont agités durant 30 min à température ambiante. Ils sont ensuite centrifugés (1800 g) une première fois durant 15 min puis une deuxième fois durant 10 min après récupération du surnageant et ajout de 5 ml d'eau. Le surnageant total est purifié sur une résine échangeur d'ions (Bio-rad AG 1-X8 pour la forme carbonate, Dowex 50W (Sigma, St. Louis, MO) pour la forme H⁺) et analysé par HPLC (Aminex HPX-87C column pour Bio-rad avec de l'eau comme éluant à 0,6 ml min⁻¹ et 75 °C). Les prélèvements ont été réalisés à 0, 15, 25, 35, 45, 55 et 60 jours dans des tubes avec ou sans plantes mais placés dans les mêmes conditions de culture.

Résultats et discussion

Échanges gazeux in vitro: A 60 jours, la longueur moyenne de la tige des vitroplants de Gravesac est de 13,8 \pm 0,7 cm. La surface foliaire est de 29 \pm 1 cm². Le poids sec de la tige, des feuilles et des racines est respectivement de 41,0 \pm 1,2, 18,8 \pm 1,6 et 10,5 \pm 1,1 g. Le développement *in vitro* de ce porte-greffe est important, en particulier, par rapport aux autres porte-greffes de notre collection (SO 4, 140 Ru, Riparia et Fercal) ou aux résultats de DIMITROVA et ABRACHEVA (1992) et de GALZY et COMPAN (1992).

Les variations de l'activité photosynthétique des vitroplants en fonction de la concentration en CO₂ sont reportées sur la Fig. 2. L'équation de la courbe est

$$P_n = 19,9 - 29,29 \cdot \exp(-0,0063 \cdot [\text{CO}_2]).$$

La photosynthèse maximale calculée est de 19,9 $\mu\text{mol/h}$ per plante ou 2 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. La saturation est atteinte pour une concentration en CO₂ voisine de 500 $\mu\text{l l}^{-1}$. Le point de compensation calculé est de 61,4 $\mu\text{l l}^{-1}$. La photosynthèse à la concentration en CO₂ de 350 $\mu\text{l l}^{-1}$ est de 16,3 $\mu\text{mol/h}$ per plante ou 1,6 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. La respiration à l'obscurité est égale à 4,82 $\mu\text{mol/h}$ per plante ou 0,018 $\mu\text{mol s}^{-1} \text{g}^{-1}$ de poids sec total. Par plante elle représente 24,2 % de l'activité photosynthétique. Elle varie peu quelle que soit la durée de la période nocturne (Fig. 3).

Les activités photosynthétiques mesurées *in vitro* au cours de ce travail sont proches de celles rapportées par FALQUE *et al.* (1991) et GALZY et COMPAN (1992) pour *Vitis rupestris* (var. du Lot) et *Vitis vinifera* (var. Chardonnay), respectivement. Aussi, nous obtenons une activité maximale inférieure mais une assimilation à 350 $\mu\text{l l}^{-1}$ et un point de compensation supérieurs. Il est important de remarquer que nos mesures sont effectuées en régime stable alors que

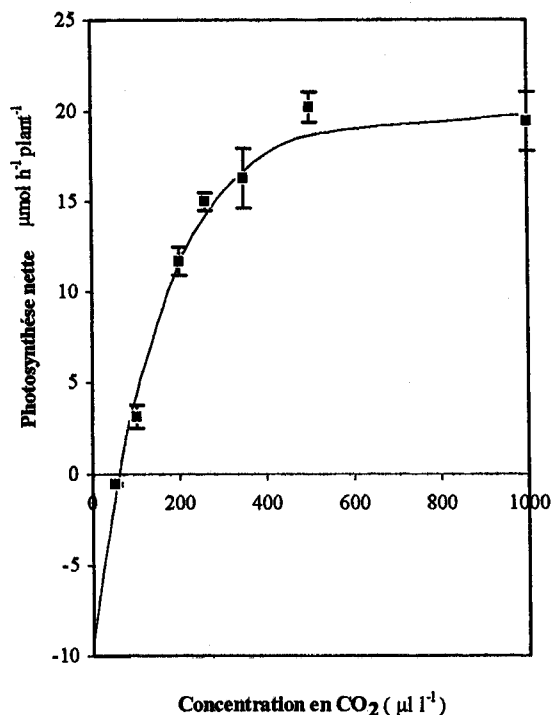


Fig. 2: Réponses photosynthétiques de la variété Gravesac en fonction de la concentration en CO₂ (25 ± 1 °C; PPF = 100 µmol m⁻²; n = 4).

Photosynthetic activity of *in vitro* plants of Gravesac versus CO₂ concentration in the air (25 ± 1 °C; PPF = 100 µmol m⁻² s⁻¹; n = 4).

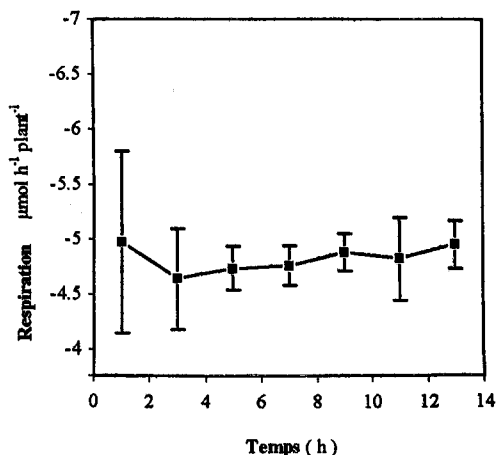


Fig. 3: Respiration du porte-greffe Gravesac à la concentration en CO₂ de 350 µl l⁻¹ durant 13 h à l'obscurité (25 ± 1 °C; n = 4).

Dark respiration of *in vitro* plants of Gravesac during 13 h at 350 µl CO₂ l⁻¹ (25 ± 1 °C; n = 4).

FALQUE *et al.* (1991) décrivent une technique basée sur la mesure de la diminution progressive de la teneur en CO₂ dans un tube fermé hermétiquement. Dans ce cas, les activités ne sont pas déterminées à l'équilibre.

La respiration à l'obscurité a une intensité importante (30 % de la photosynthèse) comparable à la plupart de celle des organes en croissance. Elle est demeurée stable au cours de la mesure (13 h), ce qui indique une utilisation satisfaisante des substrats carbonés (SCHOCH *et al.* 1989; FALQUE *et al.* 1991) et l'absence de mise en place d'un état de carence glucidique en fin de période nocturne en conditions normales de culture.

Contrairement à d'autres espèces, la vigne présente *in vitro* une fixation nette de CO₂ qui peut être caractérisée comme importante (MOUSSEAU 1986). Ces résultats sont en accord avec GROUT et DONKIN (1987) et GROUT (1988) qui séparent les espèces suivant leur photosynthèse. MOUSSEAU (1986) et DONNELLY et VIDAVER (1984) indiquent également qu'une assimilation de 1,6 µmol CO₂ m⁻² s⁻¹ est élevée pour des feuilles de vitroplants.

Evolution des sucres solubles: En deux mois, le saccharose du milieu de culture est totalement hydrolysé en glucose et en fructose par l'action des plantes (Fig. 4). La teneur finale en sucres résiduels est d'environ 20 g l⁻¹, avec une quantité de fructose supérieure à celle du glucose (10,4 contre 9,3 g l⁻¹), ce qui correspond à la teneur initiale en saccharose. Parallèlement, dans un milieu sans plante, le saccharose n'est pas hydrolysé et sa teneur finale est très proche de la teneur initiale.

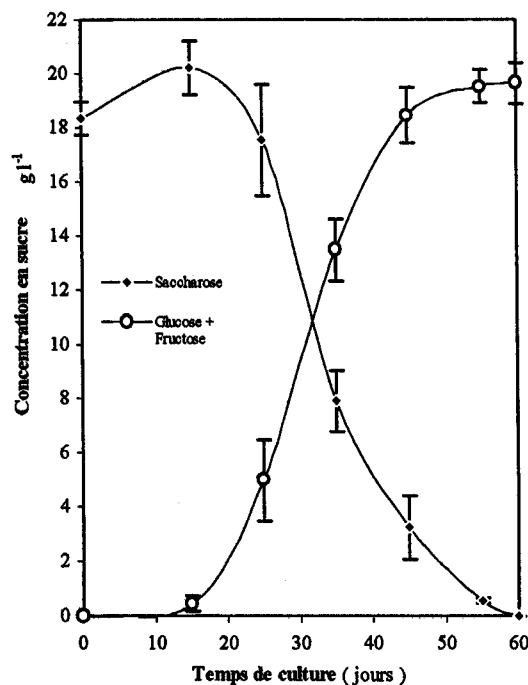


Fig. 4: Evolution des concentrations en saccharose et en hexoses (glucose + fructose) dans un milieu DSD1, pendant 60 jours de culture (n = 4).

Sucrose and hexose (glucose + fructose) concentration in the culture medium DSD1 during 60 days (n = 4).

Le Gravesac n'utilise apparemment pas le sucre du milieu pour assurer sa croissance. Ce résultat est à rapprocher des possibilités de développement de cette variété dans un milieu sans saccharose (LIMA DA SILVA *et al.* 1995). Cependant, la présence de sucre dans le milieu stimule la croissance, le développement du poids sec et de la surface foliaire sans toutefois inhiber la photosynthèse du porte-greffe qui assure totalement l'alimentation en carbone des plantules. Ces résultats sont en accord avec MOUSSEAU (1986), CAPELLADES *et al.* (1991) et YUE *et al.* (1992 et 1993).

Echanges gazeux en serre: Le taux moyen de photosynthèse nette du Gravesac en serre est de 8,5 µmol CO₂ m⁻² s⁻¹. Ce résultat est similaire aux données publiées par IACONO *et al.* (1992 et 1995) pour d'autres

variétés de porte-greffes. L'activité photosynthétique est 5,4 fois plus importante en comparaison à celle de plantes *in vitro* (Fig. 5).

Les différences observées pour l'assimilation du CO₂ entre les cultures *in vitro* et en serre sont en accord avec DONNELLY et VIDAVER (1984) et IACONO *et al.* (1992). Les échanges gazeux sont donc liés aux conditions de culture et à l'environnement dans lesquels se trouvent les plantes. La respiration à l'obscurité des feuilles en serre est de 1,5 μmol CO₂ m⁻² s⁻¹ et ne représente que 17 % de la photosynthèse. Il n'est pas possible de comparer les activités respiratoires mesurées *in vitro* sur des plantules entières et en serre sur des feuilles. En effet, les résultats *in vitro* traduisent également le métabolisme des racines et de la tige et donnent une estimation de l'efficacité de l'utilisation du carbone pour la croissance totale. En serre il est plus difficile de mesurer la respiration de l'ensemble de la plante pour calculer cette efficacité.

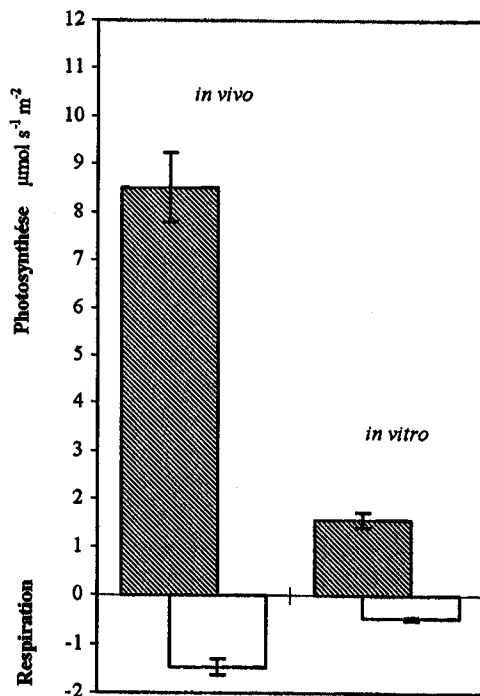


Fig. 5: Comparaison des échanges gazeux de la variété Gravesac en serre et *in vitro* (n = 4).

CO₂ exchange rates of *in vitro*- and greenhouse-grown Gravesac plants (n = 4).

Conclusion

Notre étude a permis de mettre en évidence la photoautotrophie des vitroplants de Gravesac. Effectivement, cette variété possède une photosynthèse suffisante pour assurer une balance carbonée positive dans nos conditions de mesures et se développe sans utiliser les sucres présents dans le milieu. Néanmoins il a été montré que, pour cette variété, les sucres ont une action stimulante sur la croissance et l'activité assimilatrice du CO₂ (LIMA DA SILVA *et al.* 1995). Il est envisageable que les sucres présents dans le milieu soient utilisés en très petite quantité au début du développement des vitroplants avant la mise en place de la photo-

autrophie et que l'avantage acquis à ce stade se répercute plus tard sur la croissance et le fonctionnement des feuilles. Nos résultats confirment globalement les données déjà publiées pour le genre *Vitis*. L'ensemble des travaux réalisés sur la photoautotrophie de la vigne permet également de souligner l'importance du génotype sur la gestion des différentes sources de carbone en culture *in vitro*.

Le système de mesure mis au point s'est avéré fiable et relativement simple. L'utilisation de cette technique est envisageable dans un programme de sélection génétique. Elle permet de réaliser des comparaisons au niveau du bilan général de CO₂ (photosynthèse et respiration) et d'étudier la réponse photosynthétique de différents génotypes de vigne à des variations de paramètres du milieu comme la teneur en CO₂. Elle paraît mieux adaptée que celle décrite par FALQUE *et al.* (1991) car elle permet de déterminer les activités à l'équilibre et dans des conditions de composition gazeuse très bien définies.

Cependant, il est encore nécessaire de démontrer que les résultats mis en évidence *in vitro* se répètent en milieu naturel car les vitroplants ont des échanges gazeux réduits par rapport à des plants normaux. En effet, les conditions de culture modifient les capacités morphologiques avec une réversion de type juvénile (phyllotaxie 2/5 et pas d'organes oppositifoliés (FOURNIOUX et BESSIS 1990)). Ces caractéristiques doivent être considérées lorsqu'on cherche à mettre au point un test de sélection précoce basé sur l'utilisation des vitroplants. Les études en cours dans notre laboratoire permettront d'évaluer l'intérêt de cette technique de culture et de la mesure du degré de photoautotrophie de différents génotypes lors de programmes de sélection des porte-greffes vis à vis de la vigueur.

Remerciements

Les auteurs tiennent à remercier M. J. P. GAUDILLERE, Mlle A. MOING, M. F. CARBONNE et M. J. L. BAZOT pour leur contribution à ce travail.

Références bibliographiques

- CAPELLADES, M.; LEMEUR, R.; DEBREGH, P.; 1991: Effect of sucrose on starch accumulation and rate of photosynthesis in rosa cultured *in vitro*. *Plant Cell Tiss. Org. Cult.* **25**, 21-26.
- DIMITROVA, V.; ABRACHEVA, P.; 1992: Etude de certains cépages et des porte-greffes de la Vigne pendant la culture *in vitro*. In: Proc. 4th Int. Symp. Grapevine Physiol., Turin, 489-491.
- DONNELLY, D. J.; VIDAVER, W. E.; 1984: Pigment content and gas exchange of red raspberry *in vitro* and *ex vitro*. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* **109** (2), 177-181.
- FALQUE, M.; COMPAN, D.; GALZY, R.; 1991: A method for the study of CO₂ exchanges in *in vitro* cultured *Vitis rupestris* plantlets. *Plant Cell Tiss. Org. Cult.* **27**, 175-181.
- FOURNIOUX, J. C.; BESSIS, R.; 1990: Eléments du contrôle de la morphogénèse de la vigne *in vitro*: sympodisation. *Can. J. Bot.* **68**, 841-851.
- GALZY, R.; 1961: Confirmation de la nature virale du court-noué de la vigne par des essais de thérapies sur des cultures *in vitro*. *C. R. Acad. Sci. Paris* **253**, 706-708.
- -; 1990: Remarques sur la nutrition carbonée de la Vigne *in vitro*. *Bulletin de l'O.I.V.*, 707-708, 5-20.
- -; COMPAN, D.; 1992: Remarks on mixotrophic and autotrophic carbon nutrition of *Vitis* plantlets cultured *in vitro*. *Plant Cell Tiss. Org. Cult.* **31**, 239-244.

- GROUT, B. W. W.; 1988: Photosynthesis of regenerated plants *in vitro* and the stress of transplanting. *Acta Hort.* **230**, 129-135.
- -; DONKIN, M. E.; 1987: Photosynthetic activity of cauliflower meristem cultures *in vitro* and at transplanting into soil. *Acta Hort.* **212**, 323-327.
- IACONO, F.; DE MICHELI, L.; CAMPOSTRINI, F.; FALCETTI, M.; MARTINELLI, L.; 1992: A comparison between photosynthesis and transpiration of *Vitis riparia* and *Vitis rupestris* cultured both *in vitro* and *in vivo*. Implications of the transplanting phase. In: Proc. 4th Int. Symp. Grapevine Physiol., Turin, 507-511.
- -; RENIERO, F.; SCIENZA, A.; 1995: Discriminazione isotopica del carbonio, emissione di fluorescenza e scambi gassosi nel genere *Vitis* durante l'adattamento allo stress idrico. Definizione di un indice di tolleranza genotipica alla siccità. *Riv. Vitic. Enol.* **2**, 25-34.
- KOZAI, T.; KOYAMA, Y.; WATANABE, I.; 1988: Multiplication of potato *in vitro* with sugar free medium under high photosynthetic photon flux. *Acta Hort.* **230**, 121-127.
- -; OKI, H.; FUJIWARA, K.; 1990: Photosynthetic characteristics of *Cymbidium* plantlets *in vitro*. *Plant Cell Tissue Cult.* **22**, 205-211.
- LANGFORD, P. J.; WAINWRIGHT, H.; 1987: Effect of sucrose concentration on the photosynthetic ability of rose shoots *in vitro*. *Ann. Bot.* **60**, 633-640.
- LEES, R. P.; EVANS, E. H.; NICOLAS, J. R.; 1991: Photosynthesis in Clematis, 'The President', during growth *in vitro* and subsequent *in vivo* acclimatization. *J. Exp. Bot.* **42**, 605-610.
- LIMA DA SILVA, A.; DOAZAN, J. P.; 1995: Une méthode d'irradiation aux rayons gamma appliquée à des porte-greffes de vigne *in vitro*. *J. Intern. Sci. Vigne Vin* **29**, 1-9.
- -; HARISCAIN, P.; OLLAT, N.; DOAZAN, J. P.; 1995: Photosynthetic abilities of *Vitis* plantlets (rootstock var. Gravesac) cultivated *in vitro* under different carbon nutrition conditions. In: CARRE, E.; CHAGVARDIEFF, P. (Eds.): Proc. Int. Symp. Ecophysiology and Photosynthesis of *in vitro* cultures, CEA, Cadarache, France, 203-204.
- MOING, A.; CARBONNE, F.; RASHAD, M. H.; GAUDILLERE, J. P.; 1992: Carbon fluxes in mature peach leaves. *Plant Physiol.* **100**, 1878-1884.
- MOUSSEAU, M.; 1986: CO₂ enrichment *in vitro*. Effect on autotrophic and heterotrophic cultures of (var. Samsun). *Photosynth. Res.* **8**, 187-191.
- POUGET, R.; 1990: Histoire de la Lutte contre le Phylloxéra de la Vigne (1868-1895). INRA-O.I.V., Paris.
- SCHOCH, P. G.; LEFEVRE, B.; TEISSON, C.; GANRY, J.; 1989: Photosynthèse et respiration de bananier *in vitro*. *Photosynthetica* **23**, 113-118.
- YUE, D.; DESJARDINS, Y.; LAMARRE, M.; GOSSELIN, A.; 1992: Photosynthesis and transpiration of *in vitro* cultured asparagus plantlets. *Sci. Hort.* **49**, 9-16.
- -; GOSSELIN, A.; DESJARDINS, Y.; 1993: Re-examination of the photosynthesis capacity of *in vitro* cultured strawberry plantlets. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* **118**, 419-424.

Reçu le 27 Novembre 1995 et le 18 Mai 1996 (version corrigée)