



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

Ecole Nationale Supérieure Agronomique

المدرسة الوطنية العليا للفلاحة

Département: Productions végétales

القسم: الإنتاج النباتي

Spécialité: Ressources génétiques et amélioration
des productions végétales

التخصص: الموارد الوراثية والتحسين النباتي

Mémoire De Fin D'études

Pour L'obtention Du Diplôme De Master

THEME

**Amélioration de la micropropagation de quelques cépages autochtones
de vigne (*Vitis vinifera* L.).**

Présenté par : **Saida REKAIK**

Soutenu publiquement le 10/11/2019

Devant le jury composé de :

Mémoire dirigé par :

M. HADDAD Benalia

Maître de conférences B, ENSA

Co-promotrice :

Mme. AITER Nassima

Chef de service, ITAFV

Président (e) :

Mme. TELLAH Sihem

Maître de conférences A, ENSA

Examineurs :

Mme. AMIROUCHE Safia

Chargée de Cours, ENSA

M. BELARBI Baroudi

Professeur, ENSA

Promotion : 2016/2019

TABLE DES MATIÈRES

Introduction générale	1
Synthèse bibliographique	3
CHAPITRE I : Généralités sur la vigne	4
1. Historique de la vigne	4
2. Taxonomie et biodiversité de la vigne	5
3. Importance de la vigne.....	6
3.1 Dans le monde	6
3.2 En Algérie.....	7
4. Morphologie et anatomie de la vigne	9
4.1 Système racinaire	9
4.2 Système aérien.....	10
4.2.1 Tronc	10
4.2.2 Rameaux.....	10
4.2.3 Feuilles	11
4.2.4 Bourgeon.....	11
4.2.5 Fleur	11
4.2.6 Vrille et Inflorescence	12
4.2.7 Grappe, baie	12
5. Physiologie de la vigne	12
6. Multiplication de la vigne.....	14
6.1 Multiplication sexuée	14
6.2 Multiplication asexuée ou végétative	14
CHAPITRE II : La culture <i>in vitro</i>	15
1. Historique de la culture <i>in vitro</i> :	15
2. Culture <i>in vitro</i>	16
3. Modes de la culture <i>in vitro</i>	17
3.1 Mode conforme	17
3.1.1 Organogénèse.....	17
3.1.1.1 Caulogénèse.....	17
3.1.1.2 Rhizogénèse.....	17
3.2 Mode non conforme	18

3.2.1	Embryogenèse somatique	18
3.2.2	Culture de protoplastes.....	19
4.	Applications de la culture <i>in vitro</i>	19
4.1	Micropropagation	19
4.2	Culture de méristème.....	21
5.	Facteurs de régénération et de croissance.....	21
5.1	Effet de l'explant.....	21
5.1.1.	Age physiologique et ontogénique de l'organe	22
5.1.2.	Époque du prélèvement.....	22
5.1.3.	Taille de l'explant.....	22
5.1.4.	Influence du génotype	22
5.1.5.	Effet du milieu de culture.....	23
6.	Composition des milieux de culture	23
6.1	Les facteurs de milieu.....	25
6.1.1	Stérilisation	25
6.1.2	Lumière et photopériode	25
6.1.3	Température	26
7.	Problèmes de la micropropagation de la vigne.....	26
7.1.	Variabilité de la réponse.....	26
7.2.	Instabilité génétique	26
7.3.	Juvenilité	27
	Matériels et méthodes	29
1.	Lieu de l'expérimentation.....	29
2.	Objectif de l'expérimentation	29
3.	Matériel végétal utilisé	29
4.	Milieux de culture utilisés	30
5.	Préparation des solutions mères.....	32
5.1	Solution mère des macro-éléments et micro-éléments.....	32
5.2	Solution mère des chélates de fer	32
5.3	Solution mère des vitamines.....	32
5.4	Solution mère des substances de croissances	33
6.	Préparation du milieu de culture :.....	33
7.	Préparation de désinfectant.....	33
7.1	Solution de chlorure de mercure	33

8.	Stérilisation	34
8.1	Stérilisation de milieu de culture.....	34
8.2	Stérilisation des instruments.....	34
9.	Préparation du matériel végétal	34
9.1	Prélèvement des échantillons et désinfection.....	34
9.2	Stérilisation de matériel végétale	35
10.	Mise en culture des explants	36
10.1	Phase de l'établissement de la culture.....	36
10.2	Phase d'allongement.....	37
10.3	Phase de l'enracinement.....	37
10.4	Phase de pré acclimatation et acclimatation.....	38
11.	Paramètres étudiés et analyse des données	38
	Résultats et discussion	41
1.	Phase d'établissement de la culture et de multiplication.....	41
1.1	Taux de débourrement des explants (%).....	41
2.	Phase de multiplication.....	43
2.1	Nombre moyen de pousses par explants	43
2.2	Longueur moyenne des pousses (cm)	44
2.3	Nombre moyen de feuilles des trois cépages étudiés.....	45
3.	Phase d'enracinement et d'acclimatation	50
3.1	Taux d'enracinement (%).....	50
3.2	Nombre moyen des racines	51
3.3	Longueur moyen des racines(cm)	52
4.	Acclimatation.....	56
	Discussion générale.....	57
	Conclusion générale.....	62
	Perspectives et recommandations.....	63
	Références bibliographiques	65
	Annexes	

Résumé:

Des boutures herbacées appartenant à trois cépages autochtones de *vitis vinifera* L. ont été régénérées par la micropropagation *in vitro* via le microbouturage. Nous avons testé six milieux de culture à savoir le milieu QUIRIN et LEPOIVRE (1980) et le milieu de base MURASHIGE et SKOOG (1962) et quatre milieux de culture établis à partir de ce dernier, ces milieux sont différents par leur balance en macroéléments, ils diffèrent en teneur d'azote totale et forme de nitrate apporté. Ce travail expérimental se compose de quatre phases, dans les deux premières phases d'établissement et d'allongement, les milieux de culture sont additionnés de 0.6 mg BAP et 0.01 mg ANA, dans la troisième phase, on a utilisé deux milieux d'enracinement différents, l'un est additionné de 1 mg d'ANA comme source d'auxines, et l'autre sans hormones. Les milieux MS2 et MS3 (Milieux MURASHIGE et SKOOG (1962) modifiés) se sont avérés les plus efficaces pour le débourrement et l'allongement des pousses des trois cépages, le développement des pousses était faible et les plantules étaient chlorotiques sur les autres milieux, la substitution de chlorure de calcium par le nitrate de calcium et la réduction de nitrate d'ammonium dans les deux milieux a amélioré la croissance des pousses. En ce qui concerne l'enracinement, les milieux pourvus d'ANA ont favorisés la formation des racines des trois cépages et entraînés un pourcentage d'enracinement le plus élevé (> 81%) et s'est avéré plus bénéfique pour l'apparence morphologique globale des plantules des trois cépages. Après acclimatation, la survie des plantules cultivées dans un milieu dépourvu d'ANA était supérieure à celle du milieu pourvu d'ANA.

Mots clés : Acclimatation, Auxines, cépages autochtones, *vitis vinifera* L., micropropagation

Abstract:

Herbaceous cuttings belonging to three locale varieties of *vitis vinifera* L. were regenerated by micropropagation *in vitro* via microcutting. We tested six culture media, the QUIRIN and LEPOIVRE (1980), medium, the basic medium MURASHIGE and SKOOG (1962) and four culture media established from it. These media are different in their balance in macroelements, differ mainly in the amount and form of total nitrogen and nitrates. This experimental work consists of four phases, in the first two phases of establishment and elongation, the culture media are supplemented with 0.6 mg BAP and 0.01 mg ANA, in the third phase, two different rooting media were used. One is supplemented with 1 mg of ANA as a source of auxins, and the other without hormones. Both media MS2 and MS3 (Milieux MURASHIGE et SKOOG (1962) modifiés) were most effective for bud burst and shoot elongation of all three grape varieties, shoot development was poor and the plantlets were chlorotic on other media, calcium chloride substitution with calcium nitrate and reduction of ammonium nitrate in both media enhanced shoot growth. Regarding rooting, ANA-free medium favored the root formation of all three grape varieties and resulted in a higher percentage of rooting (> 81%) and proved to be more beneficial for the overall morphological appearance of the plantlets. After acclimatization, survival of microshoots cultivated in media without ANA was higher than those in ANA.

Key Words: Acclimatization, Auxins, indigenous grape varieties, micropropagation, *Vitis vinifera* L.

ملخص :

في إطار هذا العمل، قمنا بتجديد ثلاث أصناف من العنب المحلي *Vitis vinifera* L. بواسطة التكاثر الدقيق في المخبر، وقد قمنا باختبار ستة أوساط زراعية: الوسط (1980) QUIRIN and LEPOIVRE، الوسط (1962) MURASHIGE and SKOOG و أربعة أوساط مستخرجة من هذا الأخير. هذه الأوساط تختلف في مكونات العناصر الأساسية، تحديدا في كمية النيتروجين و نوع النترات المضافة إلى الأوساط. العمل ينقسم إلى أربعة مراحل، في المرحلة الأولى و الثانية و التي تمثلان على التوالي مرحلتى التبرعم و الاستطالة، قمنا بإضافة 0.6 مغ BAP و 0.01 مغ ANA إلى جميع الأوساط. أما في المرحلة الثالثة و تمثل مرحلة التجذير، قمنا باستعمال وسطين زراعيين مختلفين. الوسط الأول أضفنا له 1 مغ ANA و الثاني بدون هرمونات. كل من الوسطين MS2 و MS3 كانا الأكثر فعالية في مرحلتى التبرعم و الاستطالة لأصناف العنب الثلاثة. أما في الأوساط الزراعية الأخرى كان التطور منخفضا و النباتات كانت مصفرة. استبدال كلوريد الكالسيوم بنترات الكالسيوم و تخفيض كمية نترات الأمونيوم في كلا الوسطين فعالة في تحسين نمو النباتات المخيرية. فيما يتعلق بالتجذير، الأوساط الخالية من الأكسجينات، كانت الأفضل في تكوين الجذور لجميع الأصناف و أعلى نسبة سجلت في هذه الأوساط (> 81%)، و أثبتت أنها الأكثر فعالية في تطور البنية المرفولوجية للنباتات. بعد التأقلم، كانت نسبة بقاء النباتات حية أعلى في الأوساط الخالية من الهرمونات.

كلمات مفتاحية : التكاثر الدقيق، *Vitis vinifera* L.، أصناف العنب المحلية، التأقلم، الأكسجينات