



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي



Université de Abbes laghrour- khenchela

جامعة عباس لغرور-خنشلة

Faculté des sciences de la Nature et de la vie

كلية علوم الطبيعة و الحياة

DEPARTEMENT D'AGRONOMIE

MEMOIRE

En vue de l'obtention du diplôme de MASTER

Filière: Biologie

Spécialité: biotechnologie et amélioration des plantes

THEME

**Etude de la culture in vitro et production des semences
de deux variétés de pomme de terre (variété Désirée et
variété Spunta) dans des conditions contrôlées**

Présenté par :

Mr: MOKHNACHI LAKHDAR

M^{elle}: SARI AMEL

Membres de jury :

Président : Mr. ABAIDIA. A

Promoteur : Mr. MAZOUZE .L

Examineurs : Mr. LEBBAL. S

M.A.B Université d'Abbes laghrour- khenchela

M.A.A Université d'Abbes laghrour- khenchela

M.A.A Université d'Abbes laghrour- khenchela

2013/2014

*TABLE DES
MATIERES*

Sommaire

Remerciement

Dédicace

Liste des tableaux

Liste des figures

Liste des abréviations

Introduction

Partie 1 : *Revue bibliographique*

Chapitre 1: Généralités sur la pomme de terre

1-1-Historique de la pomme de terre

1-2- La production de pomme de terre :

1-2- 1 Dans le monde

1-2-2- En Algérie

1-3 -Taxonomie et origine

1.4- Description botanique et morphologique

a) Appareil aérien

b) Aspect des tiges

c) Insertion et caractéristiques foliaires

1-5 - Le cycle de vie et mode de reproduction

1-5-1- Cycle sexué

1-5-2- Repos végétatif et dormance

1-5-3 La Germination

1-5 4-Croissance de plante

1-5-5-Tubérisation

Chapitre 2- La multiplication artificielle

2-1- Les méthodes classiques

- a) **Bouturage**
- b) Marcottage
- c) Greffage
- d) Drageonnage

2-2- Les méthodes modernes "la culture *in vitro*"

2-2-1-Historique

2-2- 2-Les catégories de la culture in vitro

- La catégorie de la culture in vitro Conforme
- La catégorie de la culture in vitro non Conforme

2-2-3- Les facteurs influençant la culture in vitro

2-2-4 Les régulateurs de croissance

- a) L'auxine
- b) Les Cytokinines
- c) Rôle des auxines et des cytokinines dans l'organogénèse

2-2-5- Comparaison culture *in vitro* /culture *in situ*

2-2-6- Applications de la culture *in vitro* de tissus et de cellules

2-2-7- les étapes de la culture in vitro

2-2-8- Les avantages de la culture in vitro

2-2-9 Les inconvénients

Chapitre 3: La production classique de semence de pomme de terre

3-1-Généralités

3-2-Matériel végétal de départ

3-3-Technique de boutures de tiges

3-4- Multiplication au champs

3-5- Précautions à respecter

3-6- Inconvénients

Chapitre4- Multiplication végétative conforme *in vitro* de la pomme de terre

4-1- Généralités

4-2- Matériel végétal de départ

4-3- Milieu de culture

4-3-1 -Eléments minéraux

4-3-2- Vitamines

4-3-3- Sucres

4-3-4- Substances de croissance

4-4- Etapes de multiplication végétative " conforme " *in vitro*

4-4-1-Méthode conduisant a l'obtention de plantules dans le presse-mottes

4-4-2- Méthode conduisant a l'obtention de micro-tubercules *in vitro*

Partie 2: Etude Expérimentale

chapite 1 Matériels et méthodes

1-1- Matériel végétal

1-1-1- Matériel et produits utilisés dans l'expérimentation

1-2- Méthode

1-2-1- Préparation de matériel pour la production des germes

2-2-2- Préparation des solutions -mère des milieu de culture

2-2-3- Préparation de Matériel végétal de départ

2-2-4- Repiquage des implants en tube

1-2-5- Notation des étapes d'expérimentation

1-2-5-1 phase de croissance en tubes a essais

1-2-5-2 Observation

1. chapitre 2 : Résultats et discussion :

1- Résultats :

1-1- La longueur des tiges et le nombre des feuilles

1-a- Cas de variété Désirée

1-b- Cas de variété *spunta*

2- Résultat et discussion

2-1- Paramètre longueur de la tige

2-2- Paramètres LmT, Nbrfs, Nbfc et Lf des individus des deux variétés désirée et *spunta*(2 jours de plantation)

2-3- Paramètres LmT, Nbrfs, Nbfc et Lf des individus des deux variétés désirée et *spunta*(30 jours de plantation)

2-4- Paramètres LmT, Nbrfs ,Nbfc et Lf des individus des deux variétés désirée et *spunta*(60 jours de plantation)

Référence

Annexe

Abstract

Résumé

REMERCEMENTS

Au terme de cette étude, je remercie avant, Dieu tout puissant de m'avoir guidé de suivre le chemin de la science et m'avoir permis la réalisation de ce présent travail. Tout d'abord, qui m'a inspiré les bons pas et les justes réflexes. Sans sa miséricorde, ce travail n'aura pas abouti.

Je tiens vivement à exprimer ma profonde reconnaissance et gratitude au mon encadreur Mr. MAZOUZ L, , qui a bien voulu, par son aimable bienveillance, diriger cette étude, qui a fait preuve d'une grande patience. Ses conseils, ses orientations ainsi que, ses qualités humaines et ses intérêts portés pour mon sujet de recherche m'ont permis de mener à terme ce projet. Son encadrement était des plus exemplaires.

J'exprime aussi mes chaleureux remerciements aux gens qui ont mis leurs travaux à l'internet pour que les autres puissent s'informer.

Merci à tous ceux qui sont venus me soutenir et m'encourager le jour de la

Soutenance

fin, je remercie chaleureusement, le président et les membres du jury d'avoir

Accepter d'examiner ce mémoire.

*Je dédie ce modeste travail :
ma Mère, mon père, ma tante,
Mon frère*

*À la mémoire de et tous mes
Ancêtres ;
À toute la famille BOUALI;
À tous mes amis d'enfance et du
Long parcours scolaire et
BOUALI YUCEF M
ma soeur et
qui m'ont aidé a réalisé ce
Modeste travail ;
tres Universitaire*

listes des tableaux :

Tableau n°1: Évolution des Superficies, des Productions et des Rendements de la culture.

Tableau n°02: caractéristiques des deux variétés de pomme de terre étudiées.

Tableau n°3: composition en éléments minéraux de milieu de culture utilisés(MS).

Tableau n°4: la solution stock de Fer EDTA

Tableau n°05: solution vitaminique de MS.

Tableau n° 6: Mesure de la vitesse de croissance moyenne cm/j des tiges des deux variétés dans le milieu MS.

Tableau n° 7 : Test d'égalité des espérances deux observations de variance égales .

Tableau n° 8:Test t à deux échantillons des paramètres LmT, Nbrfs et Lf des individus des Deux variétés .

Tableau n°9:Test T à deux échantillons des paramètres LmT, nbrfs, nbrfc et Lf des individus des deux variétés désirée et *spunta* (après 30 jours de plantation).

Tableau n°10:Test T à deux échantillons des paramètres LmT, Nbrfs, NbrfcetLf des individus des deux variétés désirée et *spunta* (après 60 jours de plantation) .

Listes des figures

Figure 1: Taux de croissance annuels moyens de la production de quelques cultures vivrières dans les pays en développement: de 1985-87 à 1995-97 et de 1961-63 à 1995-97.

Figure 2: botanique de la pomme de terre

Figure 3 : Caractéristiques morphologiques de la pomme de terre et cycle végétatif.

Figure 4: le tubercule de la pomme de terre

Figure 5 : Acide indole 3-acétique

Figure 6: Rôle des auxines et des *cytokinines* dans l'organogénèse

Figure 7: principales méthodes de micropropagation

Figure 8 : les Applications de la culture *in vitro* de tissus et de cellules

Figure 9 la mise en culture

Figure 10 : Chambre de culture et *Vitroplant* de châtaignier

Figure 11: *Vitroplant* de noisetier sur milieu ferrugineux

Figure 13: fin d'acclimatation

Figure 12: l'acclimatation

Figure 14: Elevage de framboisier et Pieds mère de châtaignier

Figure 15 : la culture *in vitro* de la pomme de terre

Figure 16: Matériel végétal de départ

Figure 17: La micropropagation de la pomme de terre

Figure 18 : étapes de boutures

Figure 19 : mise en culture (pommes de terre)

Figure 20: Développement des vitro-plants acclimatés.

Figure.01a: variation de la longueur moyenne de la tige, du nombre de feuilles simples et composées par plant après 02 jours de plantation.

Figure.01b: variation de la longueur moyenne de la tige, du nombre de feuilles composées et composées par plant après 02 jours de plantation.

Figure.02a: variation de la longueur moyenne de la tige, du nombre de feuilles simple par plant après 30jours de plantation.

Figure.02b: variation de la longueur moyenne de la tige, du nombre de feuilles composées par plant après 30jours de plantation.

Figure.03a: variation de la longueur moyenne de la tige, du nombre de feuilles simple par plant après 30jours de plantation .

Figure.03b: variation de la longueur moyenne de la tige, du nombre de feuilles composées par plant après 30jours de plantation .

Figure.04a: variation de la longueur moyenne de la tige, du nombre de feuilles simple par plant après 60jours de plantation .

Figure.04b: variation de la longueur moyenne de la tige, du nombre de feuilles composées par plant après 60jours de plantation.

Figure.05a: variation de la longueur moyenne de la tige, du nombre de feuilles simple par plant après 60jours de plantation .

Figure.05b: variation de la longueur moyenne de la tige, du nombre de feuilles composées par plant après 60jours de plantation .

Liste des abréviations :

‰ : Pour cent.

°C : Degré Celsius .

AIA : Acide indole 3-acétique .

Cm : Centimètre.

h : Heure.

jrs : Jours .

LmT : Longueur moyenne de la tige

mn : minute.

MS : Muraschige & Skoog

NF : Nombre feuilles.

Nfc : Nombre de feuille composée .

Nfs : Nombre de feuilles simples .

Tab : Tableaux .

VD: variété Désiré .

VS : variété *spunta* .

Introduction :

La pomme de terre (*Solanum tuberosum* L.) est une plante herbacée tubéreuse originaire d'Amérique latine. Sa production mondiale s'élève à 340 millions de tonnes en 2010 sur près de 18,4 millions d'hectares (ANONYME, 2011), ce qui lui confère le rang de cinquième plante cultivée après la canne à sucre, le maïs, le blé et le riz. En plus de son importance dans l'alimentation, la pomme de terre est aussi utilisée par voies biotechnologiques dans la production des vaccins contre le diabète et l'hépatite (ARAKAWA *et al.*, 1999). Dans la pratique agricole, le cycle de production de la pomme de terre est principalement végétatif, les tubercules produits constituant à la fois un organe de reproduction asexuée, la partie alimentaire de la plante et aussi une matière première pour la transformation industrielle (ELLISSÈCHE, 2008).

En Algérie 100.000 ha sont réservés annuellement à la production de la pomme de terre, soit 27% de la superficie totale consacrée aux cultures maraichères, la production de l'année 2007 a été de 14.210.088 q soit 24% de la production totale maraichère, avec un rendement moyen de 120 q/ha pour une valeur estimée à 52 milliards de Dinars Algériens et avec un besoin de 60 Kg habitant/an, la pomme de terre, reste un produit de base pour le consommateur Algérien selon NOUAD(2008).

Selon OMAI(2008), la production de la pomme de terre en Algérie a augmenté de 54,57% entre la moyenne annuelle de la période 2000/2007 et celle de la décennie 1991/2000.

La croissance démographique rend l'augmentation de la production indisponible pour couvrir les besoins nationaux sans avoir recours à l'importation.

L'importation des semences n'est pas une solution et les pays fournisseurs de nous fournissent par toujours des semences répondant aux qualités demandées et au moment voulu, celles-ci peuvent être utilisées comme moyen de pression. La production des semences en Algérie est une nécessité absolue.

La technique de production de plants doivent être maîtrisées, les cultures in vitro reste la plus avantageuse. Cette technique permet l'obtention des semences satisfaisantes sur le plan quantitatif et qualitatif afin de réduire les dégâts dus aux maladies transmissibles, notamment les maladies virales.

Dans cette perspective , notre modeste contribution vise à connaître et mettre en valeur les avantages utilisés de la technique de la culture in vitro de la production de plant de pomme de terre .

Notre travail vise à comparer l'effet de la richesse du milieu de culture sur l'émergence et la production des plantules chez de deux variété de pomme de terre (*spunta* et désiré) .

L'intérêt et de mettre au point une méthode permettant de produire en Algérie de la semence de bonne qualité sanitaire , conformes a la variété , aussi rapidement que possible et à moindre cout .

Chapitre I. Généralités sur la pomme de terre

I. 1- Historique de la pomme de terre :

L'histoire de la pomme de terre, la *Solanum tuberosum*, commence avec celle des Amérindiens qui vivaient il y a plus de 10 000 ans dans la zone côtière de l'actuel Pérou et au sud-ouest de l'Amérique latine. Ces chasseurs-cueilleurs du Néolithique ont doucement appris à la domestiquer et à traiter ses propriétés toxiques. Il y a 8000 ans, sur l'Altiplano andin, dans la région du lac Titicaca, cette domestication a abouti à des pratiques rationnelles de culture et de conservation.(Anonyme., 2000) .

Il n'y a pas de document sur la date précise d'arrivée de cette plante sur l'Europe, il est probable qu'à l'époque, personne n'imaginait l'importance que pourrait prendre cette production agricole. On pense cependant que la pomme de terre arriva quelque années avant la fin du XVI^{ème} siècle et ceci par deux entrées; la première l'Espagne vers 1570 et la seconde les îles Britanniques (1588-1593) (**Rousselle et al ., 1996**).

En Algérie, la pomme de terre a probablement, été introduite une première fois au XVI^{ème} siècle par les Maures andalous qui ont propagé les autres cultures dans la région : tomate, poivron, maïs, tabac ... puis elle est tombée dans l'oubli n'ayant pas suscité d'intérêt. Dans la deuxième moitié du XIX^{ème} siècle, les colons vont la cultiver pour leur usage, car les algériens y sont réticents malgré les disettes successives. C'est la dernière grande famine des années 30/40 qui viendra à bout de cette opposition (**Meziane, 1991**).

la pomme de terre va permettre à l'Europe d'espérer la fin des famines. La culture de la pomme de terre, en libérant le peuple des disettes, va renforcer les États, nourrir leurs soldats et accompagner leurs armées dans des conquêtes plus lointaines. Au XIX^e siècle, la force et la stabilité alimentaire acquises grâce à la pomme de terre offriront aux empires coloniaux la possibilité de s'étendre et de dominer une grande partie du monde.

La pomme de terre va devenir le principal soutien de la révolution, offrant une nourriture économique aux ouvriers toujours plus nombreux à se presser dans les villes, au plus près des usines. A la fin XX^e siècle, la pomme de terre aura conquis la planète entière.(**Meziane, 1991**)

1-2 -Production mondiale

La production mondiale de pommes de terre qui était en augmentation sensible mais constante depuis les années 80, s'est stabilisée depuis le début des années 2000. Si l'on corrèle cela à la forte baisse de la surface mondiale de cultures de pommes de terre de ces 10 dernières années, on peut en conclure que les cultures se sont renforcées sur le plan technique. Et que, par conséquent, les rendements ont nettement augmenté. Entre 2008 et 2009, on note une légère augmentation du niveau mondial de production ainsi que des surfaces cultivées.

1-3- Production de la pomme de terre en Algérie :

La production de pomme de terre a augmenté de 54,57 % (ANONYME,2007) ; Entre la moyenne annuelle de la période de 2000/2007 et celle de la décennie 1991/2000. Le volume de production moyen annuel passe de 10,6 millions de quintaux pour la période 1991/2000 à 16,4 millions de quintaux durant la dernière période (2000/2007). Les rendements ont suivi la même tendance entre les deux périodes considérées, soit une augmentation de 52,38%. Cependant, on enregistre une tendance à la stabilité dans les superficies occupées par la culture de pomme de terre en Algérie pour toute la période 1991/2007. La superficie moyenne annuelle oscille autour de près de 84 000 hectares. Tous ces éléments nous permettent de dire que la culture de pomme de terre a enregistré une intensification de la production durant les deux dernières décennies, même si les niveaux de rendements par hectare en moyenne nationale peuvent atteindre largement de meilleurs scores, eu égard au pic des rendements réalisés dans certaines régions du pays (plus de 300qx/ha).

Tableau n°1: Évolution des Superficies, des Productions et des Rendements de la culture

	Moyenne 91/2000	Moyenne 2000 /2007	Variation en % Moy2000-07/ Moy1991-00
Superficie (ha)	84 362	83 840	- 0,62
Production (Qx)	10 617 510	16 411 181	+ 54,57
Rendement (Qx/ha)	126	192	+ 52,38

1-4-2 Taxonomie et origine :

La pomme de terre est originaire des Andes où elle a été domestiquée et cultivée depuis l'époque néolithique dans la zone côtière de l'actuel Pérou, à la fin de la dernière aire glaciaire alors que l'Altiplano était encore en partie couvert par les glaces.

C'est dans les grottes de *Tres Ventanas* situées à 2 800 mètres d'altitude dans le canyon Chilca, à 65 km au sud-est d'Élima, qu'ont été mis au jour les plus anciens restes de tubercules de pommes de terre cultivées datant de 8000 av. J.-C. environ. On y a aussi découvert des spécimens de haricot, haricot de Lima, piment, oca et ulluque .

Des découvertes similaires ont été faites sur des sites archéologiques situés le long de la côte péruvienne, depuis *Huaynuma* dans la vallée de *Casma* (région d'Ancash, à 360 km au nord de Lima), jusqu'à La Centinela dans la vallée de Chincha située à 200 km au sud de Lima.

Cérémonies Incas, d'après le *El primer nueva corónica y buen gobierno* de Felipe Guaman Poma de Ayala (1615).

Axomama, déesse de la pomme de terre, Mochica, Pérou.

Céramique pomme de terre de la culture Mochica (musée Larco, Lima) Un spécimen de *Solanum maglia*, espèce de pomme de terre sauvage, datant de 13000 av. J.-C., a été identifié sur le site archéologique de Monte Verde, près de Puerto Montt dans le sud du Chili.

Surement consommée mais non cultivée, elle est la plus ancienne espèce connue ayant pu

servir à l'alimentation humaine. Cette découverte tend à confirmer cette région comme étant le berceau de la pomme de terre (**Anonyme, 2001**)

Les poteries ayant pour thème la pomme de terre, découvertes dans la région, témoignent de l'importance qu'a pu revêtir sa domestication pour les cultures qui s'y sont succédé. Ces poteries, qui s'échelonnent du II^e siècle au XVI^e siècle, de l'ère Nazca à la fin de l'ère Inca, figurent les tubercules de manière très réaliste, puis celles-ci évoluent jusqu'à prendre la forme de créatures humaines ou animales, sur lesquelles sont toujours représentés les « yeux » des pommes de terre de façon de plus en plus stylisée

1-4-2 Description botanique et morphologique

Il s'agit d'une espèce herbacée, vivace par ses tubercules mais cultivée en culture annuelle le plus souvent. Nous donnerons en premier lieu dans ce chapitre un certain nombre d'indications sur la structure morphologique et le développement de la pomme de terre qui, en dépit de l'importance économique de cette plante, présentent de nombreuses lacunes. Il est intéressant de signaler, dès à présent, que les caractéristiques botaniques et morphologiques que nous allons examiner subissent d'importantes variations, liées en particulier au facteur variétal mais aussi aux conditions climatiques et aux techniques culturales (**Grisson, 1983**).

a) Appareil aérien

Une touffe de pomme de terre comprend un nombre plus ou moins élevé de tiges principales, d'abord dressées mais qui, avec l'âge, peuvent rester dressées (BF15) ou devenir partiellement ou totalement rampantes, donnant à la plante un port plus (Ratte, Sirtema) ou moins (Jaerla, Ostara) étalé.

b) Aspect des tiges

Trois paramètres principaux caractérisent l'aspect de la tige

- Sa couleur : verte ou plutôt brunâtre du fait de pigments anthocyanes associés à la chlorophylle et présents sur toute la longueur de la tige (Early Rose) ou seulement au niveau de certaines portions comme la base (BF15), les nœuds (Béa) ou les entrenœuds (**Kerpondy**).

- Sa forme et sa consistance : cylindrique ou le plus souvent anguleuse (section triangulaire) avec des entre-nœuds pleins à la base mais qui deviennent creux lorsque la tige est entièrement développée sauf chez le cv. Eclipse dont la tige reste bien remplie jusqu'à sa mort (**Bruton, 1989**).
- L'absence ou la présence de côtes ou d'ailes, peu ou très développées, rectilignes ou ondulées, en général simples ,à l'exception du vieux cv. Sackfiller où elles sont doubles (**Davidson, 1937 in Burton 1989**). Ainsi beaucoup de variétés féculières possèdent-elles des ailes ondulées (**Grison, 1983**). Ces expansions, qui sont plus marquées chez les jeunes plantes, résultent d'une décurrente inégale des deux bords du pétiole sur la tige, l'un s'étendant sur un entre- nœud, l'autre sur deux (**DeVries, 1878**).

c) Insertion et caractéristiques foliaires

Les feuilles sont alternes, disposées sur la tige suivant une phyllotaxie spiralée (indice phyllotaxique 5/13ème) avec une spirale génératrice tournant le plus souvent dans le sens sénestre (**Artschwager, 1918**). Le port de la feuille, qui dépend de son angle d'insertion sur la tige, est un caractère variétal relativement stable. La plupart des cultivars ont des feuilles à port horizontal mais quelques-uns possèdent des feuilles dressées (BF15) ou retombantes (**Arran Banner**).

Dans toutes les parties vertes de la pomme de terre et principalement dans le feuillage, on note la présence d'un glycoalcaloïde toxique : la solanine .La feuille est constituée, après le pétiole à section semi-circulaire, de grandes folioles latérales primaires (7 à 15), insérées par paires le long du rachis qui se termine par une foliole unique. Il s'agit d'une feuille de type composé, imparipenné. En plus des folioles primaires (fp) toujours présentes, il peut y avoir :

- des folioles secondaires (fs), plus petites, s'insérant au même niveau que les précédentes,
- des folioles intercalaires (fi), se trouvant entre chaque paire de folioles primaires,
- des folioles (fl.), s'insérant sur la base des folioles primaires.

Le fruit est une baie sphérique ou ovoïde de 1-3 cm de diamètre, de couleur verte brun violacé jaunissant à la maturité. Il contient généralement plusieurs dizaines de graines (**Bernhard, 1998**) et peut contenir jusqu'à 200 graines (Rousselle *et al.* 1996).

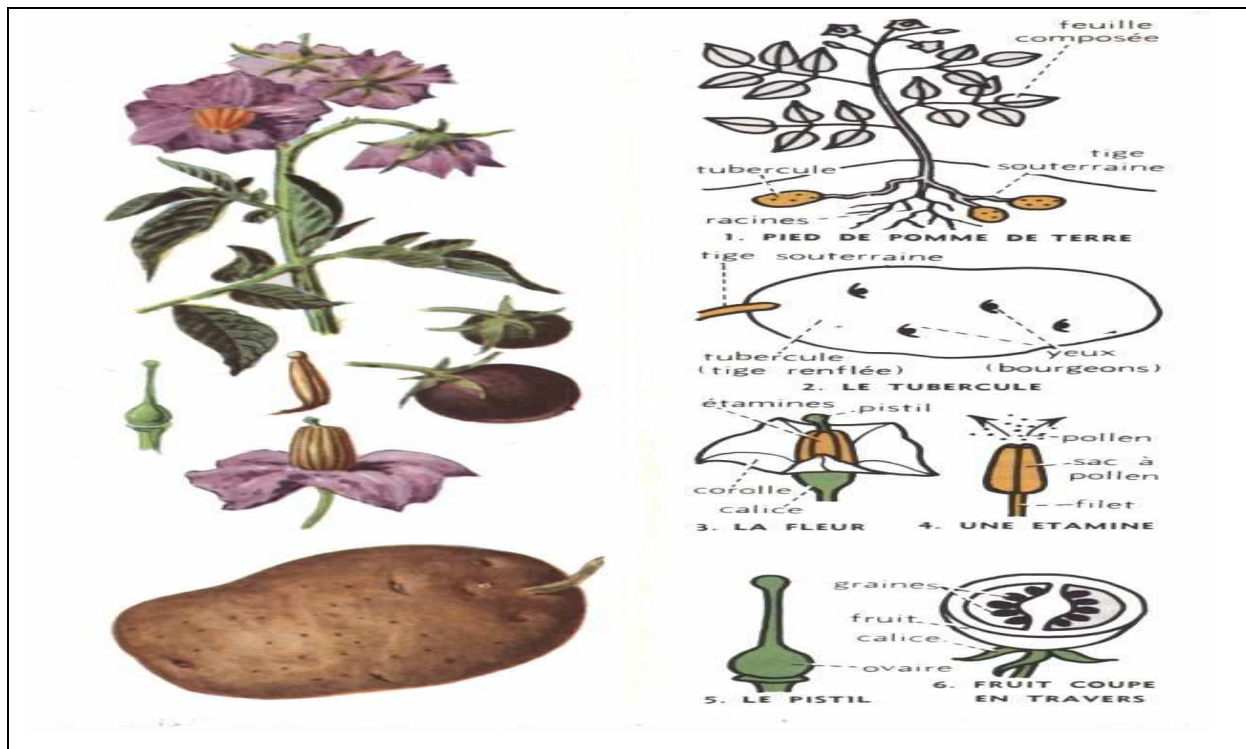


Figure n° 1: botanique de la pomme de terre

1-5- Le cycle de vie et mode de reproduction :

1-5-1- Cycle sexué :

La pomme de terre est très peu produite par graines dans la pratique agricole, en même temps la graine est l'outil de création variétale. La germination est épigée et les cotylédons sont portés au-dessus du sol, par le développement de l'hypo cotyle, en conditions favorables. Quand la jeune plante à seulement quelques centimètres de hauteur, les stolons commencent à se développer d'abord au niveau de cotylédons puis aux aisselles situées au-dessus, et s'enfoncent dans le sol pour donner des tubercules (**Bernhard** ,1998).

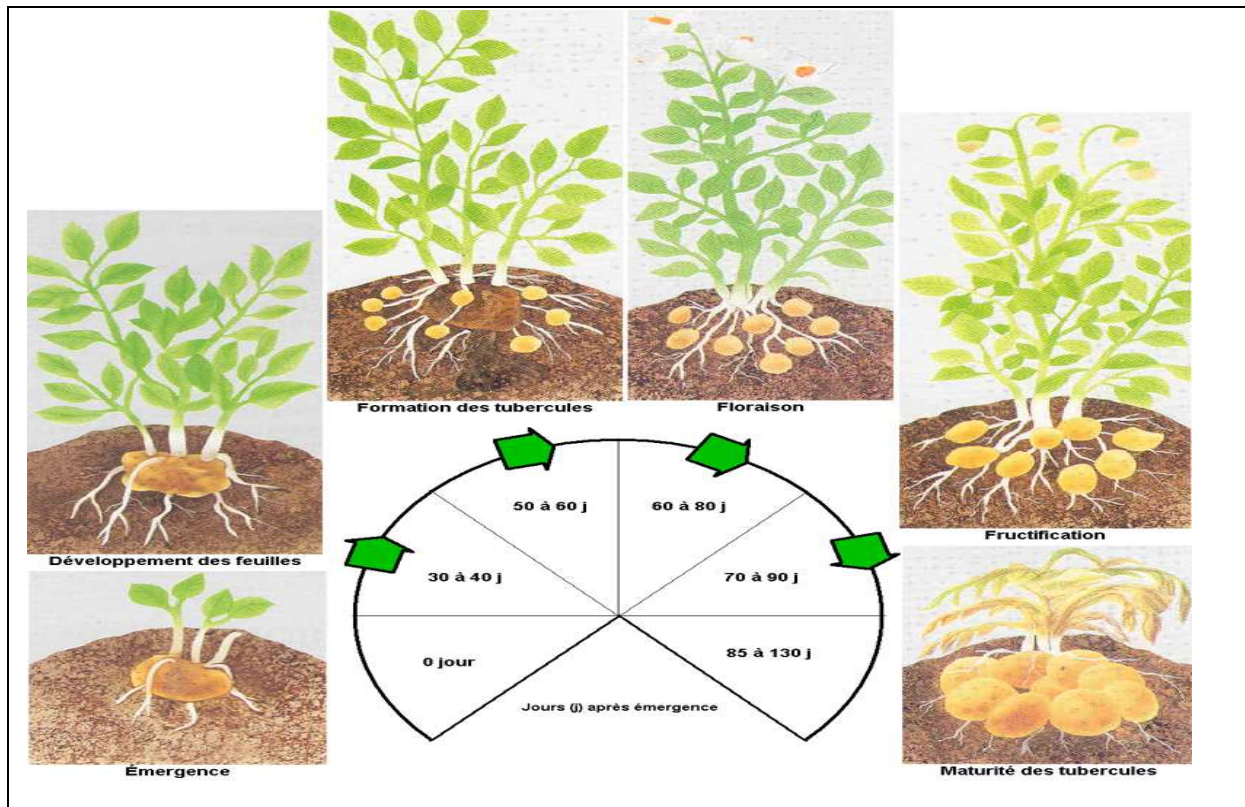


Figure n°2: Caractéristiques morphologiques de la pomme de terre et cycle végétatif.

1-5-2- Repos végétatif et dormance: la phase de dormance peut être divisée sur deux périodes distinctes :

- la première période est dite période de repos végétatif. pendant laquelle les tubercules ne germent pas même si toutes les conditions de croissance sont favorables et réunies, (à savoir 18 à 20° c pour la température et 90% pour l'hygrométrie). la durée de cette période est un caractère variable, elle est aussi par la température de stockage ou elle d'autant plus courte que la température de stockage est élevée (MOULE,1970) .
- La deuxième période est dite période de dormance pendant laquelle le tubercule peut être germer s'il est placé dans des conditions favorables de croissance et il germe une fois, la période de repos végétatif est terminée. Cette période peut être prolongée par les conditions de croissance défavorables à la germination pour une basse température ainsi qu'une humidité très faible .

1-5-3- La Germination:

Elle présente trois phases successives en reflétant l'état d'incubation du tubercules : phase1 (croissance lente des germes) , phase 2 (croissance rapide des germes) et phase 3 (croissance ralentie des germes).

La vitesse de croissance est faible dans la première phase, elle augmente jusqu' au maximum dans la deuxième phase et elle devient nulle lorsque l'induction de la tubérisation est atteinte.

La capacité de croissance du germe dépend de l'âge du tubercule -mère et nom de l'âge de germe lui- même, ainsi si on égerme (éliminer ou enlever le germe) le tubercule, un nouveau germe prend le relais avec la même capacité de croissance que celle acquise par le précédent ceci résulte d'un processus physiologique qui dépend :

- des conditions de conservation : une température supérieure à 10°C ; l'obscurité et une forte hygrométrie accélèrent la vitesse d'incubation des tubercules.

- la variété
Chapitre1 **Généralités sur la pomme de terre**
est indépendante de la précocité de maturation. (BLANC,1986).

1-6- Croissance de plante :

Quand on tubercule germé est planté en terre , ces germes se transforment en tiges feuillées dont les bourgeons axillaire donnent au-dessus du sol des rameaux et au-dessus du sol des stolons ,des racines adventives qui apparaissent sur ses tiges (SOLTNER, 1980).

L'état physiologique du tubercule-mère influe non seulement sur la germination et la rapidité de la capacité de croissance des germes, mais aussi sur la croissance de la productivité des plantes .la plante ne fais que reprendre le relais du germe au moment de la plantation (MADEC, 1962).

Si le tubercule planté atteint un degré d'incubation avancé, les germes issus de celui-ci auront une faible potentialité de croissance foliaire. les tiges issus de ses germes seront chétives ayant un aspect plus âgé et leurs capacités de production seront diminuées, mais la tubérisation sera plus précoce .au fur à mesure de leur développement, les tiges feuillées

deviennent de plus en plus indépendantes de tubercule-mère, que ce soit sur le plan nutritionnel ou physiologique. la croissance est influencée aussi par les conditions du milieu ; quand la température est défavorable, la croissance de la plante est ralentie, de même pour la lumière (intensité et photopériodisme). (MADEC,1962).

1-7-Tubérisation :

Au cours de la phase de croissance, et au bout d'une période (variable suivant la variété, l'âge physiologique de tubercule et des conditions du milieu) , les extrémités des stolons cessent de croître et se renflent pour donner des ébauches des tubercules qui grossissent par la suite . la croissance aérienne et la tubérisation sont deux phénomènes antagonistes, une augmentation de la croissance correspond à une réduction de la tubérisation et vice-versa (MOULE; in DJENNANE. et KLIFATTI ,1996) .

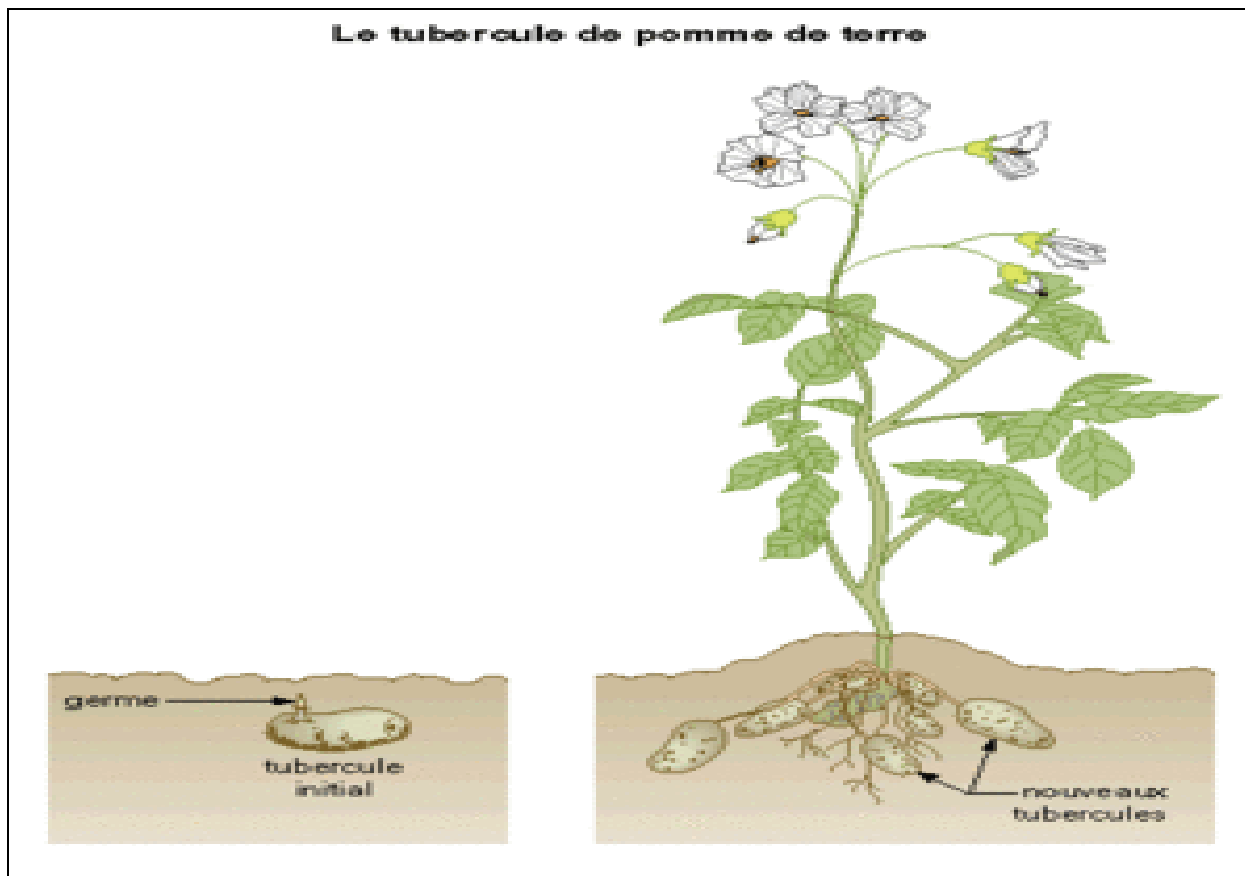


Figure n°3: le tubercule de la pomme de terre

2. La multiplication artificielle:

2-1- Les anciennes méthodes :

- a) **Bouturage** : Consiste à mettre en terre un fragment de plante dépourvu de racines, la bouture est capable de régénérer une plante entière par la formation des racines adventives (**Robert et al ., 1998**), **Selon Peyer et al., (2007)**, le bouturage consiste à couper un fragment ou bouture d'une pousse ou d'une tige, une masse cellulaire indifférenciée, appelée cal se forme sur la cicatrice, émet des racines adventives et produit des pousses.
- b) **Marcottage** : C'est un type particulier de bouturage dans lequel la bouture reste reliée à la plante mère jusqu'à la formation de ses propres racines comme les fraisiers (**Robert et l ., 1998**).
- c) **Le greffage** : C'est une pratique agronomique qui consiste à implanter dans les tissus d'un végétale un greffon, dans lequel le porte greffe fournit les racines et le greffon donne le système aérien (**Robert et al. 1998**).
- d) **Le drageonnage** : Est un procédé de multiplication végétative permettant à certaines espèces, arborescentes ou non, de se propager, voire de coloniser le milieu par la formation des tiges adventives à partir du système racinaire. (**Bellifontain et Monteus , 2006**).

2-2- Les méthodes modernes (la culture in vitro) :

2-2-1-Historique : En 1878, il y a donc plus de 120 ans. Cl Bernard formulait les principes théoriques de la création d'un système artificiel dans lequel les organes pourraient survivre hors de l'influence de l'organisme entier. Depuis cette orientation de recherche lentement d'abord, d'une manière plus rapide ensuite, a permis de grands développements à la biologie (**NozronetBancihon.1972**);

La culture indéfinie des tissus des végétaux à été réalisée il y a 70 ans, c'est en effet au printemps 1937 qui fut isolée la première souche tissulaire dans l'activité c'est maintenue jusqu'à présent grâce à des repiquages réguliers; Dés, 1941, on savait obtenir des plantes entières à partir de petits fragments d'organes ou colonies tissulaires ; leur enracinement ne posait aucun problème grâce aux auxines rhizogènes dont le maniement était connu depuis

assez longtemps (**Margara**, 1989). En 1944, Buvait par les techniques de culture de tissus met en évidence le phénomène de dédifférenciation : la juvénalisation ; En 1949, Limasse et Cornuet notent l'absence de Virus dans les méristèmes de tabacs viroses ; En 1955, la découverte de la kénétine, substance douée d'une puissante activité calogène, puis d'autres cytokinines ont permis de provoquer presque à volonté la néoformation de bourgeons adventifs ; Cette multiplication végétative in vitro fut enfin facilitée par la mise au point à partir de 1962 de solutions minérales particulièrement appropriées (**Margara, 1989**). En 1966, Guha et Maheswari en Inde obtenaient des plantes haploïdes de *Datura innoxia* M.LL à partir de culture d'anthères ; En 1971, au Japon, Takebe et Col régénéraient des plantes entières de *Nicotinatabacum* à partir de protoplaste (**Anonyme, 1996**).

2-2-3- Les catégories de la culture in vitro :

- **La catégorie de la culture in vitro Conforme :**

Il s'agit d'un mode de multiplication conduisant à des individus pourvus de même stock d'information héréditaire que la plante d'ont ils sont issus (**Nozoron et Benalhon, 1972**). Selon Rousselle *et al* .,(1996) la culture de méristèmes depuis les travaux de Morel et Mortin en 1950, a permis de guérir les plantes atteintes de virus .La micropropagation in vitro est plus ou moins utilisée dans la production de plantes conformes pour les premières générations de multiplication. Et selon LÊ ,(2001) pour produire des plantes génétiquement modifiées, la régénération doit donner des plantes conformes.

- **La catégorie de la culture in vitro Non conforme :**

D'après Nowbuth *et al* .,(2005) on appelle variation soma clonale des modifications du phénotype des plantes qui apparaissent le plus souvent lors de la régénération de nouvelles plantules à partir de tissus déjà différenciés. De très nombreux travaux ont porté sur la variation soma clonale et sont d'un éventuel intérêt pour la création variétal, le problème rencontré est souvent celui du crible puisque l'apparition d'un caractère utile est un événement rare et que l'on constate souvent l'apparition de caractères défavorables. Cette méthode peut être intéressante pour des caractères tel que la résistance aux parasites s'il est possible de faire un tri in vitro. A l'heure actuelle seule des résultats préliminaires ont été obtenus (**Bajaj, 1987**).

2-2-4- Les facteurs influençant la culture in vitro :

- **La lumière et la photopériode :**

La lumière est un facteur déterminant pour la culture in vitro des plantes, elle à une grande influence de par la durée d'exposition (photopériode), selon Houssay et al .,(1981) d'autre part la longueur de jour qui affecte la vigueur et le développement des proliférations et la croissance des cals, cette dernière pourrait aussi contribuer à la formation des cals (Briggs ,1964), de façon général le début de croissance nécessite une faible intensité lumineuse (500à 1000 lux) avec 12 à 16 heures de photopériodes (**Bommeneni et jauhar , 2003**). Lorsqu'il s'agit de préparer la plantule au repotage en serre, il apparaît souvent préférable d'augmenter l'intensité de l'éclairage (par exemple 10000 lux) (**Margara,1989**).

- **La température :**

La température de beaucoup de chambres à culture est constante de l'ordre de 22° à 25° C (**Margara ,1989**) mais selon LÊ, (1994) des faibles températures de 15°à 20° C stimulant la micro tubérisation chez la pomme de terre, selon Walali, (1993) pour l'olivier (27° à28° C) c'est la température optimale.

- **Le support de milieux de culture :**

Les six macroéléments nécessaires à la croissance (N, P, S, K, Mg, Ca) sont absorbés sous forme d'ions (**Margara ,1989**). Le potassium occupe la première position, il existe dans le milieu sous forme de nitrate ou chlorure avec une concentration de 20 à 30 mm, Il occupe la position du maître cation en relation d'une part avec la préférence de l'absorption qui lui vaut sa grande fusibilité complète d'une sélectivité avec exclusion de d'autre part Na.

Deuxièmement le phosphore est absorbé sous la forme ortho phosphorique (H₂PO₄ ou HPO₄), les besoins de la croissance dans les cultures des tissus varient de 1-30Mm, il augmente la densité des racines. Pour le calcium, les besoins en cet élément varient de 1-3 mm, le rôle du calcium, est le maintien de la structure cellulaire. Le magnésium à un rôle de construction de la molécule de chlorophylle et finalement les composés azotiques qui représentent la principale source d'alimentation azotée (**Yves, 1984**).

- **Le saccharose :**

Pour la culture in vitro le saccharose constitue une source d'énergie car la plante n'est pas encore arrivée à satisfaire ses besoins énergétiques, on peut dans un cas particulier utiliser d'autres sources, tels, le galactose et le lactose (**Téoulé, 1993**).

- **Les vitamines :**

En culture *in vitro* certaines vitamines sont favorables aux croissances des tissus, parmi les principales, citons : le thiamine, l'acide nicotinique, la pyridoxine, leurs concentrations sont fréquemment de l'ordre de 1mg/l (Téoulé, 1993).

- **Les sels minéraux:**

- Macro (g.l-1) éléments micro (mg.l-1) éléments**

Nitrate et/ou Ammonium

(Calcium -Magnésium-Phosphate-Fer)

Exemple: milieu de *Murashige* et *Skoog*, composition précise, le plus concentré en ions

Certaines espèces nécessitent de fortes teneurs en ions pour pousser, tandis que d'autres connaissent des toxicités aux sels (empirique) .

- Les substances organiques:**

(Vitamines (*in vitro* synthèse trop faible) -cuivre -iode -manganèse...)

Glucides (*in vitro* hétérotrophe, pas ou très peu de photosynthèse)

Acides aminés (stimulateurs de croissances, acide glutamique)

- 2-2-5-Les régulateurs de croissance :**

Tryptophane AIA (photosensible)

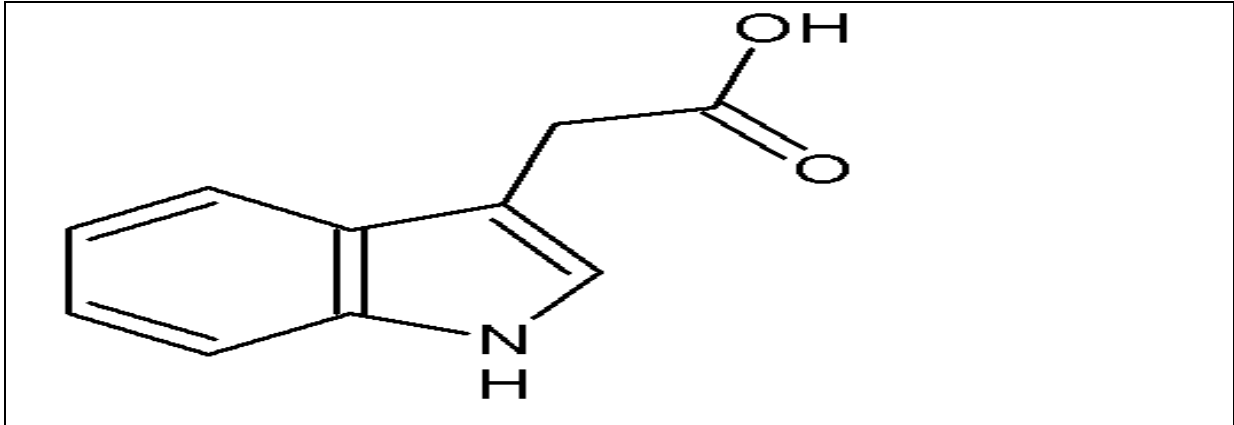
a) L'auxine : est, en physiologie végétale, une phytohormone de croissance végétale qui est indispensable au développement des plantes.

Stimulation de l'élongation cellulaire, de la rhyzogenèse.

La synthèse de l'auxine s'effectue dans les apex méristématiques des tiges, et dans les jeunes feuilles des bourgeons terminaux.

Le transport de l'auxine s'effectue de façon polarisée, de l'apex vers la base dans la tige.

L'action de l'auxine sur l'élongation cellulaire se fait d'une part par augmentation de la Plasticité de la paroi, d'autre part par action sur l'activité génique, régulant ainsi la synthèse d'ARN messagers codant pour des protéines nécessaires à l'élongation.



Source: Geissmann J (1951)

Figure n°4 : Acide indole 3-acétique

b) Les cytokinines : sont des substances proches des bases puriques (adénines substituées).
C'est une famille de phytohormones indispensables au développement de
la plante tout comme l'auxine, ayant fonction d'hormones chez les végétaux.

Leur fonction :

Stimule l'élargissement cellulaire et l'organogenèse

Synthèse dans les racines puis migrent dans la plante *via* la sève brute (xylème)

c) Rôle des auxines et des cytokinines dans l'organogenèse :

Le rapport auxines / cytokinines détermine le devenir des tissus en culture

Notion de balance hormonale

En concentrations égales->division de cellules indifférenciées

Auxine -> formation de racines

Cytokinines -> bourgeons

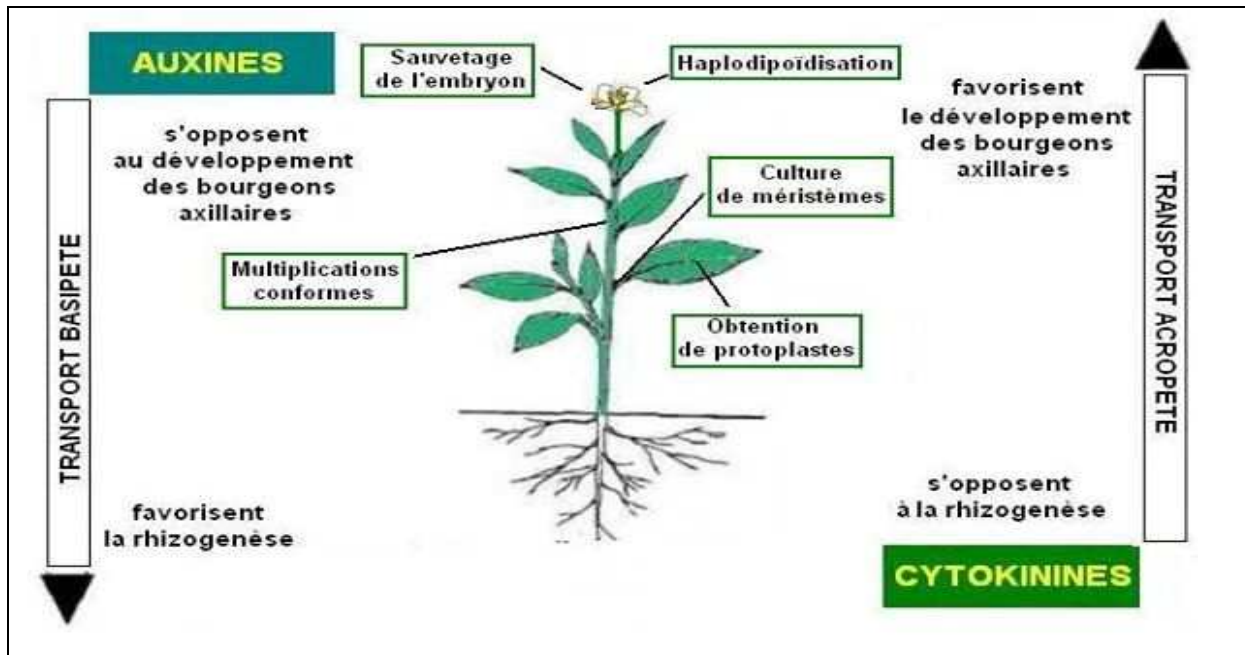


Figure n°5 : Rôle des auxines et des cytokinines dans l'organogénèse

2-2-6- Comparaison culture *in vitro* / culture *in situ*:

Culture *in vitro*: écosystème où les facteurs biotiques ont disparu (asepsie)

Culture *in vitro*: différences physiologiques, peu de synthèse de vitamines et pas ou peu de photosynthèse

e, miniaturisation des plantes

Culture *in vitro*: teneur plus importante en eau = vitrification, pas de cuticule (Zuccherelli G., 1979).

2-2-7- Applications de la culture *in vitro* de tissus et de cellules :

- **La MICOPROPAGATION**

La multiplication végétative par culture *in-vitro* ou micropropagation présente plusieurs avantages sur les méthodes classiques dites " conventionnelles " de propagation . Cette technique a rendu possible la multiplication d'espèces chez lesquelles les semences sont rares, ou présentant des difficultés de germination et/ou dont les techniques de bouturage ou de greffage sont inapplicables, ce qui a conduit à une plus grande diversité des plantes commercialisées. De même plusieurs autres techniques, toutes dérivées de la culture *in-vitro*, ont un rôle important à jouer dans l'amélioration des performances agronomiques ou horticoles des plantes cultivées. La micropropagation est utilisée dans un but de multiplication en masse, puisqu'elle permet , en partant d'un seul individu (plant), l'obtention d'un nombre

considérable de plantes génétiquement identiques à la plante mère (**FERRY** et *al.*,1998; **SEMAL**,1998). Les plants reproduits ne sont pas seulement conformes mais présentent aussi une grande uniformité. Par ailleurs, l'usage de cette technique nécessite peu d'espace et peut-être programmé indépendamment des saisons. La technique représente donc sans contexte un outil puissant aux perspectives industrielles et économiques importantes (**MARGARA**,1982; **BOXUS**,1995; **SEMAL**,1998; **SKIRVIN** et *al.*, 2000) .Les techniques de micropropagation empruntent essentiellement deux voies :

- L'une qui utilise des tissus méristématiques (méristème ou apex de tige, bourgeons axillaires) potentiellement capable de donner suite, au développement normal, d'un individu est appelée microbouturage (**SAADI**,1991) cette technique est souvent appelée "multiplication conforme" car elle part de méristème préexistant dans les quels , les cellules sont génétiquement très stables (**AMATO**,1977 in **BOXUS**,1995),l'individu est généralement obtenu en deux étapes successives, d'abord la production de tige ,puis son enracinement .

- L'autre voie, utilise toute sorte tissus différenciés (fragments de tige, de racines, de pétiole , de feuilles, d'embryons matures et immatures ,d'hypocotyles, cotylédons...etc) pour aboutir à la néoformation soit de bourgeons ou de racines , c'est l'organogenèse ,soit de structures ressemblant aux embryons zygotiques, c'est l'embryogenèse somatique (**ZRYD**,1988 ; **MARGARA**,1989).

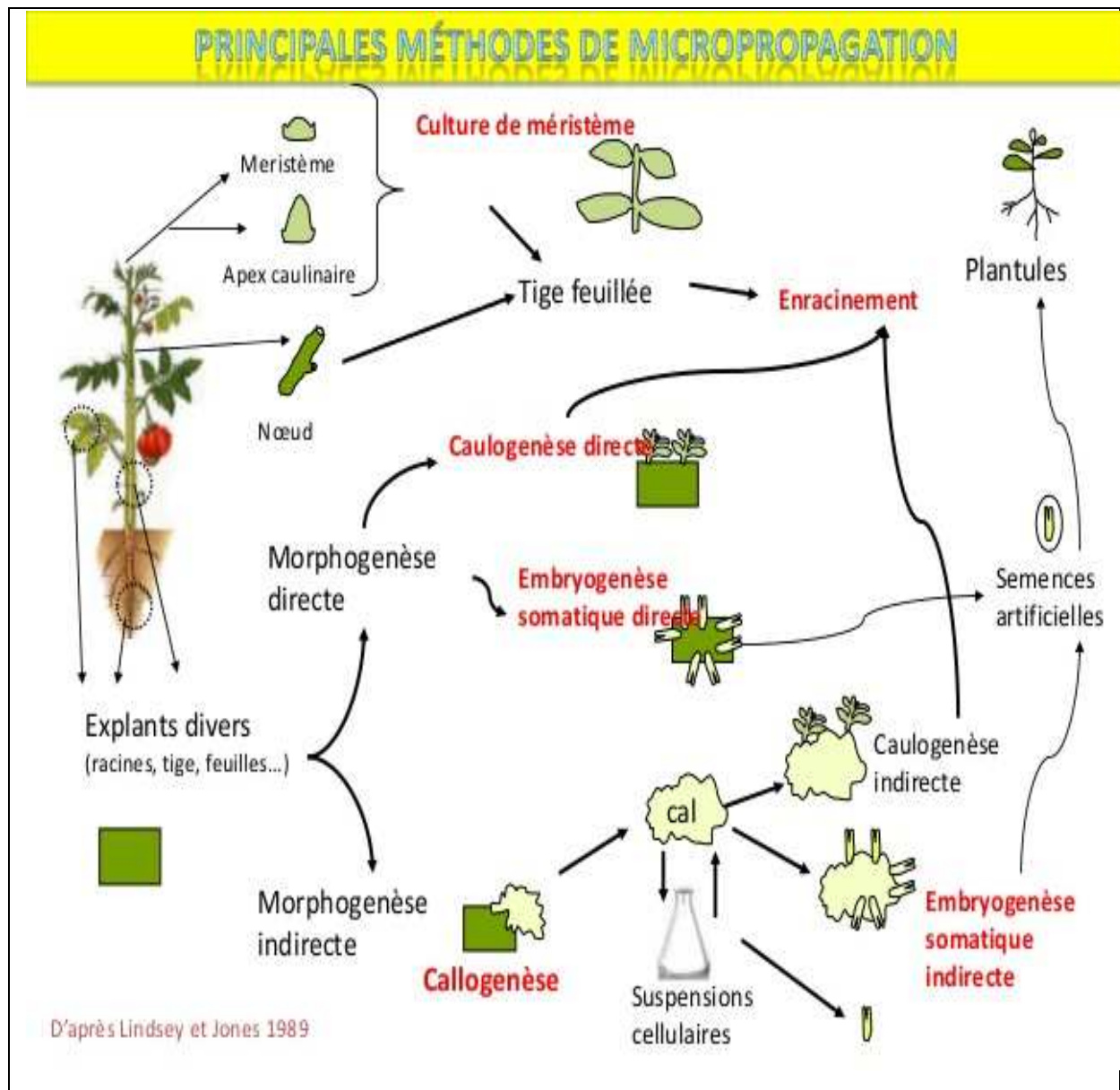


Figure 7:principales méthodes de micropropagation

- **Cultures de méristèmes** :les premiers résultats de cultures de méristèmes appelées communément "cultures d'apex" furent obtenus par KOTTE et ROBBINS, dès 1922 à partir de méristème radiculaires de fève et de maïs(**TOUTE**,1998).

Dix ans plus tard, WHITE(1934) obtiendra une culture indéfinie de racines de tomate . En même temps, il s'apercevait que si le virus de la mosaïque du tabac pouvait se multiplier dans des racines de tomate isolées , le virus n'atteignait pas les cellules méristématiques . Plus tard , LIMASSET et CORNUET(1949) montrent que les organes jeunes de tabac ne renferment que très peu de virus (TMV) et que les méristèmes apicaux n'en contiennent pas .

En 1952, partant de ces observations, MOREL et MARTIN tentent de prélever des pointes méristématiques de dahlias viroses pour reproduire des dahlia génétiquement semblables aux parents, mais exempts de virus . Ils réussirent de la sorte à éliminer la mosaïque du dahlia et le " spottedwilt virus". En 1955 , ils régénérèrent de façons analogue des pommes de terre atteintes de virus A et Y (**BOXUS, 1995**).

Depuis lors , la culture de méristèmes à conduit à des applications nouvelles , originales concernant le domaine du phytosanitaire, notamment pour l'éradication de nombreuses maladies (viroses, mycose, mycoplasmes, bactérioses) et a permis la régénération d'un grand nombre d'espèce saines (**TOUTE, 1998**).

Les méristèmes qui sont des tissus de formation, en expansion continue ,confèrent à la plante une organogenèse permanente chez les végétaux supérieurs. Ils représentent des petits massifs de cellules indifférenciées (0.1mm) et conservent la capacité de se diviser activement. Ces zones méristématiques gardent jusqu'à leur mort le caractère juvénile. Elles jouent un rôle capital dans le développement végétal puisqu'elle édifient tous les organes (**CAMEFORT, 1977; MARGARA, 1989**).

En multipliant le méristème prélevé au sommet d'une plante ou dans le bourgeon axillaire, le plus souvent indemne de maladies. On pourra très rapidement obtenir de nombreuses plantes, toutes semblables du point de vue génétique et débarrassées de maladies dont elles étaient affectées (**SCHMID et KELLER, 1984; SAMA et al., 1998**);). Il est même possible de reconstituer des clones indemnes de maladies à partir de pieds -mères malades. D'après **TOUTE, 1998; FLETCHER et al. ,1998** , il existe plus de 50 espèces végétales qui ont été ainsi assainies c'est le cas de la pomme de terre , la canne à sucre , de dahlia ..etc .

La culture de méristème est la méthode la plus généralisable et la plus sûre pour éviter l'apparition de plantes non conformes à la plante mère ou variants (**SAADI, 1991**) . Elle paraît plus intéressante chez les plantes allogames ou il est généralement impossible de conserver des génotypes intacts par reproduction sexuée classique.

- **Organogenèse :**

L'organogenèse est la base fondamentale de la multiplication végétative, laquelle s'appuie toujours sur la formation de méristèmes nouveaux (**MARGARA, 1989**). En partant d'un

explant, elle aboutit à la formation d'un nouvel individu par l'élaboration de bourgeons (calogènes) et de racine (rhizogène).

- *Calogènes:*

1- Définition:

La calogènes désigne à la fois l'initiation et le développement des bourgeons terminaux, axillaires, adventifs ou néoformés sur un cal.

- *Les bourgeons terminaux* dérivent de la gemmule de l'embryon.

- *Les bourgeons axillaires* sont produits généralement par les deux ou trois assises cellulaires superficielles de la tige.

- *Les bourgeons adventifs* sont formés en des endroits inhabituels. Ils sont formés à partir d'organes différenciés de la plante (entre nœuds, tubercules, racines). Ils peuvent avoir pour origine des massifs cellulaires restés méristématiques ou bien provenir d'une différenciation de certaines cellules (**CAMEFORT, 1977**).

- *Les bourgeons néoformés in-vitro* peuvent apparaître sur l'explant initial ou sur un cal, ils peuvent être considérés comme un cas particulier de bourgeons adventifs (BOXUS, 1995). Ils sont induits sur n'importe quel type d'organe ou de tissu y compris sur ceux qui ne les produisent pas dans les conditions naturelles (**CAMEFORT, 1977; ZRYD, 1988; MARGARA, 1989**).

2- Origine des bourgeons :

Les études cytologiques, conduites dans le but de déterminer l'origine des bourgeons néoformés à partir d'un fragment d'organe contenant divers tissus montrent souvent que l'aptitude à la calogénèse se manifeste à partir de certaines catégories de tissus telle que: le cambium, le parenchyme vasculaire ou libérien (**BELANGER, 1998; FORTES et PAIS, 2000**).

L'intensité de cette néoformation est nettement dépendante de la nature des tissus contenus dans l'explant. Elle est maximale pour les tissus cambiaux, élevée pour les tissus du phloème

et du xylème, très faible ou nulle pour le parenchyme cortical ou médullaire (**MARGARA, 1989**) .

Chez les conifères, comme le pin , les premières divisions péricleites apparaissent dans les couches su épidermiques du mésophile, l'origine des pousses caulinaires paraît être unicellulaire. Par contre chez les Angiospermes, l'origine peut être pluricellulaire, des méristèmes peuvent se former à partir de cellules épidermique ou encore à partir de tissus palissadiques, du monophylle spongieux ou de la gaine per vasculaire des explants cultivés (**BOXUS, 1995**).

2-Rhizogenèse

1- Définition:

La rhizogenèse désigne la néoformation et la croissance de racine. Les méristèmes de racines se répartissent en plusieurs catégories selon leurs origines.

- *Les racines latérales* se forment de manière spontanée sur la racine principale dans les conditions naturelles.
- *Les racines adventives* sont produites par des organes divers, soit spontanément, soit accidentellement à la suite d'une blessure ou d'une manière provoquée, dans les conditions du bouturage et du marcottage.
- *Les racines néoformées*, au sein d'un cal, en culture *in-vitro*, peuvent être considérées comme un cas particulier de méristèmes adventifs (rhizogenèse indirecte) ou l'émission de racines sur un explant dans des endroits inhabituelles (rhizogenèse directe).

1-2- Origine des racine néoformées

La rhizogenèse est un phénomène complexe, il comporte différentes phases : la dédifférenciation, formation d'amas de cellules méristématiques , différenciation et organisation des amas méristématiques en primordium racinaire qui se développeront en jeunes racines (**MARGARA , 1989; BOXUS, 1995**).

L'origine des cellules impliquées dans la cicatrisation dépend de l'espèce. FAVRE (1985) in BOXUS,(1995) sur son modèle vigne relève que ce sont les cellules du phloème primaire qui

réagissent les premières. Les cellules non lignifiées d'origine secondaire et le parenchyme cortical, ou même la moelle peuvent également réagir en formant un tissu cicatriciel plus ou moins important. Mais dans tous les cas, c'est l'assise génératrice libéro- ligneuse (combium) qui donne, des tissus de bonne aptitude calogène. Le cal est formé essentiellement de cellules de type méristématique secondaire, qui incorporent certaines cellules voisines parenchymateuses. Les cellules méristématiques se différencient par la suite et s'organisent pour donner naissance à une nouvelle racine.

- **Embryogénèse somatique :**

1-Définition :

Classiquement, l'embryon est défini comme étant une plante se trouvant au stade initial de son développement. Il s'agit en fait d'une structure bipolaire (munie de deux méristèmes : l'un caulinaire et l'autre racinaire) qui, suite au processus de germination, donne naissance à une nouvelle plante.

Habituellement, l'embryon s'édifie à partir d'une cellule initiale, le zygote, formé lors de la reproduction sexuée (embryon zygotique) .

Cependant, d'autres types d'embryons peuvent également se développer à partir de cellules du sporophyte ou du gamétophyte, embryons qui ne sont pas le produit d'une fusion gamétique et qui sont appelés "embryons somatiques" . Parfois, chez certaines espèces, ils résultent d'une embryogénèse somatique naturelle qualifiée d'apomixie . Dans certains cas en effet, les anthérozoïdes , l'oosphère , voire d'autres cellules gamétophytiques peuvent engendrer des embryons parthénogénétiques. Dans d'autres cas, certaines cellules sporophytiques localisées au niveau des tissus intra-ovulaire, en particulier le nucelle, fournissent naturellement des embryons apoméiotiques appelés aussi "embryons nucellaires. Ce type d'embryogénèse est très développé dans la famille des Rutacées, spécialement chez les Citrus (**TISSERAT et al.**, 1979;**VARDI et al.**, 1990) Toutefois, cette appellation est essentiellement appliquée , selon certains auteurs comme **PIATTI**, (1988) et **MARGARA**, (1989), aux embryons obtenus à partir de culture de tissus *in-vitro* du sporophyte .

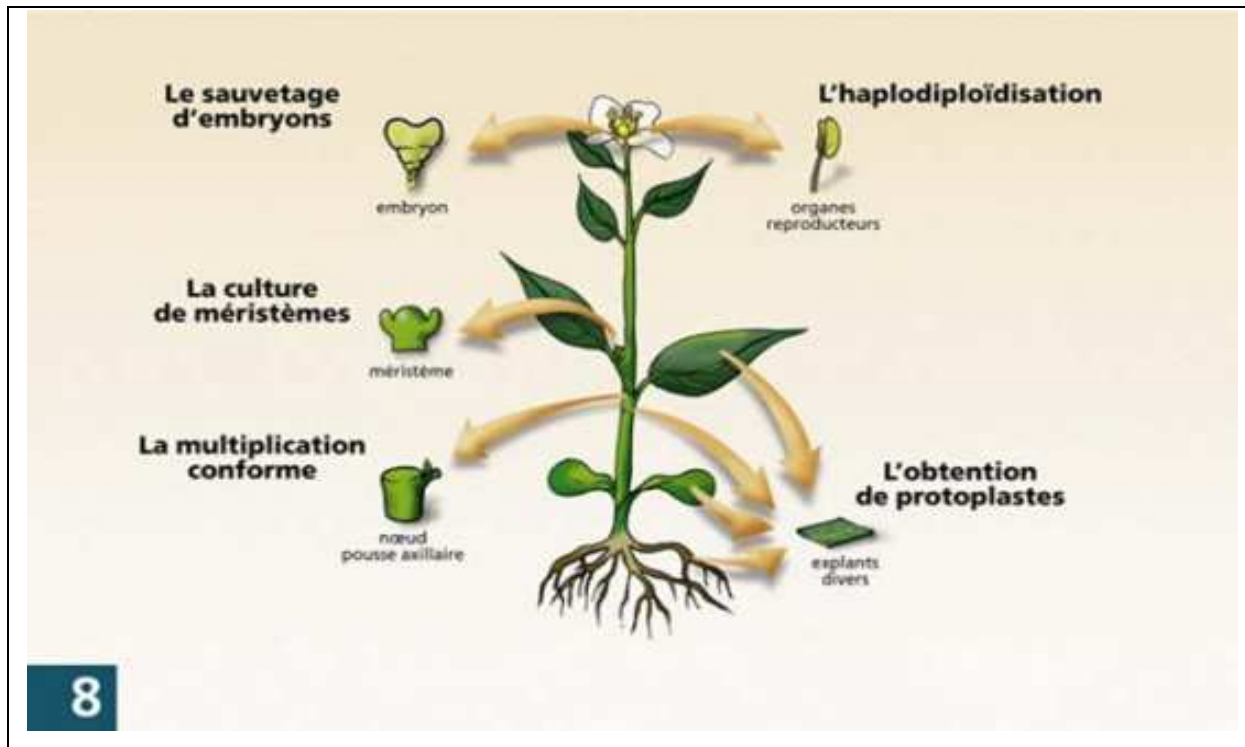


Figure n°7:les Applications de la culture *in vitro* de tissus et de cellules

2-2-8- les étapes de la culture *in vitro* :

Étape 1 : le prélèvement:

Le choix de l'explant à prélever est particulièrement important. Pour chaque espèce, sont pris en compte : la technique de propagation envisagée, la date du prélèvement, l'âge du pied mère, la nature, la taille ainsi que la localisation de l'explant sur le pied mère.

Étape 2 : la mise en culture *in vitro* :

Les explants, sont ensuite désinfectés, travaillés sous conditions aseptiques, puis placés sur un milieu de croissance stérile. Ce support comprend des aliments : macro -éléments (N, P, K, Ca, Mg, Mn...), des micro-éléments (Bo, Fe, Cu...), sucre, vitamines, régulateurs de croissance (essentiellement auxines et cytokinines dont l'équilibre détermine l'organogenèse) et une base d'agar qui solidifie le milieu de culture. La composition du milieu et son pH sont adaptés à l'espèce mise en culture. Chaque lot est identifié pour être tracé : identité du pied mère, date de mise en culture (VASILENKO A.J.K .,and al .2000)



Figure n°8:la miss en culture

Étape 3 : la multiplication :

Un contrôle rigoureux de l'environnement est nécessaire à la bonne croissance des vitroplants en milieu artificiel. Les paramètres de l'hygrométrie, de la température et de la luminosité (tant en intensité qu'en durée jour/nuit) doivent être adaptés à chaque espèce travaillée. Chaque contenant (bocal, boîte ou tube) est étiqueté pour garantir la traçabilité. (CABASSON C., and *al*1994)



Figure 10:Chambre de culture et Vitroplant de châtaignier



Figure n°10 : Vitroplant de noisetier sur milieu ferrugineux

Etape 4 : l'acclimatation :

Passé les jeunes *vitroplants* des chambres de laboratoire climatisées en serres nécessite une étape intermédiaire de quelques semaines pendant laquelle la plante développe son système racinaire. Cette phase d'acclimatation se déroule dans des locaux spécifiques permettant un contrôle précis des conditions d'éclairage, de température et surtout d'humidité.



Figure 12: l'acclimatation

Acclimatation sous fog. Les racines n'étant pas assez développées pour alimenter la plante, un arrosage classique ne serait pas efficace ; seul un système de brumisation, fog, peut hydrater correctement le végétal.



Figure n°12: fin d'acclimatation

Fin d'acclimatation : le système racinaire de ce cassissier est désormais suffisamment développé. À ce stade, les plantules sont logées en plaques alvéolées. Les substrats utilisés sont désinfectés à la vapeur afin d'éliminer tout risque pathogène ; cette stérilisation crée un vide microbiologique favorable à une bonne installation de la biotisation : les micro-organismes non bienveillants sont remplacés par les micro-organismes bénéfiques au développement du plant. (CABASSON C., and *al*1994).

Etape 5 : l'élevage

Après acclimatation, les plants sont repotés en godets et conduits sous serres d'élevage pendant quelques mois. Ils sont alimentés par fertirrigation et font toujours l'objet d'une surveillance quotidienne. À l'issue de cette période d'élevage, la plupart des plants sont commercialisés.

Pour certaines variétés, une partie est repotée une seconde fois ; ces plants-là poursuivent leur croissance et constituent des pieds mères qui seront conservés quelques années. Un organisme agréé contrôle tous les ans les productions pour en vérifier la qualité sanitaire. Le service de la protection des végétaux réalise un second contrôle documentaire, puis délivre un passeport phytosanitaire autorisant la diffusion de la production. (PELLETIER G.,1971)



Figure n°13 : Elevage de framboisier et Pieds mère de châtaignier

2-2-9- Les avantages de la culture in vitro : La production de vitro plantes pouvait se substituer à la méthode de micro bouturage avec des avantages suivants :

- o La possibilité de conservation de ressources végétales et faire une banque de géotypes et réaliser ainsi des plantation hors la période de croissance (**LÊ et al.,2002**);
- o L'amélioration des conditions sanitaires par les techniques de cultures in vitro souvent associées à l'éradication des viroses (**Sibi ,1981**);
- o La propagation végétative des espèces qui ne présentent pas ces capacités en conditions classiques (**Sibi .1981**);
- o La multiplication rapide, cette dernière et due à l'augmentation de diffusion cellulaire par ces techniques (**Smithet al.,1985 ; Collet et LÊ, 1988**);
- o La facilité de leur transport d'une région à l'autre ou d'un pays à l'autre;
- o Pour la pomme de terre la disponibilité de microtubercules à n'importe quelle époque de l'année et les sèmes directement dans le sol.

6- Les inconvénients : Le problème de contamination et selon Casselle, (1987) il est dû à deux causes : Le premier c'est l'explant et le deuxième c'est la technique:

- * L'exigence de main d'œuvre qualifiée

* Pour la pomme de terre, la levée de dormance des micro tubercules est assez irrégulière.

Comme des malformations dues à un déséquilibre hormonal : la vitrification. **La vitrification**: certains accidents, non prévisibles au départ, peuvent intervenir en cours de culture in vitro,

La perte de caractères intéressants: la production répétée de grands nombres de plants uniformes (clones) peut entraîner la perte des gènes nécessaires.(**SAMAA.E.,andal1998**)

Problèmes inhérents à la technique: l'asepsie des explants : la présence de micro-organismes, bactéries, champignons, virus, qui, s'ils ne sont pas totalement éliminés, contaminent la culture et tuent les jeunes plantules.

L'acclimatation : le passage à des conditions de culture normale est parfois délicat. En effet, durant son séjour in vitro, la plante est à l'abri des stress.(**SCHMID J. et KELLER E .,1981**).

L'apparition d'anomalies génétiques (certains cas d'hyper floraison, perte de sexualité chez certaines espèces, apparition d'organes anormaux) : c'est la variation soma clonale. bactéries moisissure.(**SAMAA.E.,andal1998**).

3- La production classique de semence de pomme de terre :

3-1-Généralités :

Pour produire des plants de pomme de terre ,on peut procéder de deux façons selon le but recherché .Si on veut créer une nouvelle variété à partir d'une variété existante, on appliquera sur la descendance de celle-ci une sélection amélioratrice ou créatrice . par contre , si on veut multiplier une variété en vue de la production de semence ,on passera par une sélection conservatrice ou sanitaire .

La sélection sanitaire mise à préserver au cours des générations de multiplication du matériel végétal, la pureté de la variété et la qualité sanitaire de la semence produite.

Le principe de sélection généalogique (ou sanitaire) repose sur l' utilisation des tubercules reconnus sains après indexage ,ses descendances successives sont multipliées pendant 5à8ans ,dans des conditions elles que chaque production soit la plus saine possible.

3-2-Matériel végétal de départ :

Si on dispose d'un grand nombre de tubercules indemne de maladies, on peut les utiliser directement comme têtes de familles. si au contraire, on a un nombre limité de tubercules sains, on peut augmenter le nombre de la plante de départ par division du tubercule en plusieurs fragments contenant chacun au moins un œil , on peut également utiliser des germes issus de tubercules ,des stolons ou des boutures de tiges (**CHARLES,1979**).

3-3-Technique de boutures de tiges :

Le matériel végétal de départ (tubercules, germes, fragments de tubercules,...) est planté dans une serre protégée des attaques d'insectes. Il donne des tiges ,quand ces dernières auront une longueur de 30à40 cm les bourgeons apicaux sont éliminés pour favoriser le départ des bourgeons axillaires qui se trouvent à l'aisselle de chaque feuille .Quand les pousses issues des bourgeons axillaires atteignent 10cm ,on les coupe d'une manière aseptique pour éviter toute contamination .ces boutures de tiges seront plantées sous-verre ,dans du sable ,elle produisent des racines après 15 jours environ .A ce moment , de nouvelles pousses sont prêtes à être coupées des plantes mère .les boutures ayant donné des racines peuvent être transplantées dans des pots , Elle seront utilisées par la suite pour produire d'autres boutures de tiges .Elles peuvent aussi être plantées au champs pour la production de tubercules .

3-4- Multiplication aux champs :

Après sa sortie des serres, et durant les 3 à 4 premières années, la descendance de chaque tubercule sera plantée séparément. Des contrôles virologiques seront régulièrement effectués, quand un plant présente des symptômes de viroses, toute la lignée sera éliminée. Durant la quatrième année, les différents clones sont mélangés et appelés semences de base « Elite ou super-Elite » selon leur état sanitaire. A partir de la semence de base, deux à trois années de multiplication en plein champ sont encore nécessaires pour obtenir la quantité de semence nécessaire pour la production de consommation (AMIROUCHE, 1979).

3-5- Précautions à respecter :

Il faut avoir un matériel végétal de départ sain, les parcelles de production de semences doivent être isolées des parcelles destinées à la production de consommation. Il faut aussi, entreprendre la production de semences dans des régions peu fréquentées par les pucerons, ou que l'arrivée de ceux-ci soit en retard par rapport à la levée (quatre à six semaines au moins). Il faut traiter les parcelles régulièrement contre ces pucerons et éliminer leurs plantes hôtes qui peuvent se trouver près du champ de production de semence. (FOURGE, 1979).

3-6- Inconvénients :

Un tubercule qui est reconnu sain peut ne pas l'être entièrement étant donné que la partie sur laquelle porte le test n'est pas représentative de l'ensemble des tubercules. A chaque génération de multiplication il y a des risques de contamination par le fait que la production se fait en plein champ. Cette méthode nécessite des superficies importantes regroupées dans une zone favorable à la production de semences. Elle nécessite un personnel qualifié et des moyens matériels et humains considérables.

4-Multiplication végétative conforme *in vitro* de la pomme de terre :

4-1- Généralités:

la méthode classique de clones de pomme de terre se heurte à des problèmes phytosanitaires et la prévention de l'invasion de virus n'est faite que par contrôles strictes des tubercules de semence avec l'élimination régulière des pieds malades , imposées par les baisses de rendements dues à ces infections (**ROSSIGNOL-BAUCILHON et al.1985; BROWN 1979**). Cette méthode est en plus, lente lorsqu'il s'agit de commercialiser une variété nouvellement crée ou une ancienne variété régénérée.(**LEET COLLET,1985;LEVEIL,1985DUCREUX et al.1986**).

En adoptant la méthode classique cela nécessite de 7 à 8 ans durant lesquelles il faut exercer, bien entendu, une lutte constante, principalement contre les infections de diverses natures. le problème de l'infection par des virus fut surmonté lorsque **MOREL,(1955)** a pu obtenir des plantules indemnes de virus qu'on peut utiliser comme tête d'une lignée régénérée à partir de méristèmes apicaux cultivés *in vitro*. Le matériel végétal indemne de maladies peut être conservé par cette méthode à l'abri des sources d' infection et utiliser à n'importe quel moment pour la production de semence de qualité .(**LE et COLLET,1988**)

La technique de culture *in vitro* permet en plus de cet avantage , d'avoir un coefficient de multiplication très élevé .En effet , un plant de pomme de terre donne en moyenne 10 plantes au bout d'une saison (**REUST etLE,1985**). Alors que, par méthode de micro bouturage *in vitro* une bouture de pomme de terre à un seul nœud donne en moyenne sept (7) boutures à un nœud chacune après un mois en tube ,et au bout d'une année , on peut obtenir des millions de plantules , copies-conformes à plante mère .cette quantité est suffisante pour cultiver une assez grande superficie destinée à la production des semence de base (**LEVIL,1985**).

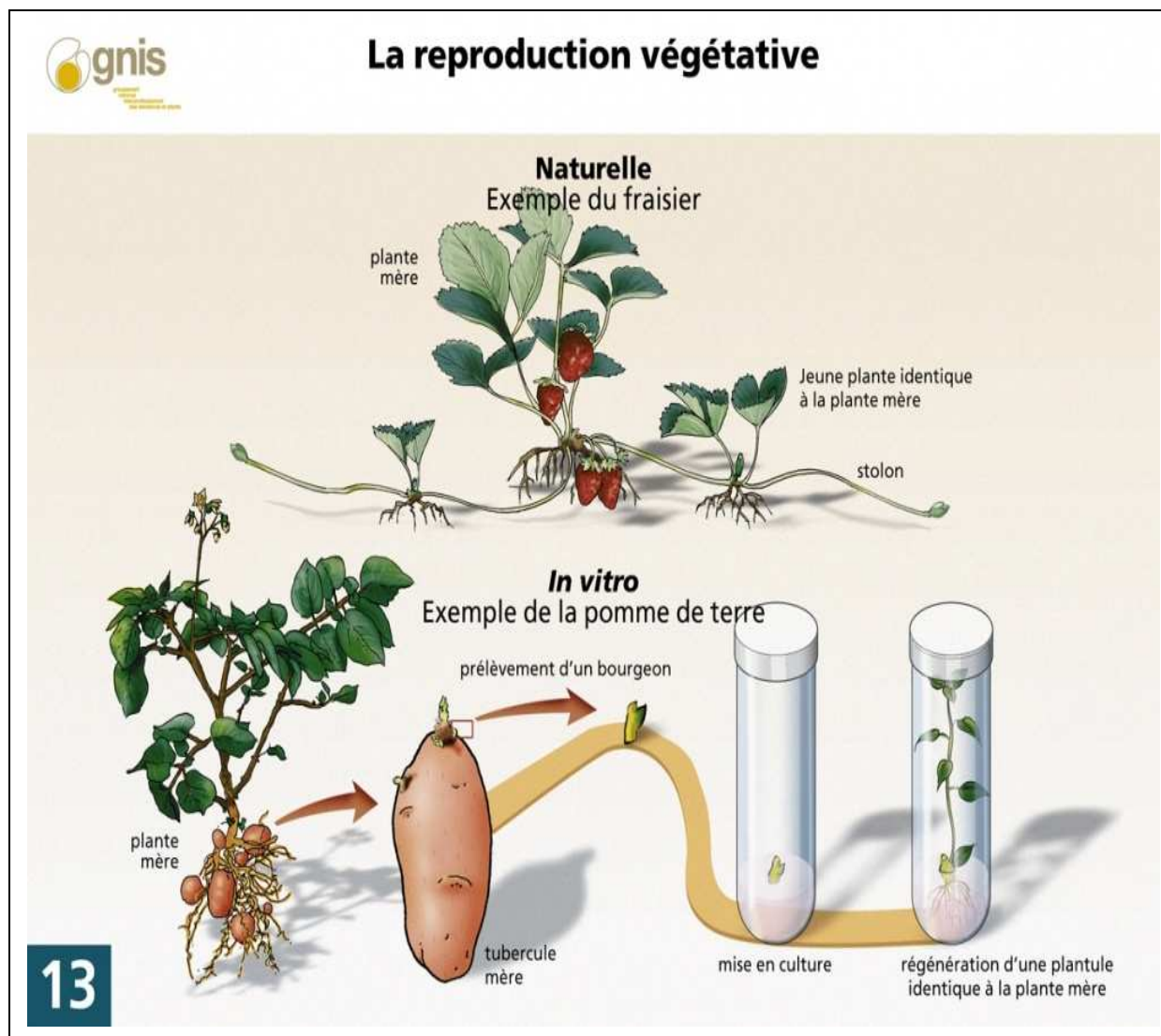


Figure n° 14: la culture *in vitro* de la pomme de terre

4-2-Matériel végétal de départ

pour avoir une multiplication végétative conforme à la plante mère, on doit utiliser comme matériel végétal de départ une portion déjà organisée avec un point (on bourgeon) (DIGOT,1984). Dans la pratique, on utilise très rarement des méristèmes, car en prélevant le méristème, on prélève toujours quelques primordiaux foliaires qui sont (GAUTHERET,1977); donc en réalité des apex (MARGARA,1982).

on utilise également des bourgeons issus de germes (DIMITROVA,1985; AMIROUCHE, et al .1987; BENZINE,1982).



Figure n°15: Matériel végétal de départ

4-3- Milieu de culture :

Pour la culture in vitro de la pomme de terre, la composition du milieu est d'une importance capitale pour avoir une bonne reprise de boutures. Les milieux de culture sont composés de macroéléments, de microéléments, de vitamines, d'une source de carbone et de substances de croissance. Ces milieux sont utilisés sous forme liquide (milieu de culture) ou bien ils sont solidifiés par l'utilisation de l'agar-agar dont la qualité et la concentration favorisent la dureté du gel. Un gel dur, par excès d'agar est néfaste pour les boutures, et qu'un gel mou perd facilement l'eau par évaporation et permet une meilleure diffusion des nutriments, avec un pH ajusté, à environ 5,7.

4-3-1-Eléments minéraux

Suivant leur concentration dans les milieux de culture, les éléments minéraux sont classés en macro et microéléments.

Pour la culture de boutures de pommes de terre deux solutions minérales sont essentiellement utilisées ; celle de KNOP diluée de moitié avec 5 fois plus de potassium et la solution minérale de MS (MURASHIGE et SKOOG 1962 ; NOZERAN et ROSSIGNOL-BANACILHON , 1979 ; MARGARA ,1982 et ZRYD ,1988).

La solution minérale de MS (MURASHIGE et SKOOG, 1962) paraît donner de meilleurs résultats, elle est utilisée par conséquent de plus en plus fréquemment (AMIROUCHE, 1985; ROSELL et al. 1987 ; REUST , 1985 ; DODDS et al . 1986).

4-3-2- Vitamines

Les vitamines qui reviennent le plus fréquemment, sont les vitamines de (**MOREL et ZRYD, 1988**).

En général, on n'utilise pas de vitamines dans les milieux destinés au micro bouturage de la pomme de terre, plusieurs auteurs ont obtenu de très bons résultats, sans l'utilisation, de celle-ci, certains ont même montré l'inutilité de l'apport de ces vitamines (**REUST, 1985 ;ROSSIGNOL, 1988 ; MADEC, 1979 ; AMIROUCHE, 19985**).

4-3-3- Sucres

La source de carbone utilisée généralement dans les milieux destinée à la culture in vitro sont des source .les source qui sont souvent utilisés le glucose de saccharose avec une préférence pour ce dernier .dans le cas de la pommes de terre ,les quantités utilisée oscillent 10entre 20 et 40 g/l (**MARGARA,1982;ZRYD,1988;GOODWINE,1982;OULED MOHHAMED,1987**) .

4-3-4-Substance de croissance :

Ces substance sont utilisée généralement dans les culture de tissus, pour induire la prolifération des celles, la formation de cals et l'induction de la né organogénèse à partir de ces dernier qui conduit à la formation de bourgeons .ces substances sont aussi utilisées pour faciliter la rhizogénèse lors du repiquage des boutures (**CHAUSSAT et BIGOT, 1980.RICHEZ-DUMANOIS,1986;FAVRE ,1982**)

L'utilisation des substances de croissances se fait à des doses, et leur utilisation doit se faire avec beaucoup de prudence (ZRYD et al ,1988). Dans le cas de micro bouturage in vitro de la pommes de terre l'utilisation de substance de croissances s'avère complètement inutile puisque les boutures s'enracinent et croissent sans problème en absence totale de substance de croissance dans le milieu de culture utilisé (**CHAILOU.et ROSSINGNOL-BANCILHON,1985**) .

4-4-1-Méthode d'obtention de plantules dans des presse - mottes :

Elle se divise en trois étapes :

1ère étape : c'est le micro bouturage in vitro :elle nous permet de partir d'un matériel végétal prélevée sur un germe de pomme de terre obtenue par germination à l'obscurité et à une température d'environ 20 °C .

après stérilisation du germe par passage dans l'alcool à 70°C additionné de quelques gouttes d'un agent mouillant ;le germe est ensuite trompé dans une solution d'hypochlorite de calcium a 65g/l durant15 a 25minutes suivant sa grosseur . Ensuite le germe est rincé trois

fois par l'eau distillée .Il est débuté en autant de portion qu'il y a de nœuds .Ces fragments sont implantés chacun dans un tube à essai contenant un milieu de culture gélosé approprié . Les tubes sont ensuite placés dans une chambre de culture dont la température est réglée à 19°C et éclairée 12 heures /jours (lumière du jour + lumière artificielle) (**NOZERAN et BENCILHOM,1979**).

le bourgeon donne une plantule vigoureuse à feuilles relativement grandes et pouvant être composées. (**ROSSIGNOL,1988**) .des boutures prélevées sur cette plantule au bout d'un mois, seront repiquées sur un milieu neuf, de même composition . Ces boutures donneront à leur tour des plantules. On répétera l'opération jusqu' à l'obtention d'un assez grand nombre de plantules au cours des repiquages successifs, on remarquera que le pourcentage de plantules ayant des feuilles simples augmente .Ces plantules sont comparables à celles obtenues par semis direct de vraies graines et on a un rajeunissement de la plante .Ce rajeunissement a été observé par WATELEL_GONOD (1977)chez le DAHLIA, ou l'on a pu constater que l'acquisition de ce mode de développement est parallèle à la réduction de taille du méristème apicale qui a donné la plantule . cette réduction est due aux conditions écologiques particulières et qui conduisent à une miniaturisation (on réduction de la taille) des méristèmes **NOZERAN (1978)**.

En plus des plantules à morphologie normale, des plantules de morphologie anormale peuvent apparaître .Ces formes anormales consistent à des plantules en rosette à tiges très contractées, des plantules à port buissonnant , ou ayant des feuilles atrophiées; on attribue ce phénomène à la condition de culture ,les tubes a fermeture trop étanche (avec para film) peut entrainer une élévation de la teneur de l'atmosphère du tube en CO₂ et l'abaissement de sa teneur en O₂.(**MADEC,1979**).

Une certaine hétérogénéité qui peut apparaitre lors de l'enracinement et la rhizogénèse est stimulée par la présence du bourgeon et de la feuille; ceci se traduit par l'obtention d'un meilleur taux d'enracinement, chez les boutures feuilles (**FAVRE, 1980**).

Un autre aspect de la rhizogénèse est laissé en évidence lorsque des boutures de même longueur présentent diverses position des bourgeons .la présence de bourgeon à proximité de la base diminue le taux final d'enracinement cette réduction s'expliquait par une inhibition se faisant à partir du bourgeon et s'exerçant à courte distance. Cette inhibition s'atténue considérablement à mesure que le bourgeon s'éloigne de la bouture (**FAVRE,1980**).



2eme étape : C'est l'utilisation des enceintes transparentes non stériles. Dans cette étape ,les boutures ne sont plus placées dans des condition aseptiques , mais la culture en tubes est conservée .les boutures issues de la culture en tube sont implantées sur un sol pauvre ,mal drainé ,et arrosé d'une solution plus nutritive :(K N O Pau1/10).les conditions de température et d'éclairement étant les mêmes , les boutures donneront des tiges de structure morphologique juvénile , qui peuvent a leur tour être découpées en autant de boutures feuillées implantées dans d'autres enceintes et ainsi de suite .

la culture aseptique en tubes et dans des enceintes transparentes non stériles permet d'obtenir chez la pomme de terre un rythme de multiplication très rapide en un temps relativement court et dans un espace restreint sachant qu'un mois après son repiquage une bouture à un seul bourgeon peut donner 5à 7 nouvelles boutures et même plus .donc , on peut à partir d'une bouture à un seul bourgeon et en utilisant les deux méthodes obtenir deux millions de boutures nécessaires de 40 hectares .(ROSSIGNEL et al,1989) .

3^{ème} étape :

C'est l'utilisation de la serre, sur un sol riche (presse-mottes):

Les plantules obtenues en bac (enceintes transparentes) sont fragmentées en boutures à un seul nœud qui sont implantées dans des presse-mottes car ses boutures sont trop fragiles pour être mises directement au champs .les presses mottes (petits cubes de terre riche) sont constituées d'un mélange de tourbe de sable et d'engrais placées dans une serre humide à une

température de 20 °C environ avec éclairage journalier de 18 heures .les boutures donnent naissance à des plantes robustes à feuilles découpées , la photopériode longue évite leur tubérisation.

et les mottes sont arrosées régulièrement avec une solution minérale riche. les boutures donnent rapidement naissance à des plantes robustes, à feuille composées qui seront récoltées et serviront des plantes de base .(ROSSINGNOL,1988)

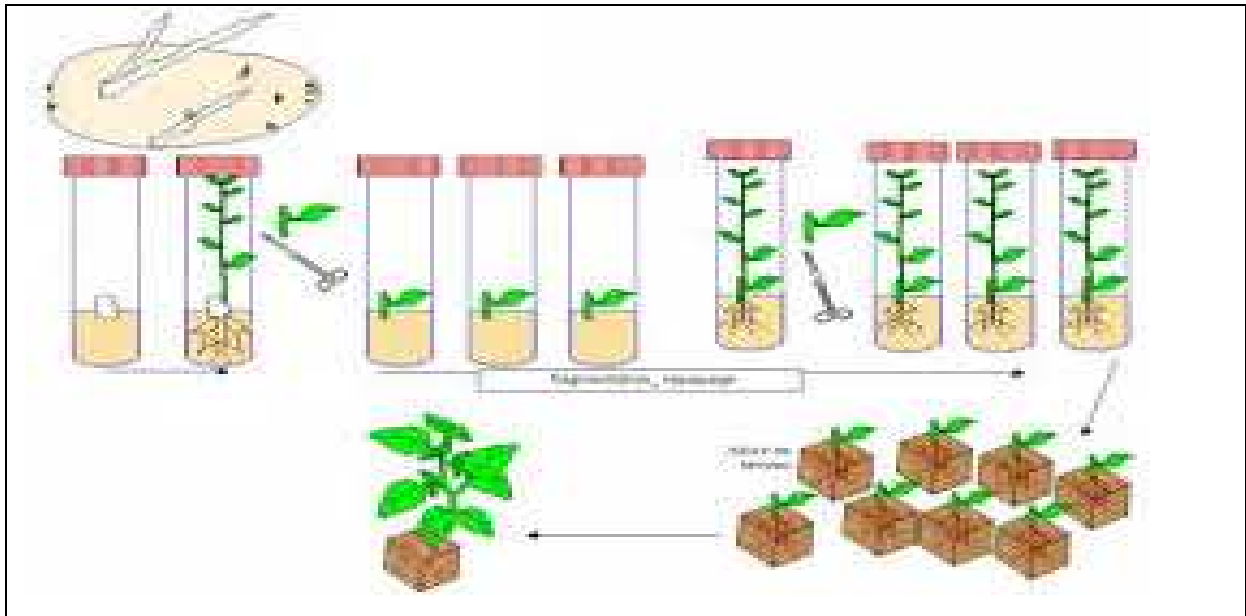


Figure 17: La micropropagation de la pomme de terre

4.4.2- Méthode d'obtention de micro-tubercules *in vitro* :

La possibilité de produire des micros tubercules *in vitro* à partir de plantules obtenues *in vitro* et connues depuis assez longtemps. Cette possibilité est restée inutilisable jusqu'au débutes années 80.C'est à partir de se s'année que ou' un cette micro- tubérisation est devenue une méthode courante de propagation pour contourner les problèmes de transport et de conservation en boutures expédiées en tubes de culture (RANJNCHAPÉ-MESSALI,1987).

Les micro-tubercules peuvent être conservées à froid pendant au moins un an, leur très faibles dimensions rendent aisé leur stockage et leur transport. Elles sont beaucoup moins fragiles que les plantes issues *in vitro* qui nécessitent outre des repiquages fréquents, une période de servage en serre avant leur plantation en plein terre. Les-tubercules sont sensibles à l'humidité et leur dormance est difficile à lever. Après repiquage *in vitro*, la concentration en

substances de la tubérisation issue du tubercule-mère sera négligeable et pour induire la Micro-tubérisation in vitro, il faudra placer les plantules dans des conditions leur permettant de synthétiser ces substances, ou bien de les apporter directement au milieu de culture simultanément : les conditions se subdivisent deux étapes :

1 ère étape : Micro bouturage en tube : elle est identique à l'étape correspondant à la méthode précédente ; à la fin de celle-ci on aura un assez grand nombre de plantules en tubes.

2ème étape : Micro-tubérisation in vitro : les jeunes plantules obtenues dans des conditions aseptiques et transplantées chacun dans un tube à essais de gros calibre rempli chacun au ¼ par les milieux de culture utilisés. On utilise quatre flacons en verre de 350 ml contenant 40 à 50 ml de milieu. Dans le cas où le milieu est utilisé sous forme liquide, les plantules sont repiquées avec leurs racines. Mais dans le cas où le milieu est solidifié, les racines seront coupées à la base ; serrant introduits dans le milieu jusqu'à la 3^{ème} feuille.

Ces plantules débarrassées de leurs racines peuvent aussi être couchées dans le milieu avec leur feuille ou sans feuille. Dans ce cas, on les place dans la même condition de température et d'éclairement que les boutures, pour leur permettre de donner des plantules à partir de leurs nœuds. Pour la suite, les flacons et tubes contenant les plantules sont placés à l'obscurité, à une température de 20 à 22 C°, jusqu'à l'obtention des micro-tubercules. Plus tard, on a utilisé une solution minérale composée des microéléments de laquelle ils ajoutent de l'EDTA de fer ou bien ils utilisent la solution minérale dans certains cas, on ajoute à ces milieux des vitamines de **(ROSELL, 1987)**.

L'apport d'un sucre au milieu de culture s'est d'une importance capitale pour le déroulement de la tubérisation in vitro. De même que pour l'apport d'une substance de croissance stimulatrice la tubérisation qui va accélérer la micro-tubérisation et limitera ainsi le temps nécessaire pour l'obtention d'un pourcentage acceptable des plantules tubérisées. Les substances couramment utilisées pour induire et accélérer la micro-tubérisation sont des Cytokinines, des réductrices de croissance comme le chlorure de chlorocholine. Ces substances sont utilisées seules, ensembles ou avec d'autres substances de croissance **(ROSELL,1987 TIZIO,1986)**

Chapitre 1:**Matériel et Méthodes :**

Le travail expérimentale a été réalisé au niveau de l'unité de SAGRODEV qui est spécialisée dans la production de la semences de la pomme de terre (de premières génération: G0, G1, G2 et SE et autres : S1et S2) par l'utilisation de la technique de la culture du tissu dite culture in-vitro. Le but d'obtenir des plantes saines.

Concernant notre travail, l'objectif est de tester d'une part et à travers la culture in vitro, la production des semences de pomme de terre pré base G0 et G1 ; et d'autre part de produit de nouvelles plantules en quantité et en laps de temps court.

La culture :**1.1. Matériel :****1.1.1. Matériel végétale :**

- La pomme de terre *Spunta* est une des variétés qui se garde le plus longtemps. Facile à réussir, elle convient parfaitement aux débutants car elle s'adapte à tous les terroirs et les climats. Très Productive, c'est la plus cultivée au monde, Ses tubercules sont bien réguliers, de gros calibre et ont une peau jaune aux yeux superficiels. Sa chair est jaune, légèrement farineuse, tout en restant fondante. C'est une pomme de terre de bonne tenue à la cuisson. Elle est conseillée pour les frites, pomme vapeur, purées et potages...c'est une pomme de terre polyvalente C'est une variété vigoureuse, très productive. Son port est dressé et assez haut. Elle s'adapte bien à la culture en climat chaud.
 - La pomme de terre 'Désirée' a une saveur typée, légèrement sucrée. Ses tubercules allongés, de gros calibre, ont une jolie peau rouge. Sa chair est jaune, légèrement farineuse, tout en restant fondante. C'est une pomme de terre de très bonne tenue à la cuisson, d'autant plus qu'elle ne noircit pas une fois cuite. Elle est conseillée pour les frites, purées et potages...
- Il s'agit de deux variétés de pomme de terre (*Solanumtuberosum*): Variété *spunta* et la variété désirée dont les caractéristiques sont mentionnées au niveau du tableau suivant :

Tableaux n° :02: caractéristiques des deux variétés de pomme de terre étudiées

Variété Spunta	Variété Désirée
Plante: Taille haute, port dressé, type rameux	Plante: courte à moyenne, semi-dressée à étalée, vigoureuse ; tiges épaisses, non ramifiées, courbées aux nœuds ; nœuds et entre-nœuds rouge-pourpre ; ailes larges, droit et pigmentées
Germe: Violet, conique, pilosité moyenne	Germes: cylindrique, très pubescents ; base rose, fortement pigmentée ; apex légèrement pigmentées
Feuille : Vert franc, peu divisée, mi-ouverte ; foliole moyenne, ovale arrondi (I=1.61) ; limbe cloqué	Feuille: vert-gris mat, ouvertes, moyennement longues, rigides ; nervures médianes
Fleur: Blanche, bouton floral partiellement pigmenté.	Fleur: nombreuses ; grande corolle rose avec des point blanches et une étoile blanc verdâtre ; pédoncules long et rougeâtres
Maturité : tardif	Maturité: mi- précoce
Tubercule: Oblong allongé, régulier, yeux très superficiels, peau jaune, chair jaune	Tubercule: longs ovales, moyens à gros ; peau rouge et lisse ; yeux superficiels à mi-profonds ; chair jaune pale.

1.1.2. Matériel et produit utilisés dans l'expérimentation

Le matériel utilisé durant l'expérimentation a concerné essentiellement : la balance de précision (0,01g) , un pH – mètre , papiers filtres , des verres pour placer les instruments dans l'alcool, un bucher (ou récipient servant de poubelle) , des pinces, des lames et un bec bunsen .Tous les instruments utilisés ont été stérilisés au préalable à l'étuve à 120C° pendant

24 heures avec le soin de les envelopper avec du papier . les boites de pétri sont stérilisées à l'étuve après avoir été enveloppées à l' aluminium.

L'eau distillée a été stérilisée dans l'autoclave à une température 120C° pendant 20minutes à une pression d'un bar .Eau de javel 13° diluée de la manière suivante : 1/3 eau de javel 13°+2/3 eau distillée. On utilisé aussi de l'alcool (Ethanol), des gobelets, transparent et des pots en plastics avec de la tourbe noire.

1.2. Méthode

1.2.1. Préparation du matériel végétal pour la production des germes:

Les plantes des tubercules doivent être mises à l'obscurité à une température ambiante de 18à20C°. Dans ces conditions les germes s'allongent les uns des autres, ainsi la stérilisation des germes sera meilleure et le découpage des germes dans chaque plant sera facile. On a utilisé des tubercules déjà germés en estimant que la variété Spunta (VS) avait un stade physiologique moins avancé (les germes sont plus longs) en comparaison à la variété désirée (VD) avec l'âge physiologique moins avancé (germe court trapus).

1.2.2. Préparation des solutions –mères des milieux de culture:

La solution minérale utilisée dans notre expérimentation est celle de **MURASHIGE** et **SKOOG** in (1962) ; elle contient aussi bien des macroéléments que des micro-éléments. On signale que les macros-éléments, aussi bien des solutions –mères à part .quant aux vitamines de MOREL(1951) sont préparées seules dans une autre solution.

Le milieu MURASHIGE et SKOOG(ou milieu MS ou MSO) est un milieu de culture utilisé dans les élaborations de biotechnologie végétale pour la culture de cellules ou de tissus de plante. Le milieu MS a été mis au point par les physiologistes Toshio MURASHIGE et SKOOG, alors que MURASHIGE effectuait des recherches pour trouver un nouveau

Matériel et Méthodes

Les éléments minéraux utilisés sont:

-**Macroélément:** interviennent en grande quantité ; il s'agit de cinq (05) éléments présent à des concentrations élèves comme il est montré dans le Tableau 03.

- **Microéléments** : appelés parfois oligo-élément, et bien qu'ils ne soient nécessaire à la plante qu'en faible concentration, leur rôle est essentiel pour la croissance et le développement Tableau03.

La présence du Fer est nécessaire pour la croissance des plantes et est ajouté sous une forme chélatée à concentration de 10 à 30 mg/litre. (Soit 0.06 à $0.20 \cdot 10^{-3}$ mole de Fer), comme le montre le Tableau

Tableau n°3: composition en éléments minéraux de milieu de culture utilisés (MS)

Solution	MS	MS	Concentration	Prélèvement
Macroélément	Mg/1	g/1		
NH₄NO₃ Nitrate d'ammonium	1650	$1650 \times 20 / 1000 = 33$	×20	1000/20+50ml
KNO₃ Nitrate de potassium	1900	$1900 \times 20 / 100 = 38$		
CaCl₂ · 2H₂O chlorure de calcium	440	$440 \times 20 / 100 = 8.8$		
KH₂PO₄ phosphate mono potassique	170	$170 \times 20 / 1000 = 3.4$		
MgSO₄ · 7H₂O sulfate de magnésium	370	$370 \times 20 / 1000 = 7.4$		

Microéléments	Mg/1	Mg/1	g/1	g/1		
MnSO₄ · H₂O Sulfate de manganèse	22.3	22.3	$22.3 \times 50 / 1000 = 0.115$	1.115	×50	1000/50=20ml
H₃BO₃ acide borique	6.2	6.2	$6.2 \times 50 / 1000 = 0.31$	0.31		
de zinc						
KI , iodure de potassium	0.83	0.83	$0.83 \times 50 / 1000 = 0.0415$	0.0415		
Na₂MoO₄ · H₂O Molybdate de sodium	0.25	0.25	$0.25 \times 50 / 1000 = 0.0125$	0.0125		
CuSO₄ · 5H₂O	0.025	0.025	$0.025 \times 50 / 1000 = 0.00125$	0.00125		

Matériel et Méthodes

Sulfate de cuivre						
CoCl₂, 6H₂O	0.025	0.025	$0.025 \times 50 / 1000 = 0.00125$	0.00125		
Chlorure de cobalt						

Tableau n° 4 : la solution stock de Fer EDTA

Eléments	Mg/1	g/1	concentration	Prélèvement
Na ₂ EDTA EDTA dis sodique	37.25	$37.25 \times 100 / 1000 = 2.725$	100	1000/100=10ml
FeSO ₄ ,7H ₂ O	27.85	$27.35 \times 100 / 1000 = 2.735$		

Pour les éléments organiques, on a:

Le sucre : dans le cas de tissus végétaux placés en culture in vitro , l'assimilation chlorophyllienne est nulle ou insuffisante pour assurer la survie et le développement de l'explant .des lors , on ajoute du sucre , le plus souvent du saccharose à une concentration de 20g/l ,aux milieux de culture pour fournir à l'explant une source de carbone .dans la nature les sucres sont photo synthétisés à partir du gaz carbonique atmosphérique et de l'eau du sol .

-les vitamines : l'emploi de diverses vitamines favorise fréquemment le développement des cultures in vitro ; elle appartient essentiellement au groupe B .les concentrations vitaminique sont rapportées dans **le tableau n°5**.

Tableau n°05: solution vitaminique de MS

Vitamines	[g/l]	×100	[g/l]	Prélèvement
Panthoténate de calcium	1	1×100/100	1	100/100=1
Méso inositol	0.1	0.1×100/100	10	
Biotine	0.01	0.01×100/100	0.01	
Acide nicotinique	0.05	0.05×100/100	0.05	
Pyridoxine (vitB6)	0.01	0.01×100/100	0.01	
Thiamine (vitB1)	0.05	0.05×100/100	0.05	

1.2.3. Préparation du matériel végétal de départ :

a. Stérilisation du matériel végétal

Les germes pris sur les tubercules sont lavés à l'eau de robinet pour les débarrasser des poussières aux toutes autres impuretés. La stérilisation des germes est faite par le trempage dans l'alcool (éthanol) pendant 05 secondes puis dans une solution diluée de l'eau d'Javel (2/3 de l'eau distillée et 1/3 de l'eau d'Javel pure) pendant 15 minutes. puis ;on rince les germes 3 fois à l'eau distillée stérilisée pour éliminer toute trace de l'hypochlorite.

b. Découpage des germes en boutures

Les germes de 15 cm comme le montre la Figure n°18 ci dessous sont découpés en autant de boutures qu'il y a de nœuds, donc chaque bouture contient un bourgeon. Lors du découpage on doit prendre soins de découper les germes justes au-dessus des nœuds sans trop s'en approcher pour éviter tout risque de dessèchement ou d'abimer le bourgeon. Cette méthode de découpage nous permet de distinguer le haut de la bouture de son bas au moment du repiquage en tube. L'isolement du bourgeon de l'ensemble de la plante libère de la dominance du bourgeon apical, ce qui facilite son développement en une plantule feuillée s'il est placé dans des conditions favorables.

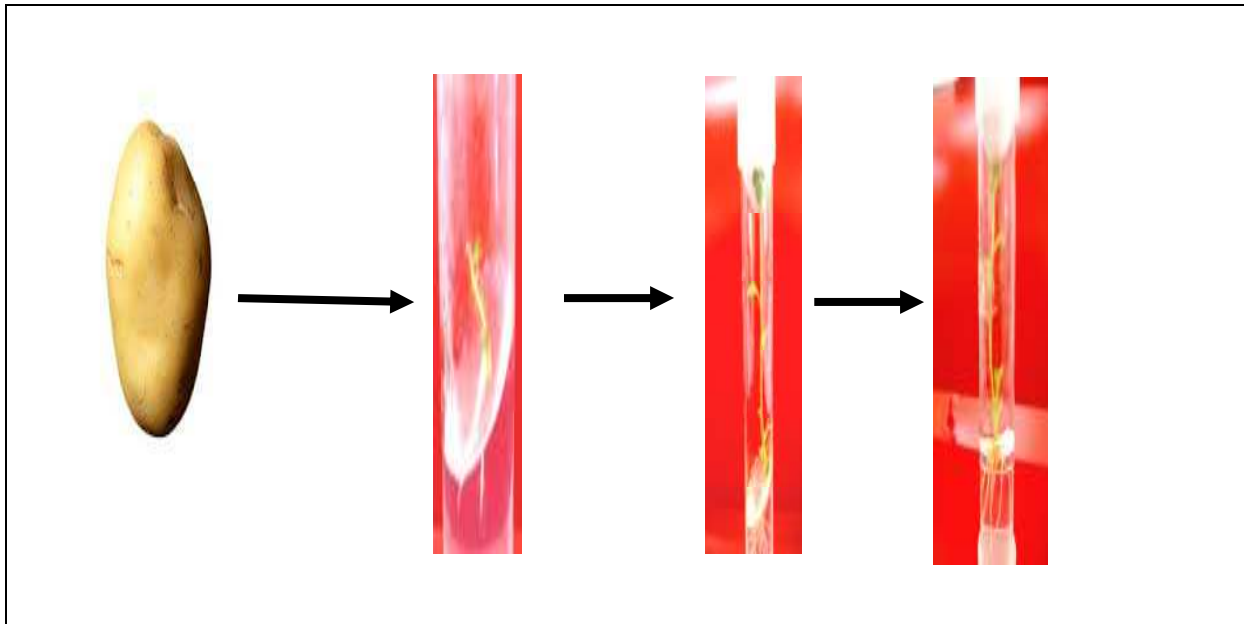


Figure n°18 : étapes de boutures

1.2.4. Repiquage des implants en tubes:

a. Conditions aseptiques

Le découpage des germes ainsi que le repiquage des boutures en tubes doit se faire dans la condition la plus aseptique possible. De ce fait, on doit travailler sous une hotte stérile à flux laminaire horizontale et à proximité d'un bec Bunsen avant chaque manipulation ; la planche de la hotte est nettoyée par l'eau de Javel, puis à l'alcool. Ensuite le matériel végétal est disposé sur une boîte de Pétri stérile qu'on change chaque fois qu'on coupe des tubercules ou des plantules ; les pinces et les bistouris sont flambés à l'alcool autant de fois qu'ils seront utilisés.

b. Repiquage proprement dit

Les boutures de germes ou de plantules obtenus *in vitro* découpés sont repiquées dans des tubes à essai (figure n°9), ci-dessous on prendra soin d'ouvrir et de fermer les tubes à essai à proximité de la flamme pour éviter que les germes (champignons, bactéries) ne pénètrent dans les tubes ou, ils développent des colonies qui gênent le développement des boutures. Chaque bouture est introduite dans le milieu jusqu'au niveau du bourgeon. Au moment du repiquage, on élimine les plantules issues de tubes infectés pour éviter la propagation de l'infection et on élimine aussi les plantules chétives ou, présentant une morphologie anormale.



Figure n° 19: mise en culture (pommes de terre)

c. condition de la chambre de culture :

Les tubes contenant chacun une bouture sont placés dans une chambre de culture dans laquelle la photopériode est réglée pour une 16 heures de lumière et 8 h d'obscurité. Pour favoriser le développement végétatif. L'éclairage est assuré par des lampes à néon disposées à environ 40 cm au-dessus des tubes et la température doit être réglée de 20 à 25°C.

d. phase d'acclimatation:

L'acclimatation est la phase nécessaire comme condition pour le vitro-plant qui se trouve totalement dans une ambiance artificielle. Ou bien dans un milieu nouveau pour qu'il puisse utiliser ses propres mécanismes naturels.

e. transplantation des vitro plants vers les pots:

Elle est appliquée pour les vitro plants qui sont transplantés vers les pots avec les conditions suivantes:

- Nettoyage et désinfection de la serre en verre avec de l'eau et l'eau de Javel
- Lavage et désinfection des pots.
- Lavage et désinfection des égouttoirs.
- stérilisation de terreau (substrat)
- Transfer des 2400 pots vers la serre en verre
- Remplissage des pots avec de terreau (1/3), des engrais fond (NPK 8 ,10 ,30)

- Traitement des substrats avec un nématicide, arrosage des pots avec l'eau, traitement de terreau avec un mélange des insecticide et des fongicides, transplantation des vitro-plants dans les pots par les spatules.
- Installation le système goutte à goutte (emplacement les égouttoirs) et irrigation selon la demande de végétation.
- Elaboration d'un calandré de traitement phytosanitaire pendant le cycle de vie de pomme de terre (4mois).
- Visite de la culture chaque jour.
- 20 jour après l'acclimatation nous faisons le bouturage (2/3) pour favorise l'émission de nouveau stolons pour augmenter le rendement, pendant 4 mois de développement de la pomme de terre nous faisons des traitements (insecticide-fongicide) par alternance semaine.
- Avant une semaine de récolte arrêt d'irrigation et fait un traitement fongicide (a basse cuivre).
- défanage (coupe la partie aérien de la plante), la récole (ramassage les munies tubercule G0).
- Lavage des semences, triage en cinq calibre différent (>15,15-20,20-25,25-30, <30), traitement les semences avec de mélange de fongicide et insecticide.
- Stockages des semences dans la chambre froids à 30C° et cultives les semences G0 dans la serre insecte proof pour produire G1et transfères les semences vert les fermes pilote.

1.2.5. Notation des étapes d'expérimentation :

Plusieurs notations sont réalisées pendant les trois étapes essentielles de l'expérimentation :

1.2.5.1. Phase de croissance en tube à essais:

Ces natations concernent la croissance et le développement des plantules en premier et deuxième repiquage des boutures (étape 1 et étape 2) : Dénombrement du nombre moyen des feuilles des vitro-plants, mesures de la longueur moyenne des tiges des vitre-plant et mesure de la longueur moyenne des feuilles simples et composées des vitro-plants.

1.2.5.2. Observation :

Elles de son sur les paramètres de croissance et de développement. A chaque étape et après deux mois de repiquage des boutures des deux variétés de pomme de terre, des mesures ont été réalisées sur quelques parcomètres de développement et de croissances sur les vitro-plant. Il s'agit de la longueur de la tige et le nombre des feuilles par vitro-plant (après leurs mises en place dans des pots comme le montre la figure n°20 ci-dessous.

On rappelle que la première mesure sur la longueur des tiges des deux variétés utilisées de pomme de terre a eu lieu le 7^{eme} jour du transfert et transplantation dans des pots sur le

substrat qui est une tourbe noire. La seconde mesure sur le nombre des feuilles est effectuée 30 et 60 jour après transplantation.



Figure n° 20: Développement des vitro-plants acclimatés.

1.2.6. Méthode d'analyse

L'analyse des données est faite en utilisant le logiciel Excel pour suivre l'évolution de la variation des paramètres : longueur de la tige, le nombre des feuilles simples et composées ainsi que le paramètre calibrage en fonction du nombre de jours de plantation.

Le test de student au seuil de 5% et 1% et dont le principe se base sur l'analyse des moyennes est utilisé uniquement pour les paramètres longueur de la tige et nombre des Feuilles composées qui ont montré des significations.

Résultats obtenus ont porté sur les paramètres longueur des tiges et le nombre des feuilles (simple et composées).

Résultats et discussion :

1/cas de la variété désirée:

1.1./après deux jours de plantation (Tab.01, Annexe 1)

La figure 01 ci-dessous montre que le paramètre **LmT** début par une valeur minimale de **1.2 cm** à une valeur maximale de **3.3cm** en donnant un nombre de feuilles simples **Nfs** allant De 3à7 et un nombre de feuille composée **Nfc=0**.

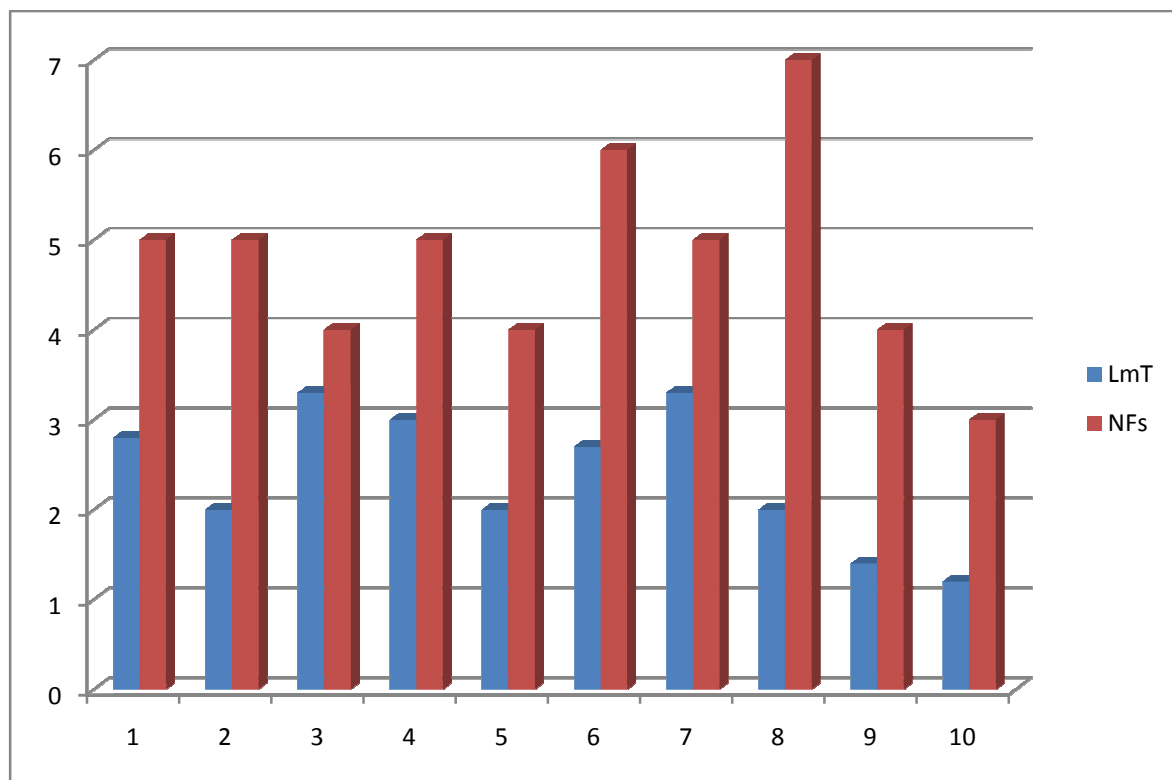


Figure n°01: variation de la longueur moyenne de la tige, du nombre de feuilles simples et Composées par plant après **02 jours de plantation.**

2/ cas de la variété *spunta*

2.1./après deux jours de plantation (Tab.01, Annexe 2)

La figure 02 ci-dessous montre que le paramètre **LmT** début par une valeur minimale de **1.5 cm** à une valeur maximale de **3.7cm** en donnant un nombre de feuilles simples Nfs allant de **4** à **8** et un nombre de feuille composée Nfc=0.

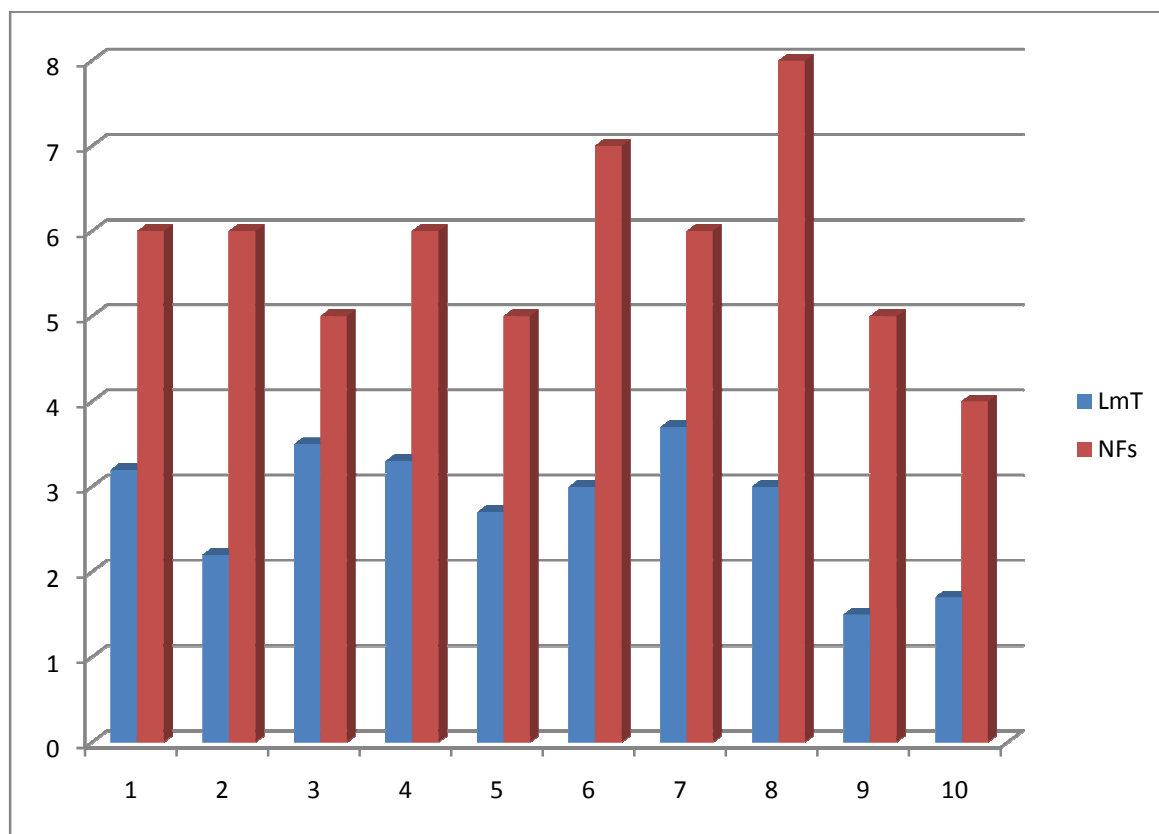


Figure.02: variation de la longueur moyenne de la tige, du nombre de feuilles composées et Composées par plant après **02 jours de plantation.**

1.2./après trente jours de plantation (Tab.03, Annexe 02)

La figure **03a et 03b** ci-dessous montre que le paramètre **LmT** début par une valeur minimale de **7.5 cm** à une valeur maximale de **13cm** en donnant un nombre de feuilles simples **Nfs** allant de **5à9** et un nombre de feuille composée **Nfc=06**.

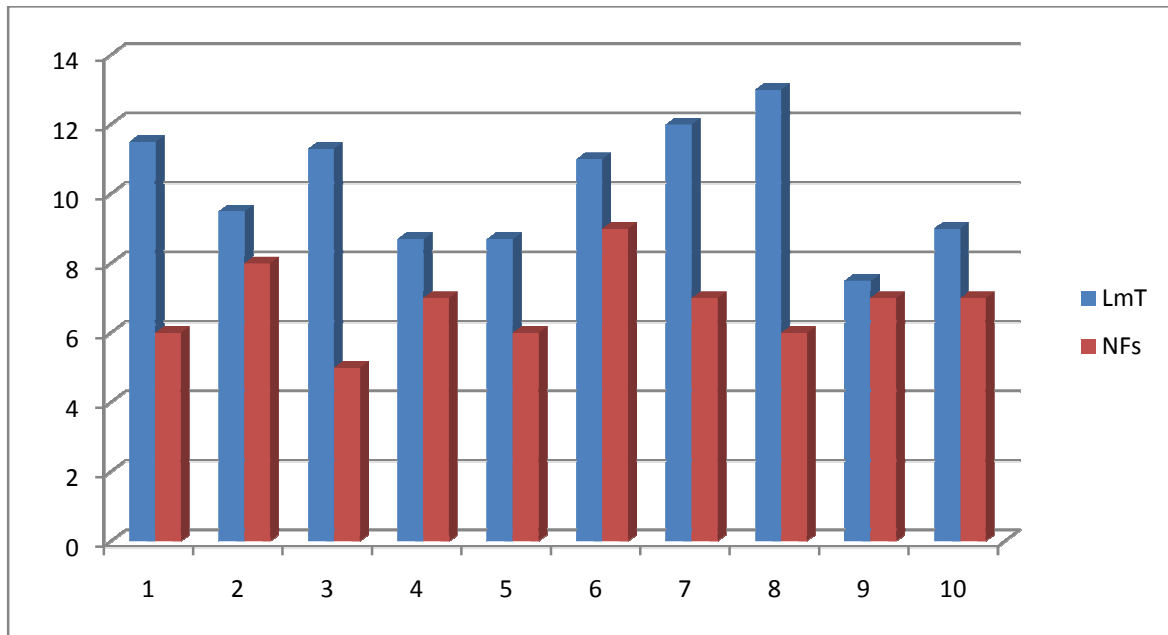


Figure.03a: variation de la longueur moyenne de la tige, du nombre de feuilles simple par plant après 30jours de plantation.

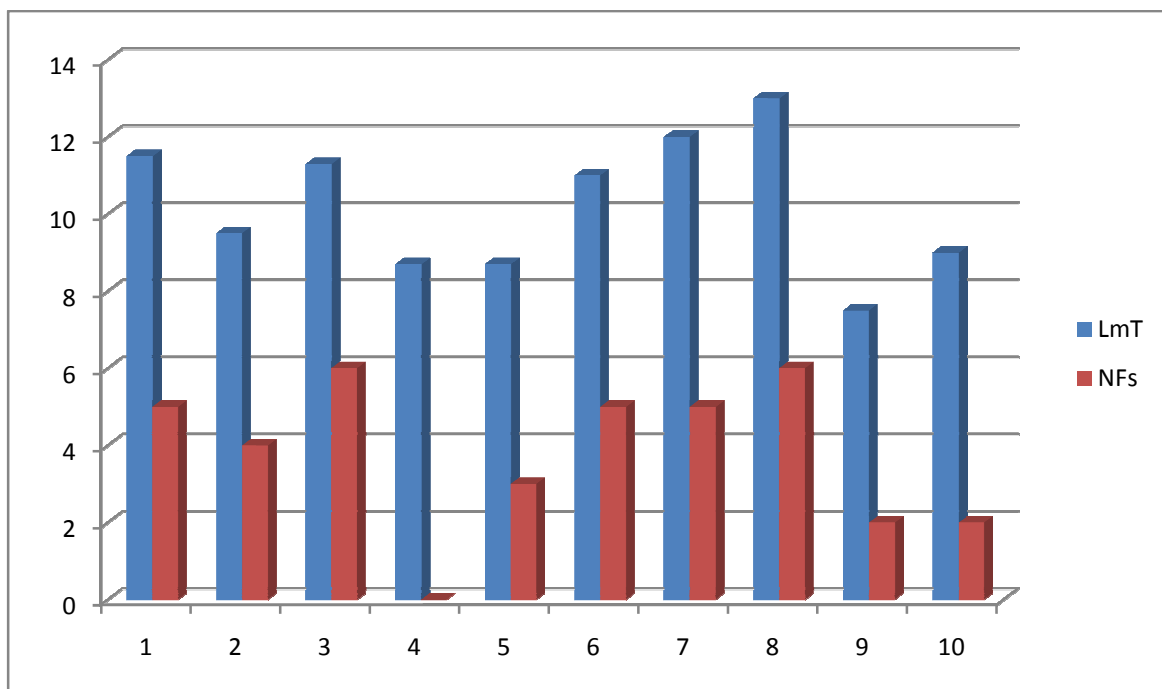


Figure.03b: variation de la longueur moyenne de la tige, du nombre de feuilles composées par plant après 30 jours de plantation.

2.2/après trente jours de plantation (Tab.04, Annexe 02)

La figure 04a et 04b ci-dessous montre que le paramètre **LmT** début par une valeur minimale de **9.5 cm** à une valeur maximale de **16cm** en donnant un nombre de feuilles simples **Nfs** allant de **5** à **9** et un nombre de feuille composée **Nfc=06**.

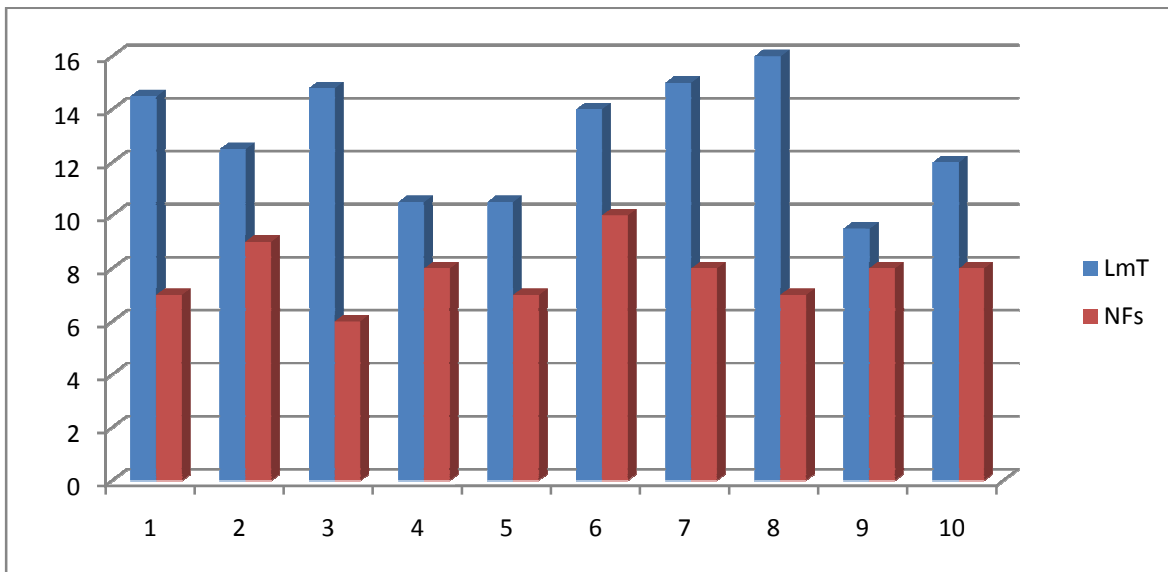


Figure.04b: variation de la longueur moyenne de la tige, du nombre de feuilles simple par plant après 30 jours de plantation

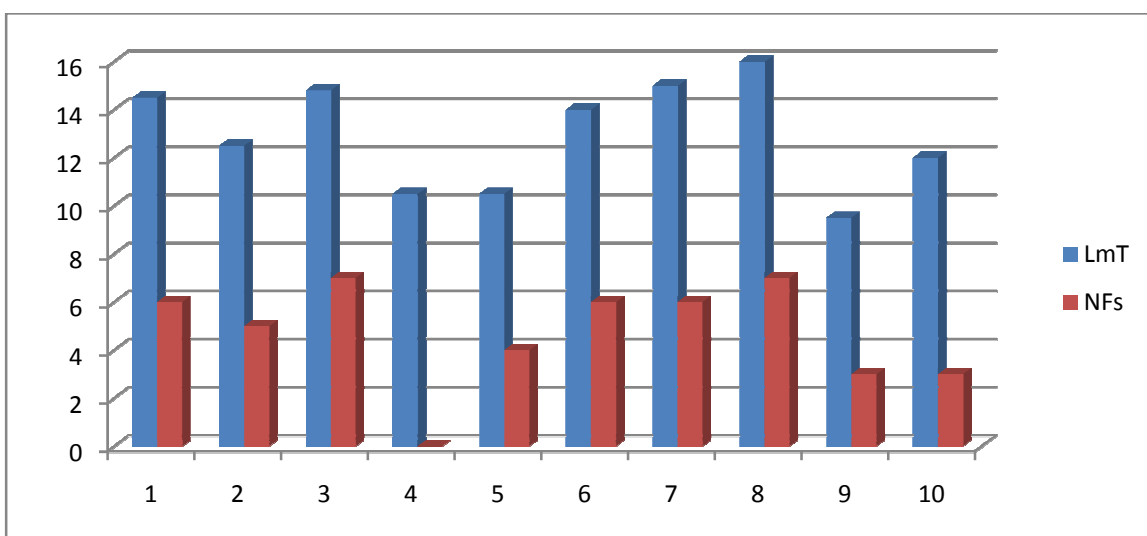


Figure.04b: variation de la longueur moyenne de la tige, du nombre de feuilles composées

par plant après **30 jours de plantation**

1.3/après soixante jours de plantation (Tab.04, Annexe 01)

La figure **05a et 05b** ci-dessous montre que le paramètre **LmT** début par une valeur Minimale de **15 cm** à une valeur maximale de **37cm** en donnant un nombre de feuilles simples **Nfs** allant de **2** à **8** et un nombre de feuille composée **Nfc=06**.

Figure.05a: variation de la longueur moyenne de la tige, du nombre de feuilles simple par plant après **60 jours de plantation.**

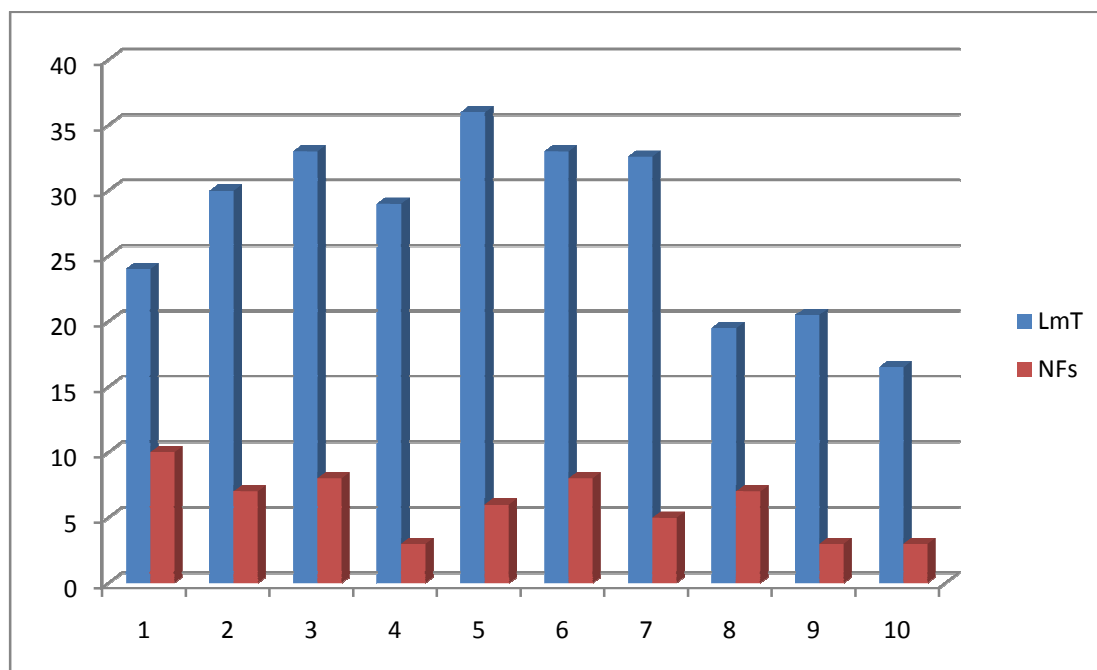
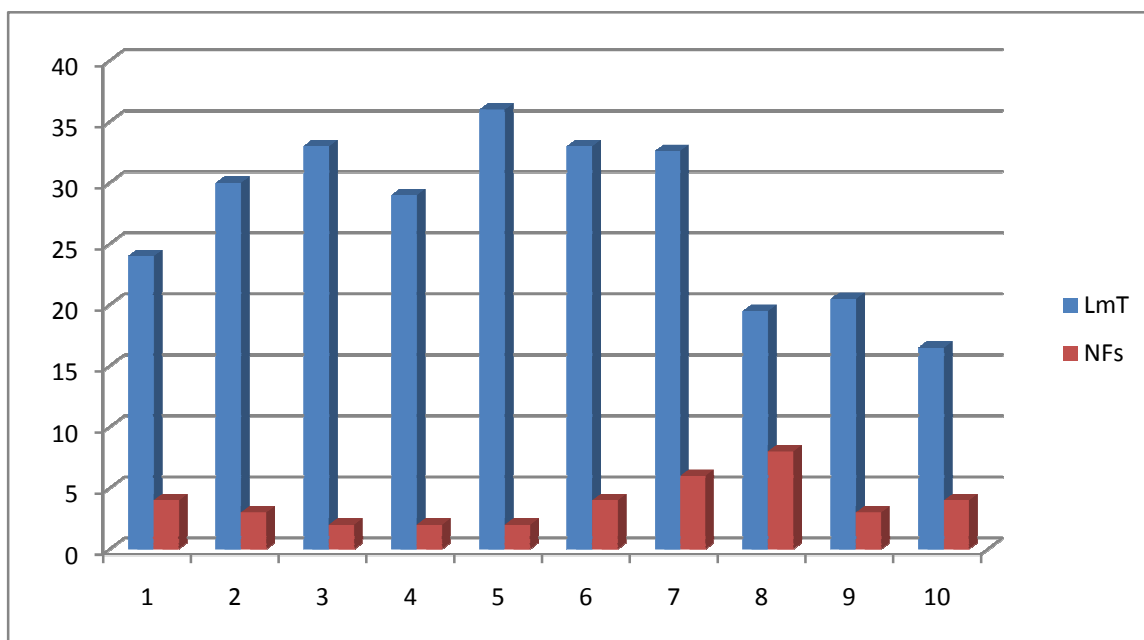


Figure.05b: variation de la longueur moyenne de la tige, du nombre de feuilles composées par plant après 60 jours de plantation

2.3/après soixante jours de plantation (Tab.04, Annexe 01)

La figure **06a et 06b** ci-dessous montre que le paramètre **LmT** début par une valeur minimale de **16 cm** à une valeur maximale de **37cm** en donnant un nombre de feuilles simples **Nfs** allant de **3** à **8** et un nombre de feuille composée **Nfc=12**

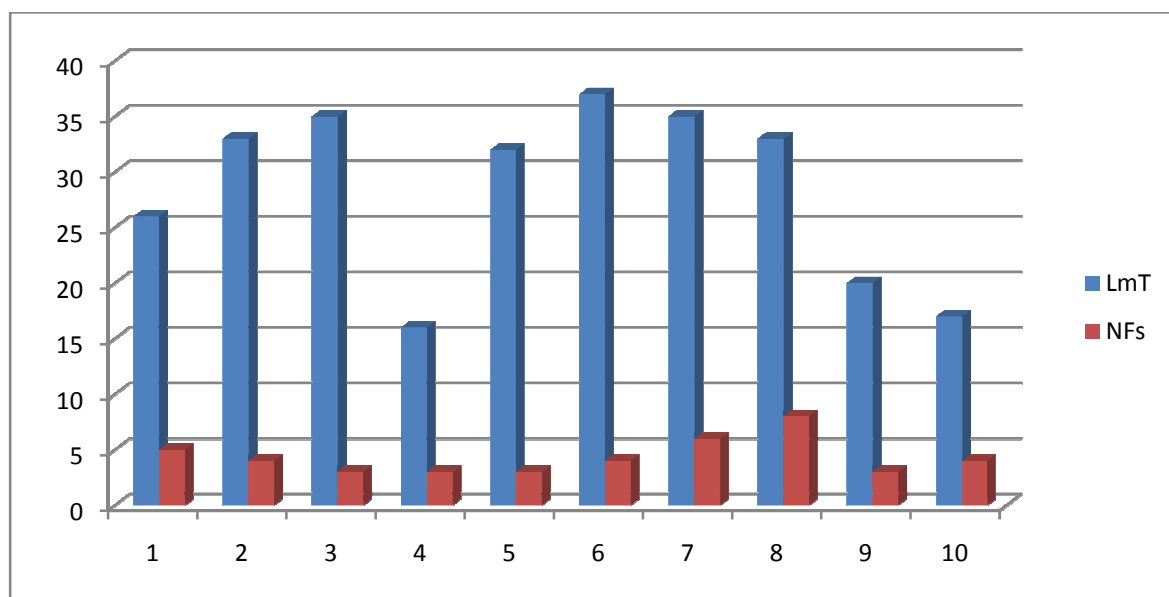


Figure.06a: variation de la longueur moyenne de la tige, du nombre de feuilles simple par plant après 60 jours de plantation

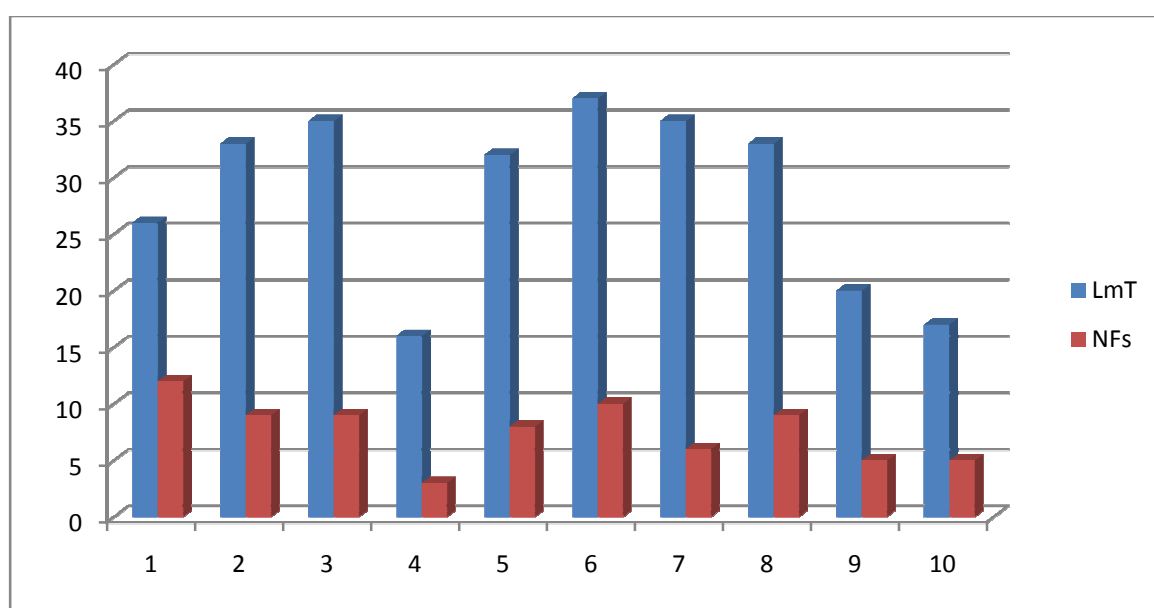


Figure.06b: variation de la longueur moyenne de la tige, du nombre de feuilles composées par plant après **60jours de plantation**

2- Résultats et discussions:

L’**application** de la technique in vitro chez les deux variétés désirée et *spunta* a montré l’indication suivante :

- Il y a une meilleure reprise des plants dans le milieu MS
- La majorité des explants ont montrée une augmentation de la vitesse de croissance moyenne allant de 3,3a 36 cm/j chez la variété désirée (Tableau. 06si dessous) pour une période allant de 2 jours à 60 jours.

Ces valeurs rejoignent les résultats de **NOWBUTH** et al. (2005) obtenu sou le même milieu MS

Tableau n° 6: Mesure de la vitesse de croissance moyenne cm/j des tiges des deux variétés dans le milieu MS.

Variété / Temps (j)	2j	30j	60 j
<i>Spunta</i>	3,7	16	37
Désirée	3,3	13	36

1-1 - Paramètre longues des tiges

La bonne élongation des tiges dans le milieu **MS** est dus à la présence de N en concentration élevées ainsi celle du k^+ .Ce sont deux éléments chimique essentiels pour la production des manières vivantes.

Le teste T de student a révélé de variance égales dans la longueur de la tige entre les deux variétés dans le milieu MS après 60 jrs .Ces différence sont expliquées par la capacité de régénération de chaque variété (tableau ci-dessous).on doit noter que la variétés Désirée a toujours donné de faible longueurs qui correspond à celles confirmées par JRRETet al (1980) pour le même MS (Tableau . Annexe 01 et2)

Tableau n° 7 : Test d'égalité des espérances deux observations de variance égales

	<i>Spunta</i>	Désirée
Moyenne	28,40	27,41
Statistique	0,30	
P (T<= t) bilatéral	0,76	
Valeur critique de t (bilatéral)	2,09	

2-1 ParamètresLmT, Nbrfs, et Lf des individus des deux variétés désirée et *spunta* (Après 2 jours de plantation):

Le teste T de student a révélé de variances égales dans la longueurs des tiges de plantation, et le nombre de ramifications simple et longueur des feuilles entre les deux variétés dans le milieu MS après 2 jours de plantation (Tableau.ci dessous)

Tableau n° 8:Test t à deux échantillons des paramètres LmT, Nbrfs et Lf des individus des Deux variétés

Variétés désirée et *spunta* (après 02 jours de plantation)

	<i>spunta</i>	désirée	Statistique t	P
Longueur moyenne des tiges	2,370	2,780	-1,22	0,240ns
Nombre de ramifications simple	5,80	4,80	-1,97	0,064ns
Longueur des feuilles	0,270	0,140	-0,43	0,676ns

2-2ParamètresLmT, Nbrfs, Nbfc et Lf des individus des deux variétés désirée et *spunta*(Après 30 jours de plantation):

le teste T de student a révélé de variance égales dans le nombre de ramification des feuilles composées, longueur moyennes des tiges, nombres de ramification simple et longueur des feuilles entre les deux variété désirée et *spunta* Après 30 jours de plantation tableau s dessus

Tableau n°9:Test T à deux échantillons des paramètres LmT, nbrfs, nbrfc et Lf des individus des deux variétés désirée et *spunta* (après 30 jours de plantation)

	<i>Spunta</i>	désirée	Statistique t	P
Longueur moyenne des tiges	12,93	10,22	-2,99	0,008**
Nombre de ramifications simple	7,80	6,80	-2,99	0,064ns
Nombre de ramifications feuilles composées	4,70	3,80	-0,96	0,352ns
Longueur des feuilles	1,45	1,25	-0,10	0,918ns

2-3- ParamètresLmT , Nbrfs ,Nbrfc et Lf des individus des deux variétés désirée et *spunta*(Après 60 jours de plantation)

Pour ces paramètres, les meilleures valeurs en nombres de ramifications feuilles simples, nombre de ramifications feuilles composées, Longueur des feuilles, Longueur moyenne des tiges sont obtenues avec le milieu MS, pour une période allant de 30à 60 jours pour les deux variétés.

Le teste T de student a révélé de variance égales dans le nombre de ramification des feuilles composées, longueur moyennes des tiges, nombres de ramification simple et longueur des feuilles entre les deux variétés désirée et *spunta*Après60 jours de plantation tableau s dessus.

Tableau n°10: Test T à deux échantillons des paramètres LmT, Nbrfs, Nbrfc et Lf des individus des deux variétés désirée et *spunta* (après 60 jours de plantation)

	<i>spunta</i>	désirée	Statistique t	P
Longueur moyenne des tiges	28,40	27,41	-0,30	0,769ns
Nombre de ramifications simple	4,30	3,80	-0,62	0,541ns
Nombre de ramifications feuilles composées	7,60	6,00	T = -1,37	0,188ns
Nombre de feuilles simples	0,60	0,50	-0,13	0,900ns
Nombre de feuilles composées	0,90	0,80	-0,08	0,935ns

Conclusion :

En temps actuel, l'utilisation de la technique de culture in vitro pour la production de semences chez la pomme de terre, constitue une alternative très importante qui ne cesse d'évoluer pour substituer les techniques classiques engendrant des problèmes d'aspects divers. Sa généralisation se justifie principalement par son faible coût économique et son efficacité dans la production de plants de meilleure qualité phytosanitaire en un temps largement plus réduit.

D'après l'étude des paramètres de croissance comme la croissance de tiges et le nombre de feuilles et à travers les résultats obtenus sur deux variété de pomme de terre *spunta* et Désiré dans le milieu MS (**Murashing et SKOOG,1962**),ce dernier paraît le plus favorables . Quand à l'acclimatation , nous avons acclimaté des vitro plants su un substrat constitué

Références bibliographique :

(R .), MORAND (J.CI .), VIDALIE (H .) . — La culture in vitro et ses applications horticoles. — Paris : J .B.

A

Anonyme, 2001. La valeur nutritionnelle .Instituts international .Food policy reesearch : [http //www.ifpri.egi-ar.org](http://www.ifpri.egi-ar.org).

Anonyme., 2000. Histoire de la pomme de terre, Fédération des producteur de pomme de terre de Québec CF.PPTQ, www.fpptq.aq.

Anonyme., 2007.Pomme de terre en Afrique : <http://www.potato2008.org/fr/monde/afrique.html>

AUGE (R .), BEAUCHESNE (G .), BOCCON-GIBOD (J .), DECOURTYE (L .), DIGAT (B .), GALANDRIN (J .CI .), MINIER

Auge D., 1992 .La culture in vitro et ses applications horticoles, Lavoisier .France Baillière, 1984 . — 152 p.

B

Bajaj Y.S.P. ,1987.Biotechnologie in agriculture and .forestry .in amélioration des espèces cultivées .A.Gallais et Bernneret ,1992,pp225

BELANGER I.A., 1998. Enjeux du développement des recherches fondamentales : qu'avons nous appris en analysant le génome *d'Arabidopsis thaliana* Agronomie 6

Bernhardes U, 1998.,L a pomme de terre *Solanum tuberosum* .L .Monographie institut National Agronomique .

Bellfontain R,Monteuus O. ,2006 . Le drageonnage des arbres hors forêt : un moyen pour revégétaliser partiellement les zones arides et semiarides sahéliennes ?.

BLANCE.A;MERRY.J.G Et BIOSAD .J,1986 : Action des relations des lumières rouge sur la survie et la tubérisation des germes de pommes de terre cultivée in vitro : influence de leu âge physiologique . Potato .Res .29(3) ;3816-389 .

BLOUFOUL.R.1979 :Essai d'obtention de plants pou la production de plants pou la production de semence à partir de la multiplication végétative de la pomme de terre ;

Thèse . ing.Agro .I .N.ELHARRACHE .

BOXUS P.,1995: Multiplication végétative: micropropagation et embryogenèse somatique in biotechnologies végétales . BV 93, Ed CNED. AUPELF- UREF 191p.

Bruton W.G.,1989.The potato in La pomme de terre production, Amélioration, Ennemis et Maladies. Utilisation édition .

Ⓒ

CABASSON C., OLLITRAULT P. et TEISSON C.,1994: Embryogenèse de suspensions de citrus *Deliciosa ten* In Teisson : la culture *in-vitro* de plantes tropicales CIRAD.Montpellier .

CAMEFORT H.,1977: Morphologie des végétaux vasculaires .Ed DOIN,418p
2.cirad.fr

Ⓕ

FERRY M., BOUGUEDOURA N. et EL HADRAMI I .,1998. Patrimoine génétique et technique de propagation *in-vitro* pour le développement de la culture du palmier dattier . Nu <http://www>.

Ⓖ

Madigan M,et Martinko J.,2007.Brock .Biologie des micro organisme .Edt .Pearson
_Education p 03.

MARGARA (J .) . — Bases de la multiplication végétative : les méristèmes et l 'organogénèse . — Paris : Institut

MARGARA F.,1989. Bases de multiplication végétative : les méristèmes et l'organogénèse . Ed INRA Paris 262p.

méro spécial oasis .Secheresse.9(2) :139-146 national de la Recherche agronomique,
1981 . — 262 p.68

ℵ

Nozeran R, Bancilhon L ., 1972 .Les cultures in vitro en tant que technique pour l'approche de problèmes posés par l'amélioration des plantes .In Ann. Amélioration .Plantes 22(2),pp 167-185.

ℙ

PELLETIER G. et PELLETIER A.,1971: Culture *in-vitro* de tissus de trèfle blanc (*Trifolium repens*) variabilité des plantes régénérées. Ann - Amélior Plant. 21: 221-223.

ℛ

Robert D, Dumas C, Bayon C., 1998. La reproduction .Edt .Doun initiatives santé pp 373.

℔

SAADI A.,1991. Régénération de plantes de pois *Pisum sativum* L par embryogenèse somatique . Thèse de doctorat . Paris Grignon 162p.

SCHMID J. et KELLER E .,1981 : Nouvelles possibilités pour l'amélioration et la multiplication des plantes : les cultures de tissus et de cellules. Revue Suisse Agriculture 13(6): 265-272.

SCHMID J. et KELLER E .,1981 : Nouvelles possibilités pour l'amélioration et la multiplication des plantes : les cultures de tissus et de cellules. Revue Suisse Agriculture 13(6): 265-27

Sibi M .,1981. Hérité de variants épi géniques obtenus par culture des tissus in vitro chez les végétaux supérieurs .Thèse Doct ès Sci ; Univ Paris RSud, Orsay, 280 p.

Smith R.H, Bhaskaran S, Miller F.R., 1985. Screening for drought tolerance in Sorghum activity: localization using cell culture. In Vitro Cell .Dev. Biol .21 :541-545.

SAMA A.E., SIMON Z.,NYOCHEMBENG L., TAMBONG T.A., NEZANA X . et

WUTAH J.G 1998: Culture *in-vitro* et multiplication rapide de plante à tubercules et racines au Caméroune . Cahier Agriculture (7) :63-66

Soltener .D ., 2005.Les grandes productions végétales .Collection Scientifiques des technologie Agricoles 20eme édition 472P.

§

Téoulé E .,1999. Biotechnologie et Amélioration des plantes in Biotechnologie Seriban R. EdT TEC &DOC p 565-589.

TISSERAT B ., ESANE B. et MURASHIGE T., 1979. Somatic embryogenesis in Angiosperms . Hort. Rev.,1:1-78.

TOUTE Y.,1998: Genie génétique et biotechnologie , concepts et méthodes . Applications à l'agronomie et aux bio-industrie . Ed DUNOD 209p.

@

Yves C. ,1984 .La culture sans sol .in science et vie, hor série (la nouvelle botanique) mars 1984, 146:68-75.

©

Zuccherelli G ., 1979 Technique di propagazione industriale Delle piantine di fragola da coltura in vitro per il vivaio. - In Sansavini (S.) Societa Orticola Italiane Incontro Nazionale Sulla Coltura della Fragola. S.O.I. Ferrara, p 169-178.

Références bibliographique