

Amélioration du rendement du bouturage des extrémités après thermothérapie sur plantes en pots par l'utilisation de la culture sur milieu nutritif gélosé stérile

par

MARIE-MADELEINE OTTENWALTER, M. HEVIN, J. P. DOAZAN

Improvement of the shoot-tip yield of heat treated pot plants using culture on agar nutrient medium under sterile conditions

S u m m a r y . — Rooting shoot-tips from heat treated pot plants under mist proved very unsuccessful (20 to 25%). Use of culture on agar nutrient medium under sterile conditions with these shoot tips resulted in a surprisingly low fungal and bacterial contamination rate (less than 3%) and a very high proportion of successful establishment of plants in the field from the shoot-tip implants (82%).

La sélection de clones sains suffit dans la plupart des cas à résoudre les problèmes d'élimination des maladies à virus chez la vigne. Dans certains cas, cependant, on ne connaît une variété qu'à l'état virosé.

La thermothérapie est alors la méthode à employer pour obtenir du matériel de propagation exempt de virus.

Elle est limitée, à un moment donné, par l'impossibilité rencontrée dans certains cas pour éliminer certains virus (cas du *yellow-speckle*: TAYLOR et WOODHAM 1972). Elle a peut-être un effet stimulant, même sur des clones que l'on a trouvés, par indexage, exempts des virus connus.

Dans notre Station, deux méthodes sont employées.

La méthode due à GALZY (1961) consiste à cultiver des plantes sur un milieu nutritif gélosé en conditions stériles.

La stérilisation des implants initiaux, constitués par des fragments de tiges herbacées portant un bourgeon, est assez difficile: la proportion de cultures contaminées par des champignons ou des bactéries peut dépasser 50%. En général, cependant, on réussit facilement à obtenir quelques cultures stériles. A partir de celles-ci, la multiplication est alors très facile en utilisant des fragments de tiges poussées en tube, comportant un entre-noeud, son bourgeon apical et la feuille correspondante. Les tubes sont ensuite soumis au traitement thermique, dont la température peut difficilement dépasser 36° C, à moins que l'on ne choisisse délibérément de perdre une forte proportion des cultures pour obtenir des guérisons difficiles comme celle de l'enroulement (MUR, VALAT et BRANAS 1972, VALAT, comm. pers.).

Un écueil de la méthode réside dans le fait que certaines variétés ne s'enracinent absolument pas, ce qui empêche leur traitement. C'est d'autant plus gênant que GALZY (1965) a montré que cette difficulté d'enracinement est provoquée par la virose même qu'il s'agit de guérir.

Le problème de la «sortie», c'est-à-dire le passage du milieu gélosé stérile à un milieu horticole normal en serre est résolu de la manière suivante: les plantes sont extraites délicatement en évitant de blesser les racines, lavées et transférées dans de la perlite humidifiée par une solution nutritive, en godets de tourbe compressée, et placées en serre, après un court passage sous brouillard. Elles se développent alors très rapidement et peuvent être plantées au champ le plus souvent dès l'année suivante.

L'autre méthode (RIVES 1970) est une adaptation de la méthode utilisée depuis longtemps par les Californiens (GIFFORD et HEWITT 1961, GOHEEN, LUHN et HEWITT 1965). Les plantes cultivées en pots sur du gravier inerte à partir de plants racinés d'un an sont placées dans une chambre climatisée, maintenue à 38° et 70% d'humidité relative avec un éclairage de 16 h par jour par tubes Grow-Lux; l'alimentation est assurée par subirrigation avec une solution nutritive. Après au moins 100 jours de traitement, on prélève les extrémités de tiges et on les enrachine sous brouillard. C'est cette dernière phase qui s'est révélée délicate: les extrémités meurent par nécrose, avec ou sans infection fongique visible; le rendement est faible: 20 à 25%.

Deux d'entre nous (M.M.O et M.H) ont eu l'idée de combiner les deux méthodes pour éviter cette phase critique de la méthode des «plants en pots».

Depuis Janvier 1972, 6 séries d'implantations ont été réalisées à partir de fragments apicaux (le bourgeonnement et au plus une feuille étalée) de tiges de plantes en pots ayant passé des durées variables dans la chambre chaude. Ces implants ont été stérilisés dans une solution d'hypochlorite de calcium (poudre à 210 degrés chlorométriques) à 70 g/l, implantés sur le milieu nutritif gélosé et maintenues à 20° C avec 16 h d'éclairage par tubes Grow-Lux.

Les implants se sont enracinés très rapidement et ont pu être transférés en serre 3 à 5 semaines après l'implantation, suivant la technique de la «sortie» exposée ci-dessus.

Les résultats globaux ci-après montrent l'intérêt de cette combinaison des deux méthodes.

Implants	Morts	Contaminés	Non enracinés	Sortis	%
197	15	5	15	162	82

Il subsiste des différences de survie suivant la provenance des implants. Elles sont peut-être explicables par la non-élimination du virus présent: en particulier une origine de *Muscata de Hambourg*, qui présente encore des déformations foliaires (après seulement 45 jours de traitement), n'a donné aucun implant enraciné.

On remarquera la très faible proportion des contaminations. Il apparaît que le milieu de la chambre chaude, malgré l'humidité relative assez élevée et l'absence totale de précautions d'asepsie, est presque dépourvu de bactéries ou de spores de champignons.

Notre utilisation combinée des deux méthodes a donc pour elle:

a) de permettre le traitement de variétés rebelles à l'enracinement en milieu gélosé (qui s'enracinent pourtant facilement en pépinière à partir de boutures aoutées, ou encore sous brouillard à partir de boutures en vert) comme le *Duras*, par exemple;

b) d'assurer une proportion de reprise des boutures d'extrémité très supérieure à la technique du brouillard seul;

c) de faire un premier tri sur l'état sanitaire, puisque les boutures encore virosées (au moins en ce qui concerne le court-noué) s'enracinent difficilement; cela ne dispense évidemment pas de faire un indexage soigné de tous les implants pour vérifier leur guérison.

Résumé

L'enracinement sous brouillard d'extrémités de tiges prélevées sur des plantes en pots après le traitement thermique se révèle souvent décevant (20 à 25%). Ces extrémités, mises stérilement en culture sur milieu nutritif gélosé, ne sont que rarement contaminées par des champignons ou des bactéries (moins de 3%), et l'on

obtient ainsi un nombre élevé de plantes établies au champ à partir des extrémités implantées (82%).

Bibliographie

- GALZY, R., 1961: Confirmation de la nature virale du court-noué de la vigne par des essais de thermothérapie sur des cultures *in vitro*. C. R. Hebd. Séances Acad. Sci. (Paris) 253, 706—708.
- — , 1964: Technique de thermothérapie des viroses de la vigne. Ann. Epiphyties (Paris) 15, 245—256.
- — , 1965: Action de traitements thermiques courts sur la rhizogenèse *in vitro* d'un clone de *Vitis rupestris* court-noué. C. R. Hebd. Séances Acad. Sci. (Paris) 261, 524—527.
- GIFFORD, E. M. and HEWITT, W. B., 1961: The use of heat therapy and *in vitro* shoot tip culture to eliminate fanleaf virus from the grapevine. Amer. J. Enol. Viticult. 12, 129—130.
- GOHEEN, A. C., LUHN, C. F. and HEWITT, W. B., 1965: Inactivation of grapevine viruses *in vitro*. Proc. Internatl. Conf. Virus, Davis, 255—265.
- MUR, G., VALAT, C. et BRANAS, J., 1972: Elimination de la pigmentation anthocyanique tardive (enroulement) par thermothérapie. Progr. Agric. Vitic. (Montpellier) 179, 4—7.
- RIVES, M., 1970: Complete cure of a whole plant of *Vitis rupestris* cv. du Lot (St. Georges) of grapevine fanleaf by thermotherapy. Plant. Dis. Rept. 54, 915—916.
- TAYLOR, R. H., WOODHAM, R. C., 1972: Grapevine yellow speckle. A newly recognized graft-transmissible disease of *Vitis*. Austral. J. Agricult. Res. 23, 447—452.

Eingegangen am 11. 8. 1972

MARIE-MADELEINE OTTENWALTER
M. HEVIN
J. P. DOAZAN
Sta. Rech. Viticulture
(INRA)
33 140 Pont-de-la-Maye
France