

**Élimination des caractères
juvéniles typiques
de *Vitis vinifera* L., cv. Albarino
provenant de culture *in vitro*
par utilisation du greffage**

***Elimination of typical juvenile characters
of *Vitis vinifera* L., cv. Albarino
issued from vitroculture with grafting use***

**Dra. María del Carmen MARTINEZ R.
& Dr. José Luis G. MANTILLA (†)**

Instituto de Investigaciones Agrobiológicas de Galicia (C.S.I.C.).
Apartado de Correos 122.
15080 Santiago de Compostela (España).

- MOTS CLÉS** : Albariño, propagation *in vitro*, élimination caractères juvéniles, apparition caractères adultes, greffe.
- KEY WORDS** : *Albariño*, *in vitro propagation*, *juvenile characters elimination*, *adult characters appearance*, *graft*.
- PALABRAS CLAVE** : Albariño, propagación *in vitro*, eliminación caracteres juveniles, aparición caracteres adultos, injerto.

RÉSUMÉ

On a sélectionné les yeux de la zone basale (avec des caractères très juvéniles), de la zone intermédiaire (avec des caractères mi-juvéniles, mi-adultes), et de la zone apicale (avec des caractères adultes) du sarment d'un cep de *Vitis vinifera* L., cv. Albariño de cinq ans, issu de culture *in vitro* ; ces yeux ont été greffés (greffe en fente) sur deux types de porte-greffes, le SO 4 et le 196-17 C.

Toutes les plantes obtenues ont été identiques avec une morphologie de feuille adulte dès la première année de la greffe, et avec l'apparition des premières grappes de raisins au cours de la deuxième année.

(†) Décédé (Dead).

SUMMARY

Buds taken from the basal area (very juvenile characters), from the central area (characters between the juvenile and adult stages) and from the apex (adult characters) of a *Vitis vinifera* L., cv. Albariño vine which was grown in vitro (five year old vine), were grafted onto two types of rootstock, the SO 4 and the 196-17 C.

All the plants obtained were equal, with an adult leaf morphology from the first year after grafting, and the appearance of the first bunches in the second year.

RESUMEN

Se seleccionaron yemas de la zona basal (con caracteres muy juveniles), de la zona intermedia (con caracteres entre juvenil y adulto), y de la zona apical (con caracteres adultos) de una cepa de *Vitis vinifera* L., cv. Albariño de cinco años, procedente de propagación *in vitro* y se injertaron (injerto de cuña) sobre dos tipos de portainjerto, el SO 4 y el 196-17 C.

Todas las plantas obtenidas resultaron ser iguales, con una morfología de hoja adulta ya desde el primer año del injerto, y con la aparición de los primeros racimos al segundo año.

INTRODUCTION

Après avoir effectué plusieurs études, nous avons constaté que les ceps de *Vitis vinifera* L., cv. Albariño subissaient un net retour à l'état juvénile, quand ils provenaient de culture *in vitro*.

Étant donné qu'en cas de commercialisation de ces plantes, celles-ci devraient être obligatoirement soumises au greffage, il nous a paru intéressant d'observer comment elles évoluent lorsqu'on les greffe sur des sujets adultes.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Matériel végétal

La plante qui a fait l'objet de nos études a été *Vitis vinifera* L., cv. Albariño.

On a sélectionné sur un pied de vigne de cinq ans, planté au champ, et qui était issu de culture *in vitro* (selon la méthode mise au point par Ferro (9) pour ce cépage), des yeux de la zone basale, avec des caractères typiquement juvéniles (feuilles très divisées, forte pigmentation anthocyanique, absence de grappes, haute densité de poils érigés, etc.), de la zone centrale, avec des caractères mi-juvéniles, mi-adultes (feuilles divisées, absence de grappes, etc.), et de la zone apicale, avec des caractères adultes (feuilles sans sinus, avec une densité nulle de poils érigés, présence de grappes, etc.). Ces yeux ont été greffés sur deux types de porte-greffes différents, le SO 4 et le 196-17 C, déjà enracinés et plantés dans une parcelle d'expérimentation située à Meaño (zone du Salnés).

On a veillé à ce que tous les ceps soient dans les mêmes conditions édaphoclimatiques et traités de la même manière ; on a relevé les données de cinq ceps de chacun des six types de plantes.

UR RAMEAUX DE 10 À 30 CM DE LONGUEURJEUNE RAMEAU

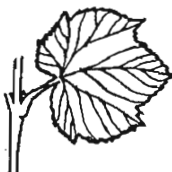
QUALITATIFS :

- Codes O.I.V. :
- 001 004
- 002 005
- 003

AVANT LA FLORAISONJEUNE FEUILLE

QUALITATIFS :

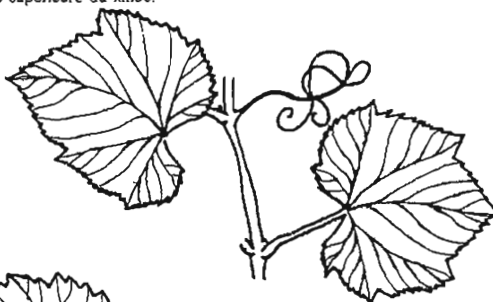
- Codes O.I.V. :
- 051 053 055
- 052 054 056
- Densité des poils dressés sur le bord des dents.
- Pigmentation anthocyannique des nervures principales de la face supérieure du limbe.

À LA FLORAISON

RAMEAU VRILLES INFLORESCENCES

QUALITATIFS :

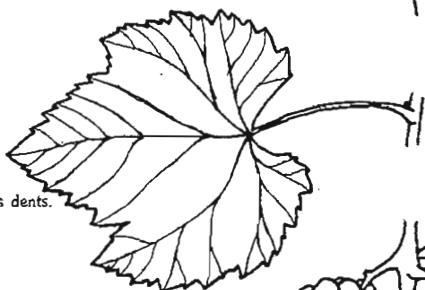
- | | | |
|------------------|------------------|------------------|
| • Codes O.I.V. : | • Codes O.I.V. : | • Codes O.I.V. : |
| 006 011 | 016 | 151 |
| 007 012 | 017 | 152 |
| 008 013 | | |
| 009 014 | | |
| 019 015 | | |

ENTRE LA NOUAISSON ET LA VÉRAISON

FEUILLE ADULTE

QUALITATIFS :

- Codes O.I.V. :
- 067 075 082 087
- 068 076 083 088
- 069 079 084 089
- 070 080 085 090
- 071 081 086 091
- Minimal List.
- Densité des poils dressés sur le bord des dents.



QUANTITATIFS :

- Longueurs ; Angles ; Rapports ; Autres.

À LA MATURITÉ

GRAPPES BAIES PÉPINS

QUALITATIFS :

- | | |
|------------------|------------------|
| • Codes O.I.V. : | • Codes O.I.V. : |
| 204 | 222 227 234 |
| 205 | 223 229 236 |
| 206 | 224 230 237 |
| | 225 231 239 |
| | 226 232 240 |
- Morphologie de grappe
 - Nombre grappes/rameau.
 - Nombre pépins/baie.



QUANTITATIFS :

- | | | |
|--------------------------|--------------------------|------------------------|
| • Longueur de grappe. | • Largeur de la baie. | • Longueur des pépins. |
| • Largeur de grappe. | • Longueur de la baie. | • Poids des pépins. |
| • Longueur du pédoncule. | • Longueur du pédicelle. | |

FIGURE 1

Paramètres mesurés sur différents organes au cours des différents stades du cycle végétatif

Parameters measured in different organs at various stages of the vegetative cycle

Paramètres mesurés

La première année de la greffe, seules furent réalisées des mesures qualitatives et quantitatives correspondant aux feuilles adultes, en sélectionnant 10 feuilles (2 sur chaque cep) de la partie centrale de la pousse ; 5 dans les zones comprises entre les nœuds 4 et 8, 5 dans les zones comprises entre les nœuds 12 et 15.

La deuxième année, on a mesuré et observé les paramètres représentés sur la figure 1.

Les paramètres quantitatifs de la feuille adulte ont été mesurés après avoir pressé les feuilles à l'aide du Processus Digital d'Image M.I.P. 1,4 (Microm). La caméra vidéo employée était en noir et blanc (Hitachi CCTV Caméra Microm), et les images ont été filmées en plein jour.

Les paramètres qualitatifs correspondant à la pubescence ont été observés à l'aide d'une loupe binoctrulaire (Enosa 20 × 12 mm). Les graines ont été pesées sur une balance électronique de précision (Sartorius, Analytique 1612-MP8) ; les grappes ont été mesurées, et pesées avec une balance électronique (Mettler PE 2000).

Les paramètres représentés sur la figure 1 qui ne font pas référence au Code O.I.V. (21) ni à la Liste Minima (8) (sauf les caractères quantitatifs de la feuille adulte), sont, soit proposés comme nouveaux, soit des modifications d'autres paramètres qui existaient déjà.

La plupart des paramètres quantitatifs de la feuille adulte et les rapports ont été sélectionnés et basés sur les travaux d'autres auteurs (5), (13), (14), (15), (10), (11), (12), (21), (3), (4), (1), (2), (6), (7), (8). On a modifié leur nomenclature et leur interprétation, car, en utilisant les paramètres de plusieurs auteurs, il n'est pas très approprié de les mélanger.

Nous en avons proposé d'autres nouveaux.

Les paramètres quantitatifs de la feuille adulte que nous appelons « Longueurs » sur la figure 1, sont représentés sur les figures 2 et 3.

Les paramètres quantitatifs de la feuille adulte, que nous appelons « Angles » sur la Fig. 1 sont représentés sur la fig. 4.

Les paramètres quantitatifs de la feuille adulte, que nous appelons « Rapports », sont les rapports entre les paramètres décrits ci-dessus :

LD1d/AD1d ; LD3d/AD3d ; LD3i/Ad3i ; LD1i/AD1i ; LDt/Adt ; Lp/Nc ; N1d/Nc ; N2d/Nc ; N3d/Nc ; N1i/Nc ; N2i/Nc ; N3i/Nc ; S1d/N1d ; S1i/N1i ; SD2/N2d ; S2i/N2i ; S1d+S2d/Nc+N1d ; S1i+S2i/Nc+N1i ; S1d+S2d/N1d+N2d ; S1i+S2i/N1i+N2i ; Nc/a ; N5d/N2d ; N5i/N2i ; $\Sigma S1/\Sigma N1$; $\Sigma S2/\Sigma N2$; Nc/ $\Sigma N1$; A+B ; A+B+G ; A'+B' ; A'+B'+G' ; A+B/S1d+S2d ; A'+B'/S1i+S2i ; ASP/D+D'.

Les paramètres quantitatifs de la feuille adulte, que nous appelons « Autres » sur la figure 1 sont une série de paramètres obtenus automatiquement avec le Système de Processus Digital d'Images M.I.P. 1,4 (Microm). Ces mesures font uniquement référence au limbe des feuilles, en excluant le pétiole. Ce sont les suivantes :

- Aire.
- Périmètre.
- Périmètre convexe.

C'est la longueur du périmètre de la figure formée par l'union des points les plus en saillie de la feuille.

- Facteur de forme circulaire.

Ce paramètre a été proposé par Keefe & Draper (17) pour étudier la forme des feuilles et des graines de différentes espèces, par l'analyse d'images.

D'autres auteurs (West et Noble, 23 ou Keefe et Draper, 16, 17), l'ont utilisé pour mesurer les feuilles et les graines et lui ont donné le nom de « facteur de forme ».

Il prend les valeurs entre 0 (pour les formes allongées) et 1 (pour les formes circulaires).

- Facteur d'élongation.

Rapport entre le diamètre minimal et maximal de la feuille.

- Facteur de rugosité.

Ce paramètre mesure le rapport entre le périmètre convexe et le périmètre, en donnant une idée des sinus de la feuille et de leur profondeur, ainsi que des dents.

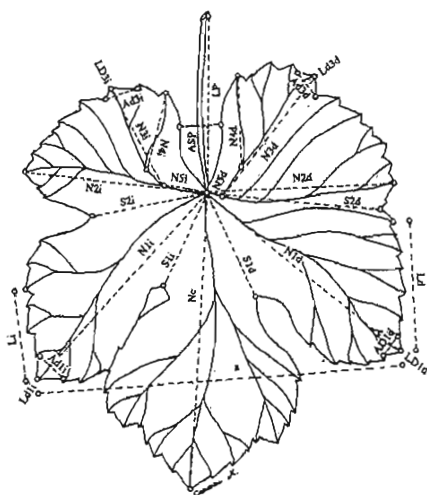


FIGURE 2

Longueurs mesurées sur les feuilles adultes

Lengths measured in the adult leaves

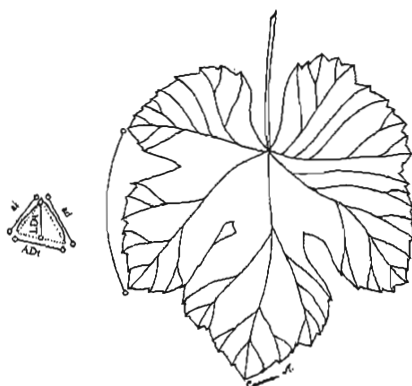


FIGURE 3

Localisation sur la feuille adulte des dents mesurées et longueurs mesurées sur chacune d'elles
 Localization in the adult leaf of measured teeth and lengths measured in each tooth

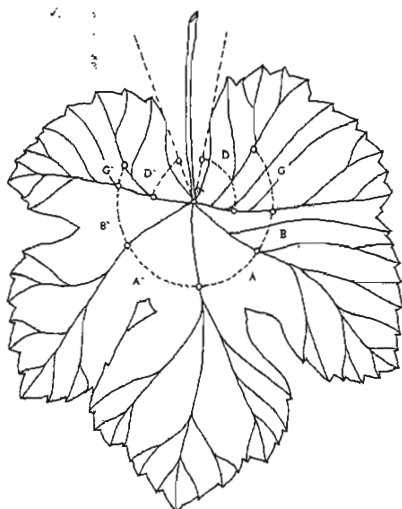


FIGURE 4

Angles mesurés sur les feuilles adultes
 Angles measured in the adult leaves

Analyses statistiques réalisées

Analyse de variance : Appliquée aux données quantitatives, elle a été réalisée avec le logiciel de statistique BMDP (BMDP7D – "One way analysis of variance"), version 1988.

Analyse non paramétrique de Kruskal-Wallis : Appliquée aux données qualitatives, elle indique si, entre l'ensemble des groupes, il y a des différences significatives. Ultérieurement, on la réalise par couple et elle indique alors quels groupes concrets sont les responsables de ces différences. Pour réaliser cette analyse, on a utilisé un logiciel de statistique BMDP (BMDP3S – "Nonparametric Statistics, Kruskal-Wallis one way"), version 1988.

RÉSULTATS

Au cours de la première année, on n'a trouvé que de petites différences sporadiques sur la feuille adulte entre les six types de plantes, qui présentaient toutes une morphologie typiquement adulte.

Il n'y avait qu'une petite variation pour les paramètres quantitatifs sur l'angle B et pour les paramètres sur la densité des poils couchés de quelques zones de la feuille, mais qui se maintenaient dans les deux cas, dans les limites de l'Albariño adulte.

Au cours de la deuxième année, tous les ceps ont continué à présenter les caractères de l'Albariño adulte : leurs différences ont été minimes et sporadiques, sans obéir à aucune règle. Il est possible que quelques-unes de ces différences soient dues au fait qu'il ne s'agissait que de la deuxième année de la greffe.

Ces caractéristiques du type adulte auxquelles nous faisons référence ont été les suivantes :

- Absence de poils érigés sur l'extrémité de la pousse comme sur la feuille jeune et adulte.
- Présence de nombreux poils couchés sur l'extrémité comme sur la feuille jeune et adulte.
- Absence de sinus sur les feuilles.
- Absence de pigmentation sur les nervures ainsi que sur les nœuds et les entrenœuds.
- Apparition de deux ou trois grappes par rameau herbacé pendant la deuxième année de la greffe.
- Grappes à forme conique qui, dans certains cas, avaient une aile, et dans d'autres cas, n'en avaient pas, à compacité moyenne, et avec environ 100 baies par grappe.
- Avec une moyenne de deux ou trois graines par baie et qui présentent, comme il est typique chez l'Albariño, un petit pourcentage de baies avec plus de quatre graines (5, 6, ou même 7).

DISCUSSION

Il est ainsi possible d'éviter le problème exprimé par Nozeran *et al.* (20) et par Grenan (15), d'avoir à sélectionner des yeux de la zone apicale du sarment (où il n'existe plus de caractères de type juvénile), pour faire les greffes. En effet, d'après nous, les résultats obtenus dans cette étude, quelle que soit la position de l'œil et même s'il a été sélectionné dans une zone qui avait des caractéristiques typiquement juvéniles, le greffage de cet œil fait disparaître ces derniers et les ceps ainsi obtenus présentent des caractères adultes, indépendamment du type de porte-greffes utilisé.

Il semble que nos résultats coïncident avec ceux obtenus par Martin et Collas (19). En greffant en vert différentes variétés de Vigne issues de propagation *in vitro*, ils n'ont trouvé aucun caractère qui implique une réversion à l'état juvénile. Un comportement similaire avait été observé de nombreuses années auparavant sur Vigne, par Snyder et Harmon (22), qui en greffant des yeux prélevés sur des plants de semis sur des sujets adultes avaient obtenu dès l'année suivante des plantes adultes qui présentaient déjà des grappes.

Par ailleurs, Margara (18) nous rappelle que la greffe d'apex de plantes très vieilles sur des plantes jeunes, issues de graines, a surtout été utilisée sur des greffes ligneuses, afin de provoquer un rajeunissement qui entraînait un meilleur enracinement. Cela nous fait penser que le phénomène inverse pourrait expliquer les résultats obtenus dans ce travail.

On sait par ailleurs que les racines des plantes issues d'*in vitro* ou de graines, sont différentes de celles des plantes issues du bouturage. Les premières sont des racines pivotantes, avec un axe principal d'où partent les racines secondaires, tandis que les autres sont des racines adventives qui partent de la base de la bouture et qui poussent horizontalement. Étant donné ces résultats, nous pouvons terminer en nous posant la question suivante : la racine de forme pivotante fait-elle en quelque sorte apparaître ou subsister des caractères juvéniles dans les plantes obtenues *in vitro* par culture et par semis, alors que la racine adventive des boutures donne naissance à des caractères adultes ?

CONCLUSION

Nous avons greffé sur différents porte-greffes des yeux prélevés dans la zone basale, centrale et apicale du sarment de ceps d'Albariño issus de culture *in vitro*. Toutes les plantes ainsi obtenues présentent dès la première année des caractères adultes et commencent à donner des grappes dès la deuxième année.

Cependant, nous pensons qu'en raison de l'importance de ces résultats, il nous faut suivre l'évolution de ces plantes et entreprendre de nouvelles études en faisant des greffes avec des yeux provenant de plantes issues de cultures *in vitro* de différents âges.

REMERCIEMENTS

Le travail a été financé par le Ministère de l'Éducation et des Sciences. Nous remercions le Dr Ferro pour son aide concernant la mise en culture *in vitro* des plantes, et pour la révision de ce texte.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- ALLEWELDT (G.) et DETTWEILER (E.), 1985. — Ampelographic studies to characterize grapevine varieties. 4th. International Symposium on Grapevine breeding. Verona: 56-59.
- ALLEWELDT (G.) et DETTWEILER (E.), 1989. — A model to differentiate grapevine cultivars with the aid of morphological characteristics. *Riv. Vitic. Enol.* 1, 59-63.
- BOURSIQUOT (J.M.), FABER (M.P.), BLANCHIER (O.) et TRUËL (P.), 1987. — Utilisation par l'informatique et traitement statistique d'un fichier ampélographique. *Agronomie*, 7 (1), 13-20.
- BOURSIQUOT (J.M.), VIGNAU (L.) et BOULET (J.C.). — Ricerche sull'utilizzazione dell'ampelometria. *Riv. Vitic. Enol.*, 1, 37-51.
- CARBONNEAU (A.), 1976. — Principes et méthodes de mesure de la surface foliaire essai de caractérisation des types de feuilles dans le genre *Vitis*. *Ann. Amélior. Plantes*, 26 (2), 327-334.
- DETTWEILER (E.), 1987. — Ein Modell zur unterscheidbarkeit von rebsorten mit hilfe blattmorphologischer merkmale. Diplom Agrobiologin aus Wintersheim/Rheinessen. Stuttgart-Hohenheim.
- DETTWEILER (E.), 1989. — Minimal Descriptor List for Grapevine Varieties. Bundesanstalt für Züchtungsforschun im weim - und Gartenbau. Institut für Rebenzüchtung Geilweilerhof, Siebeldingen.
- DETTWEILER (E.), 1991. — Preliminary Minimal Descriptor List for Grapevine Varieties. Bundesanstalt für Züchtungsforschun im weim - und Gartenbau. Institut für Rebenzüchtung Geilweilerhof, Siebeldingen.
- FERRO (E.), 1989. — Aplicación de las técnicas de cultivo « *in vitro* » de ápices caulinares en el saneamiento de clones seleccionados de vid, cv. Albariño. Tesis Doctoral. Santiago de Compostela.
- GALET (P.), 1952. — Précis d'Ampélographie Pratique, Imp. Déhan. Montpellier.
- GALET (P.), 1985. — Cépages et vignobles de France. Vol. II, Les cépages de cuve (1^{re} partie). Imp. Déhan. Montpellier.
- GALET (P.), 1988. — Cépages et vignobles de France. Vol. I. Les vignes américaines. Imp. Déhan, 2^e édition. Montpellier.
- GRENAN (S.), 1982. — Quelques réflexions à propos de modifications morphogénétiques consécutives à la culture *in vitro* chez la vigne (*Vitis vinifera* L.). *Annales des Sciences Naturelles, Botanique*. Sér. 13, 4, 135-146.
- GRENAN (S.), 1982. — Implications fondamentales et appliquées de conséquences de la culture « *in vitro* » de « *Vitis vinifera* » L. Thèse Orsay.
- GRENAN (S.), 1984. — Polymorphisme foliaire consécutif à la culture *in vitro* de *Vitis vinifera* L. *Vitis*, 23, 159-174.
- KEEFE (P.D.) et DRAPER (S.R.), 1986. — The measurement of new characters for cultivar identification in wheat using machine vision. *Seed Sci. and Technol.*, 14, 715-124.
- KEEFE (P.D.) et DRAPER (S.R.), 1988. — An automated machine vision system for the morphology of new cultivars and plant genebank accessions. *Plant Varieties and Seeds*, 1, 1-11.
- MARGARA (J.), 1982. — Bases de la multiplication végétative. Les méristèmes et l'organogénèse. I.N.R.A., Paris.
- MARTIN (C.) et COLLAS (A.), 1992. — De la culture *in vitro* à la production de greffés-soudés issus du greffage herbacé de la vigne. *Progrès Agricole et Viticole*, 109 (3), 61-68.
- NOZERAN (R.), GRENAN (S.), TRUËL (P.) et FAVRE (J.M.), 1983. — Morphogénèse à partir du stade juvénile de *Vitis vinifera* L. issu de graine ou de culture *in vitro*. *Agronomie*, 3 (7), 681-684.
- O.I.V., 1983. — Código de los caracteres descriptivos de las variedades y especies de *Vitis*. Éd. A. Dedon. Paris.
- SNYDER (E.), HARMON (F.N.), 1936. — Hastening the production of fruit in grape hybridizing work. *Proc. Amer. Soc. Hort. Sci.* 34, 426-428.
- WEST (J.G.) et NOBLE (I.R.), 1984. — Analyses of digitised leaf images of the *Dodonaea viscosa* complex in Australia. *Taxon* 33 (4), 595-613.