

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université Abou Bekr Belkaid de Tlemcen
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département des Sciences Agronomiques et Forestière



Mémoire de fin d'études
En vue de l'obtention du diplôme de Magister
En Sciences Agronomiques
Spécialité : Amélioration de la Production Végétale et Biodiversité

THEME

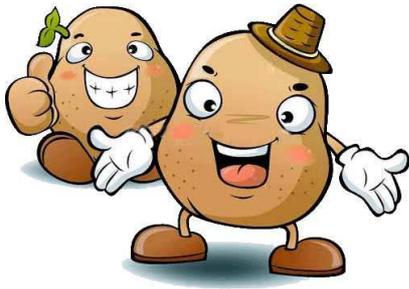
Essai de substitution des milieux de culture en micropropagation et la physiologie de la microtubérisation de la pomme de terre (Solanum tuberosum. L)

Présenté par :
M^{elle} BELGUENDOUZ AMINA

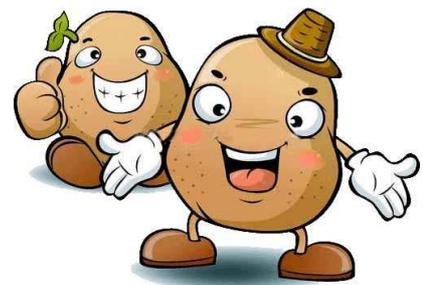
Membres de jury :

Président : Mr. ELHAITOU. A	M.C. Université Abou Bekr Belkaid. Tlemcen
Promoteur : Mr. SAHNOUNE. M	Prof. Université Ibn Khaldoun. Tiaret
Examineurs : Mr. ADDA. A	M.C. Université Ibn Khaldoun. Tiaret
Mr. BENMAHIOUL. B	M.C. Université Abou Bekr Belkaid. Tlemcen
Membre Invité: Mr. CHIKH. M	M.A. Université Abou Bekr Belkaid. Tlemcen

Année universitaire: 2011-2012



*“ Though I do not believe
that a plant will spring up
where no seed has been,
I have great faith in a seed.
Convince me that you have a seed there,
and I am prepared to expect wonders.”*
Henry David Thoreau
[The Succession of Forest Trees, 1887]



DEDICACES

A ma mère, A mon père

...pour leurs sacrifices et leurs efforts consentis, qu'ils trouvent ici l'expression de ma profonde affection.

A mes Frères et sœurs

...pour leurs compréhensions et leurs encouragements, qu'ils trouvent ici l'expression de ma sincère amitié.

Amina

REMERCIEMENTS

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. SAHNOUNE M, Professeur à l'université de Tiaret, 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.

Mes remerciements les plus chaleureux et fraternels à Mr ELHAITOU M, Maitre de conférences et responsable de la post graduation à l'université de Tlemcen, Je lui suis très reconnaissante pour sa disponibilité, sa bienveillance et pour l'honneur qu'il me fait en acceptant de présider le jury.

Mes remerciements vont aussi à Mr BENMAHIOUL B, Maitre de conférences à l'université de Tlemcen, d'avoir eu l'amabilité d'accepter volontairement et aimablement de critiquer et de juger ce travail. Je suis particulièrement reconnaissant et honoré par sa participation au jury de ce mémoire.

Je tiens à remercier également Mr ADDA A, Maitre de conférences à l'université de Tiaret, d'avoir accepté, malgré ses préoccupations et ses tâches d'enseignement et d'encadrement, de lire et de juger ce travail. Qu'il trouve ici mes sincères sentiments de gratitude et de respect.

J'offre mes sincères remerciements à Mr CHIKH M, Maitre assistant à l'université de Tlemcen, pour avoir accepté de faire partie de mon jury de mémoire.

Je me permets d'adresser mes remerciements aux personnels du laboratoire de physiologie et biotechnologie végétale de l'Université Ibn Khaldoun de Tiaret, pour leur aides et ses grandes disponibilités, et à toute l'équipe du laboratoire d'amélioration et de production des semences de pomme de terre à Sebaine de Tiaret, qui ont contribué beaucoup d'une manière ou d'une autre, durant tout la période de l'expérimentation.

Je n'oublierais pas de remercier mes collègues de promotion Hidayet, Ibtissam, Khalef, M'hamed et Yassine.

Enfin, ce travail n'aurait pas été mené à terme sans les concessions et les encouragements de mes parents et tous ceux qui m'ont aidé de près ou de loin à réaliser ce travail, auxquels je dis tout simplement merci.

TABLE DES MATIÈRES

LISTE DES FIGURES ET DES SCHEMAS

LISTE DES TABLEAUX

LISTE DES PLANCHES

LISTE DES ANNEXES

LISTE DES ABREVIATIONS

<i>Introduction</i>	01
---------------------------	----

Revue bibliographique

I. Généralités sur la pomme de terre	04
I.1. Historique de la pomme de terre	04
I.2. Taxonomie et origine	04
I.3. Description Botanique	06
I.3.1. Description de l'Appareil aérien	06
I.3.2. Description de l'Appareil souterrain.....	07
I.3.2.1 Structure externe du tubercule	07
I.3.2.2 Structure interne du tubercule	07
I.4 Cycle de reproduction et physiologie	09
I.4.1. Cycle sexué	09
I.4.2. Cycle végétatif	09
I.4.2.1. dormance.....	09
I.4.2.2. germination	09
I.4.2.3. croissance	10
I.4.2.4. tubérisation.....	10
I.5. Variétés	13
I.6. Les exigences de la plante.....	13
I.6.1. Exigences climatiques.....	13
I.6.1.1. La température	13
I.5.1.2. La lumière	14

I.6.1.3. L'alimentation en eau	14
I.6.2. Exigences édaphiques	15
I.6.3. Exigences en éléments fertilisants	15
I.7. Les maladies et les ennemies de la pomme de terre	16
I.8. Composition biochimique du tubercule	17
I.9. Production de la pomme de terre	18
I.9.1. Production mondiale	18
I.9.2. Production de la pomme de terre en Algérie	18
II. Biotechnologie et Amélioration de la pomme de terre.....	19
II.1. Historique de la culture in vitro	19
II.2. Les catégories de la culture in vitro.....	20
II.2.1. La catégorie de la culture in vitro Conforme.....	20
II.2.1.1. La micropropagation.....	20
II.2.1.2. La microtubérisation.....	20
II.2.1.2.1. Les facteurs influençant la microtubérisation.....	22
II.2.1.2.1.1. Facteurs extrinsèques.....	22
II.2.1.2.1.2. Facteurs intrinsèques	25
II.2.1.2.2. Dormance.....	25
II.2.1.2.3. Avantages	25
II.2.1.2.4. Inconvénients.....	26
II.2.1.3. Culture de méristème.....	26
II.2.1.4. Embryogenèse somatique	27
II.2.1.5. Conservation	27
II.2.2. La catégorie de la culture in vitro Non conforme.....	28
II.2.2.1. Haplométhodes	28
II.2.2.2. Variation somaclonale	28
II.2.3. Les facteurs influençant la culture in vitro	29
II.2.3.1. La lumière et la photopériode	29
II.2.3.2. La température	29
II.2.3.3. Le support de milieux de culture	29
II.2.3.4. Le saccharose.....	30
II.2.3.5. Les vitamines	30
II.2.3.6. Les régulateurs de croissances.....	30
II.2.4.1. L'organogenèse in vitro.....	31

II.2.4.1. La caulogénèse	31
II.2.4.2. La rhizogénèse	31
II.2.5. Les avantages et les inconvénients de la culture in vitro.....	32
II.2.5.1. Les avantages de la culture in vitro	32
II.2.5.2. Les inconvénients	33
II.3. Transformations génétiques.....	33
II.3.1. Hybridation interspécifique	33
II.3.2. Culture et fusion de protoplastes	33
II.3.2.1. culture de protoplastes	33
II.3.2.2. fusion de protoplastes	34
II.3.2.3. Diversité des produits de fusion	34
II.3.3. Transfert des gènes	35
II.4. Biotechnologie dans le schéma de sélection de la pomme de terre.....	36
III. Nutrition minérale des végétaux	37
III.1. La composition minérale des végétaux	37
III.1.1. Les macroéléments	37
III.1.2. Les oligoéléments.....	37
III.2. Besoins en éléments minéraux	38
III.2.1. Les éléments nutritifs essentiels	38
III.2.2. Les éléments nutritifs bénéfiques	40
III.3. Le rôle des éléments minéraux et leur importance pour la plante.....	40
III.3.1. Le rôle des macroéléments	40
III.3.2. Le rôle des oligoéléments.....	41

Matériel et méthodes

I. Matériel.....	43
I.1. Matériel végétal.....	43
I.1.1. Origine	43
I.1.2. Caractères descriptifs des génotypes	43
I.1.2. Germination des semences.....	45
I.1.3. Lavage des semences	45
I.2. Milieux de culture de micropropagation.....	46
I.2.1. Milieu à base de produits chimiques.....	46
I.2.1.1. Préparation des solutions mères des milieux de culture	47

I.2.1.2. Préparation de la solution finale du milieu de culture	48
I.2.2. Milieu à base de cendres	49
I.2.2.1. Préparation des cendres.....	49
I.2.2.2. Préparation des milieux.....	49
I.2.3. Milieu de culture de microtubérisation	49
I.3. Stérilisation	50
I.3.1. Stérilisation du milieu de culture	50
I.3.2. La Stérilisation des instruments	50
I.3.3. Stérilisation des explants.....	50
I.3.3.1. Solutions stérilisantes.....	50
I.3.3.2. Préparation des explants de pomme de terre	52
II. Méthodes	51
II.1.Mise en culture	51
II.1.1.Zone du travail.....	51
II.1.2. Repiquage des explants	53
II.1.2.1. Micropropagation	53
II.1.2.2. Microtubérisation.....	53
II.1.3. Incubation des explants	55
II.1.3.1. Micropropagation	55
II.1.3.2. Microtubérisation.....	55
II.2. Mesures effectuées.....	57
II.2.1. Micropropagation	57
II.2.2. Microtubérisation.....	57
II.3. Analyse statistique des résultats	57

Résultats et discussion

I. Micropropagation	58
I.1. La rhizogénèse	58
I.1.1. Nombre de racines principales	58
I.1.2. Longueur de racines principale	64
I.1.3. Nombre de racines secondaires.....	70
I.2. La caulogénèse.....	75
I.2.1. Le nombre de tiges.....	75
I.2.2. La longueur de la tige.....	81

I.2.3. Nombre de feuilles	86
I.3. Etudes des corrélations	93
II. Microtubérisation.....	95
II.1. Rhizogénèse.....	95
II.1.1. Nombre de racines	95
II.1.2. Longueur des racines	97
II.1.3. Poids des racines.....	99
II.2. Caulogénèse.....	101
II.2.1. Longueur de la tige	101
II.2.2. Nombre de nœuds	103
II.3. Microtubercules	108
II.3.1. Positions et formes.....	108
II.3.2. Aspect morphologique.....	108
II.3.3. Nombre de microtubercules par vitroplant	108
II.3.4. Diamètre des microtubercules	110
II.3.5. Poids des microtubercules	112
II.4. Etude des corrélations.....	116

Discussion générale

I. La micropropagation.....	117
II. La micotubérisation	119
<i>Conclusion et perspectives.....</i>	124

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

ANNEXES

RESUME

Liste des figures :

- Figure n°1:** Origine des espèces cultivées de pomme de terre (*Solanum* sp) (p.6).
- Figure n°2:** Caractéristiques morphologiques de la pomme de terre et cycle végétatif (p.8).
- Figure n°3:** Cycle de production de *Solanum tuberosum* L. ssp. *Tuberosum* (p.12).
- Figure n°4:** Courbe de besoin en eau d'une culture de pomme de terre (p.14).
- Figure n°5:** Représentation graphique de la composition biochimique moyenne d'un tubercule de pomme de terre (*Solanum tuberosum* L.) (p.17).
- Figure n°6:** La production et les superficies mondiales de pommes de terre (p.18).
- Figure n°7:** Micropropagation et microtubérisation de la pomme de terre par culture *in vitro* (p.21).
- Figure n°8:** Coupe longitudinale d'apex de tige (p.27).
- Figure n°9:** Rôle des hormones dans l'organogénèse cas d'auxine et de cytokinine (p.31).
- Figure n°10:** Types d'organogénèse contrôlée par les concentrations relatives d'auxine(s) et de cytokinine(s) (p.32).
- Figure n°11:** Divers comportements de produits de fusion entre protoplastes (p.35).
- Figure n°12:** Caractères descriptifs de *Désirée* (p.44).
- Figure n°13:** Caractères descriptifs de *Spunta* (p.45).
- Figure n°14:** Germination des semences (*Désirée* et *Spunta*) (p.45).
- Figure n°15:** Organisation du plan de travail (p.52).
- Figure n°16:** Incubation des explants de la pomme de terre (p.56).
- Figure n°17:** Les résultats importants du nombre de racines principales des deux variétés (p.59).
- Figure n°18:** Longueur moyenne de racines principales durant la période de culture chez *Désirée* (p.65).
- Figure n°19:** Longueur moyenne de racines principales durant la période de culture chez *Spunta* (p.65).
- Figure n°20:** Les résultats importants du nombre de racines secondaires des deux variétés (p.71).
- Figure n°21:** Les résultats importants du nombre de tiges des deux variétés (p.75).
- Figure n°22:** Nombre moyen de tiges formées durant la période de culture chez *Désirée* (p.76).
- Figure n°23:** Nombre moyen de tiges formées durant la période de culture chez *Spunta* (p.77).
- Figure n°24:** Longueur moyenne de tiges durant la période de culture chez *Désirée* (p.82).
- Figure n°25:** Longueur moyenne de tiges durant la période de culture chez *Spunta* (p.82).
- Figure n°26:** Nombre moyen de feuilles formées durant la période de culture chez *Désirée* (p.87).
- Figure n°27:** Nombre moyen de feuilles formées durant la période de culture chez *Spunta* (p.87).

Figure n°28: Evolution de la longueur moyenne de la tige et du nombre moyen de feuilles en fonction du temps et des variétés (p.94).

Figure n°29: Nombre de racines en fonction de la photopériode, du milieu et de la variété (p.96).

Figure n°30: Longueur des racines en fonction de la photopériode, du milieu et de la variété (p.98).

Figure n°31: Poids des racines en fonction de la photopériode, du milieu et de la variété (p.100).

Figure n°32: Longueur de la tige en fonction de la photopériode, du milieu et de la variété (p.102).

Figure n°33: Nombre de noeuds en fonction de la photopériode, du milieu et de la variété (p.104).

Figure n°34: Nombre de microtubercules par vitroplant en fonction de la photopériode du milieu et de la variété (p.110).

Figure n°35: Diamètre des microtubercules en fonction de la photopériode, du milieu et de la variété (p.112).

Figure n°36: Poids des microtubercules en fonction de la photopériode, du milieu et de la variété (p.113).

Liste des schémas :

Schéma n°1 : Protocole du travail de la micropropagation (p.54).

Schéma n°2 : Protocole du travail de la microtubérisation (p.55).

- Tableau n°1** : Prélèvements en éléments majeurs (en Kg/t) (p.15).
- Tableau n°2** : Prélèvements moyens en éléments secondaires (Kg/ha) (p.15).
- Tableau n°3** : Besoins moyens en oligo-éléments (en g/ha) (p.15).
- Tableau n°4** : Les principales maladies de la pomme de terre (p.16).
- Tableau n°5** : Les constituants minéraux de la pomme de terre pour 100 g de pomme de terre à l'eau (p.17).
- Tableau n°6** : Les différents facteurs de croissance et leurs propriétés (p.24).
- Tableau n°7** : Composition des cendres des végétaux (p.38).
- Tableau n°8** : Teneur en phosphore des organes végétaux ; P % de matière sèche (p.38).
- Tableau n°9** : Eléments essentiels des plantes supérieures ; estimation des concentrations optimales permettant une croissance normale (p.39).
- Tableau n°10** : Constituants du milieu MS (Murashige et Skoog, 1962) (p.46).
- Tableau n°11** : Analyse de la variance du nombre de racines principales (p.58).
- Tableau n°12** : L'effet des milieux sur le nombre de racines principales des deux variétés en fonction du temps (p.63).
- Tableau n°13** : Analyse de la variance de la longueur de racines principales (p.64).
- Tableau n°14** : Effet des milieux sur la longueur des racines principales des deux variétés en fonction du temps (p.69).
- Tableau n°15** : Analyse de la variance du nombre de racines secondaires (p.70).
- Tableau n°16** : Effet des milieux sur le nombre de racines secondaires des deux variétés en fonction du temps (p.74).
- Tableau n°17** : Analyse de la variance du nombre de tiges (p.75).
- Tableau n°18** : Effet des milieux sur le nombre de tiges des deux variétés en fonction du temps (p.80).
- Tableau n°19** : Analyse de la variance de la longueur de la tige (p.81).
- Tableau n°20** : Effet des milieux sur la longueur de tiges des deux variétés en fonction du temps (p.85).
- Tableau n°21** : Analyse de la variance du nombre de feuilles (p.86).
- Tableau n°22** : Effet des milieux sur le nombre de feuilles des deux variétés en fonction du temps (p.90).
- Tableau n°23** : Matrice des corrélations totales entre les différents paramètres de la micropropagation (p.93).
- Tableau n°24** : Analyse de la variance du nombre de racines (p.95).

Tableau n°25: Détermination des groupes homogènes sur l'influence du nombre de racines en fonctions du milieu, la variété et la photopériode (Test de Newman et Keuls) (p.96).

Tableau n°26: Analyse de la variance de la longueur de racines (p.97).

Tableau n°27: Détermination des groupes homogènes sur l'influence de la longueur de racines en fonctions du milieu, la variété et la photopériode (Test de Newman et Keuls) (p.98).

Tableau n°28: Analyse de la variance du poids de racines (p.99).

Tableau n°29: Détermination des groupes homogènes sur l'influence du poids de racines en fonctions du milieu, la variété et la photopériode (Test de Newman et Keuls) (p.100).

Tableau n°30: Analyse de la variance de la longueur de la tige (p.101).

Tableau n°31: Détermination des groupes homogènes sur l'influence de la longueur de la tige en fonctions du milieu, la variété et la photopériode (Test de Newman et Keuls) (p.102).

Tableau n°32: Analyse de la variance du nombre de nœuds (p.103).

Tableau n°33: Détermination des groupes homogènes sur l'influence du nombre de nœuds en fonctions du milieu, la variété et la photopériode (Test de Newman et Keuls) (p.104).

Tableau n°34: Analyse de la variance du nombre de microtubercules par vitroplant (p.109).

Tableau n°35: Détermination des groupes homogènes sur l'influence du nombre de microtubercules par vitroplant en fonctions du milieu, la variété et la photopériode (Test de Newman et Keuls) (p.109).

Tableau n°36: Analyse de la variance du diamètre de microtubercules (p.110).

Tableau n°37: Détermination des groupes homogènes sur l'influence du diamètre de microtubercules en fonctions du milieu, la variété et la photopériode (Test de Newman et Keuls) (p.111).

Tableau n°38: Analyse de la variance du poids de microtubercules (p.112).

Tableau n°39: Détermination des groupes homogènes sur l'influence du poids de microtubercules en fonctions du milieu, la variété et la photopériode (Test de Newman et Keuls) (p.113).

Tableau n°40: Matrice des corrélations totales entre les différents paramètres de la microtubérisation (p.116).

Planche n°1.1 : La croissance de vitroplants du géotype *Désirée* durant toute la période d'incubation dans le milieu à base des cendres d'Aubergine « A S1, B S2, C S3, D S4 » (p.61)

Planche n°1.2 : La croissance de vitroplants du géotype *Spunta* durant toute la période d'incubation dans le milieu à base de cendres d'Aubergine « A S1, B S2, C S3, D S4 » (p.62)

Planche n°2.1 : La croissance de vitroplants du géotype *Désirée* durant toute la période d'incubation dans le milieu à base des cendres de la Patate douce « A S1, B S2, C S3, D S4 » (p.67)

Planche n°2.2 : La croissance de vitroplants du géotype *Spunta* durant toute la période d'incubation dans le milieu à base de cendres du Coing « A S1, B S2, C S3, D S4 » (p.68)

Planche n°3.1 : La croissance de vitroplants du géotype *Désirée* durant toute la période d'incubation dans le milieu à base des cendres du Piment « A S1, B S2, C S3, D S4 » (p.72)

Planche n°3.2 : La croissance de vitroplants du géotype *Spunta* durant toute la période d'incubation dans le milieu à base de cendres du Piment « A S1, B S2, C S3, D S4 » (p.73)

Planche n°4.1 : La croissance de vitroplants du géotype *Désirée* durant toute la période d'incubation dans le milieu à base des cendres d'Artichaut « A S1, B S2, C S3, D S4 » (p.78)

Planche n°4.2 : La croissance de vitroplants du géotype *Spunta* durant toute la période d'incubation dans le milieu à base de cendres des Epinards « A S1, B S2, C S3, D S4 » (p.79)

Planche n°5.1 : La croissance de vitroplants du géotype *Désirée* durant toute la période d'incubation dans le milieu à base des cendres du Poivron « A S1, B S2, C S3, D S4 » (p.83)

Planche n°5.2 : La croissance de vitroplants du géotype *Spunta* durant toute la période d'incubation dans le milieu à base de cendres de la Menthe « A S1, B S2, C S3, D S4 » (p.84)

Planche n°6.1 : La croissance de vitroplants du géotype *Désirée* durant toute la période d'incubation dans le milieu à base des cendres du Potiron « A S1, B S2, C S3, D S4 » (p.88)

Planche n°6.2 : La croissance de vitroplants du géotype *Spunta* durant toute la période d'incubation dans le milieu à base de cendres d'Ail « A S1, B S2, C S3, D S4 » (p.89)

Planche n°7.1 : La croissance de vitroplants du géotype *Désirée* durant toute la période d'incubation dans le milieu standard MS « A S1, B S2, C S3, D S4 » (p.91)

Planche n°7.2 : La croissance de vitroplants du géotype *Spunta* durant toute la période d'incubation dans le milieu standard MS « A S1, B S2, C S3, D S4 » (p.92).

Planche n°8: production des microtubercules à l'obscurité totale chez les deux géotypes (p.105).

Planche n°9: production des microtubercules à une photopériode de 08 heures chez les deux géotypes (p.106).

Planche n°10: production des microtubercules à une photopériode de 16 heures chez les deux géotypes (p.107).

Planche n°11: production des microtubercules selon différents traitements chez *Désirée* (p.114).

Planche n°115: production des microtubercules selon différents traitements chez *Spunta* (p.96).

- Annexe n°1:** Espèces utilisées pour la préparation des milieux à base de cendres.
- Annexe n°2:** Analyse minérale d'un modèle végétal (d'après MORARD, 1995 in MARTINEZ, 2000).
- Annexe n°3:** Macronutriments essentiels à la majorité des plantes vasculaires et concentrations internes considérées comme adéquates (d'après PETER *et al.*, 2007).
- Annexe n°4:** Micronutriments essentiels à la majorité des plantes vasculaires et concentrations internes considérées comme adéquates (d'après PETER *et al.*, 2007).
- Annexe n°5:** Temps minimal de stérilisation du milieu de culture (TORRES, 1989 ; ANONYME., 1999).
- Annexe n°6:** Niveaux relatifs généralement acceptés de variation somaclonale dans la culture *in vitro* de matériel végétal (WANG *et al.*, 1994).
- Annexe n°7:** Type de régulateurs de croissance et leur solubilité (ANONYME, 1999).
- Annexe n°8:** Le nombre moyen de racines principales en fonction des milieux.
- Annexe n°9:** La longueur moyenne de racines principales en fonction des milieux.
- Annexe n°10:** Le nombre moyen de racines secondaires en fonction des milieux.
- Annexe n°11:** Le nombre moyen de tiges en fonction des milieux.
- Annexe n°12:** La longueur moyenne de la tige en fonction des milieux.
- Annexe n°13:** Le nombre moyen de feuilles en fonction des milieux.
- Annexe n°14:** Nombre moyen de racines en fonction du milieu, de la variété et de la photopériode.
- Annexe n°15:** Longueur moyenne de racines en fonction du milieu, de la variété et de la photopériode.
- Annexe n°16:** Poids moyen de racines en fonction du milieu, de la variété et de la photopériode.
- Annexe n°17:** Longueur moyenne de la tige en fonction du milieu, de la variété et de la photopériode.
- Annexe n°18:** Nombre moyen de nœuds en fonction du milieu, de la variété et de la photopériode.
- Annexe n°19:** Nombre moyen de microtubercules par vitroplant en fonction du milieu, de la variété et de la photopériode.
- Annexe n°20:** Diamètre moyen de microtubercules en fonction du milieu, de la variété et de la photopériode.
- Annexe n°21:** Poids moyen de microtubercules en fonction du milieu, de la variété et de la photopériode.

% : Pour cent.

°C : Degré Celsius.

ANA : Acide naphtalène acétique.

cm : Centimètre.

ddl : Degrés de liberté.

DM : Diamètre microtubercule.

Dr : Désirée

Fig. : Figure.

g : Gramme.

g/ha : Gramme par hectare.

GH : Groupes homogènes.

g/l : Gramme par litre.

h : Heure.

LT : Longueur tige.

LR : Longueur racine.

LRP : Longueur racine principale.

M.S. : Matière sèche.

MS : Muraschige & Skoog.

mg/l : Milligramme par litre.

mm : Millimètre.

mn : minute.

NF : Nombre feuilles.

NM : Nombre microtubercules.

NN : Nombre nœuds.

NT : Nombre tiges.

NR : Nombre racines.

NRP : Nombre racines principales.

NRS: Nombre racines secondaires.

pH : Potentiel hydrogène.

PM : Poids microtubercule.

ppm : partie par million.

Sp : Spunta.

Tab : Tableau.

Introduction



Introduction

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 la cinquième place 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).

La production de pomme de terre en Algérie ne satisfait pas les besoins du consommateur, ce qui fait de nous un pays dépendant de l'étranger surtout en matière de semence. Ces semences importées ne présentent pas souvent les qualités requises et leur génotype n'est pas toujours conforme à nos conditions édaphoclimatiques. De même la semence peut présenter quelques contaminations vu que celle-ci est très connue par sa sensibilité à de nombreuses infections qui lui sont transmises à chaque génération par le tubercule et pour lequel aucune lutte chimique n'est possible. La question de l'impact de ces traitements sur l'environnement est aujourd'hui largement posée d'où l'intérêt de trouver des solutions génétiques durables (CHAUVIN *et al.*, 2008).

La flambée des prix de la pomme de terre, ces dernières années en Algérie a atteint des proportions telles que nombre de consommateurs ont supprimé dans leur ration alimentaire ce légume. Pourtant, dans les traditions culinaires Algériennes, cet aliment occupe une place de choix. L'une des causes est celle liée à la diminution de la superficie plantée dans le cadre du programme. Cela est dû à la difficulté rencontrée pour l'achat de la semence sur le marché International.

Pour remédier à cette situation, plusieurs pays ont introduit les techniques de micropropagation et de microtubérisation dans l'industrie de production de semences, ces techniques restent encore peu utilisées en Algérie. Dans ce cadre, il était intéressant d'étudier la microtubérisation afin de produire des microtubercules, qui peuvent être considérés comme

la semence du future en raison de leur grande utilité pour l'agriculture: c'est leur petite taille qui fait leur avantage de sorte qu'on peut les conserver pour une longue durée jusqu'au moment de leur utilisation, on peut aussi les transporter d'une région à l'autre et sans aucune difficulté et les produire à n'importe quelle époque de l'année (FOUARGE, 1994).

La microtubérisation de la pomme de terre, a fait l'objet de plusieurs travaux. Ces travaux ont visé les facteurs commandant le processus de microtubérisation. Le saccharose et les régulateurs de croissance semblent stimuler ce processus (BANFALVI *et al.*, 1997; VREUGDENHIL *et al.*, 1998) soit qu'ils sont seuls ou en interaction avec d'autres paramètres tels que la température (AKITA *et* TAKAYAMA, 1994 ; GOPAL *et al.*, 1998), la photopériode (SEABROOK *et al.*, 1993 ; PRUSKI *et al.*, 2001), l'intensité lumineuse (GOPAL *et al.*, 1997,1998), la nutrition azotée (ZARABEĀTA *et al.*, 1997) ou la quantité de potassium dans le milieu de culture (NAIK *et* SARKAR, 1998). Comme la composition du milieu de culture le génotype a aussi influencé la microtubérisation (TÁBÓRI *et al.*, 1999 ; COLEMAN *et* COLEMAN, 2000), il en est de même pour l'âge physiologique du tubercule (VILLAFRANCA *et al.*, 1998) et la position de l'explant (CHARLES *et al.*, 1995). Cependant, les recherches récentes ont introduit une nouvelle technique de microtubérisation, cette technique utilise le bioréacteur comme nouveau producteur de microtubercules et dont le milieu est liquide (YU *et al.*, 2000 ; XUAN CHUN PIAO *et al.*, 2003). Les microtubercules produits ont été utilisé pour la production de minitubercules et de ce fait les introduire dans le programme de production de semence (LOMMEN, 1995 ; KIM *et al.*, 1999 ; STRUIK *et* WIERSEMA, 1999b).

Aussi, le travail que nous avons proposé s'inscrit dans cette perspective, il consiste à la maîtrise des techniques de régénération de plantes entières de pomme de terre à partir des méristèmes, indemnes de toutes maladies transmissibles, le travail entrepris vise une substitution des milieux de culture chimiques par des solutions nutritives confectionnées à partir des rejets alimentaires ménagers pour la micropropagation de cette espèce. L'aspect de ce travail, englobe un ensemble de manipulations, faites dans un but d'une réduction du coût économique engendré par cette pratique tout en conduisant à la contribution au recyclage et la valorisation des déchets, dont l'importance écologique n'est pas à démontrer d'une part. D'autre part, d'apporter une meilleure connaissance de la physiologie de la microtubérisation, d'améliorer l'état sanitaire des semences et d'obtenir des microtubercules (vitrotubercules) de meilleure grosseur, dans un temps plus court, il nous permet aussi de les améliorer du point de

vue qualitatif et quantitatif et de ce fait les introduire dans le schéma de production de semences dans l'industrie agricole.

Afin de réaliser ces objectifs : notre travail s'est attelé à étudier la microtubérisation en utilisant les techniques de cultures *in vitro* et en se basant sur l'effet du génotype, du milieu de culture et de la photopériode.

Pour mener à bien notre étude, on a utilisé deux variétés de pomme de terre, à savoir *Désirée* et *Spunta*. Celles-ci vont être cultivées pour deux subcultures : la première concerne la micropropagation qui a pour but l'obtention des vitroplants sains ainsi qu'un nombre suffisant de microboutures et voir l'effet des milieux confectionnés à partir des résidus des végétaux sur la croissance de ces deux variétés de pomme de terre et la seconde, c'est la microtubérisation pour produire des microtubercules.

Revue bibliographique

Revue bibliographique

I. Généralités sur la pomme de terre

I.1. Historique de la pomme de terre

La pomme de terre a pris naissance dans les pays andins et plus particulièrement près de Littoral du Pérou, 8000 à 9000 ans avant JC. Les Incas l'ont cultivé sous le nom de papa et elle porte toujours ce nom en Amérique latine. Les zones les plus riches en espèces sont le centre du Mexique. L'habitat s'étage de 0 à 4000 m et regroupe des zones de type arbustifs et prairiaux (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).

I.2. Taxonomie et origine

La pomme de terre (*Solanum tuberosum* L.) appartient à la famille des Solanacées, genre *Solanum* (QUEZEL et SANTA, 1963), comprend 1000 espèces dont plus de 200 sont tubéreuses (DORE *et al.*, 2006 ; HAWKES, 1990), on pensait autrefois que la pomme de terre était issue d'une plante sauvage unique, l'espèce *S. tuberosum*, dès 1929, les botanistes avaient montré que cette origine était plus complexe et que l'on retrouvait parmi les ancêtres des espèces de pomme de terre cultivés, des plantes sauvages différentes (ROUSSELLE *et al.*, 1992 ; DORE *et al.*, 2006).

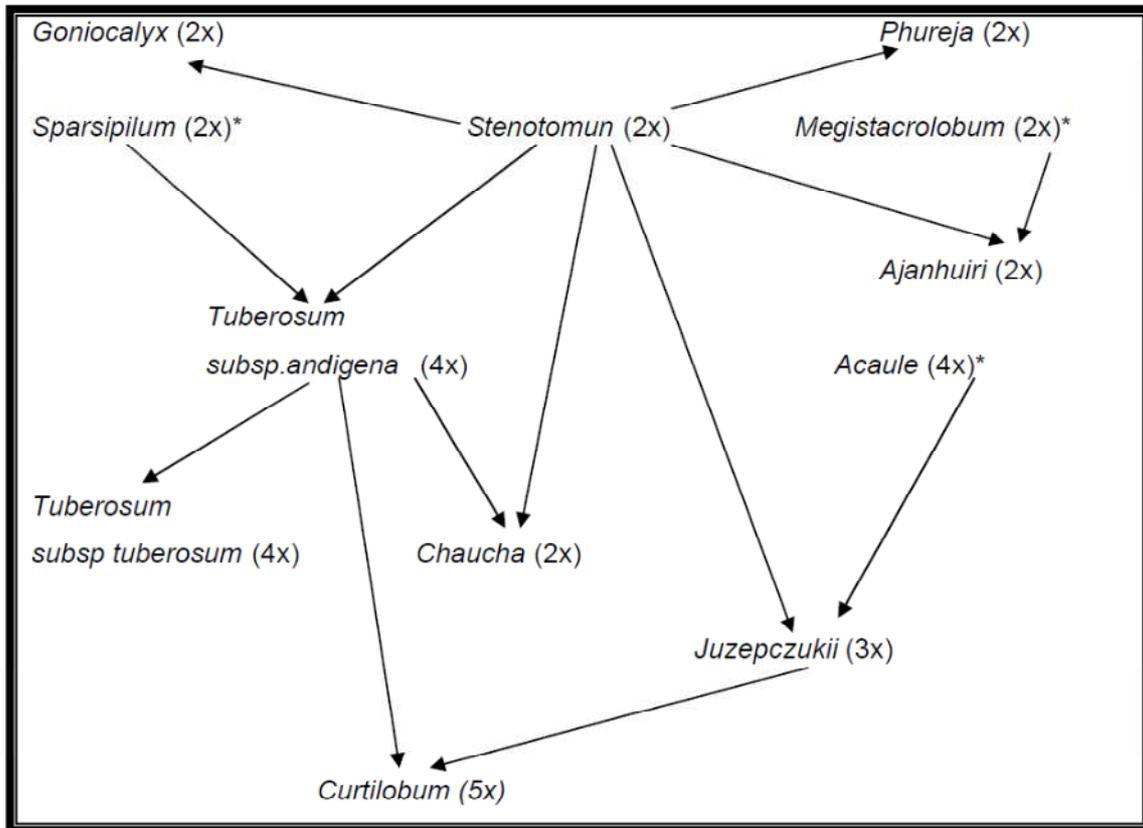
L'espèce cultivée dans nos régions, *Solanum tuberosum* L. *subsp. tuberosum* comprend plusieurs centaines de variétés différant par la forme, la couleur, la texture ou encore par le contenu en amidon des tubercules.

Sa classification exhaustive est présentée par **HAWKES, 1990** :

- ♣ Règne : *Métaphytes* (Végétaux supérieurs)
- ♣ Embranchement : *Spermatophytes*
- ♣ Sous-embranchement : *Angiospermes*
- ♣ Classe : Dicotylédones
- ♣ Sous-classe : *Asteridae*
- ♣ Ordre : Polemoniales
- ♣ Famille : *Solanaceae*
- ♣ Genre : *Solanum* L.
- ♣ Sous-Genre : *Potatoe* (G. Don) D'Arcy
- ♣ Section : *Petota* Dumort
- ♣ Sous-section : *Potatoae*
- ♣ Super-série : *Rotata*
- ♣ Série/Groupe : *Tuberosa* (cultivées)
- ♣ Espèce : *tuberosum*
- ♣ Sous-espèce : *tuberosum*

La figure n°1 représente l'origine génétique des espèces cultivées de pomme de terre. (HAWKES, 1990) propose une hypothèse qui donne à *S tuberosum* une nature allo tétraploïde issue d'un amphidiploïde entre *S.sparsipilum* et *S.stenotomum*. Mais d'autres auteurs pensent qu'il s'agit d'un autotétraploïde compte tenu de son comportement cytogénétique, IWANGA et PELOQUIN, (1982) expliquent que l'espèce serait apparue grâce à la présence de diplogamètes chez les ancêtres.

HOSAKE (1986) étaye cette hypothèse par l'analyse des ADN chloroplastiques. L'espèce cultivée actuellement dans notre région serait une sous-espèce (tétraploïde $2n=48$) dérivant d'une autre sous-espèce *ssp.andigena* par sélection au fil des siècles pour l'adaptation au jour long (ROUSSELLE *et al.*, 1992).



* : espèce sauvage

Figure n°1 : Origine des espèces cultivées de pomme de terre (*Solanum* sp). (D'après HAWKES, 1981 in ROSS, 1986).

I.3. Description Botanique

La plante est une espèce herbacée vivace par ces tubercules mais cultivée en culture annuelle selon ROUSSELLE *et al.*, (1996). La plante comporte à la fois des tiges aériennes et des tiges souterraines (DARPOUX *et* DEBELLEY, 1967). Les mâles sont stériles (environ 1/3 des variétés). Les fruits sont des baies qui peuvent contenir jusqu'à 200 graines. Les tubercules sont à la fois l'organe de multiplication et de consommation. Tous ses caractères morphologiques sont très variables et sont une caractéristique variétale plus ou moins influencée par le milieu (GALLAIS *et* BANNEROT, 1992).

I.3.1. Description de l'Appareil aérien

L'appareil aérien est constitué de plusieurs tiges principales souvent ailées, la plante adoptant avec l'âge un port plus ou moins étalé (caractéristique variétale). Les feuilles sont alternes, composées imparipennées et comportent de 7 à 15 grandes folioles latérales

primaires flanquées de folioles secondaires, de folioles intercalaires et de foliolules se distinguant par leur mode d'insertion sur le rachis (ROUSSELLE *et al.*, 1996). Les fleurs sont souvent stériles. La production de fruit (baie sphérique) est donc généralement rare.

I.3.2. Description de l'Appareil souterrain

L'appareil souterrain comprend le tubercule mère desséché, les stolons (tiges souterraines diagéotropes) portant éventuellement des tubercules fils dans leur région subapicale ainsi que des racines adventives (ROUSSELLE *et al.*, 1996). Il représente la partie la plus intéressante de la plante puisqu'on y trouve les tubercules qui confèrent à la pomme de terre sa valeur alimentaire. Cultivé pour la consommation, pour la transformation ou comme semence, le tubercule représente environ 75 à 85 % de la matière sèche totale de la plante (ROUSSELLE *et al.*, 1996).

I.3.2.1 Structure externe du tubercule

A l'extrémité apicale du tubercule, ou couronne, se trouve le bourgeon terminal ou apical tandis qu'à l'opposé, du côté proximal, se trouve le point d'attache du stolon, l'ombilic (**Fig.2**). Les yeux, disposés régulièrement sur le tubercule suivant une phyllotaxie spiralee (**Fig.2**), correspondent à l'emplacement des bourgeons axillaires. Des lenticelles parcourent la surface du tubercule et jouent un rôle essentiel dans la respiration du tubercule (ROUSSELLE *et al.*, 1996).

I.3.2.2 Structure interne du tubercule

En coupe longitudinale d'un tubercule mature (**Fig.2**), on distingue de l'extérieur vers l'intérieur : le périoderme, le cortex ou parenchyme cortical, l'anneau vasculaire composé de phloème externe, de xylème et de parenchyme vasculaire. On peut également remarquer la zone pérимédullaire ou parenchyme pérимédullaire contenant le phloème interne et enfin, la moelle ou parenchyme médullaire (**Fig. 2**) (ROUSSELLE *et al.*, 1996).

Les différents parenchymes (cortical, périvasculaire, pérимédullaire, médullaire) contiennent de grandes quantités de grains d'amidon qui diffèrent par leur taille (diamètre de 7 à 32 μm) et leur forme (ovoïde, sphérique) (ROUSSELLE *et al.*, 1996).

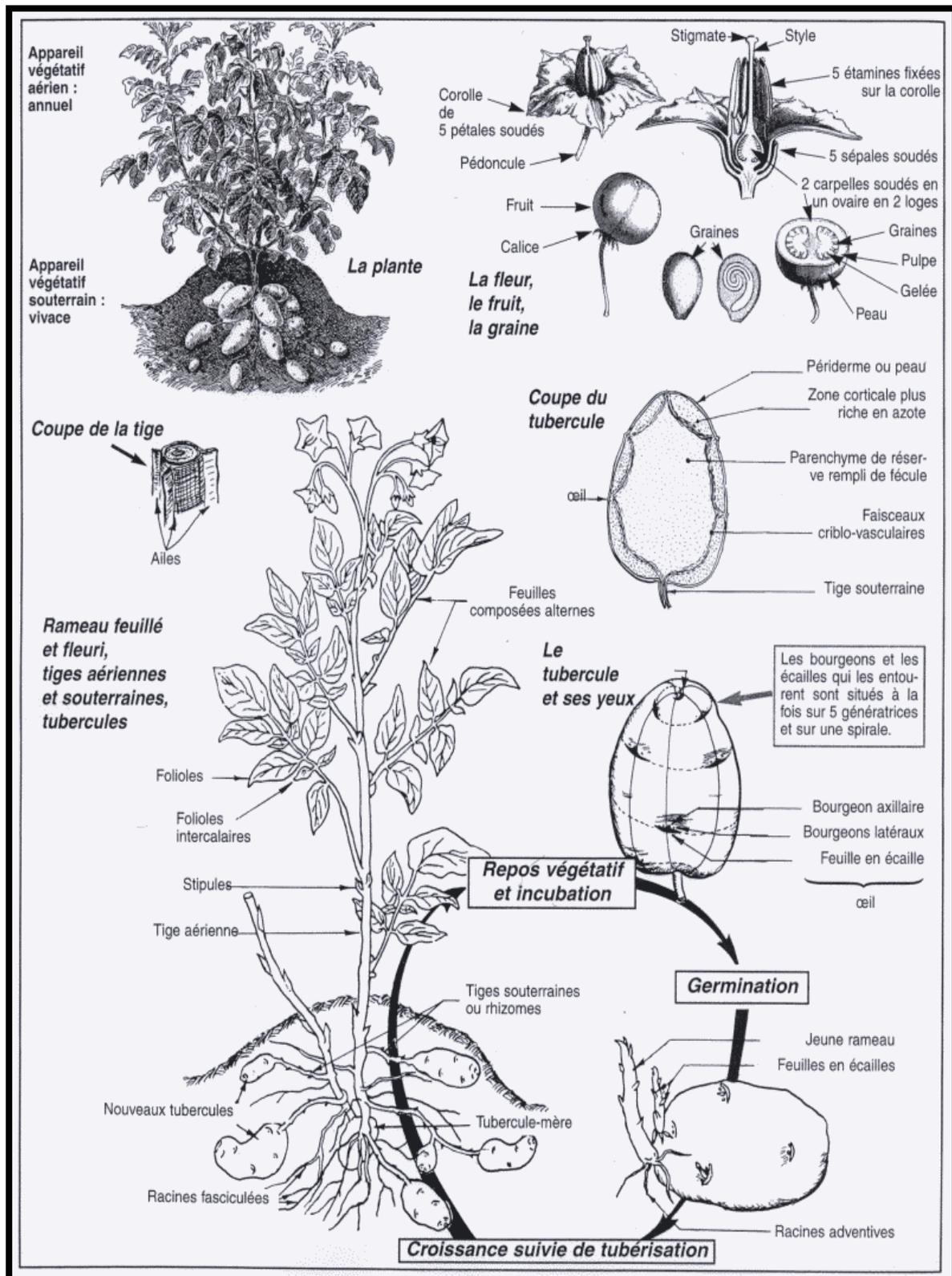


Figure n°2 : Caractéristiques morphologiques de la pomme de terre et cycle végétatif. (SOLTNER, 2005a).

I.4 Cycle de reproduction et physiologie

I.4.1. Cycle sexué

Le fruit est une baie sphérique ou ovoïde de 1 à 3 centimètres de diamètre, il contient généralement plusieurs dizaines de graines (BERNHARDS, 1998), et peut contenir jusqu'à 200 graines (ROUSSELLE *et al.*, 1992).

La pomme de terre est très peu reproduite par graines dans la pratique agricole, cependant la graine est l'outil de création variétale (SOLTNER, 2005a).

La germination est épigée et les cotylédons sont portés au-dessus du sol par le développement de l'hypocotyle. En conditions favorables, quand la jeune plante a seulement quelques centimètres de hauteur, les stolons commencent à se développer d'abord au niveau des cotylédons puis aux aisselles situées au-dessus, et s'enfoncent dans le sol pour donner des tubercules (BERNHARDS, 1998).

I.4.2. Cycle végétatif

Le tubercule n'est pas seulement un organe de réserve, c'est aussi un organe qui sert à la multiplication végétative. Cette dernière se déroule en quatre étapes :

- La dormance
- La germination
- La croissance
- La tubérisation

I.4.2.1. dormance

Après la récolte, la plupart des variétés de pommes de terre traversent une période où le tubercule ne germe pas, quelles que soient les conditions de température, d'éclairage et d'humidité. Il s'agit de la période de dormance, et sa durée dépend beaucoup de la variété et des conditions d'entreposage, et surtout de la température (PERON, 2006). Pour hâter la germination, on peut traiter chimiquement les tubercules de semence ou les exposer alternativement à des températures élevées et basses (ANONYME, 2003).

I.4.2.2. germination

Selon ELLISSECHE (2008), lorsqu'un tubercule est placé dans des conditions d'environnement favorables (16-20°C, 60-80% d'humidité relative) aussitôt après la fin de son repos végétatif, il commence à germer. Après une évolution physiologique interne les

tubercules deviennent capables d'émettre des bourgeons, une évolution interne du tubercule conduit d'abord à un seul germe qui se développe lentement et dans ce cas c'est toujours le germe issu du bourgeon terminal qui inhibe les autres bourgeons : ce phénomène est la dominance apicale (SOLTNER, 2005a). Puis un petit nombre de germes à croissance rapide se développent. Ensuite un nombre de plus en plus élevé de germes démarrent, traduisant une perte progressive de la dominance apicale. Ils s'allongent lentement, se ramifient, deviennent filiformes et finalement tubérisent. (BERNHARDS, 1998).

I.4.2.3. croissance

Une fois le tubercule mis en terre au stade physiologique adéquat, les germes se transforment en dessous du sol en tiges herbacées pourvues de feuilles ce qui rend la plante autotrophe dès que la surface foliaire atteint 300 à 400 cm² (ROUSSELLE et *al.*, 1996). Les bourgeons axillaires donnent, au dessus du sol des rameaux, et en dessous, des stolons (SOLTNER, 2005a).

I.4.2.4. tubérisation

Le tubercule est la justification économique de la culture de pomme de terre puisqu'il constitue la partie alimentaire de la plante et en même temps, son organe de propagation le plus fréquent.

Ce phénomène de tubérisation commence d'abord par un arrêt d'élongation des stolons après une période de croissance. La tubérisation est réalisée dès que le diamètre des ébauches est le double de celui des stolons qui les portent. Outre les processus de multiplication cellulaire, le grossissement des ébauches de tubercules s'effectue par accumulation dans les tissus des substances de réserve synthétisées par le feuillage. Ce grossissement ralentit puis s'arrête au cours de la sénescence du feuillage (BERNHARDS, 1998). Le modèle de développement suivi par les tubercules varie considérablement entre les tubercules d'une même plante. Une hiérarchie s'établit entre ces organes de stockage qui entrent en compétition pour les nutriments : les tubercules croissant le plus vite limitent le développement des autres tubercules (VERHEES, 2002).

Quelques facteurs influençant la tubérisation

- L'âge physiologique du tubercule mère : le tubercule qui est planté au stade de dominance apicale donne un plant qui a très peu de tiges principales, comme le nombre de tubercules est en grande partie déterminé par le nombre de tiges, on peut prévoir un faible taux de tubercules.
- L'exposition des tubercules à une température élevée avant la germination du bourgeon apical favorise la germination multiple de tous les yeux (ANONYME, 2003).
- Les jours courts, ou plus précisément l'obscurité de longue durée, favorisent une induction précoce de la tubérisation.
- La température influence la tubérisation et ce sont les températures fraîches qui lui sont le plus favorables.
- La température optimale pour la photosynthèse est de 20°C chez la pomme de terre.
- Les besoins en eau varient au cours du cycle végétatif : ils sont surtout importants au moment de l'initiation des tubercules (BERNHARDS, 1998).

La durée du cycle végétatif de la pomme de terre est très variable, il dépend de l'état physiologique des tubercules qui sont plantés, de l'ensemble des facteurs agro climatiques et des variétés utilisées.

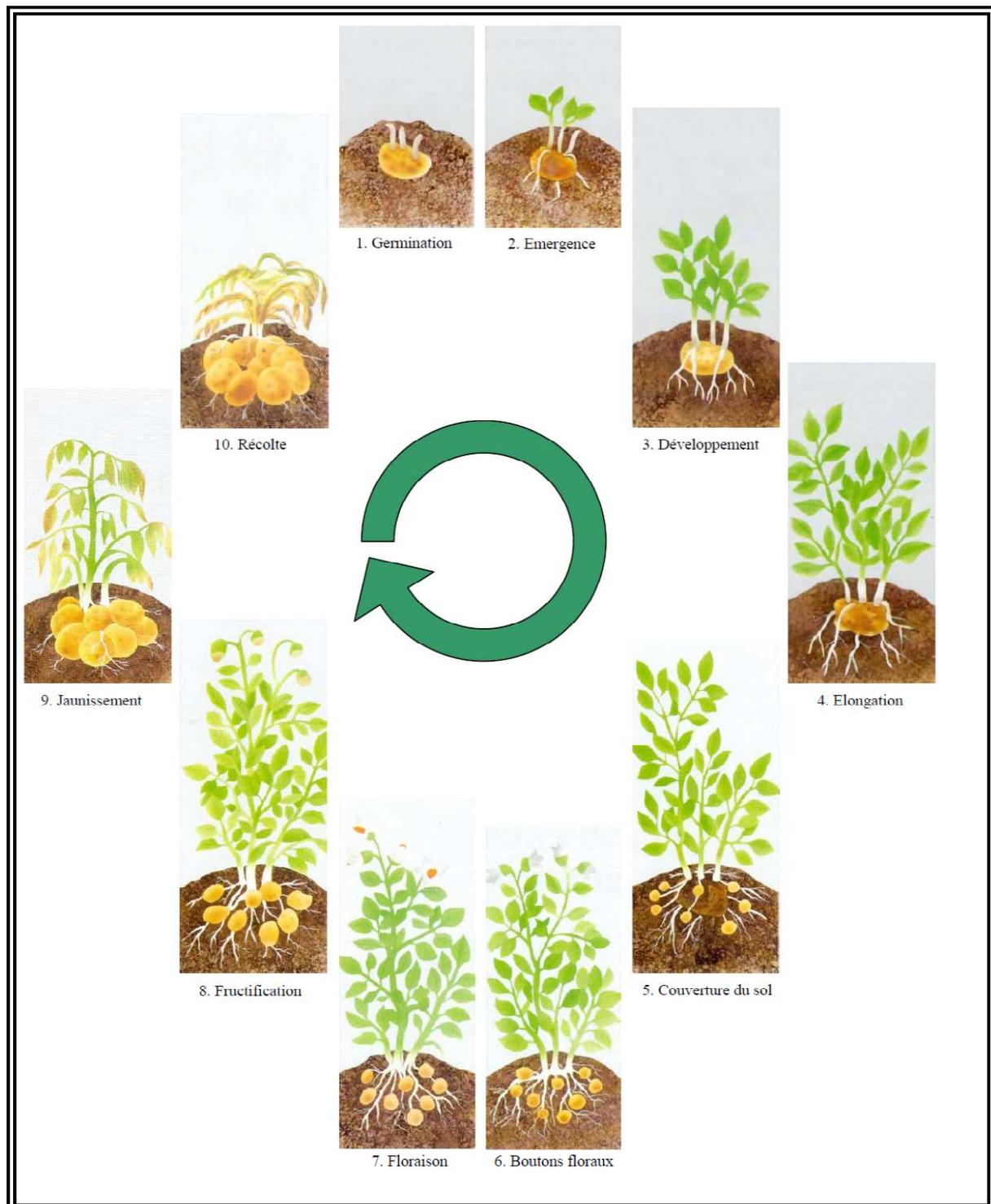


Figure n°3 : Cycle de production de *Solanum tuberosum* L. ssp. *Tuberosum*. (DELAPLACE, 2007).

I.5. Variétés

Les variétés de la pomme de terre sont extrêmement élevées, chaque variété possède une description officielle basée sur de nombreux caractères morphologiques et quelques caractères physiologiques lui permettant d'être toujours identifiable, différenciable visuellement des autres variétés (PERON, 2006). Toutefois, certains caractères descriptifs peuvent légèrement varier en fonction de l'époque et du lieu de culture. Les objectifs de production poursuivis dépendent du type de culture (REUST, 1982) :

- **Pomme de terre primeur** : limiter le nombre de tubercules au profit de leur grosseur et d'une extrême précocité, les principales variétés utilisées sont *Nicola*, *Diamant*, *Roseval*, *Yesmina*, *Timate* et *Charlotte*..
- **Pomme de terre plant** : nombre élevé de tubercules de calibre moyen et d'une bonne précocité.
- **Pomme de terre de consommation (marché du frais)** : un nombre élevé de tubercules d'un calibre moyen à grand, sans toutefois dépasser le calibre supérieur. Les variétés les plus utilisées sont *Desirée*, *Spunta*, *Diamant*, *Lisetta* et *Kondor*..
- **Pomme de terre de consommation (transformation industrielle)** : un rendement élevé en tubercules et amidon.

I.6. Les exigences de la plante

I.6.1. Exigences climatiques

La pomme de terre est cultivée avec succès à une altitude de 1000 m. On peut dire que son aire d'adaptation va des régions subtropicales aux régions plus froides, elle résiste le mieux sous les climats tempérés, humides et brumeux (LAUMONNIER, 1979).

I.6.1.1. La température

Les températures basses ont une influence défavorable sur la croissance des plantes puisqu'elles la ralentissent à la fois directement et en favorisant l'induction de la tubérisation. Les températures élevées ont l'effet contraire. Il existe des températures seuils pour la pomme de terre. Son zéro de végétation se situe entre 5°C et 7°C et sa température optimale de tubérisation aux environs de 18°C. Des températures élevées de l'ordre de 29°C perturbent la tubérisation et provoquent la repousse. Les tubercules risquent de geler à partir du moment où les températures deviennent inférieures à -2°C.

I.5.1.2. La lumière

La lumière intervient par son effet photopériodique dans l'induction de la tubérisation et par son intensité dans l'activité photosynthétique. Les photopériodes courtes sont plus favorables à la tubérisation et les photopériodes longues plus favorables à la croissance. La plupart des cultivars utilisés dans les régions à climat tempéré ont des photopériodes critiques comprises entre 13 heures et 16 heures (ROUSSELLE et *al.*, 1996).

I.6.1.3. L'alimentation en eau

Les besoins en eau de la pomme de terre varient au cours du cycle végétatif. Ils sont surtout importants au moment de l'initiation des tubercules. Un stress hydrique se manifestant à ce stade peut entraîner une réduction du nombre d'ébauches formées par plante, consécutive à une réduction du nombre de stolons formés par tige (ROUSSELLE et *al.*, 1996). Ses besoins en eau, faibles en début de végétation, sont très importants au moment de la croissance foliaire et de la tubérisation. L'irrigation peut être très efficace (SOLTNER, 1990). La plante évapore beaucoup et par conséquent elle a besoin de grandes quantités d'eau. Dans les meilleures conditions, elle utilise 300 g d'eau pour former 1g de matière sèche.

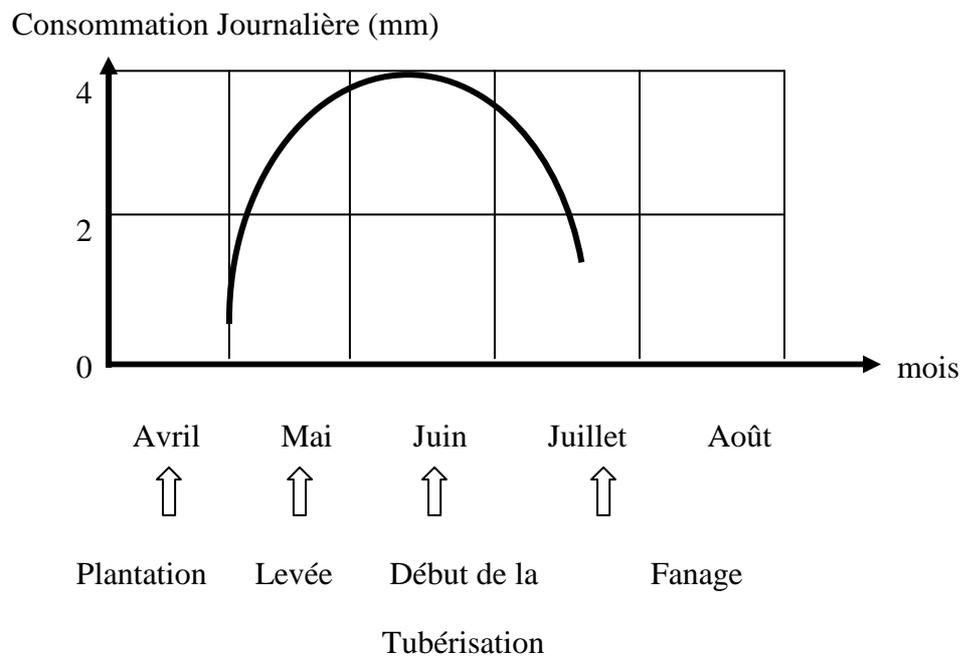


Figure n°4 : Courbe de besoin en eau d'une culture de pomme de terre. (ROUSSELLE et *al.*, 1996).

I.6.2. Exigences édaphiques

La pomme de terre préfère les sols siliceux ou silico-argileux, légers, assez frais et profonds. Elle s'accommode des terres acides dont le pH est assez bas ; 5,5 à 6. Il n'y a que les terrains très argileux, froids et humides au printemps et en automne, secs et compacts en été, ou trop calcaires qui ne lui conviennent pas (GAUTHIER, 1991).

I.6.3. Exigences en éléments fertilisants

La pomme de terre se classe parmi les plantes très exigeantes en azote, phosphore et potassium.

Tableau n°1 : Prélèvements en éléments majeurs (en Kg/t).

Eléments	Tubercules	Plante entière
Azote	3.2	3 à 4.5
Acide phosphorique	1.6	0.8 à 1.7
Potassium	6	4.1 à 8.5

L'azote est le facteur déterminant du rendement de la culture. Il favorise dans un premier temps le développement du feuillage, puis la formation et le grossissement des tubercules. L'acide phosphorique est un facteur de précocité et favorise le développement racinaire.

Les besoins en calcium, magnésium et soufre sont généralement notables (Tab.2). Elle est sensible à une carence en magnésie qui se manifeste par un jaunissement entre les nervures des feuilles (ROUSSELLE *et al.*, 1996).

Tableau n°2 : Prélèvements moyens en éléments secondaires (Kg/ha).

Magnésium	15 à 30
Calcium	40 à 50
Soufre	10 à 25

Tableau n°3 : Besoins moyens en oligo-éléments (en g/ha).

Fer	100	Manganèse	50
Cuivre	60	Bor	80 à 120
Zinc	80 à 150	Molybdène	0.8

I.7. Les maladies et les ennemis de la pomme de terre

Tableau n°4 : Les principales maladies de la pomme de terre (BERNHARDS, 1998 ; CIRED et GRET ,2002).

Les maladies	La cause	Les symptômes
<u>Mildiou de la pomme de terre</u>	Phytophthora infestant ce champignon se transmet par le vent	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Brunissement de la base des tiges ou de portions de tige et de pétioles ▪ Taches jaunâtres devenant brunes sur les feuilles de la base
<u>Virus X</u>	Virus X .Ce virus transmet par frottement	Décoloration bénigne en forme de mosaïque légère entre les nervures.
<u>Virus M</u>	Virus M. Le vecteur de cette maladie sont les pucerons	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Faible décoloration des nervures, folioles apicales. ▪ Légère coloration rougeâtre des feuilles terminales. ▪ Une ondulation des bords et la formation de taches en mosaïque
<u>Tache de rouille</u>	Virus du ratte	Une coupe des tubercules montre des tissus morts sous forme de tache rouge-brun
<u>Cœur noir et Cœur creux</u>	Bactéries de pourriture apparaît à cause du manque d'O ₂ Le brusque passage de période sèche à période humide et vice-versa	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Les tissus de tubercules montrent une surface de tissus noirs. ▪ Excès de fumures azotées
<u>Rhizoctone brun</u>	Rhizoctonia. Maladie fongique.	Attaques sévères sur les tiges et les stolons et enroulement des feuilles
<u>Bactéries pathogènes du genre Erwinia</u>	Bactéries pathogènes du genre Erwinia, cette bactérie se transmet par la pluie, l'eau d'irrigation et les insectes.	La jambe noire (des nécroses de la base des tiges)
<u>Nématodes</u>	Globodera rostochiensis et Globodera pallida	Mauvaise croissance du végétal Nanisme
<u>Puceron vert du pécher</u>	Puceron vert du pécher	Déformation du limbe
<u>PLRV (potato leafroll virus)</u>	Virus d'enroulement de la pomme de terre causé par l'accumulation d'amidon qui rend les feuilles dures	Enroulement des feuilles Le nanisme de la plante

I.8. Composition biochimique du tubercule

Les caractéristiques morphologiques, chimiques et biochimiques du tubercule de pomme de terre varient principalement en fonction de la variété, mais dépendent également des techniques culturales, des conditions climatiques et de l'âge physiologique de la pomme de terre. Les pourcentages présentés sont des valeurs moyennes, la composition biochimique étant influencée par les différents paramètres précités (**Fig.5**).

Le tubercule de pomme de terre est un organe de stockage contenant à maturité une moyenne de 77,5 % d'eau. La matière sèche, exprimée en pourcentage de la matière fraîche, se répartit globalement en 19,4 % de glucides totaux (principalement amidon, saccharose, glucose, fructose, cellulose brute et substances pectiques), 2,0 % de protides (protéines, acides aminés libres et bases azotées), 1,0 % de cendres (majoritairement du potassium) et 0,1 % de lipides. Des acides organiques (acides citrique et ascorbique entre autres), des substances phénoliques (acides chlorogénique et caféique, pigments, etc.) complètent cette composition, mais ne sont présents qu'en faible quantité dans le tubercule (ROUSSELLE *et al.*, 1996 ; MATTILA et HELLSTRÖM, 2007).

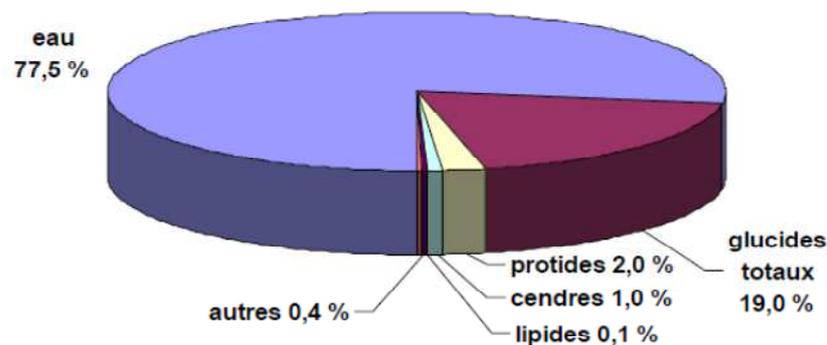


Figure n°5 : Représentation graphique de la composition biochimique moyenne d'un tubercule de pomme de terre (*Solanum tuberosum* L.). Les valeurs sont exprimées en pourcentage de la matière fraîche totale.

Tableau n°5 : Les constituants minéraux de la pomme de terre pour 100 g de pomme de terre à l'eau (ANONYME, 2001).

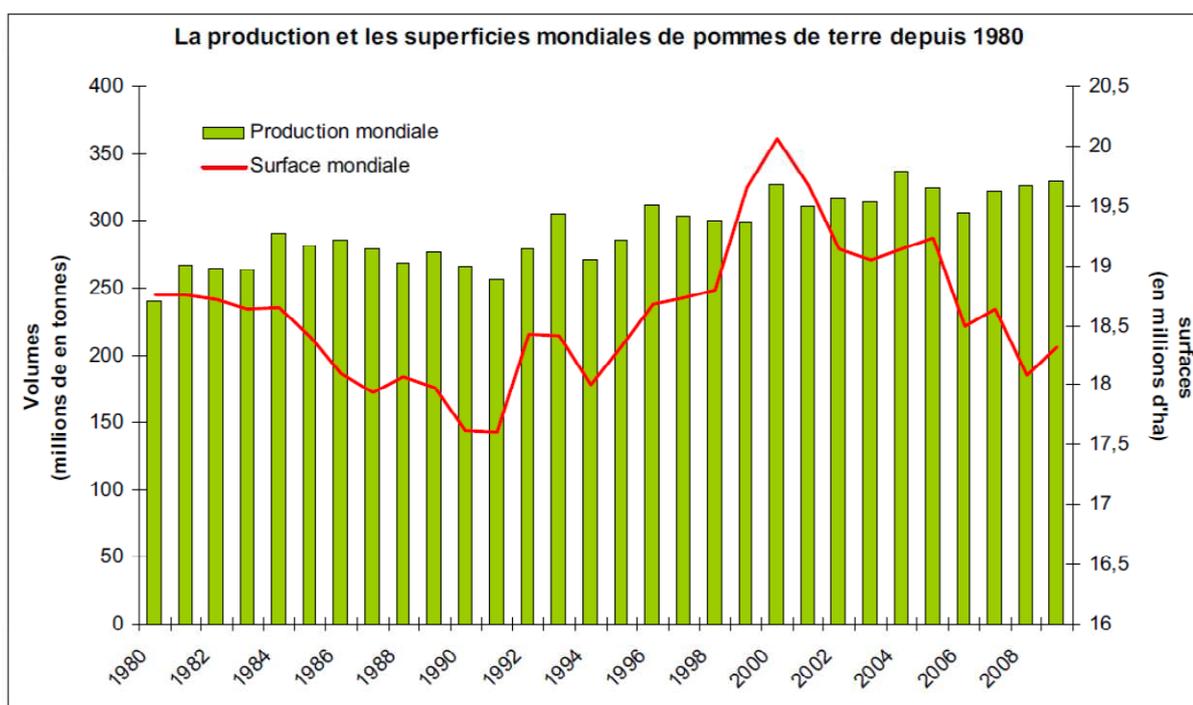
Calcium	10 mg
Phosphore	50 mg
Magnésium	25 mg
Potassium	450 mg

I.9. Production de la pomme de terre

I.9.1. 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.



Source : FAOSTAT

Pommes de terre toutes destinations (frais + transformé + fécule + plants)

Figure n°6 : La production et les superficies mondiales de pommes de terre.

I.9.2. Production de la pomme de terre en Algérie

Selon le ministère de l'Agriculture et du Développement Rural (MADR), la production de la pomme de terre est sur une courbe ascendante. Elle a atteint 3,2 millions de tonnes en 2010 contre 2,67 millions en 2009, alors qu'en 2008, la production était de l'ordre de 2,2 millions de tonnes. Alors que les quantités récoltées, au 16 janvier 2011, s'élèvent à 7,8 millions de quintaux, soit un taux de 54% des prévisions annoncées, à savoir 14,4 millions de quintaux.

II. Biotechnologie et amélioration de la pomme de terre

La multiplication végétative est un mode de reproduction qui se déroule en dehors des phénomènes de sexualité et qui permet la propagation d'individus génétiquement identiques (ROBERT et *al.*, 1998). Ce phénomène ne fait pas intervenir la méiose, mais un autre processus très strict de division cellulaire, sans remaniement du nombre de chromosomes : la mitose (MAAROUF, 2000). La multiplication végétative s'effectue naturellement et artificiellement (CAMBLE et REEC, 2004).

La pomme de terre est une plante modèle pour l'application des cultures *in vitro* et de toutes les techniques qui en découlent.

II.1. Historique de la culture *in vitro*

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 (NOZERAN et BANCILHON, 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, 1984).

En 1944, BUVAT par les techniques de culture de tissus met en évidence le phénomène de dédifférenciation : la juvénalisation ;

En 1949, LIMASSET 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 caulogène, 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, 1984).

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 *Nicotina tabacum* à partir de protoplaste.

II.2. Les catégories de la culture in vitro

Elles peuvent être regroupées en trois grandes catégories :

II.2.1. 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 (NOZERAN et BANCILHON, 1972).

II.2.1.1. La micropropagation

La micro- propagation in vitro apporte un progrès considérable par rapport aux méthodes traditionnelles avec un taux de multiplication de 100 à 1000 fois plus élevé (OCHATTE, 2005). Cette technique permet la multiplication végétative de plusieurs plantes alimentaires, médicinales, horticoles (BRETAUDEAU, 2006).

La micropropagation consiste en une prolifération des bourgeons axillaires préexistants sur l'explant mère. Ceci offre une grande garantie de conformité génétique et une bonne stabilité des caractères au cours des repiquages successifs (ZRYD *et al.*, 1988).

Elle est ainsi employée pour la production de pomme de terre de semence et pour la collection et la distribution du germoplasme dans le monde entier. A cette fin, des vitroplants indemnes de virus sont utilisés comme produit de départ.

L'analyse moléculaire des vitroplants propagés a prouvé que la micropropagation donne des vitroplants génétiquement stables (POTTER *et JONES*, 1991).

Les vitroplants de pomme de terre n'exigent pas d'hormones exogènes pour s'enraciner. En fait ils peuvent être propagés sur un milieu simple (VINTERHALTER *et al.*, 1997).

La micropropagation in vitro est plus ou moins utilisée dans la production de plantes conformes pour les premières générations de multiplication. Selon LÊ (2001) pour produire des plantes génétiquement modifiées, la régénération doit donner des plantes conformes.

II.2.1.2. La microtubérisation

Une autre approche pour la micropropagation de pomme de terre : c'est l'induction des vitrotubercules. Ces derniers sont des tubercules de petite taille (4 à 12 mm), encore appelés microtubercules, produits en conditions stériles au laboratoire à partir de microboutures. Ces tubercules sont obtenus en plaçant les microboutures en conditions inductrices de tubérisation : modification du milieu de culture, éclairage diminué, températures plus basses. Les bourgeons forment alors des stolons évoluant en microtubercules au bout de 2 à 3 mois (LE HINGRAT, 1994).

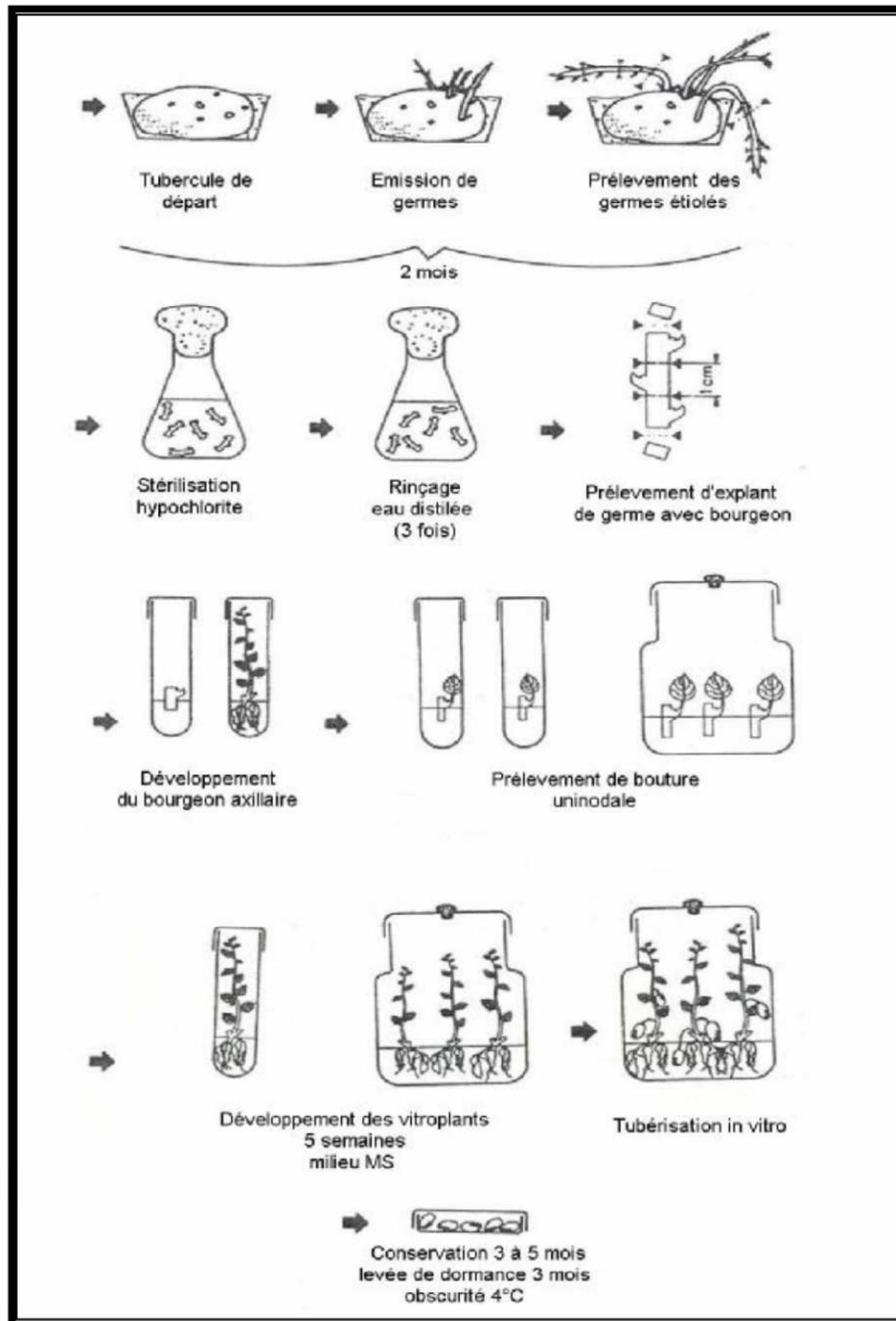


Figure n°7 : Micropropagation et microtubérisation de la pomme de terre par culture *in vitro* (d'après AMBROISE, 2002 ; HAÏCOUR, 2002).

II.2.1.2.1. Les facteurs influençant la microtubérisation

La microtubérisation est un processus physiologique complexe réglé par deux facteurs intrinsèques et extrinsèques.

II.2.1.2.1.1. Facteurs extrinsèques

1- photopériode: Lumière et obscurité agissent conjointement par leur durée et leur période d'exposition. Cependant une meilleure tubérisation est observée quand les boutures sont mises sous des longues photopériodes (16/8 h ; j/n) pour la micropropagation et sous des courtes photopériodes (8/16 h ; j/n) ou une obscurité totale pour la microtubérisation (SEABROOK *et al.*, 1993).

2- lumière: Les lumières basses (6 à 12 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) associées à des courtes photopériodes augmentent le nombre des yeux des microtubercules (GOPAL *et al.*, 1997,1998).

3- température: Selon LECLERC *et al.*, (1994) ; AKITA et TAKAYAMA (1994). Des faibles températures de (15 à 20°C) stimulent la microtubérisation et une température de 25°C combinée à une concentration de 8% de saccharose donne un meilleur taux de tubérisation (LEVY *et al.*, 1993).

4- potassium: Le potassium n'a aucun effet inhibiteur sur le nombre de microtubercules ; par contre il a un effet stimulateur sur la masse et la taille de microtubercules et cela quand le milieu MS contient 40 ml de potassium (NAIK et SARKAR, 1998).

5- rapport nitrogène / carbone: Une faible provision de nitrogène induit la formation des tubercules en augmentant le rapport carbone/nitrogène (SATTELMACHER et MARSHNER, 1978), ce qui est de même pour les microtubercules de sorte que les faibles concentrations de nitrogène et de nitrate d'ammonium sont utilisées pour améliorer leur induction et leur croissance (ZERRABEITIA *et al.*, 1997 ; SARKAR et NAIK, 1998).

On doit noter que le nitrate d'ammonium est parmi les composants majeurs du milieu MS.

6- saccharose: Le saccharose est très essentiel dans la culture *in vitro* de pomme de terre pour son effet sur la synthèse de l'amidon qui est influencée par :

- Le haut potentiel osmotique dû à l'excès du saccharose (KHURI et MOORBY, 1995),
- Et son action enzymatique vu que le saccharose invertase a un effet direct sur la formation des tubercules (ROSS *et al.*, 1994).

Le saccharose est aussi utilisé comme source d'énergie et sa haute concentration a un rôle dans la formation des microtubercules (STRUİK et WIERSEMA, 1999a), ce qui correspond avec les résultats de BHOJWANI (2001) où une meilleure tubérisation est observée avec une concentration de 8%.

7- nombre de nœuds par bouture: Dans la micropropagation, les segments uninodaux sont utilisés pour augmenter le nombre de vitroplants et par conséquent celui de microtubercules. Par contre l'utilisation des segments plurinodaux (6 à 10 noeuds par tige) apparaît plus efficace pour la microtubérisation. En effet on observe que ces derniers tubérisent plus rapidement et produisent des microtubercules volumineux par rapport à ceux d'uninodaux (DONNELLY *et al.*, 2003).

8- type de milieu: Le taux de tubérisation diffère selon que le milieu soit solide ou liquide. Dans l'étude de XUAN CHUN PIAO *et al.*, (2003) ils ont obtenu des meilleurs résultats avec l'utilisation de bioreacteur ; l'utilisation de ce dernier n'a pas seulement donné un grand nombre de microtubercules par vitroplant mais elle a aussi donné une taille et un poids très considérable par rapport à celui du milieu solide. De même un milieu solide à base de géirite (2g/l) donne de meilleurs résultats qu'un milieu solide à base de gélose (6g/l) (NOWAK et ASIÉDU, 1992).

9- facteurs de croissance:

a- gibbérellines: Acide gibbérellique retarde la formation des tubercules et stimule l'élongation des stolons (OKAZAWA, 1967 ; VREUGDENHIL et STRUIK, 1989) ont observé que le niveau de cette hormone diminue juste avant la tubérisation.

b- cytokinines: Les cytokinines exogènes stimulent le processus de microtubérisation (LIAN *et al.*, 1998) et à leur tête la BAP (DONNELLY *et al.*, 2003). Selon LIAN *et al.*, (1998) des meilleurs résultats ont été obtenu en présence de BAP et de CCC. En outre PALMER et SMITH (1969) ont montré que les Cytokinines tel que la Kinétine et la BAP stimulent la formation des tubercules.

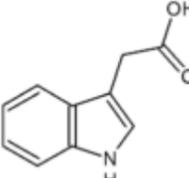
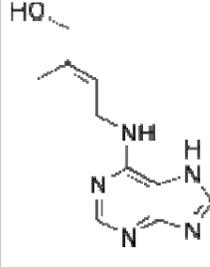
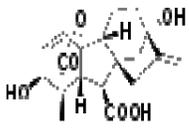
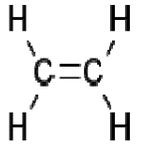
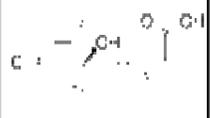
c- auxines: OBATA et SUZUKI (1979) ont observé un niveau d'auxines très élevé dans les pointes des stolons pendant les premiers temps de formation des tubercules et il diminue quand les tubercules grandissent.

d- acide abscissique: KRAUS et MARSCHNER (1998) ont suggéré que l'ABA peut inhiber l'effet de gibbérelline.

e- éthylène: L'éthylène inhibe l'élongation du stolon (VREUGDENHIL et STRUIK, 1989) et produit des tubercules morphologiquement incomplets et qui ne contiennent pas d'amidon (CATCHPOLE et HILLMAN, 1969). Cependant les traitements avec l'éthylène exogène sont utilisés pour stimuler la germination des microtubercules en stade de dormance (SUTTLE, 1998).

f- acide jasmonique: Dans des études récentes de (PRUSKI *et al.*, 2002), l'utilisation de l'acide jasmonique à une concentration de moins de 5µm donnent un meilleur développement de racines et des tiges.

Tableau n°6 : Les différents facteurs de croissance et leurs propriétés.

Famille	Auxines	Cytokinines	Gibbérellines	Éthylène	Acide abscissique
Exemples	*Acide indole 3-acétique (AIA ou IAA), Acide naphthalèneacétique (ANA), Acide 2,4-dichlorophénoxyacétique (2,4-D)	Zéatine ou N ⁶ -isoentényladénine, Isopentényladénine (IPA)	Acide gibbérellique GA3, il existe de nombreuses gibbérellines (de GA1 à GA110)	Éthylène (C ₂ H ₄ ou CH ₂ =CH ₂)	Acide abscissique (ABA)
Propriétés	stimulation de la croissance, stimulation de l'élongation cellulaire, régulation de la division et de la différenciation cellulaire, messenger des réponses géotropiques et phototropiques, régulation de l'abscission, stimulation de rhizogène adventive	stimulation de la division cellulaire, régulation de la différenciation cellulaire, des bourgeons et des racines grandissement des cellules foliaires, inhibition de la sénescence des feuilles	élongation des entrenœuds (forte stimulation chez les mutants nains), montaison des plantes en rosette, levée de dormance des graines et des bourgeons, régulation de l'utilisation des réserves lors de la germination	perturbation de l'élongation cellulaire, perturbation des réponses géotropiques, accélération de la sénescence foliaire et de la maturation des fruits, stimulation de l'abscission	effet inhibiteur général de la croissance cellulaire, régulation de la dormance des bourgeons et des graines, régulation de l'abscission des feuilles, des fleurs et des fruits, régulation du fonctionnement des stomates en situation de stress
Représentation	 Acide indole 3-acétique	 Zéatine	 GA3	 Éthylène	 Acide abscissique

II.2.1.2.1.2. Facteurs intrinsèques

1- position de l'explant: Une meilleure tubérisation est observée chez les bourgeons de la partie basale, par comparaison aux bourgeons apicaux (CHARLES *et al.*, 1995).

2- âge physiologique du tubercule mère: L'âge physiologique du tubercule mère peut avoir un effet sur la production des microtubercules, cela correspond avec les conclusions de VILLAFRANCA *et al.*, (1998) ; VREUGDENHIL *et al.*, (1998) où ils ont obtenu un taux de microtubercules très élevé et une croissance très rapide lorsque le tubercule mère est vieux.

3- génotype: Les microtubercules se différencient selon leur taille, leur âge physiologique et leur durée de dormance ; ce qui explique que la microtubérisation est en fonction du génotype (TÁBÓRI *et al.*, 1999 ; COLEMAN et COLEMAN, 2000).

II.2.1.2.2. Dormance

La dormance des microtubercules impose un délai supplémentaire de 6 mois. Elle dépend principalement de la variété, et le plus simple est d'utiliser la levée naturelle de dormance, car les traitements utilisés jusqu'à maintenant n'ont pas donné un résultat sans effet secondaire par exemple selon RANALLI (1997) ; STRUIK et WIERSEMA (1999b) : la rindine brûle les microtubercules à cause de leur petite taille et l'acide gibbérellique risque de provoquer un allongement excessif en cas de surdosage.

II.2.1.2.3. Avantages

La production de vitrotubercules pouvait se substituer à la méthode actuelle du microbouturage avec les avantages suivants :

- Possibilité de stocker les microtubercules au froid pendant une longue période et de cette façon la conservation des génotypes et réaliser ainsi des plantations déphasées soit sous abris ou en plein champ.
- Possibilité de pouvoir les planter mécaniquement en plein champ (semoir de précision à pois chiche), et possibilité d'enrobage (régulateurs de croissance, engrais et produits phytosanitaires) (OULD RAMOUL, 1997).
- Facilité de leur transport d'une région ou d'un pays à l'autre, particulièrement les pays souvent très éloignés demandeurs de plants de très haute qualité.
- Production d'un tel matériel exigeant moins de moyens matériels en infrastructures donc en principe moins onéreuse.
- Production et disponibilité des microtubercules à n'importe quelle époque de l'année.
- Ils peuvent être directement semés dans le sol.

- Problème de transmission de maladies écarté (en partie) vu que cette technique permet l'amélioration de l'état sanitaire du matériel végétal utilisé.
- Les microtubercules présentent l'avantage de pouvoir être fabriqués à contre saison par rapport aux boutures.

II.2.1.2.4. Inconvénients

Cette technique présente cependant, certaines limites, à savoir :

- La petite taille et l'origine du tubercule confèrent à ce dernier une fragilité et une sensibilité accrues aux attaques extérieures.
- La levée de dormance est assez lente et irrégulière.
- Le ratio « nombre de microtubercules / nombre de boutures » est relativement faible et mérite d'être augmenté.
- L'exigence d'une main d'oeuvre qualifiée pour les repiquages axéniques et pour la récolte (DEZA, 1991).

II.2.1.3. Culture de méristème

Dès 1952, George Morel de INRA de Versailles réussit à obtenir une plante entière à partir d'un méristème (OCHATTE, 2005), et selon TEOULE, (1999) chez une plante virosée la répartition du virus semble très variable selon l'organe, le méristème en particulier est une structure très protégée et est généralement indemne de virus. Le méristème est un petit organe composé de cellules méristématiques à division rapide ; il constitue le matériel idéal de départ étant donné que le méristème se développe d'une manière génétiquement stable et réduit le niveau d'infection virale (ESPINOSA *et al.*, 1992). Cette technique est donc utilisée pour obtenir des plantes saines à partir des plantes virosées (AUGE, 1992), surtout si il est associé à la thermothérapie (GRIFFITHS *et al.*, 1990).

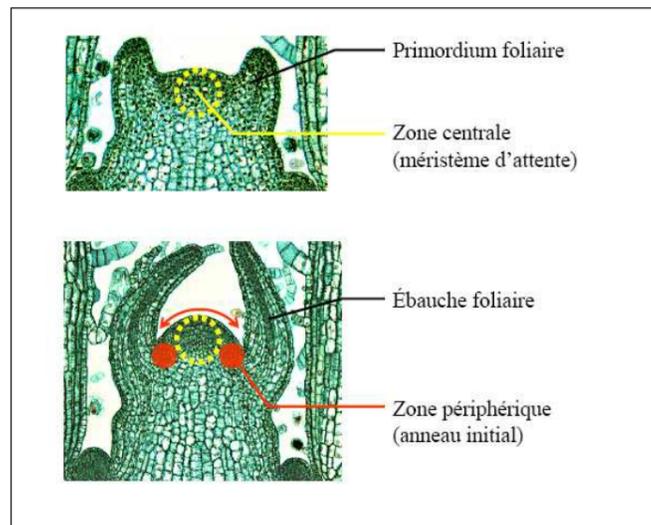


Figure n°8 : Coupe longitudinale d'apex de tige.

II.2.1.4. Embryogenèse somatique

Un apport important de la technique des cultures *in vitro* à la biologie a montré que des cellules somatiques pouvaient produire des structures comparables à des embryons, méritant l'appellation d'embryons somatiques (MARGARA, 1984). Ces embryons peuvent se développer à partir des cellules à 2n chromosomes issues de feuilles, racines ou tige (BOCCON-GIBOD *et* JALOUZOT, 1989).

Cependant l'embryogenèse somatique est rarement utilisée chez la pomme de terre (SEABROOK *et* DOUGLASS, 2000), et son utilisation est localisée surtout pour la production de semences synthétiques (REDENBAUGH, 1993 ; GRAY *et al.*, 1995).

II.2.1.5. Conservation

La conservation est l'un des avantages de la culture *in vitro*. Cette technique nous a permis de conserver le matériel végétal pour une longue durée jusqu'au moment de son utilisation. Ce matériel peut être des cellules, des protoplastes, des cals, des vitroplants et des vitrotubercules. La conservation des vitroplants et des vitrotubercules peut se faire dans un milieu de conservation contenant le mannitol à une température de 4 à 6°C et à une photopériode de 16 heures / jour (DODDS *et al.*, 1991).

Parmi les techniques de conservation : la cryoconservation. Cette technique représente la conservation du matériel vivant à très basse température. Généralement, elle consiste à stocker le matériel végétal dans l'azote liquide (-196°C) ou dans les vapeurs d'azote (-150°C). A cette température toutes les activités physico-chimiques des cellules sont interrompues (DUSSERT *et al.*, 2002).

II.2.2. La catégorie de la culture in vitro Non conforme

Ce procédé utilise un matériel végétal peu régulé et le place en conditions déstabilisants les signaux ; on voit alors apparaître une variabilité importante (DEMARLY, 1985).

II.2.2.1. Haplométhodes

Ces techniques ne démarrent pas des cellules somatiques mais de cellules gamétiques (KASHA *et* KO, 1970 ; KELLER *et* AMSTRONG, 1979 ; DE BUYSER, 1980 in DEMERLY, 1985). Ce sont des cultures d'anthères (Androgenèse) ou de microspores, ou de sacs embryonnaires ou ovaires (Gynogenèse). Ces processus permettent d'obtenir des lignées pures, en passant par l'haploïdisation puis le dédoublement (DEMARLY, 1985).

Chez la pomme de terre, espèce tétraploïde, l'utilisation des plantes haploïdes, donc diploïdes, que l'on appellera dihaploïdes (HD) est fondamentale à cause de l'importance de sa variabilité génétique, et de la facilité des croisements interspécifiques, car la plus part des pommes de terres sauvages sont diploïdes (BOCCON-GIBOD *et* JALOUZOT, 1989).

II.2.2.2. Variation somaclonale

D'après NOWBUTH *et al.*, (2005) on appelle variation somaclonale des modifications du phénotype des plantes qui apparaissent le plus souvent lors de la régénération de nouvelles plantules à partir de tissus déjà différenciés.

LARKIN *et* SCOWCROFT, (1981) ont montré, à l'issue d'un travail de recherche, qu'il pouvait être très intéressant d'exploiter la variabilité génétique induite par certaines cultures in vitro, dans le but de création variétale. Ils s'appuyaient sur quelques exemples modèles comme celui de la pomme de terre et de la canne à sucre où ils ont contribué à faire adopter le terme de variation somaclonale, désignant toute variation génétique induite par le seul fait de cultiver des tissus, des cellules, ou des organes qui ont pour objectif l'établissement de cellules dédifférenciées sous des conditions de cultures in vitro définies (WENZEL, 1994).

SNYDER *et* BELKNAP, (1993) ont observé que les plantes de pomme de terre régénérées présentent un faible niveau de variation somaclonale comparée avec celles dérivées des protoplastes.

II.2.3. Les facteurs influençant la culture in vitro

II.2.3.1. La lumière et la photopériode

La lumière est un facteur déterminant pour la culture in vitro des plantes. Elle a une grande influence de part la durée d'exposition (photopériode), selon HUSSEY et STACEY, (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 générale le début de croissance nécessite une faible intensité lumineuse (500 à 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, 1984).

II.2.3.2. La température

La température de beaucoup de chambres à culture est constante de l'ordre de 22° à 25° C (MARGARA, 1984) mais selon LÊ, (1994) des faibles températures de 15° à 20° C stimulent la microtubérisation chez la pomme de terre.

II.2.3.3. 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, 1984). 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 orthophosphorique (H_2PO_4 ou HPO_4), les besoins de la croissance dans les cultures des tissus varient de 1-30 mM, 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 a un rôle de construction de la molécule de chlorophylle et finalement les composés azotiques qui représentent la principale source d'alimentation azotée (YVES, 1984).

II.2.3.4. 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 (TEOULE, 1999).

II.2.3.5. Les vitamines

En culture in vitro certaines vitamines sont favorables aux croissances des tissus, parmi les principales, citons : la thiamine, l'acide nicotinique, la pyridoxine, leurs concentrations sont fréquemment de l'ordre de 1mg/l (TEOULE, 1999).

II.2.3.6. Les régulateurs de croissances

Les régulateurs naturels de croissances des végétaux, appelés souvent hormones de croissance, se répartissent actuellement en cinq groupes : auxines, cytokinines gibbérellines, acides abscissiques, éthylènes selon MARGARA (1984) Les facteurs de croissance suivants les auxines (AIA, AIB, AIP) et les cytokinines (la kinétine et la benzylamenopurine) sont des régulateurs de croissance indispensables au bon démarrage et à l'entretien de ces cultures de tissus végétaux in vitro. D'ailleurs, les prédictions de Gottlieb Haberlandt sur la potentialité des cellules végétales n'ont pu recevoir une confirmation qu'à partir de 1939, après la découverte des facteurs de croissance et notamment des auxines (TOURTE et *al.*, 2005) ces dernières participent à la croissances en augmentant le nombre de cellules et provoquent l'élongation cellulaire. Les cytokinines y sont impliquées en augmentant le nombre de cellules ; ceci fait en fonction de l'équilibre auxines /cytokinines qui détermine l'organogenèse.

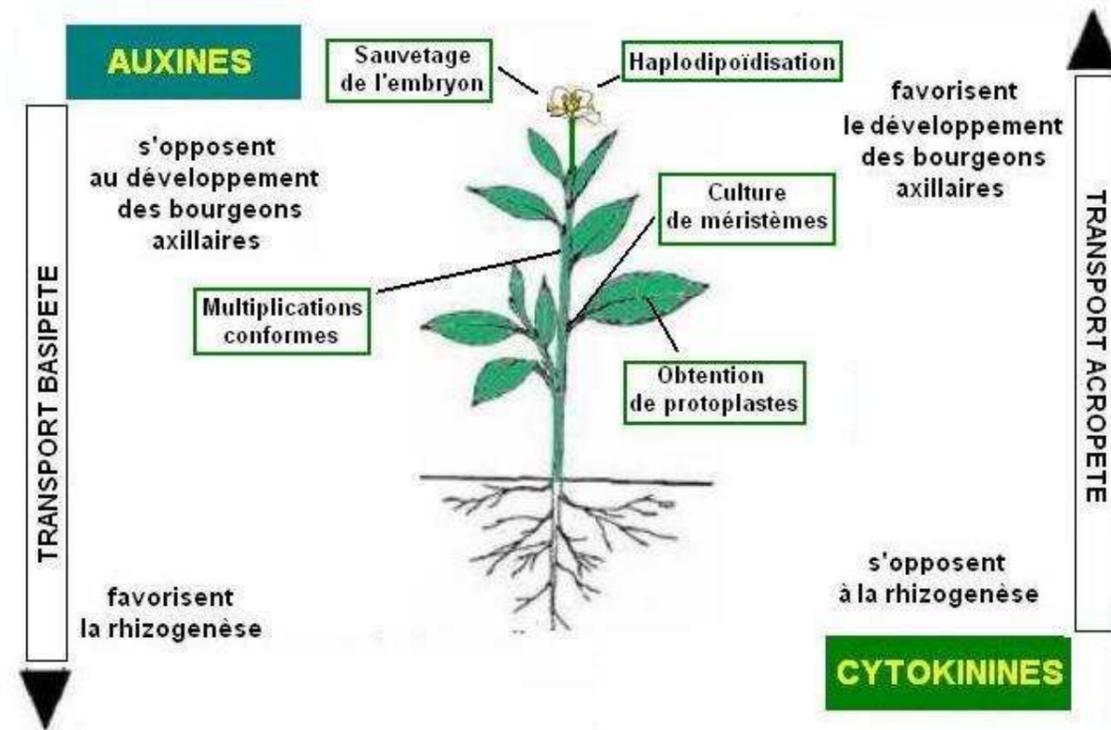


Figure n°9 : Rôle des hormones dans l'organogénèse cas d'auxine et de cytokinine.

II.2.4. L'organogénèse in vitro

II.2.4.1. La caulogénèse

Ce terme signifie, étymologiquement, formation d'une tige. Mais il est communément employé pour désigner la formation des bourgeons à l'origine des tiges feuillées. Dans le cas de l'organogénèse in vitro il est souvent utilisé comme synonyme de néoformation de bourgeons. Le déterminisme de la caulogénèse (ou néoformation de bourgeons) demeure le problème central de la multiplication végétative. Toute propagation végétative exige en effet l'existence de points végétatifs et leur multiplication.

II.2.4.2. La rhizogénèse

Est le phénomène d'organogénèse le plus généralement impliqué dans la multiplication végétative. L'étude de la rhizogénèse tient de plus en plus compte des interactions complexes de facteurs, mais elle reste dominée par le problème de régulation hormonale et en particulier par le rôle des auxines dans l'organogénèse. Sur le plan fondamental, la rhizogénèse, plus accessible à l'expérimentation que la caulogénèse, demeure une bonne voie d'approche du déterminisme de l'organogénèse, lié aux mécanismes de différenciation et de dédifférenciation cellulaire (MARGARA, 1984).

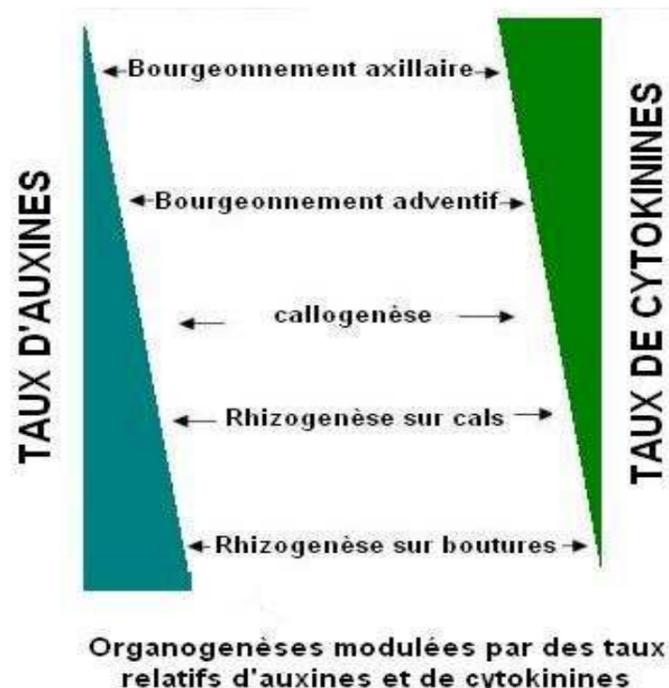


Figure n°10 : Types d'organogénèse contrôlée par les concentrations relatives d'auxine(s) et de cytokinine(s).

II.2.5. Les avantages et les inconvénients de la culture in vitro

II.2.5.1. 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 :

- La possibilité de conservation de ressources végétales et faire une banque de génotypes et réaliser ainsi des plantation hors la période de croissance (LÊ *et al.*, 2002);
- L'amélioration des conditions sanitaires par les techniques de cultures in vitro souvent associées à l'éradication des viroses (SIBI ,1981);
- La propagation végétative des espèces qui ne présentent pas ces capacités en conditions classiques (SIBI .1981);
- La multiplication rapide, cette dernière et due à l'augmentation de diffusion cellulaire par ces techniques (SMITH *et al.*, 1985 ; COLLET et LÊ, 1988);

- La facilité de leur transport d'une région à l'autre ou d'un pays à l'autre ;
- Pour la pomme de terre la disponibilité de microtubercules à n'importe quelle époque de l'année et les sèmes directement dans le sol.

II.2.5.2. Les inconvénients

Le problème de contamination et selon CASSELLE, (1987) est dû à soit l'explant soit la technique.

- L'exigence de main d'œuvre qualifiée
- Pour la pomme de terre, la levée de dormance des microtubercules est assez irrégulière.

II.3. Transformations génétiques

II.3.1. Hybridation interspécifique

Diverses solutions (fécondation *in vitro* en cas d'incompatibilité de pollen étranger et de la fleur femelle à féconder, sauvetage d'embryon *in vitro* en cas d'avortement après fécondation *in situ*) impliquant l'utilisation de la culture *in vitro*, rendent possible des hybridations entre des espèces réputées incompatibles en conditions naturelles (REYNOIRD et VIDALIE, 1989).

Chez la pomme de terre des plantes hybrides entre *Solanum tuberosum* et *S. brevidens* ont été obtenues à l'Université de Wisconsin (U.S.A.) par HELGESON *et al.*, (1988). Le but était de transférer chez la pomme de terre la résistance au virus de l'enroulement des feuilles à partir d'une espèce sauvage : *S. brevidens*. La résistance a effectivement été transférée chez les hybrides, et curieusement une nouvelle variabilité s'est exprimée par l'apparition de résistances à d'autres maladies.

II.3.2. Culture et fusion de protoplastes

II.3.2.1. culture de protoplastes

Les biologistes ont constaté, au cours des manipulations cellulaires, que l'on pouvait obtenir des agrégations entre des cellules débarrassées de leurs parois pecto-cellulosiques appelées protoplastes (DEMARLY et SIBI, 1996). Les premiers protoplastes ont été obtenus, vers la fin du dix-neuvième siècle, en hachant des fragments végétaux dans une solution hypertonique de saccharose. Cette méthode mécanique d'isolement des protoplastes était peu efficace et non reproductible (SIHACHAKR, 2002).

Ces cellules végétales dépourvues de paroi peuvent être obtenues soit à partir d'organes de plantes, soit à partir de suspensions cellulaires (ROBERT *et al.*, 1998). Les exigences nutritionnelles des protoplastes nécessitent une composition minérale adaptée, notamment pour le calcium qui joue un rôle important par son influence sur les divisions (KARP *et al.*, 1982).

La technique de culture de protoplastes est très fortement inductrice de variabilité ; cela a été bien étudié et montré chez la pomme de terre (SHEPARD, 1982 ; KARP *et al.*, 1982). Les variations portent souvent sur le nombre de chromosomes.

II.3.2.2. fusion de protoplastes

La fusion de deux ou de plusieurs protoplastes aboutit à l'addition totale de trois compartiments héréditaires : nucléaire, mitochondrial et chloroplastique. Cette addition accroît le niveau de ploïdie (GLEBA *et al.*, 1980 ; MELCHERS *et al.*, 1978 in DEMERLY, 1985).

Il existe deux stratégies efficaces de fusion des protoplastes: les méthodes chimiques et la méthode électrique. La PEG est la substance chimique la plus utilisée pour réaliser la fusion des protoplastes (SIHACHAKR, 2002).

Chez la pomme de terre, la fusion de protoplastes est d'autant plus justifiée car la majeure partie des clones diploïdes est stérile. Par rapport à la sélection traditionnelle, cette nouvelle méthode présente deux avantages considérables :

- On peut travailler sur un nombre de chromosomes diminué de moitié.
- On peut rassembler, en peu de temps, au sein d'un même individu tétraploïde un ensemble de plusieurs caractères intéressants (ce qui est quasiment improbable en sélection traditionnelle) (BOCCON-GIBOD *et* JALOUZOT, 1989).

II.3.2.3. Diversité des produits de fusion

Lors de la fusion des protoplastes, divers événements peuvent avoir lieu : homo-fusions, hétéro-fusions ou des fusions partielles. Pour les populations de protoplastes fusionnés par couple, toute une gamme d'événements peut se produire (**Fig.11**) :

- pour le génome nucléaire, ou bien un seul noyau parental va être conservé (cybride), ou bien les deux noyaux vont fusionner. Dans ce dernier cas, soit tous les chromosomes seront conservés (hybrides somatiques symétriques), soit il se produira le plus souvent une élimination partielle de l'un des génomes dans cette fusion (hybrides somatiques asymétriques).

- pour le génome chloroplastique des plantes supérieures qui est constitué d'une population de molécules circulaires de même taille, le maintien d'un état hétéroplasmique est fugace, et les plantes régénérées possèdent, dans pratiquement tous les cas, l'un ou l'autre type de chloroplastes.

- pour le génome mitochondrial des végétaux qui est constitué de molécules très hétérogènes, de nouvelles molécules d'ADN sont produites par recombinaison entre des sites homologues (PALMER et SHIELDS, 1984). Après la fusion, le génome mitochondrial pourra se réorganiser : soit une seule population parentale sera conservée, soit il y aura recombinaison de l'ADN mitochondrial, et il semble que ce soit les cas le plus fréquent (BELLIARD et *al.*, 1979).

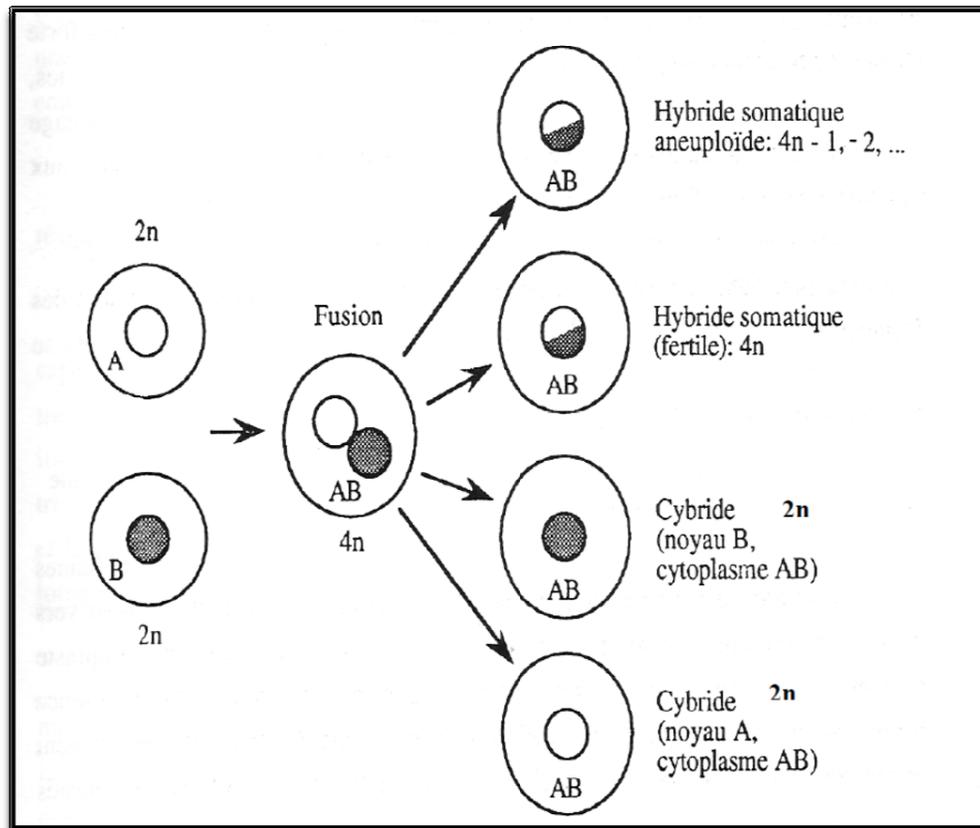


Figure n°11 : Divers comportements de produits de fusion entre protoplastes. (AUGE et BOCCON-GIBOD, 1989).

II.3.3. Transfert des gènes

Le développement des connaissances sur le code génétique et la régulation de son expression, ont permis d'ouvrir une extension très importante du Génie Génétique. Ainsi il est possible maintenant d'extraire, après repérage, un gène de l'ensemble du domaine vivant et le transférer sur les chromosomes de la plante qui le transmettra à ses descendants au même titre que ses propres gènes (DEMARLY *et* SIBI, 1996). De telles plantes sont dites : Plantes transgéniques ou OGM (Organismes Génétiquement Modifiés).

Certaines variétés de pommes de terre sauvages exsudent une substance liquide, qui se transforme en un sirop épais et piège les insectes et les pucerons.

De cela des essais d'introduction du gène responsable de cette substance chez la pomme de terre cultivée, ont été réalisés à l'Université Américaine de Cornell (MOINET, 1990).

D'après COLEMAN *et al.*, (2001) ; les microtubercules servent comme une base pour la production des plantes transgéniques et pour la visualisation de l'expression de différents gènes. Leur utilisation dans ce domaine a trouvé une large application comme méthode de transformation génétique.

II.4. Biotechnologie dans le schéma de sélection de la pomme de terre

Beaucoup de techniques de biotechnologies qui s'appliquaient avant sur le Pétunia et le Tabac ont été réalisées sur la pomme de terre avec succès. En effet, l'arrivée des biotechnologies rend un grand service à la sélection chez la pomme de terre qui présentait auparavant des difficultés de manipulations génétiques (KUMAR, 1994).

Chez la pomme de terre, où les principales variétés commercialisées sont tétraploïdes, les nouvelles méthodes de création variétale sont caractérisées par un grand travail de sélection sur du matériel diploïde (obtenu par croisement : *Solanum tuberosum* et *Solanum phureja*). A ce niveau diploïde, on peut aussi réaliser une introduction de gène d'origine sauvage (exemple : gène de résistance aux maladies) par croisement, car la plupart des espèces sauvages du genre *Solanum* sont diploïdes.

On peut ainsi fixer des caractères intéressants par la culture d'anthères puis combiner par croisement plusieurs caractères agronomiques favorables au sein d'hybrides diploïdes. Enfin la fusion de protoplastes, étape clé du schéma de sélection, le termine et permet l'addition des génomes nucléaires qui rassemblent donc deux jeux de caractères agronomiques favorables (BOCCON GIBOD *et* JALOUZOT, 1989).

III. Nutrition minérale des végétaux

D'après MARTINEZ, (2000) les racines des plantes prélèvent les éléments minéraux en solution. La composition de cette dernière doit satisfaire plusieurs contraintes. Pour chaque élément indispensable, une concentration trop faible est susceptible de générer une carence. Inversement, une concentration élevée pourra entraîner une toxicité. Les végétaux supportent donc de grandes variations de teneurs pour chacun de ces éléments.

III.1. La composition minérale des végétaux

Selon SOLTNER, (2005b) L'incinération renvoie à l'atmosphère les 3 éléments fondamentaux de la matière vivante :

- Le carbone C 40 à 50%
- L'oxygène O 42 à 45%
- L'hydrogène H 6 à 7%

Les autres éléments dits "minéraux" sont classés en 2 groupes :

III.1.1. Les macroéléments

- L'azote N 1 à 3% de la MS,
- Le potassium K 2 à 4%,
- Le calcium Ca 1 à 2%,
- Le magnésium Mg 0,1 à 0,7%,
- Le soufre S 0,1 à 0,6%,
- Le phosphore P 0,1 à 0,5%,

Le sodium Na, le chlore Cl et le silicium Si sont présents en quantité très variable mais pas forcément nécessaire à tous les végétaux.

III.1.2. Les oligoéléments

- Le fer Fe et le manganèse Mn, de 10 à 1.000ppm,
- Le zinc Zn, le cuivre Cu et le bore Bo : autour 10ppm,
- L'aluminium Al, le nickel Ni, le cobalt Co, le molybdène Mo, l'iode I, le fluor F : entre 1ppm et 0,001ppm, et à des taux plus variables, mais toujours très faibles, si ce n'est dans des cas particuliers, la plupart des autres éléments minéraux présents dans le sol ou les eaux et qui contaminent les végétaux à leur contact: Li, Pb, Ti, Rb, Cs, Se, Cd, etc. (HELLER et *al.*, 1998).

Tableau n°7 : Composition des cendres des végétaux (d'après DIEHL, 1975).

%		P ₂ O ₅	K ₂ O	CaO	MgO
Grains	Blé	49.7	28.5	3.5	11.5
	Pois	35.9	43.1	4.7	7.9
	Lin	44.7	28.8	8.5	13.6
Racines et Tubercules	Pomme de terre	16.8	60.0	2.6	4.9
	Betterave à sucre	12.1	15.3	6.0	7.8

Tableau n°8 : Teneur en phosphore des organes végétaux ; P % de matière sèche (d'après DIEHL, 1975).

Organes	Espèces	P % de M.S.
Racines et tubercules	Carotte, Navet	0.45
	Betterave potagère	0.37
	Betterave sucrière	0.17
	Pomme de terre	0.27
Feuilles	Chou	0.7
Inflorescence	Chou- fleur	0.7

III.2. Besoins en éléments minéraux

III.2.1. Les éléments nutritifs essentiels

Sont les éléments requis pour assurer la croissance et le développement des plantes (HOPKINS, 2003).

Un élément minéral indispensable se définit par la réunion de quatre critères :

- Sa présence, même à des teneurs infinitésimales, est nécessaire pour assurer à la plante un développement complet de son cycle végétatif.
- Son absence occasionne plus ou moins rapidement des effets drastiques sur la physiologie des plantes.
- Un élément indispensable doit avoir un ou plusieurs rôles spécifiques connus dans le métabolisme du végétal.
- Un élément indispensable doit être spécifique : il ne peut être remplacé dans son intégralité par d'autres éléments similaires (MARTINEZ, 2000).

Tableau n°9 : Eléments essentiels des plantes supérieures ; estimation des concentrations optimales permettant une croissance normale (d'après HOPKINS, 2003).

Elément	Symbole chimique	Forme disponible	Concentration dans la MS (m mol/Kg)
Hydrogène	H	H ₂ O	60 000
Carbone	C	CO ₂	40 000
Oxygène	O	O ₂ , CO ₂	30 000
Azote	N	NO ₃ ⁻ , NH ₄ ⁺	1000
Potassium	K	K ⁺	250
Calcium	Ca	Ca ²⁺	125
Magnésium	Mg	Mg ²⁺	80
Phosphore	P	HpO ₄ ⁻ , HpO ₄ ²⁻	60
Soufre	S	SO ₄ ²⁻	30
Chlore	Cl	Cl ⁻	3.0
Bore	B	BO ₃ ³⁻	2.0
Fer	Fe	Fe ²⁺ , Fe ³⁺	2.0
Manganèse	Mn	Mn ²⁺	1.0
Zinc	Zn	Zn ²⁺	0.3
Cuivre	Cu	Cu ²⁺	0.1
Nickel	Ni	Ni ²⁺	0.05
Molybdène	Mo	Mo ₄ ²⁻	0.001

III.2.2. Les éléments nutritifs bénéfiques

Certains éléments minéraux peuvent jouer un rôle neutre ou bénéfique dans le développement sans être indispensables. Ils n'ont pas de fonctions spécifiques, mais peuvent par analogie remplacer partiellement un élément indispensable, Satisfont des besoins complémentaires, spécifiques de certaines plantes (c'est le cas de sodium, silicium, cobalt, sélénium) (HOPKINS, 2003).

III.3. Le rôle des éléments minéraux et leur importance pour la plante

III.3.1. Le rôle des macroéléments

1-Azote (N)

L'azote est l'un des éléments nutritifs utilisés par les plantes (BADO, 2002). C'est le quatrième constituant des plantes qui est utilisé dans l'élaboration de molécules importantes comme les protéines, les nucléotides, les acides nucléiques et la chlorophylle (EPSTEIN, 1972). Il s'accumule sous forme de réserves (SOLTNER, 2005b).

L'azote favorise l'utilisation des hydrates de carbone, stimule le développement et l'activité racinaire, favorisant ainsi l'exportation des autres éléments minéraux et la croissance des plantes (STEVENSON, 1986). Il est essentiel pour la synthèse des enzymes de la photosynthèse (LAMAZE et al., 1990).

2-Phosphore (P)

Le phosphore a un rôle dans une série de fonctions du métabolisme de la plante et il est l'un des éléments nutritifs essentiels nécessaires pour la croissance et le développement des végétaux. Il a des fonctions à caractère structural dans des macromolécules telles que les acides nucléiques et des fonctions de transfert d'énergie dans des voies métaboliques de biosynthèse et de dégradation, A la différence du nitrate et du sulfate, le phosphore n'est pas réduit dans les plantes mais reste sous sa forme oxydée la plus élevée (MARSCHNER, 1993).

3-Potassium (K)

Selon Achille (2006), Le potassium est l'élément nutritif absorbé en plus grandes quantités que tous les autres éléments minéraux. Il maintient la pression osmotique, Et il entre dans la constitution de certaines enzymes intervenant :

- Dans la synthèse des protéines ;
- Dans la synthèse de l'ATP ;
- Dans la photosynthèse.

4-Calcium (Ca)

Toutes les plantes ont besoin de calcium pour la formation des parois cellulaires, le déplacement des sucres, la formation des poils absorbants sur leurs racines, la neutralité des poisons qu'elles pourraient produire, l'amélioration de leur vigueur en général et la qualité des tissus végétaux (Achille, 2006). Il est indispensable pour la croissance des racines étant que constituant des matériaux de la membrane cellulaires.

5-Magnésium (Mg)

C'est le constituant central de la chlorophylle. Il participe à des réactions enzymatiques liées au transfert d'énergie. (Achille, 2006).

6-Soufre (S)

Comme l'azote et le phosphore, le soufre est :

- un élément plastique, entrant dans la constitution des acides aminés soufrés (cystéine et méthionine) et donc d'innombrables protéines ;
- un élément catalytique. La carence en soufre se caractérise par la chlorose (disparition de la chlorophylle) (SOLTNER, 2005b).

La teneur en soufre de pomme de terre est 0.17% de matière sèche, le navet 0.39% de M.S. (DIEHL, 1975).

III.3.2. Le rôle des oligoéléments

1-Fer (Fe)

Son rôle est uniquement oligo-dynamique, mais essentiel :

- C'est surtout un transporteur d'électrons, donc il a la propriété de changer de valence avec perte d'un électron ;
- C'est un élément de liaison entre certaines protéines et des enzymes (SOLTNER, 2005b).

2-Cuivre (Cu)

Il intervient particulièrement dans l'oxydation par la mitochondrie : c'est un constituant de la cytochrome-oxydase, en fin de chaîne respiratoire (SOLTNER, 2005b).

3-Molybdène (Mo)

D'après SOLTNER (2005b), Il est nécessaire à des doses infimes, c'est aussi un transporteur d'électrons.

4-Manganèse (Mn)

Il intervient dans la photosynthèse, sa carence sensibilise aux infections bactériennes.

5-Zinc (Zn)

Il est aussi constituant d'enzymes. La carence en zinc, entraîne des troubles de croissance.

6-Bore (Bo)

Sa carence se manifeste par des troubles de fonctionnement des méristèmes.

7-Chlore (Cl)

Il est nécessaire à la photosynthèse à des doses très faibles, lors du transfert de l'eau à la chlorophylle.

Matériel et Méthodes

Matériel et Méthodes

L'expérimentation a été menée au niveau du laboratoire de physiologie et biotechnologie végétale du Département de l'Agronomie de l'Université Ibn Khaldoun et le laboratoire d'amélioration et de production des semences de pomme de terre à Sebaine de Tiaret.

I. Matériel

I.1. Matériel végétal

I.1.1. Origine

Les explants utilisés, lors de cette étude, ont été obtenus à partir de deux génotypes *Désirée* et *Spunta* de l'espèce *Solanum tuberosum*.

I.1.2. Caractères descriptifs des génotypes

❖ *Désirée*

Filiation : Urgenta x Depesche

- **Caractères agronomiques**

Maturité • mi-précoce à mi-tardive, dormance mi-longue.

Tubercules • gros, ovale à allongée, forme uniforme à assez uniforme, rouge peau, yeux superficiels; assez bonne résistance au noircissement interne.

Maladies • assez sensible à mildiou du feuillage, assez bonne résistance à mildiou du tubercule; assez sensible à virus de l'enroulement, résistance moyenne à virus A, assez bonne résistance à virus X et bonne résistance à virus Yⁿ; résistante à la galle verruqueuse; sensible à la galle commune.

- **Caractères morphologiques**

Plante • taille haute à moyenne, structure feuillage du type intermédiaire, tiges port semi-dressé à dressé, forte coloration anthocyanique, feuilles grandes à moyennes, vert foncé à vertes, silhouette ouverte; floraison abondante, forte coloration anthocyanique sur la face intérieure du corolle de la fleur.

Tubercules • ovale à allongée, peau rouge, lisse, chair jaune pâle; yeux superficiels.

Germe • grand à moyen, conique, coloration anthocyanique forte à moyenne et moyenne pubescence de la base; bourgeon terminal moyen et coloration anthocyanique moyenne à faible; radicules assez nombreuses à peu nombreuses (ANONYME, 2007a).

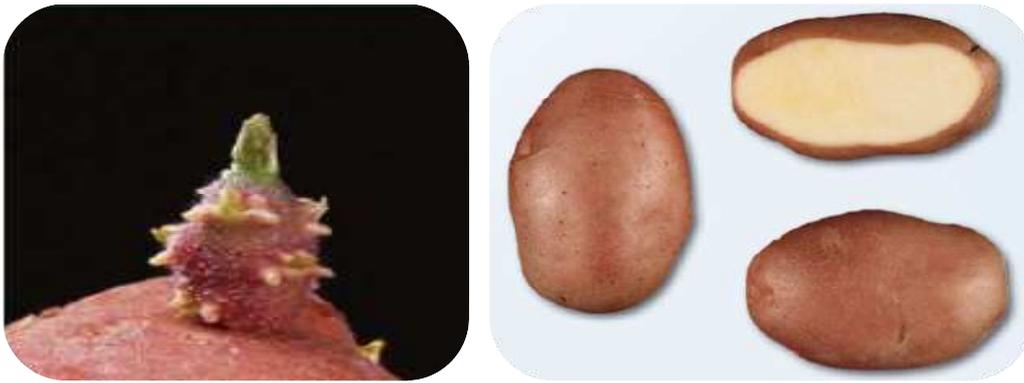


Figure n°12 : Caractères descriptifs de *Désirée*.

❖ *Spunta*

Filiation : Bea x USDA 96-56

• **Caractères agronomiques**

Maturité • mi-précoce, dormance mi-longue à longue.

Tubercules • très gros, allongée, forme uniforme, peau jaune, yeux très superficiels, bonne résistance au noircissement interne.

Feuillage • bon.

Maladies • assez sensible à mildiou du feuillage, sensible à mildiou du tubercule; assez bonne résistance à virus de l'enroulement, résistance à virus A, résistance moyenne à virus X et assez bonne résistance à virus Yⁿ; résistante à la galle verruqueuse; résistance moyenne à la gale commune.

• **Caractères morphologiques**

Plante • taille haute, structure feuillage du type intermédiaire, tiges port semi-dressé à dressé, coloration anthocyanique moyenne; feuilles grandes à moyennes, vert foncé, silhouette mi-ouverte; floraison abondante à modérée, coloration anthocyanique absente ou très faible sur la face intérieure du corolle de la fleur.

Tubercules • allongés, peau jaune, lisse; chair jaune pâle; yeux très superficiels.

Germe • grand, cylindrique et gros, forte coloration anthocyanique et forte à moyenne pubescence de la base, bourgeon terminal grand à moyen et coloration anthocyanique moyenne à faible; radicules abondantes à assez nombreuses (ANONYME, 2007a).

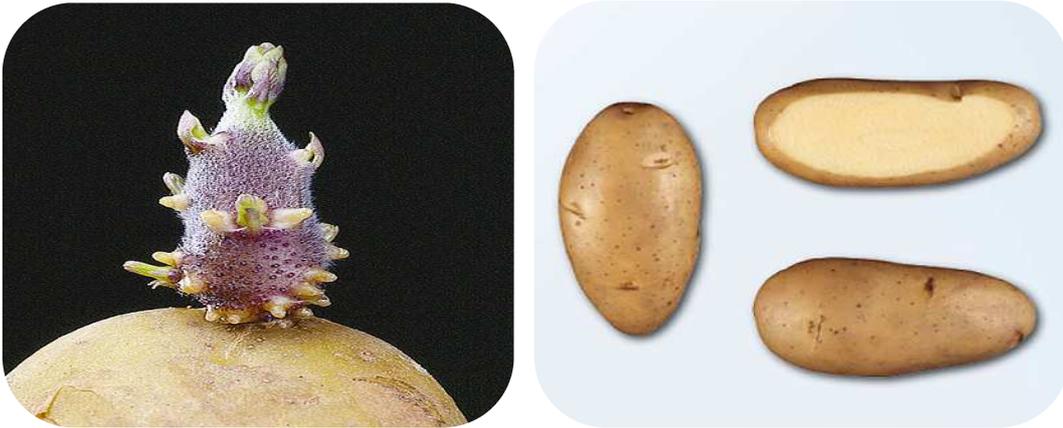


Figure n°13 : Caractères descriptifs de *Spunta*.

I.1.2. Germination des semences

Nous avons utilisé pour notre expérimentation des semences saines que nous avons enveloppées dans un morceau d'étoffe suffisamment humide mis à l'obscurité totale et à une température de 23 à 25°C afin de permettre leur germination, qui s'étend sur période de deux mois ou plus (cela dépend de la variété).



Figure n°14 : Germination des semences (*Désirée* et *Spunta*).

I.1.3. Lavage des semences

Après germination, les semences sont lavées à l'eau courante pendant 5 minutes à fin de les nettoyer.

I.2. Milieux de culture de micropropagation

I.2.1. Milieu à base de produits chimiques

Afin de déterminer les conditions nutritives les plus favorables à la croissance des explants nous avons choisi le milieu : MS (MURASHIGE et SKOOG, 1962).

Les constituants principaux de ce milieu sont l'eau ionisée et les sels minéraux qui se répartissent en deux groupes, les macroéléments (N, P, K, S, Mg, Ca) et micro-éléments (Fe, B, Mn, Zn, Cu, N, Co, Mo, I). La source de carbone est le saccharose. Pour ce milieu, la solidification est réalisée à l'aide de l'Agar.

Tableau n°10 : Constituants du milieu MS (Murashige et Skoog, 1962).

	Ingrédients	Solution mère Mg/l	Volume de prélèvement	
Macroéléments	NH ₄ NO ₃	1650	50ml	A
	KNO ₃	1900		
	CaCl ₂ .2H ₂ O	440		
	MgSO ₄ .7H ₂ O	370		
	KH ₂ PO ₄	170		
Micro-éléments	MnSO ₄ .H ₂ O	22.3	10ml	B
	ZnSO ₄ .7H ₂ O	8.6		
	H ₃ BO ₃	6.2		
	KI	0.83		
	Na ₂ MoO ₄ .2H ₂ O	0.25		
	CuSO ₄ .5H ₂ O	0.025		
	CoCl ₂ .6H ₂ O	0.025		
Fe-EDTA	Na ₂ -EDTA	37.3	10ml	C
	FeSO ₄ .7H ₂ O	27.8		
Sucre	Saccharose	20000Mg/l	20000mg	D
Agar	Agar	8g/l	8g	E

I.2.1.1. Préparation des solutions mères des milieux de culture

a- Préparation de la solution mère de macroéléments

Elle consiste à :

- Verser 600 ml d'eau déionisée dans un bécher de 1L;
- Peser et dissoudre chacun des sels indiqués (A) en chauffant légèrement au besoin,
- Transférer la solution dans un flacon de 1 litre et compléter à 1 litre avec l'eau distillée,
- Identifier le flacon puis le ranger au réfrigérateur.

b- Préparation de la solution mère de micro-éléments

La préparation de la solution mère consiste à :

- Verser 600 ml d'eau déionisée dans un bécher de 1L;
- Peser et dissoudre chacun des sels indiqués (B) en chauffant légèrement au besoin;
- Pour le Cu et le Co peser 10 mg de chaque sel et les dissoudre chacun dans 10 ml d'eau distillée. Prélever 2,5 ml de chaque solution et les ajouter aux autres sels.
- Transférer la solution dans un flacon de 1 litre et compléter à 1 litre avec l'eau distillée;
- Identifier le flacon puis le ranger au réfrigérateur.

c- Préparation de la solution mère de Fe-EDTA

Elle consiste à :

- Verser 600 ml d'eau déionisée dans un bécher de 1L;
- Ajouter quelques gouttes de NaOH et chauffer jusqu'à ébullition ;
- Couper la source de chaleur;
- Ajouter le Na₂ EDTA et mélanger jusqu'à dissolution ;
- Ajouter FeSO₄·7 H₂O;
- Transférer la solution dans un flacon de 1 litre et compléter à 1 litre avec l'eau distillée ;
- Identifier le flacon puis le ranger au réfrigérateur.

Lors de la préparation des solutions mères, les différents éléments sont apportés dans l'ordre décroissant de leur concentration afin d'éviter tout risque de précipitation. Ensuite toutes les solutions mères sont étiquetées, puis conservées au froid (4°C) et à l'abri de la lumière.

d- Préparation de la solution mère des hormones

- Peser les régulateurs de croissance désirés et les dissoudre dans quelques gouttes (2 ml) de solvant approprié ;
- Étendre avec un peu d'eau, vérifier l'état de solution et ajouter un peu de solvant au besoin;
- Transférer la solution dans un flacon de 100 ml et compléter à 100 ml avec l'eau distillée puis le ranger au réfrigérateur.

I.2.1.2. Préparation de la solution finale du milieu de culture

A partir de la solution mère dont la préparation est citée ci dessus, on a pu préparer la solution finale, avec les concentrations exigées, selon le protocole suivant :

- Verser approximativement 600 ml d'eau déionisée dans un bécher de 1l;
- Peser et dissoudre le saccharose en chauffant légèrement au besoin;
- Ajouter le volume nécessaire de macroéléments, micro-éléments, FE-EDTA;
- Ajuster le PH à 5.7 ± 0.1 avec HCl (10%) ou NaOH (1N);
- Compléter à 1litre avec l'eau distillée;
- Chauffer puis ajouter l'Agar graduellement en brassant le milieu avec un agitateur. Il faut réduire la puissance de chauffe pour éviter le débordement et brasser continuellement, la gélose se dissout et le milieu devient limpide au bout de 30 minutes environ;
- Enfin, le milieu ainsi préparé est transféré dans des tubes de 25 x 75 mm, à raison de 45 ml par tube. Ensuite, les tubes sont hermétiquement fermés avec du coton et du papier aluminium.

I.2.2. Milieu à base de cendres

I.2.2.1. Préparation des cendres

On obtient des cendres en deux étapes :

a- Première étape

Réduction des végétaux et/ou des épluchures de ces derniers en matière sèche dans une étuve à 105°C pendant 24 heures.

b- Deuxième étape

Combustion de la matière sèche (obtenue dans la première étape) dans un incinérateur à 450°C pendant deux heures.

I.2.2.2. Préparation des milieux

On mélange 0.5g de cendres dans 250 ml d'eau distillée, par agitation pendant 10 minutes. Puis, on ajoute 5g de saccharose et enfin, après ajustement du pH de ces milieux à 5.7 ± 0.1 (par ajout de HCl à 10%), l'agar est ajouté à la quantité de 2g. Ce mélange est agité pendant 30 minutes. 39 milieux sont ainsi préparés, chacun contenant un type de cendres.

Le milieu obtenu à partir du mélange des 39 espèces de cendres est préparé de la même façon que précédemment, à une proportion de 0.0128g de chaque type de cendres dans 250 ml d'eau distillée. Tous les milieux préparés sont placés dans des tubes à essais différents qui doivent être étanches à toute contamination.

I.2.3. Milieu de culture de microtubérisation

La composition du milieu de microtubérisation est identique à celle du milieu de micropropagation du milieu MS à l'exception du saccharose dont la concentration sera de 80 g/l au lieu de 20 g/l (LO *et al.*, 1972). Les bocal contiennent respectivement 50 ml.

Au cours de cette partie d'expérimentation, on étudie l'influence de deux types de milieu MS sur la microtubérisation. Ces deux milieux utilisés sont :

- Milieu MS sans régulateurs de croissance.
- Milieu MS avec 5 mg/l d'ANA (Acide naphthalène acétique).

Les régulateurs de croissance utilisés au cours de cette expérimentation sont des Auxines. Ces auxines sont peu solubles dans l'eau et doivent être préalablement dissoutes dans quelques gouttes de NaOH 1N. Elles sont dégradées par la lumière et doivent être conservées au réfrigérateur et à l'obscurité. Cependant elles sont stables en solutions aqueuses et à la chaleur (autoclave).

I.3. Stérilisation

I.3.1. Stérilisation du milieu de culture

La stérilisation de milieu de culture, est assurée par l'autoclave à une température de 120° C, et une pression de 1 bar pendant 20 minutes, la technique de la culture in vitro exige cette température, afin de s'assurer de la destruction des bactéries.

Pour la stérilisation de substances thermolabiles comme les vitamines, hormones et acides aminés on utilise des pièces de filtration avec un papier filtre 0.22 micromètre stérile.

I.3.2. La Stérilisation des instruments

Tous les instruments métalliques (pinces, scalpels, bistouris ...) ou verreries (Béchers, boîtes de pétri comprenant du papier buvard et des erlènes...) sont enrobés avec du papier journal avant leur mise en étuve, et sont mis à l'étuve à une température de 170° à 200° C pendant 2 heures de temps, ils ne seront découverts, que sous la hotte, au moment de leur utilisation. Au cours des manipulations les instruments métalliques sont plongés dans l'alcool à 70%, puis passés aux flammes du bec Benzène afin de brûler l'alcool.

I.3.3. Stérilisation des explants

Les cultures de tissus végétaux se heurtent à des problèmes de brunissement à cause des contaminations par divers agents (bactéries, champignons ...) ce qui exige l'utilisation de solutions stérilisantes telles que l'hypochlorite de sodium ou de calcium et l'éthanol à 70%.

I.3.3.1. Solutions stérilisantes

Comme le milieu de culture et les instruments de travail, le matériel végétal doit aussi être stérilisé, mais sa stérilisation ne peut pas se faire par étuvage ou autoclavage parce que ceux-ci l'endommagent ; de ce fait la stérilisation du matériel végétal est réalisée à l'aide de solutions stérilisantes suivantes :

a- Hypochlorite de sodium

Pour la stérilisation du tissu végétal, il faut diluer l'eau de javel (12°) à une concentration de (1°) pour ne pas l'endommager les tissus. La préparation de cette solution est réalisée juste au moment de son utilisation.

b- Alcool

Pour la stérilisation du matériel végétal, on utilise l'éthanol à 70° et pour celle des instruments l'éthanol à 99°.

c- Solution antioxydante

Afin d'éviter le brunissement du tissu végétal à cause des composés phénoliques sécrétés, on utilise une solution antioxydante.

Pour la préparation de 500 ml de cette solution : on dissout 50 mg d'acide ascorbique et 75 mg d'acide citrique dans 500 ml d'eau distillée. Cette solution doit être stérilisée sous la hotte par ultrafiltration.

I.3.3.2. Préparation des explants de pomme de terre

Les germes obtenus sont coupés à leur base, la stérilisation de ces explants se fait selon le protocole suivant :

- Tremper les explants dans une solution antioxydante pendant 5 minutes ;
- Mettre les explants dans l'éthanol à 70% pendant 30 secondes ;
- Mettre ces explants dans une solution d'hypochlorite de sodium à 1% pendant 15 minutes ;
- Rincer avec l'eau stérile 3 à 4 fois pendant 5 minutes chacune ;
- Laisser les explants dans l'eau stérile jusqu'au repiquage dans les tubes (NOWBUTH et LÊ, 2004).

II. Méthodes**II.1. Mise en culture****II.1.1. Zone du travail**

Pour réussir la culture in vitro il est nécessaire de respecter les conditions d'asepsie totale, de ce fait toutes les manipulations seront réalisées sous hotte à flux d'air laminaire stérile, avec cependant quelques précautions à respecter, à savoir :

- Allumage de la hotte, au moins une demi-heure avant chaque manipulation.
- Nettoyage de la hotte et de son entourage avec de l'eau de javel (12°), puis avec de l'éthanol (99°), sans oublier de vaporiser à l'alcool tous les instruments nécessaires au travail pendant toute la durée des manipulations.

- Allumage des becs benzènes un quart d'heure avant chaque manipulation et durant toute la durée du repiquage.
- Les instruments de travail (scalpels et pinces) qui sont ainsi stérilisés par étuvage, sont trempés dans l'éthanol 99° puis flambés et reposés sur un support métallique stérile. (il faut toujours doubler les instruments de travail, pour permettre le refroidissement de l'un tandis que l'autre est en usage.).
- pour plus de sûreté, un papier buvard imbibé d'eau de Javel est placé sur cette zone du travail.
- Tous les instruments de travail doivent être à la portée du manipulateur de façon à avoir le moins de grands gestes à faire au cours de la manipulation (de grands mouvements entraînent des déplacements d'air donc des risques de contamination).
- Les mains doivent être lavées et rincées à l'eau de Javel.
- Les instruments stérilisés doivent être disposés de façon à les avoir dans l'aire stérile.
- Penser à éloigner la pipette d'alcool de la flamme.
- Ne pas toucher avec les doigts les ouvertures des flacons.
- Pour la respiration, se munir d'un masque qui permet de rejeter l'air expiré vers l'arrière.
- Ôter bague, montre, etc.



Figure n°15 : Organisation du plan de travail.

II.1.2. Repiquage des explants

II.1.2.1. Micropropagation

Après la germination des tubercules, on attend que les germes atteignent au moins 3 cm, pour commencer les manipulations.

Avant de commencer l'ensemencement, on se lave les mains avec du savon suivi de l'alcool à 70°. On prépare la hotte par stérilisation et la mise en marche de la ventilation. On prépare tout le nécessaire et on laisse la hotte fonctionner pendant 30 minutes avant de commencer la manipulation. On fait la stérilisation des explants sous la hotte; on réduit la taille de chaque explant dont le fragment de bourgeon portant le méristème stérilisé est saisi par une pince passée à la flamme et est déposé sur un papier aluminium stérile. L'échantillon est ainsi découpé en tronçons (0.5 cm à 1 cm) comportant chacun au moins deux ébauches foliaires, à l'aide d'un scalpel passé à la flamme.

Le repiquage des explants sur les milieux de culture est effectué à l'aide de pince stérilisée et près de la flamme du bec benzène, les tronçons sont prélevés et plantés à raison d'un par tube "tête en haut", les ébauches foliaires étant en dehors du milieu de culture tout en flambant l'ouverture du tube avant et après l'opération sous la hotte, la fermeture étanche du tube se fait avec du coton et du papier aluminium stérile.

II.1.2.2. Microtubérisation

Après 5 à 7 semaines de culture, sous hotte à flux laminaire, chaque vitroplant est retiré du tube à l'aide d'une pince stérile et déposé sur une boîte de pétri comprenant du papier buvard stérile, puis fragmenté en autant de tronçons que de nœuds (en éliminant cependant le bourgeon apical et basal) à fin d'obtenir du matériel homogène. Les tronçons sont ensuite repiqués sur le milieu à raison 10 boutures par bocal. Chaque bouture maintenue avec des grandes pinces stériles, est plantée dans le milieu gélosé de façon à ce que le bourgeon et la feuille attenante soient situés à la surface du milieu de culture. Les boutures utilisées sont des boutures uninodales. Le bocal est obturé à l'aide d'un couvercle permettant les échanges gazeux. Le couvercle est percé d'un trou de 10 mm de diamètre dans le quel on introduit un morceau de parafilm préalablement à la stérilisation.

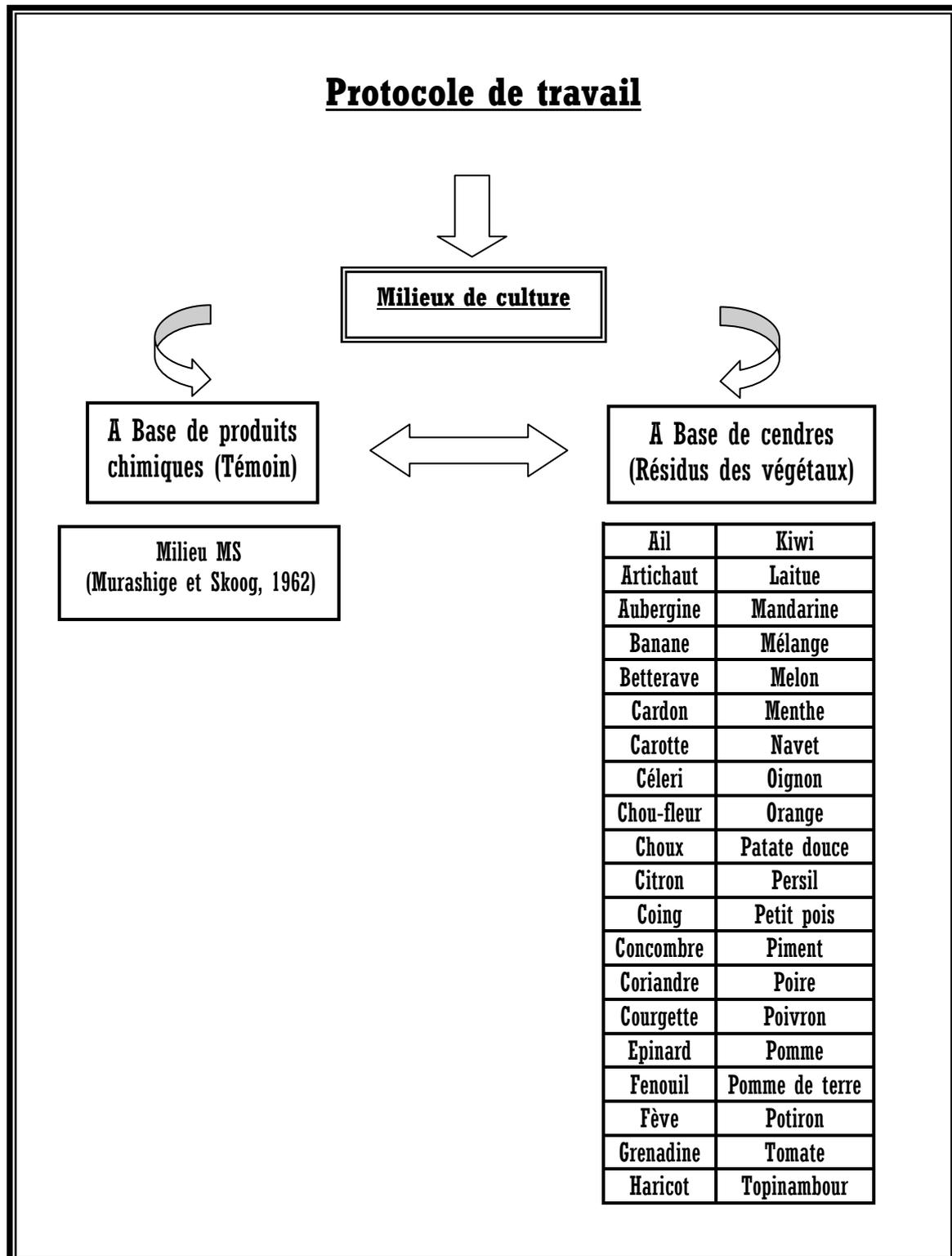


Schéma n°1 : Protocole du travail de la micropropagation.

II.1.3. Incubation des explants

II.1.3.1. Micropropagation

Les tubes contenant les méristèmes ainsi cultivés sont placés dans la chambre de culture, dont les conditions de culture sont les suivantes :

- Photopériode : 16 heures de lumière / 8 heures d'obscurité.
- Température : $25 \pm 1^\circ\text{C}$

II.1.3.2. Microtubérisation

Les bocaux contenant des boutures uninodaux sont placés dans la chambre de culture où ils seront exposés à la lumière pendant 16 heures par jour et à une température de 25°C jusqu'au développement des plants. Après cette partie d'expérimentation, on arrive à la microtubérisation. Pour cela, nous avons réalisé trois traitements de photopériodes pour chaque type de milieu MS avec un seul traitement de température.

- Température : $20 \pm 1^\circ\text{C}$.
- Photopériode : Pour la photopériode on a trois traitements :

T1 : 16 heures de lumière / 8 heures d'obscurité.

T2 : 8 heures de lumière / 16 heures d'obscurité.

T3 : 0 heure de lumière / obscurité totale.

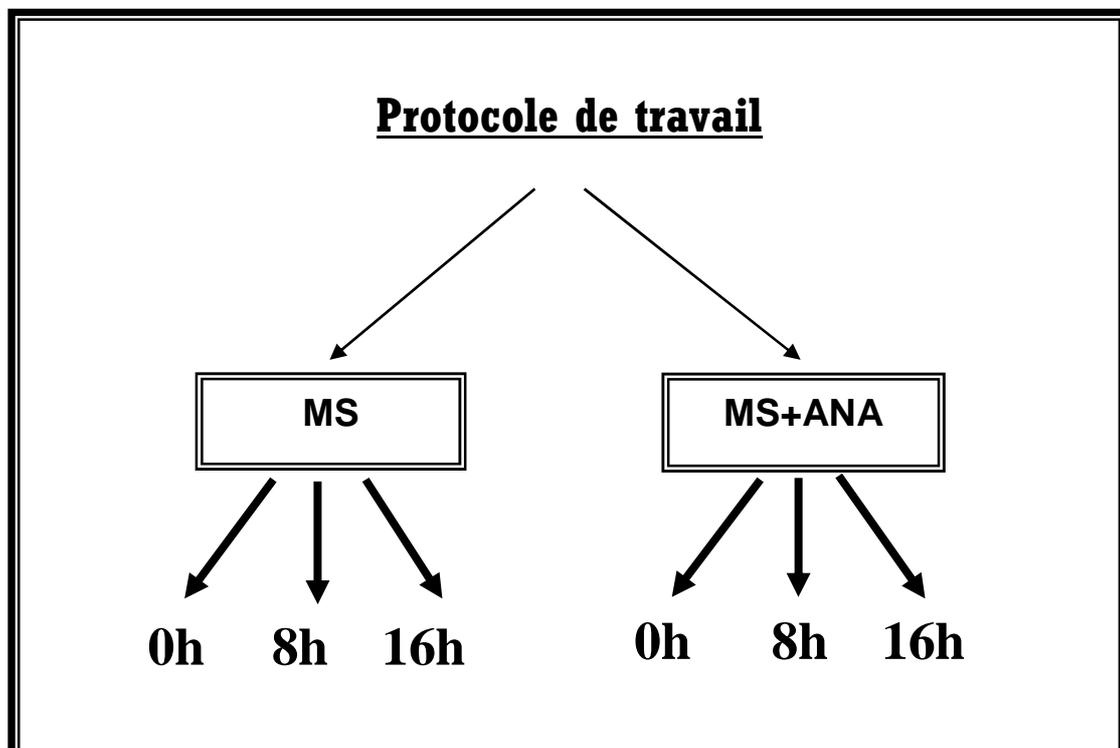


Schéma n°2 : Protocole expérimental pour la microtubérisation.

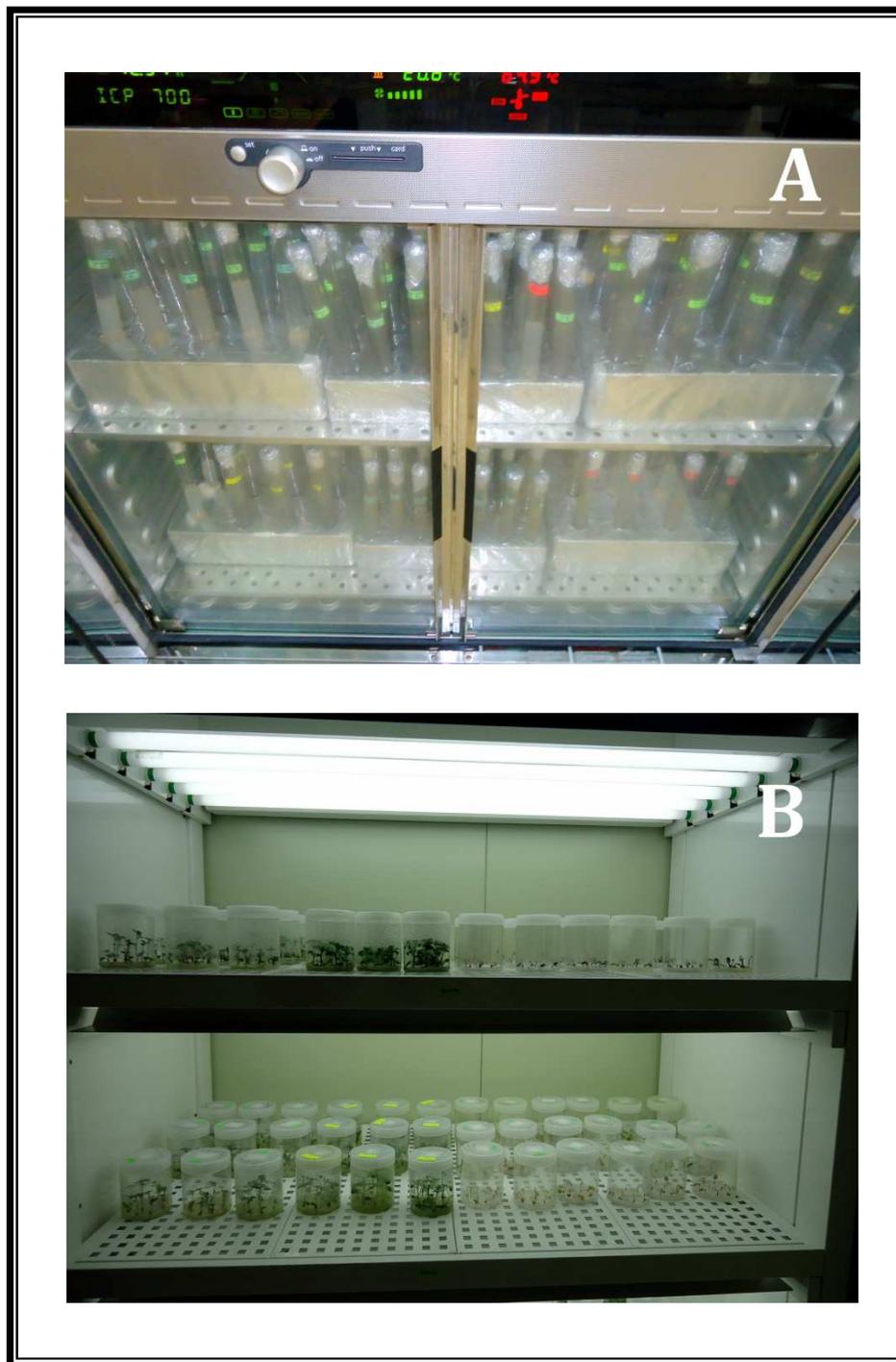


Figure n°16 : Incubation des explants de la pomme de terre. A : lors de la micropopagation.
B : lors de la microtubérisation.

II.2. Mesures effectuées

II.2.1. Micropropagation

Après développement, les mesures morphologiques effectuées sont: Le dénombrement qui a concerné les racines, les tiges et les feuilles. Par ailleurs, les autres mesures ont concerné la longueur des racines et de tiges.

II.2.2. Microtubérisation

Au cours de cette partie, on a retenu pour cette deuxième subculture le nombre de racines, de nœuds et de microtubercules par vitroplant. De plus des mesures sur certains paramètres ont été prises en considération à savoir:

- la longueur des racines et de la tige,
- le diamètre des microtubercules,
- le poids des racines et des microtubercules.

II.3. Analyse statistique des résultats

Une étude statistique comportant une analyse de la variance et le calcul de la moyenne, sont effectués par le logiciel SPSS version 8.0 et la comparaison des moyennes en des groupes homogènes à l'aide du logiciel STATISTICA version 6.0.

L'analyse statistique a porté sur la comparaison des différents traitements à l'aide d'une analyse de variance (ANOVA) à un seuil de 5%, suivie d'une comparaison des moyennes (Test de Newman et Keuls), et cela dans le cas où l'interaction entre les trois facteurs (Variété x Milieu x Photopériode) est significative. Cette analyse est portée sur l'ensemble des paramètres mesurés lors de la micropropagation et la microtubérisation.

Les résultats obtenus sont ensuite représentés sous forme de graphiques en fonction des variétés, des milieux et des photopériodes et cela à l'aide du logiciel EXCEL.

Résultats et Discussion

Résultats et Discussion

I. Micropropagation

Dans cette première partie d'expérimentation on a utilisé trois facteurs à savoir milieux, variétés et temps. Les milieux de culture utilisés totalise 40 milieux à base de cendres issus de l'incinération des déchets des végétaux tout en les comparant avec le milieu standard à base de produits chimique MS (Murashige et Skoog).

La durée optimale du développement de microboutures des deux variétés se situe entre 4 à 7 semaines selon le génotype expérimenté.

I.1. La rhizogénèse

I.1.1. Nombre de racines principales

L'enracinement c'est l'étape la plus importante dans la culture in vitro, car c'est l'étape qui assure l'amplification des explants, la réponse des explants est différente selon la variété et le milieu de culture utilisé. Le nombre de racine est très variable d'un milieu à l'autre et d'une variété à l'autre.

L'analyse de la variance indique des effets milieux, temps et interaction milieux x variétés très hautement significatifs par contre, l'effet des autres interactions n'a aucune incidence significative sur le nombre de racines principales. Ainsi pour le facteur variété ou on observe un effet non significatif (**Tab.11**). Cela nous conduit à dire que le nombre de racines principales est nettement influencé par les milieux en interaction avec le génotype et du temps et c'est le milieu qui en a plus d'influence par rapport au facteur temps.

Tableau n°11 : Analyse de la variance du nombre de racines principales.

	Somme des carrés	ddl	Moyenne des carrés	F	Signification
Milieu	1130,63	40	28,27	11,08	0,00
Variété	2,64	1	2,64	1,04	0,31
Temps	56,39	3	18,80	7,37	0,00
Milieu * variété	965,07	4	24,13	9,46	0,00
Milieu * temps	87,07	120	0,73	0,28	1,00
Variété * temps	1,82	3	0,61	0,24	0,87
Milieu * variété * temps	40,97	120	0,34	0,13	1,00

Les résultats moyens (**Tab.12**) enregistrés montrent qu'en application de milieu de culture de MS, aucune différence significative n'est notée entre les deux variétés testées pour le processus de la rhizogénèse. En effet, sous ces conditions de culture, le nombre de racines

principales formées est de 6.33 chez la variété *Désirée* et 4.67 racines chez *Spunta* noté pour la 4^{ème} semaine de culture.

Concernant les milieux de cultures confectionnés à partir des cendres, il se démontre clairement que celles issues du mélange ont permis des résultats moins convaincants. Cependant les données obtenues exposent que le nombre des racines formées sur ce milieu présentent des valeurs, dans certaines situations, inférieures par rapport au milieu de culture témoin et les autres milieux à base de cendres. Ainsi on note pour la dernière semaine de culture un nombre moyen de racines principales, équivalent à 2.33 chez la variété *Désirée* et il est de 2 chez *Spunta* (Tab.12).

Pour les autres milieux obtenus toujours à partir des cendres, il se démontre que leurs effets sur l'initiation et la formation des racines restent extrêmement lié à la nature du matériel végétal expérimenté. Parmi ces milieux, ceux issues des cendres des déchets d'aubergine, du coing, de la fève, du piment, du poivron et de la pomme de terre ont donné des résultats concluants.

D'une manière générale, la variété *Spunta* a manifesté des aptitudes rhizogéniques plus importantes que celles constatées chez *Désirée*. Ainsi, les cendres issues des déchets d'aubergine ont permis la formation d'un nombre moyen de 9 racines au cour de la 4^{ème} semaine pour la variété *Spunta*, alors que les cendres de fève ont permis la formation que de 6.67 racines chez la variété *Désirée* pour la même période (Fig.17).

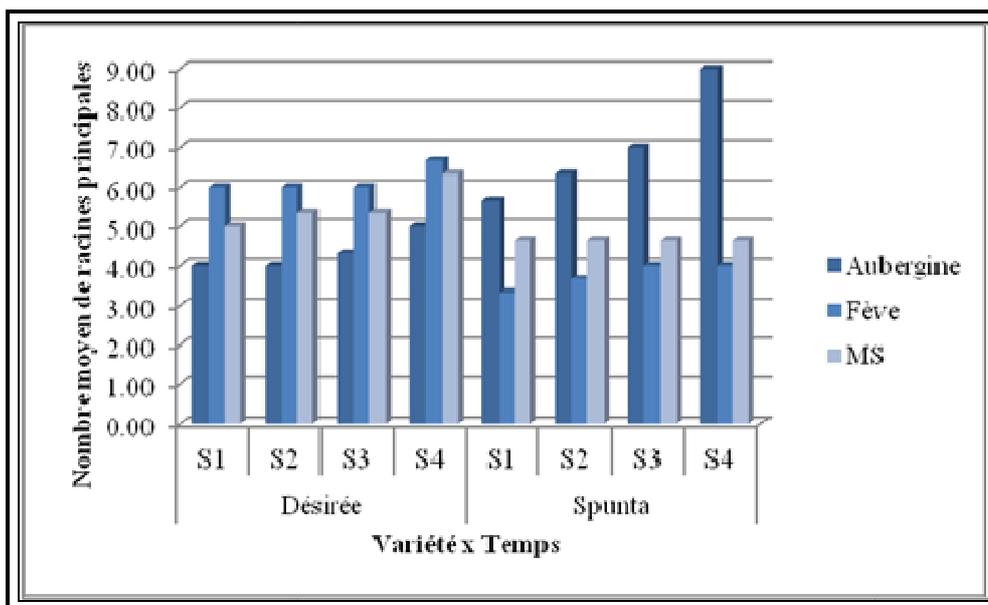


Figure n°17 : Evolution du nombre de racines principales des deux variétés en fonction du temps.

Pour, les milieux de culture élaborés à partir des cendres d'artichaut, de céleri, de chou-fleur, de fève et de pomme de terre ont permis la formation d'un nombre de racines principales élevé pour la variété *Désirée*. Cependant les milieux à base de cendres d'aubergine, de carotte, de kiwi, de navet, de poivron et de pomme ont marqué un haut nombre de racines principales durant toute la période de culture chez la variété *Spunta* (**Planche.1.2**).

A l'opposé, les milieux de culture à base des cendres de betterave, de cardon, de choux, de citron, de concombre, de courgette, de fenouil, de grenadine, d'haricot, de mandarine, d'oignon, de persil, de poire, de potiron et de tomate ont enregistré un faible nombre de racines principales. Toutefois, et comme il a été soulevé précédemment, les résultats enregistrés dépendent grandement de la nature des variétés mises en expérimentation. Parmi milieux, c'est ce de la betterave qui a enregistré le plus faible taux de rhizogenèse chez les deux variétés testées avec 2 racines (*Désirée*) et 1.67 racines (*Spunta*).

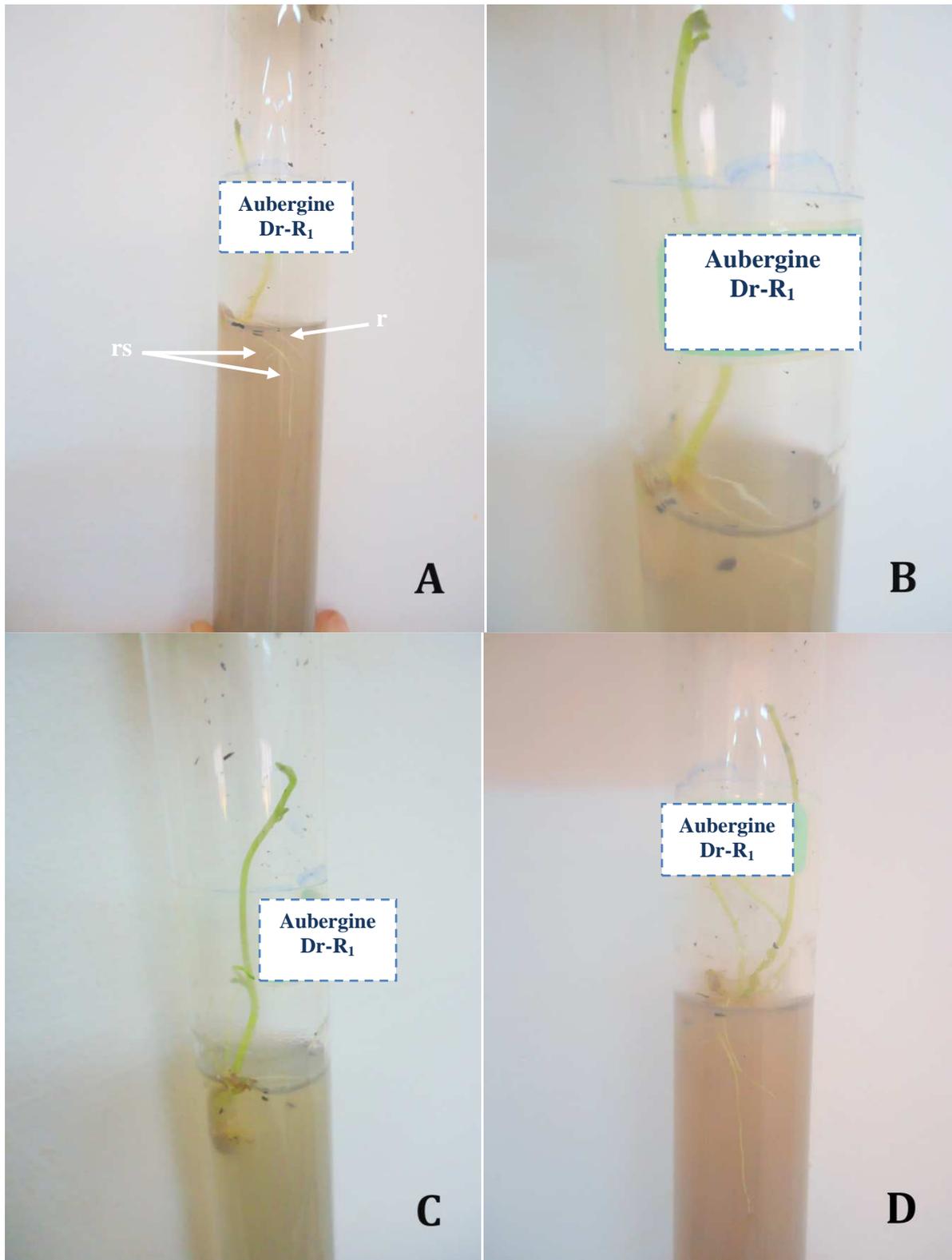


Planche n° 1.1 : La croissance de vitroplants du génotype *Désirée* durant toute la période d'incubation dans le milieu à base de cendres d'Aubergine « A S1, B S2, C S3, D S4 ». r : Formation de racines ; rs : Néoformation de racines secondaires.

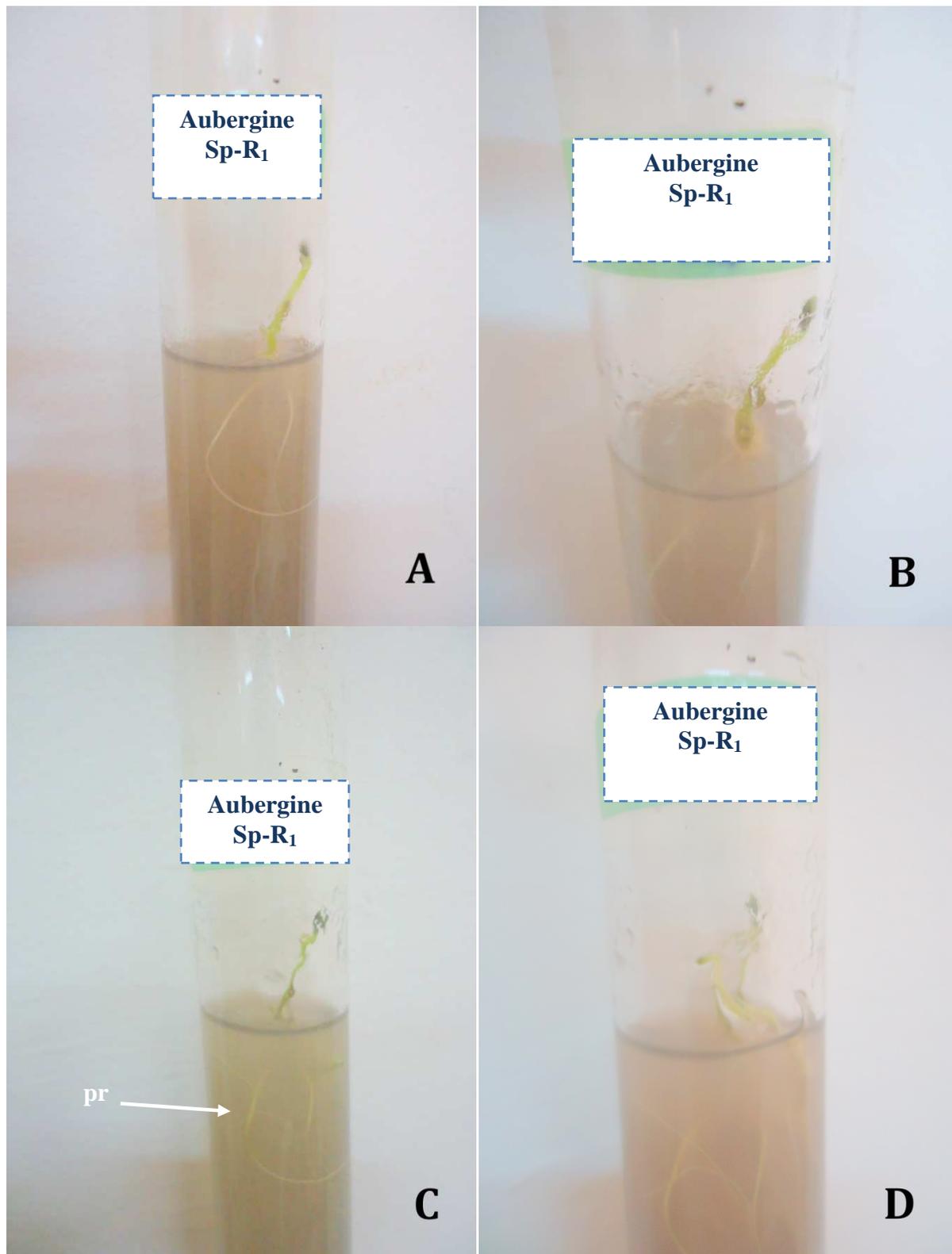


Planche n° 1.2 : La croissance de vitroplants du génotype *Spunta* durant toute la période d'incubation dans le milieu à base de cendres d'Aubergine « A S1, B S2, C S3, D S4 ». pr : Formation de plusieurs racines.

Tableau n°12 : L'effet des milieux sur le nombre de racines principales des deux variétés en fonction du temps.

Milieux	Désirée				Spunta			
	S1	S2	S3	S4	S1	S2	S3	S4
Ail	1,00	2,33	2,67	3,00	3,00	4,33	4,33	5,33
Artichaut	5,33	5,67	5,67	5,67	1,00	1,00	1,00	1,00
Aubergine	4,00	4,00	4,33	5,00	5,67	6,33	7,00	9,00
Banane	4,33	4,33	4,33	5,00	2,00	3,00	3,00	4,33
Betterave	2,33	3,33	3,33	3,33	0,67	2,33	2,33	2,67
Cardon	3,00	3,00	3,00	3,33	2,33	2,33	2,33	2,33
Carotte	3,67	3,67	3,67	3,67	5,33	5,67	5,67	6,00
Céleri	5,67	5,67	5,67	5,67	2,67	3,33	3,33	3,33
Chou-fleur	5,67	6,00	6,00	6,00	2,00	2,00	2,00	2,00
Choux	2,00	2,00	2,00	2,00	1,33	2,33	2,33	2,33
Citron	3,67	3,67	3,67	3,67	1,67	3,00	3,00	3,00
Coing	4,33	4,33	4,33	4,33	3,33	3,33	3,67	3,67
Concombre	0,33	1,33	1,67	2,00	1,67	1,67	1,67	1,67
Coriandre	1,00	1,33	1,33	1,33	4,67	4,67	4,67	5,00
Courgette	1,67	2,33	3,00	3,33	1,33	1,67	2,33	2,33
Epinard	0,00	2,00	2,33	2,67	0,67	3,33	3,67	5,00
Fenouil	3,33	3,33	3,33	3,33	2,00	2,00	2,00	2,00
Fève	6,00	6,00	6,00	6,67	3,33	3,67	4,00	4,00
Grenadine	2,67	2,67	2,67	2,67	1,33	1,67	1,67	1,67
Haricot	3,00	3,00	3,33	3,33	2,00	2,00	2,00	2,00
Kiwi	2,00	2,00	2,00	2,00	6,00	6,00	6,33	6,67
Laitue	2,67	4,00	4,00	4,00	1,33	1,67	1,67	1,67
Mandarine	2,67	2,67	2,67	2,67	3,33	3,33	3,33	3,33
Mélange	2,00	2,00	2,00	2,33	2,00	2,00	2,00	2,00
Melon	3,67	3,67	4,00	4,00	2,00	2,33	2,33	2,33
Menthe	1,67	2,33	2,33	2,33	2,33	3,67	3,67	4,00
MS	5,00	5,33	5,33	6,33	4,67	4,67	4,67	4,67
Navet	2,00	2,00	2,00	2,00	4,67	5,00	5,00	5,67
Oignon	2,33	2,33	2,33	2,33	1,67	1,67	1,67	1,67
Orange	2,67	2,67	2,67	2,67	4,00	4,00	4,00	4,00
Patate douce	1,33	1,33	1,33	1,33	3,33	4,00	4,00	4,67
Persil	2,00	2,00	2,00	2,00	1,33	1,67	2,33	2,33
Petit pois	2,67	3,00	3,33	3,67	4,67	4,67	4,67	4,67
Piment	4,00	4,00	4,00	4,00	3,33	3,67	3,67	4,00
Poire	3,00	3,00	3,33	3,33	1,33	1,33	1,33	1,33
Poivron	3,33	5,00	5,00	5,67	5,33	6,00	6,67	6,67
Pomme	2,33	2,33	2,67	3,33	6,67	6,67	6,67	6,67
Pomme de terre	4,67	5,00	5,33	5,67	4,00	4,00	5,00	5,00
Potiron	0,33	1,33	2,00	2,00	2,00	2,67	2,67	2,67
Tomate	1,67	1,67	1,67	1,67	0,67	1,67	2,67	2,67
Topinambour	2,00	2,00	2,00	2,00	4,00	4,33	4,33	4,33

I.1.2. Longueur de racines principales

L'analyse de la variance montre un effet très hautement significatif pour les effets milieux, variétés et temps. Il en est de même pour l'effet d'interaction milieux x variétés et il est faiblement significatif pour l'interaction variétés x temps. Cependant les interactions entre les deux effets milieux x temps et l'effet d'interaction entre milieux, variétés et temps n'ont aucun effet significatif sur la longueur de la racine principale (**Tab.13**). Ceci peut s'expliquer par le fait que la longueur du système racinaire est beaucoup plus influencée par les milieux et le génotype testés que par le temps.

Tableau n°13 : Analyse de la variance de la longueur de racines principales.

	Somme des carrés	ddl	Moyenne des carrés	F	Signification
Milieu	2077,59	40	51,94	18,46	0,00
Variété	84,59	1	84,59	30,06	0,00
Temps	443,32	3	147,77	52,52	0,00
Milieu * variété	1432,16	40	35,80	12,72	0,00
Milieu * temps	132,55	120	1,10	0,39	1,00
Variété * temps	20,17	3	6,72	2,39	0,07
Milieu * variété * temps	142,74	120	1,19	0,42	1,00

Les données moyennes obtenues pour l'ensemble des solutions (**Tab.14**), montrent que pour le milieu standard MS, la longueur moyenne de racines formées dans la dernière semaine de culture est de 5.17 cm chez la variété *Désirée* et 3.47 cm chez la variété *Spunta*. A partir de ces constatations, les longueurs obtenues par culture dans des milieux à solutions reconstituées marquent des résultats qui fluctuent considérablement. Parmi ces milieux, c'est ceux confectionnés à partir des cendres des déchets du cardon qui a favorisé la croissance en longueur la plus élevée de racines durant toute la période d'incubation avec une valeur moyenne de 9.40 cm à la 4^{ème} semaine chez la variété *Spunta* (**Fig.18**), et les cendres de poivron qui a atteint une longueur moyenne de 9 cm à la 4^{ème} semaine chez la variété *Désirée* (**Fig.19**), ce qui représente des longueurs plus importantes que celles élaborées en milieu nutritif standard.

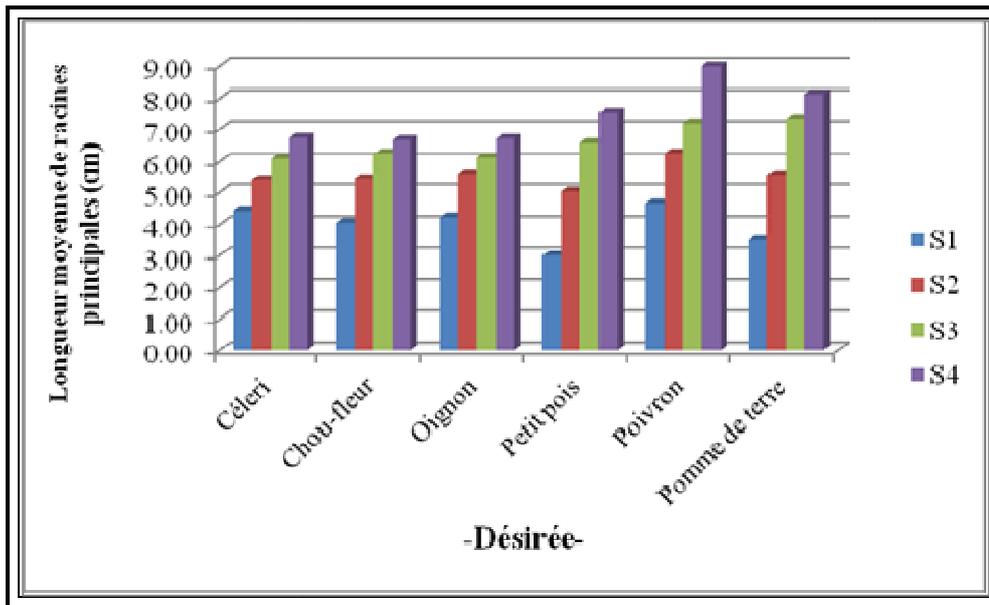


Figure n°18 : Evolution de la longueur moyenne de racines principales durant la période de culture chez *Désirée* en fonction du temps.

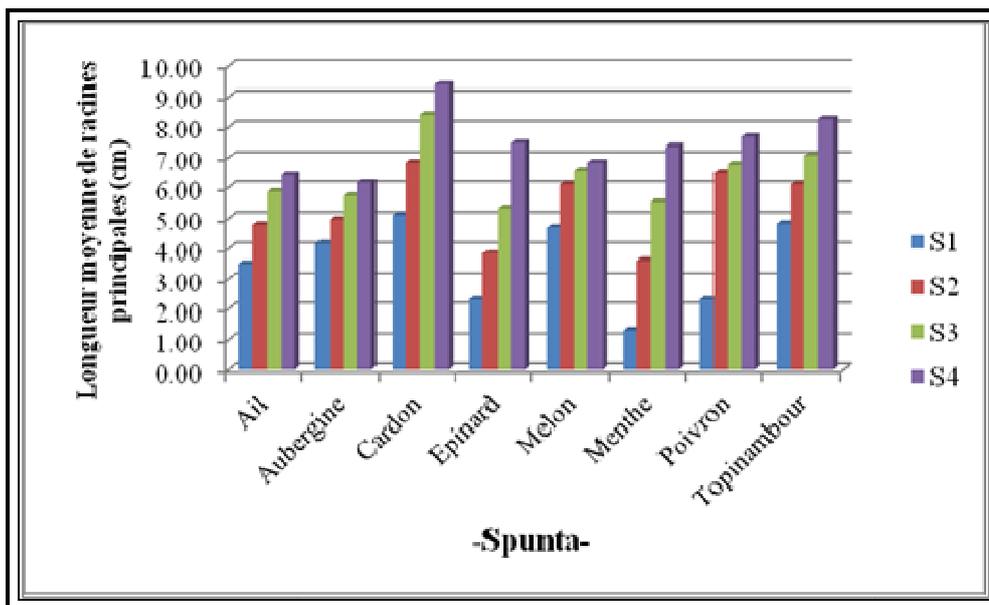


Figure n°19 : Evolution de la longueur moyenne de racines principales durant la période de culture chez *Spunta* en fonction du temps.

A l'opposé, les milieux confectionnés par des cendres de déchets de choux, de concombre, d'haricot, de persil et de tomate marquent de très faibles valeurs d'augmentation de la longueur de racines en les comparants avec le milieu nutritif MS.

Certains milieux nutritifs à base de cendres ont enregistré des résultats de croissance très divergents chez les deux variétés testées. Ainsi le céleri, le chou-fleur, la fève, le petit pois, le poivron et le topinambour ont provoqué une certaine croissance durant la 4^{ème} semaine avec respectivement 6.73, 6.67, 5.93, 7.53, 9 et 5 cm chez *Désirée*, tandis que chez les explants issus de la variété *Spunta* une croissance est induite à la 4^{ème} semaine d'incubation respectivement de 5.57, 5.27, 5.33, 6.03, 7.67 et 8.27 (**Tab.14**).

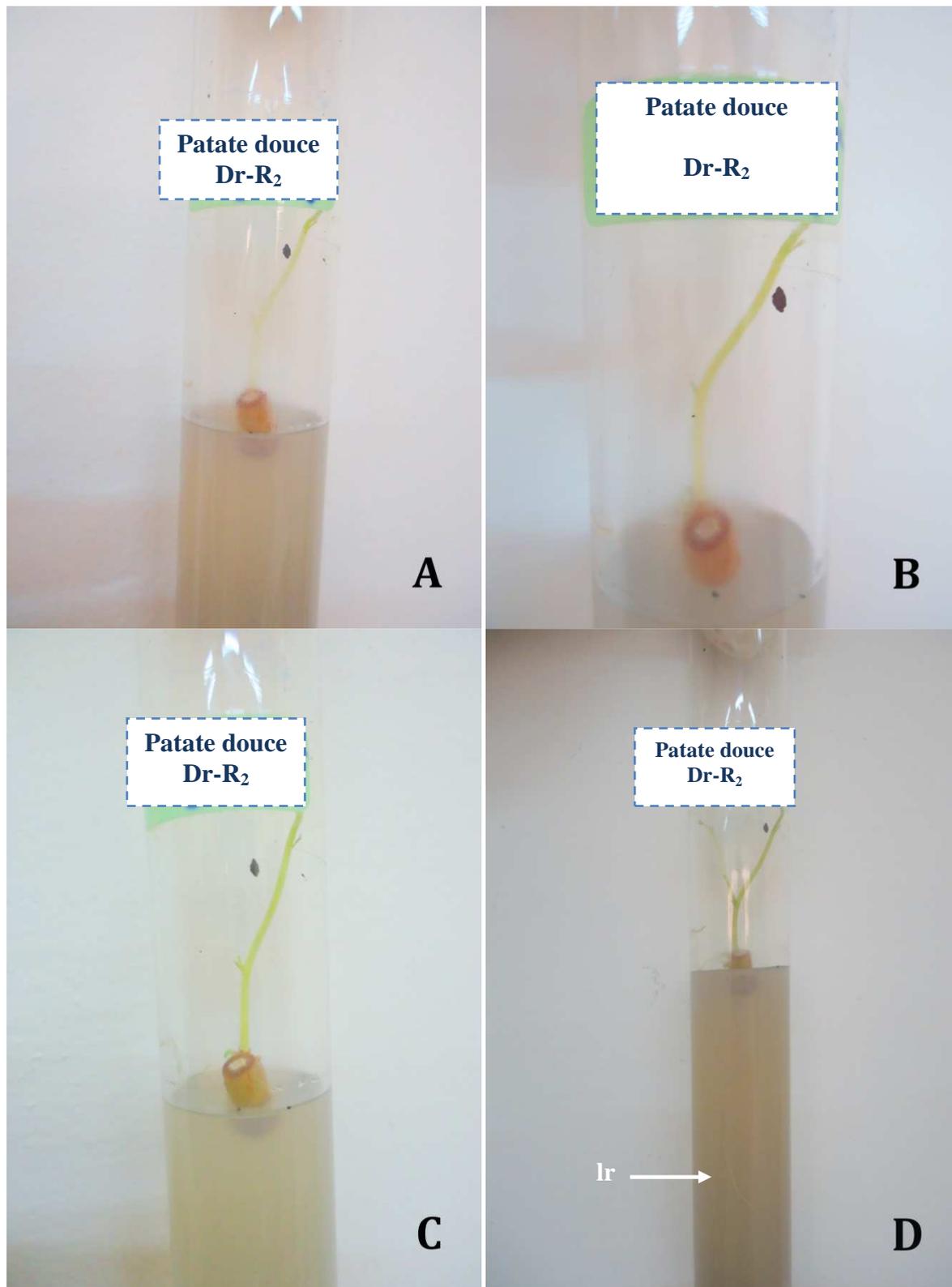


Planche n° 2.1 : La croissance de vitroplants du génotype *Désirée* durant toute la période d'incubation dans le milieu à base des cendres de Patate douce « A S1, B S2, C S3, D S4 ». lr : Expression de la racine en longueur.

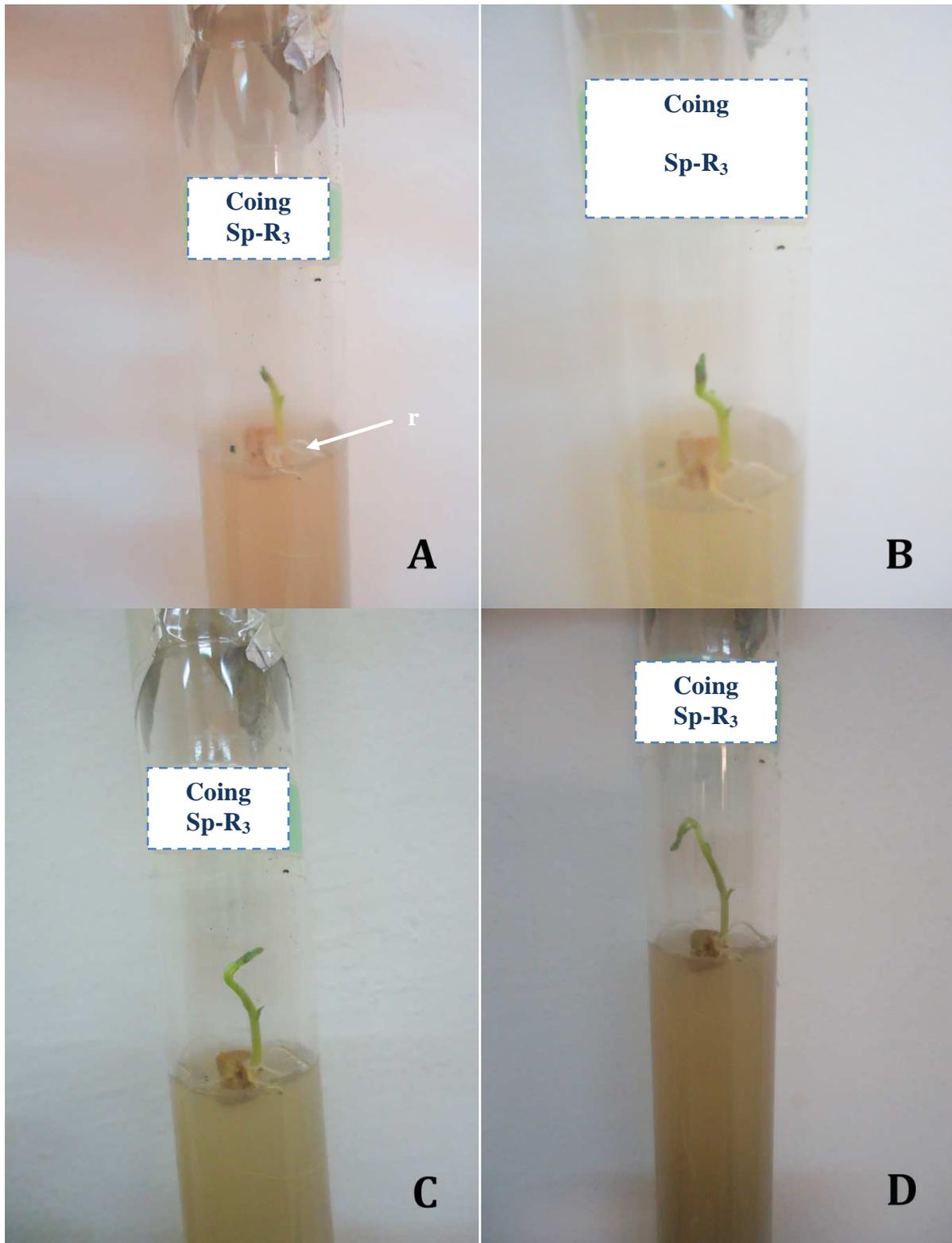


Planche n° 2.2 : La croissance de vitroplants du génotype *Spunta* durant toute la période d'incubation dans le milieu à base de cendres de coing « A S1, B S2, C S3, D S4 ». r : Formation de racines.

Tableau n°14 : Effet des milieux sur la longueur de racines principales des deux variétés en fonction du temps.

Milieux	Désirée				Spunta			
	S1	S2	S3	S4	S1	S2	S3	S4
Ail	1,33	1,60	1,83	2,00	3,50	4,80	5,87	6,43
Artichaut	2,80	3,33	3,93	5,00	3,07	4,23	4,57	5,17
Aubergine	2,33	2,53	3,77	3,77	4,17	4,97	5,73	6,17
Banane	3,03	3,40	3,53	3,60	0,93	0,97	1,40	1,40
Betterave	1,27	1,37	1,50	1,70	0,03	1,40	2,00	2,37
Cardon	1,93	2,20	3,10	3,33	5,10	6,83	8,40	9,40
Carotte	1,83	2,07	2,57	2,70	3,53	4,17	4,37	4,53
Céleri	4,43	5,40	6,10	6,73	1,83	4,10	4,63	5,57
Chou-fleur	4,07	5,43	6,27	6,67	4,50	4,93	4,93	5,27
Choux	0,27	0,27	0,30	0,40	0,10	0,17	0,27	1,83
Citron	2,87	3,20	3,27	3,40	1,07	1,13	1,20	1,60
Coing	1,27	1,87	1,87	1,87	2,50	4,10	4,73	5,33
Concombre	0,17	0,63	1,07	1,53	0,17	0,20	0,93	1,77
Coriandre	0,50	0,77	1,43	2,07	2,67	3,50	3,90	4,33
Courgette	0,17	0,17	0,40	0,47	0,43	0,97	3,03	3,37
Epinard	0,00	0,87	1,33	1,90	2,33	3,83	5,33	7,47
Fenouil	3,40	4,63	5,83	6,40	0,10	0,10	0,20	0,50
Fève	2,83	4,13	5,00	5,93	3,33	4,57	5,03	5,33
Grenadine	1,90	2,03	2,20	2,27	0,13	0,17	0,27	0,40
Haricot	1,17	1,27	1,37	1,43	0,10	0,27	0,37	0,77
Kiwi	3,17	4,00	4,13	4,57	3,17	4,93	5,40	5,83
Laitue	1,93	2,20	2,57	3,10	0,77	0,77	0,90	1,17
Mandarine	0,70	1,00	1,87	2,13	4,00	4,60	4,93	5,43
Mélange	1,83	2,83	2,87	3,83	0,43	1,40	1,80	2,53
Melon	2,90	3,67	4,33	5,00	4,70	6,10	6,57	6,83
Menthe	0,23	0,23	0,23	0,33	1,30	3,60	5,53	7,37
MS	2,33	3,60	4,17	5,17	1,87	2,57	2,57	3,47
Navet	0,20	0,20	0,23	0,33	4,23	6,17	7,43	8,30
Oignon	4,23	5,60	6,13	6,70	1,57	1,93	1,93	2,93
Orange	0,80	1,00	1,13	1,13	2,50	3,23	4,03	4,17
Patate douce	3,50	4,30	4,57	5,20	1,87	2,97	3,23	4,50
Persil	0,30	0,37	0,37	0,53	0,77	1,03	1,67	2,33
Petit pois	3,00	5,03	6,57	7,53	4,80	5,53	5,77	6,03
Piment	2,33	3,13	3,57	4,00	3,40	4,23	4,63	4,90
Poire	1,50	1,70	1,80	2,80	1,83	3,23	4,03	4,83
Poivron	4,67	6,27	7,20	9,00	2,33	6,50	6,77	7,67
Pomme	2,50	3,50	3,93	4,37	2,97	4,90	5,33	5,67
Pomme de terre	3,50	5,57	7,33	8,13	1,33	1,77	2,00	2,00
Potiron	0,57	0,80	0,97	1,23	2,43	3,83	4,63	5,63
Tomate	1,03	1,13	1,20	1,43	0,50	0,83	1,53	2,40
Topinambour	3,50	3,70	4,60	5,00	4,83	6,10	7,07	8,27

I.1.3. Nombre de racines secondaires

L'analyse de variance des effets milieux et temps nous indique un effet très hautement significatif sur le nombre de racines secondaires. Il en est de même pour les effets d'interactions milieux x temps, milieux x variétés et variétés x temps. (**Tab.15**), Ce qui signifie que le nombre de racines secondaires est variable sur le temps et surtout selon les différents types de milieu.

Tableau n°15 : Analyse de la variance du nombre de racines secondaires.

	Somme des carrés	ddl	Moyenne des carrés	F	Signification
Milieu	784,74	40	19,62	11,02	0,00
Variété	0,49	1	0,49	0,28	0,60
Temps	83,34	3	27,78	15,60	0,00
Milieu * variété	493,01	40	12,33	6,92	0,00
Milieu * temps	373,33	120	3,11	1,75	0,00
Variété * temps	12,26	3	4,09	2,30	0,08
Milieu * variété * temps	144,57	120	1,20	0,68	1,00

Les résultats moyens obtenus (**Tab.16**), montrent que le milieu standard MS a permis la formation d'un nombre moyen de racines secondaires équivalent à 7.33 chez la variété *Désirée*. Tandis que chez la variété *Spunta*, ce milieu de culture MS a provoqué une rhizogenèse secondaire de 3.33. Alors que le milieu de culture à base de cendres de poivron a exprimé en S4 un haut nombre moyen de racines secondaires chez les deux génotypes testés avec 8.67 pour *Désirée* et 7 pour *Spunta* (**Fig.20**).

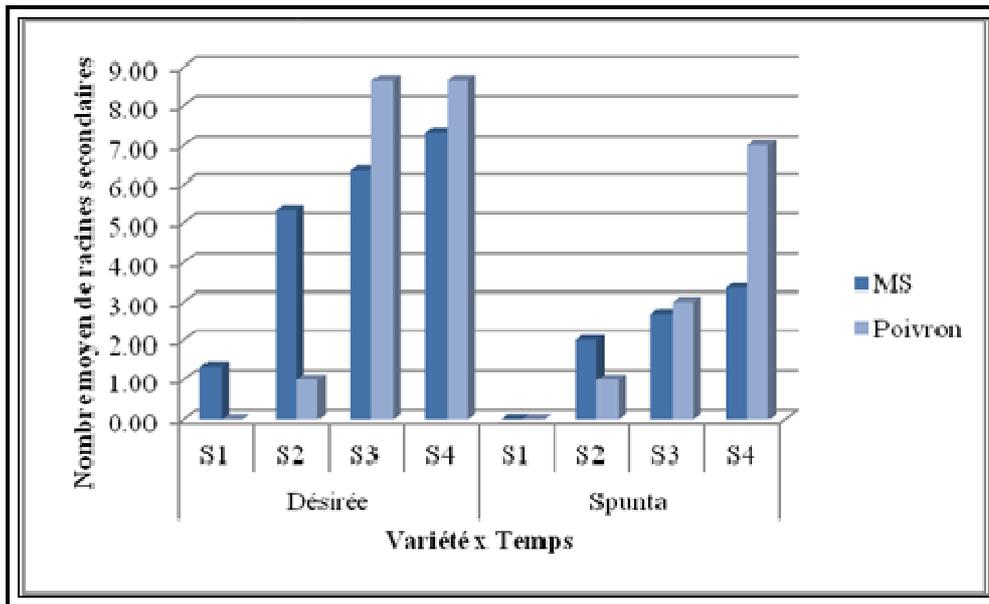


Figure n°20 : Evolution du nombre de racines secondaires des deux variétés en fonction du temps.

Les résultats obtenus par utilisation des milieux obtenus à partir des autres cendres des différents déchets, s'avèrent très faibles. L'exception est notée aux explants conduits sur support nutritif issu des déchets de l'ail, d'aubergine de coing, de kiwi, de piment et de pomme qui ont provoqué l'obtention d'un nombre de racines secondaires remarquables durant la durée d'incubation des deux variétés expérimentées (**Tab.16**).

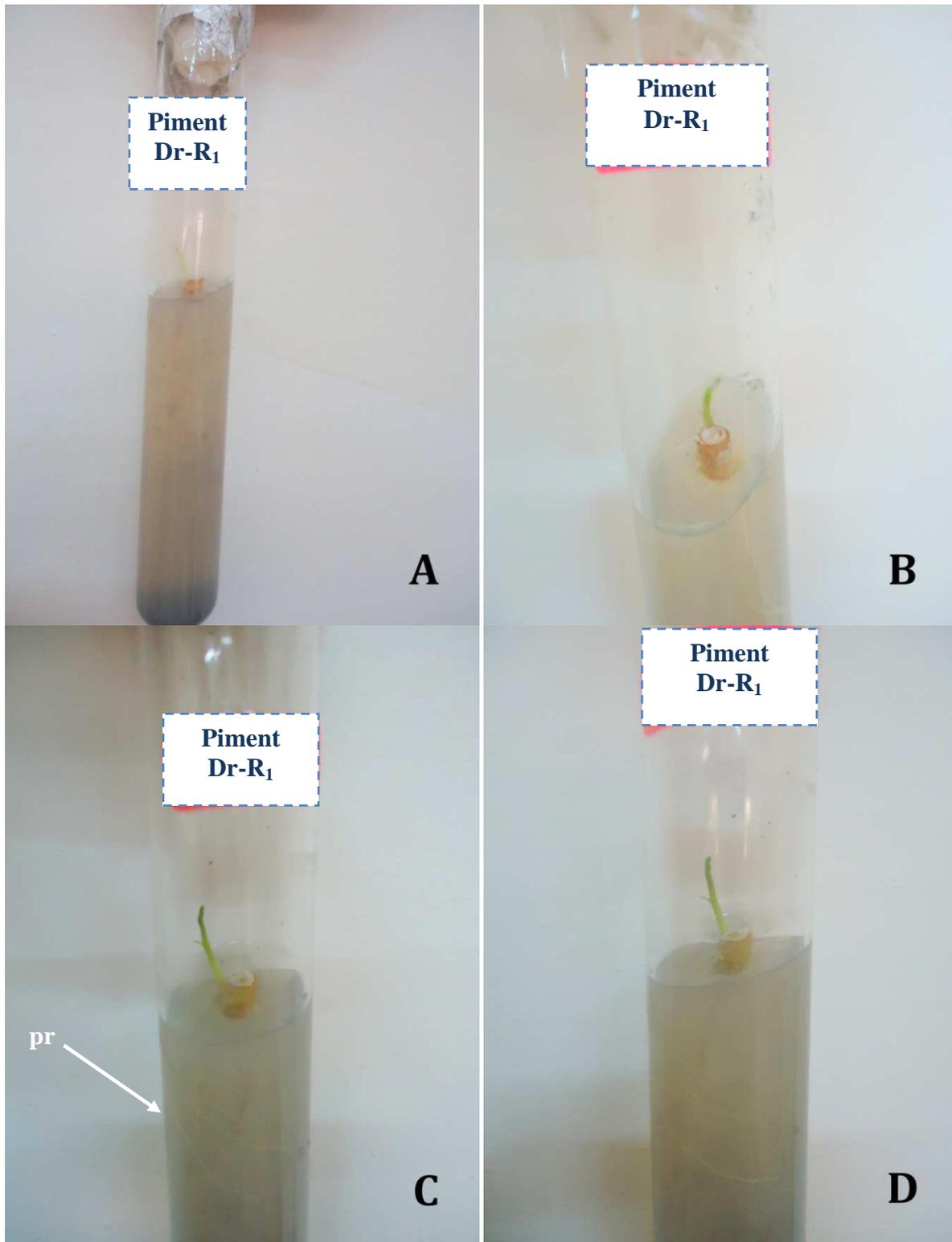


Planche n° 3.1 : La croissance de vitroplants du génotype *Désirée* durant toute la période d'incubation dans le milieu à base des cendres de Piment « A S1, B S2, C S3, D S4 ». pr : Formation de plusieurs racines.

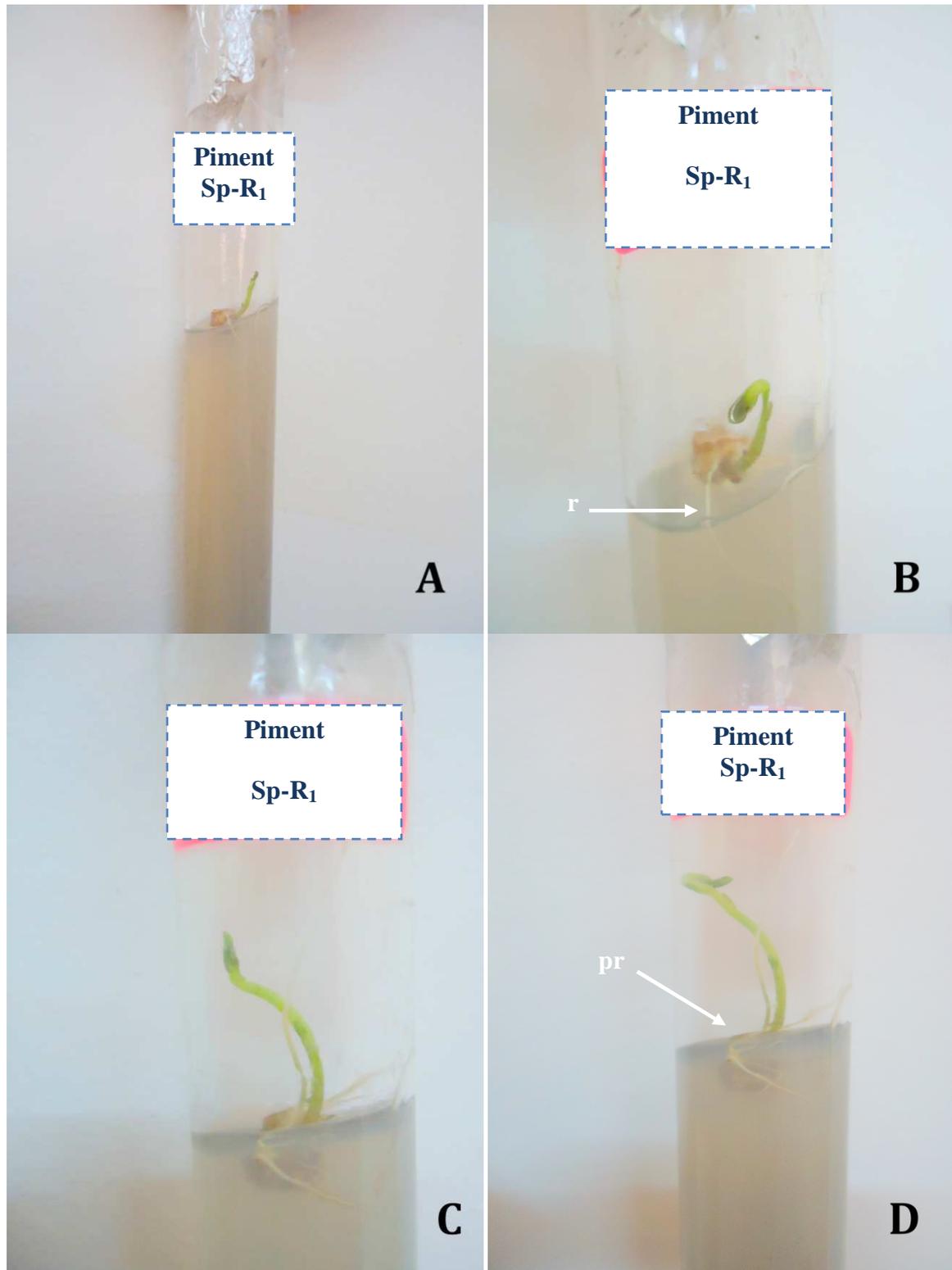


Planche n° 3.2 : La croissance de vitroplants du génotype *Spunta* durant toute la période d'incubation dans le milieu à base de cendres de Piment « A S1, B S2, C S3, D S4 ». r : Formation de racines; pr : Formation de plusieurs racines.

Tableau n°16 : Effet des milieux sur le nombre de racines secondaires des deux variétés en fonction du temps.

Milieux	Désirée				Spunta			
	S1	S2	S3	S4	S1	S2	S3	S4
Ail	0,00	0,33	0,33	0,67	0,00	2,00	3,33	5,00
Artichaut	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Aubergine	1,00	1,00	1,33	1,33	0,00	0,00	1,33	4,33
Banane	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Betterave	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Cardon	0,00	0,00	0,00	0,00	1,67	2,33	4,00	6,67
Carotte	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Céleri	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Chou-fleur	0,67	0,67	1,00	1,33	0,00	0,00	0,00	0,00
Choux	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Citron	0,33	0,33	0,33	0,33	0,00	0,00	0,00	0,00
Coing	2,33	2,33	2,33	2,33	0,00	0,00	0,33	0,67
Concombre	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Coriandre	0,00	0,00	0,00	0,33	0,67	0,67	0,67	0,67
Courgette	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Epinard	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Fenouil	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Fève	0,00	1,67	1,67	1,67	0,00	0,00	0,00	0,00
Grenadine	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Haricot	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Kiwi	4,33	4,67	4,67	5,67	0,00	0,33	0,33	0,33
Laitue	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Mandarine	0,00	0,00	0,00	0,00	0,33	0,67	1,00	1,00
Mélange	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Melon	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,67	0,67	0,67
Menthe	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	2,00
MS	1,33	5,33	6,33	7,33	0,00	2,00	2,67	3,33
Navet	0,00	0,00	0,00	0,00	1,33	1,33	1,67	2,33
Oignon	0,67	0,67	0,67	0,67	0,00	0,00	0,00	0,00
Orange	0,00	0,33	0,33	0,33	1,67	1,67	1,67	1,67
Patate douce	0,00	0,00	0,00	0,67	2,00	2,00	2,00	3,33
Persil	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	1,33
Petit pois	0,00	0,00	1,00	1,67	0,00	0,00	0,00	0,00
Piment	0,00	0,00	0,33	0,33	2,00	2,00	2,00	3,33
Poire	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	1,33	1,67
Poivron	0,00	1,00	8,67	8,67	0,00	1,00	3,00	7,00
Pomme	1,33	1,33	1,33	2,00	0,00	0,00	0,33	0,67
Pomme de terre	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	1,00	1,00	1,00
Potiron	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,33	2,00	4,67
Tomate	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Topinambour	0,00	0,00	0,33	0,33	0,00	0,00	0,33	1,33

I.2. La caulogénèse

I.2.1. Le nombre de tiges

L'analyse de la variance nous montre des effets milieux, variétés et temps et l'interaction entre milieux et variétés très hautement significatifs et des effets d'interactions milieux, variétés et temps et l'interaction entre milieux et temps non significatifs. Par contre, l'interaction variétés et temps révèle une action significative (**Tab.17**), ce qui indique que le nombre de tiges est influencée par le génotype testé et les milieux utilisés.

Tableau n°17 : Analyse de la variance du nombre de tiges.

	Somme des carrés	ddl	Moyenne des carrés	F	Signification
Milieu	57,67	40	1,44	4,86	0,00
Variété	15,88	1	15,88	53,51	0,00
Temps	34,27	3	11,42	38,50	0,00
Milieu * variété	68,66	40	1,72	5,78	0,00
Milieu * temps	27,19	120	0,23	0,76	0,97
Variété * temps	2,60	3	0,87	2,92	0,03
Milieu * variété * temps	21,36	120	0,18	0,60	1,00

Selon les résultats obtenus (**Tab.18**), le milieu MS standard utilisé a provoqué une caulogénèse chez les deux variétés testées, avec un nombre moyen de 3.67 chez *Désirée* et 2.67 chez *Spunta*. A partir de ce milieu de référence les autres milieux ont engendré des formations très variables de tiges (**Fig.21**).

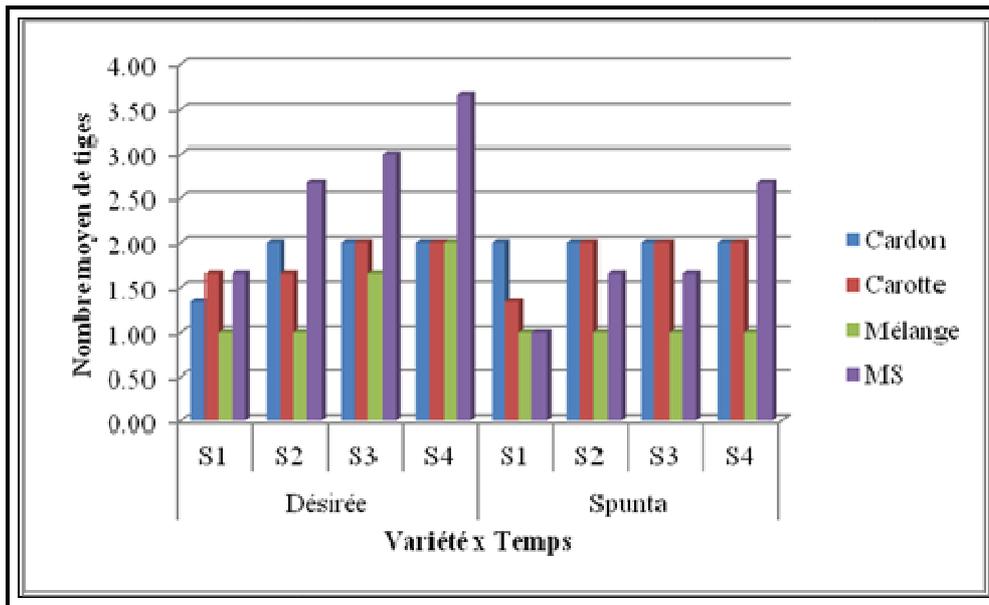


Figure n°21 : Evolution du nombre de tiges des deux variétés en fonction du temps.

Chez la variété *Désirée* les milieux obtenus à partir des cendres d’artichaut, d’aubergine, de laitue, de poivron, et de potiron ont provoqué la formation d’un nombre de tiges, conséquent avec celui constaté pour le milieu MS. Dans ce contexte, on constate que le milieu issu du poivron a donné les meilleurs résultats avec une valeur moyenne de 3.33 tiges (Fig.22).

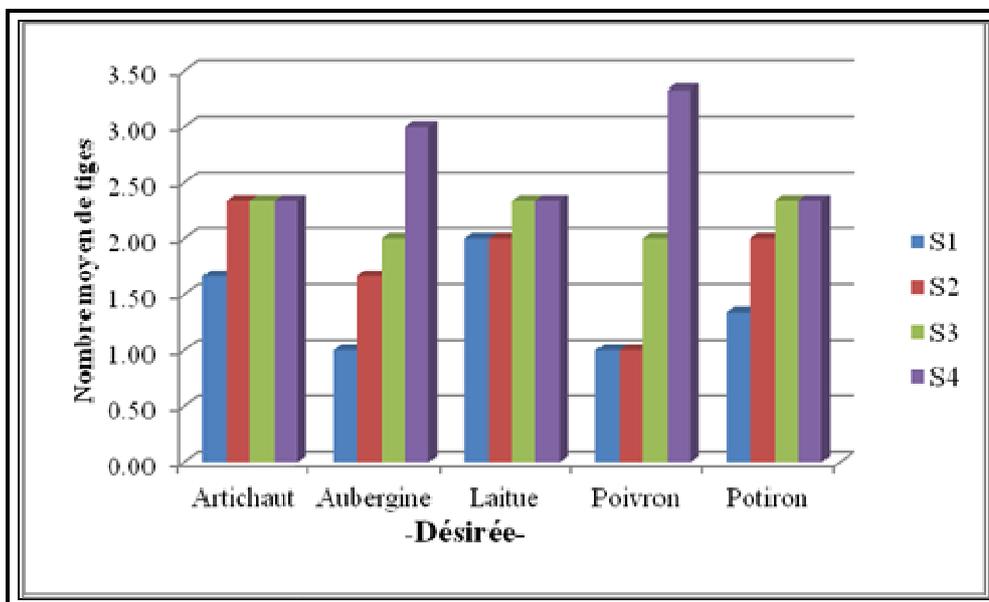


Figure n°22 : Evolution du nombre de tiges formées durant la période de culture chez *Désirée* en fonction du temps.

Chez la variété *Spunta*, ce sont les milieux confectionnés par les déchets du cardon, de la carotte, des épinards, des oignons et de la pomme qui ont initié les meilleurs résultats durant la période d'essai. Les cendres des épinards et des oignons qui ont enregistré le meilleur nombre moyen de tige qui est presque identique à celui de MS avec une valeur moyenne de 2.33 tiges (**Fig.23**).

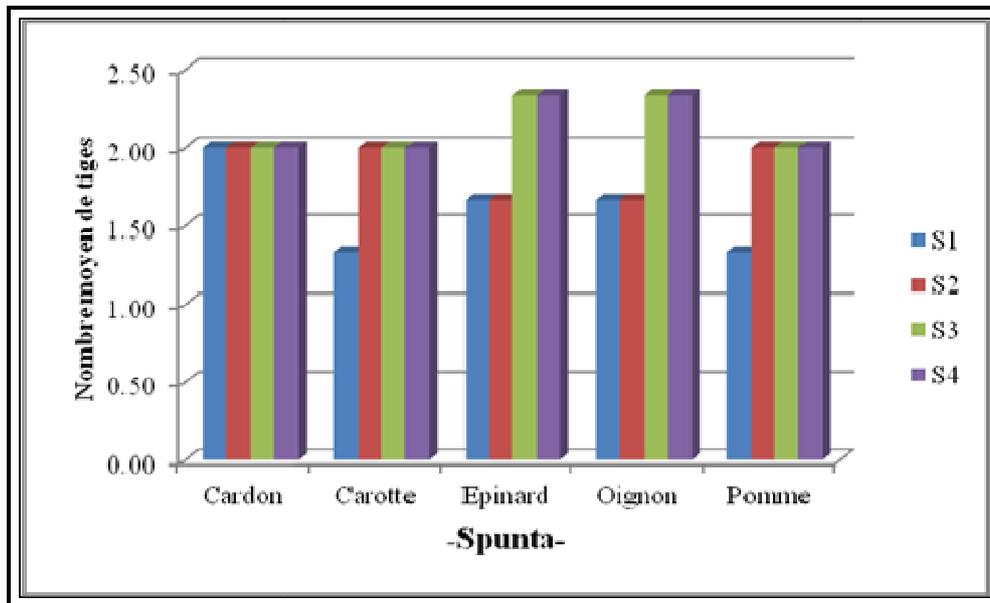


Figure n°23 : Evolution du nombre moyen de tiges formées durant la période de culture chez *Spunta* en fonction du temps.

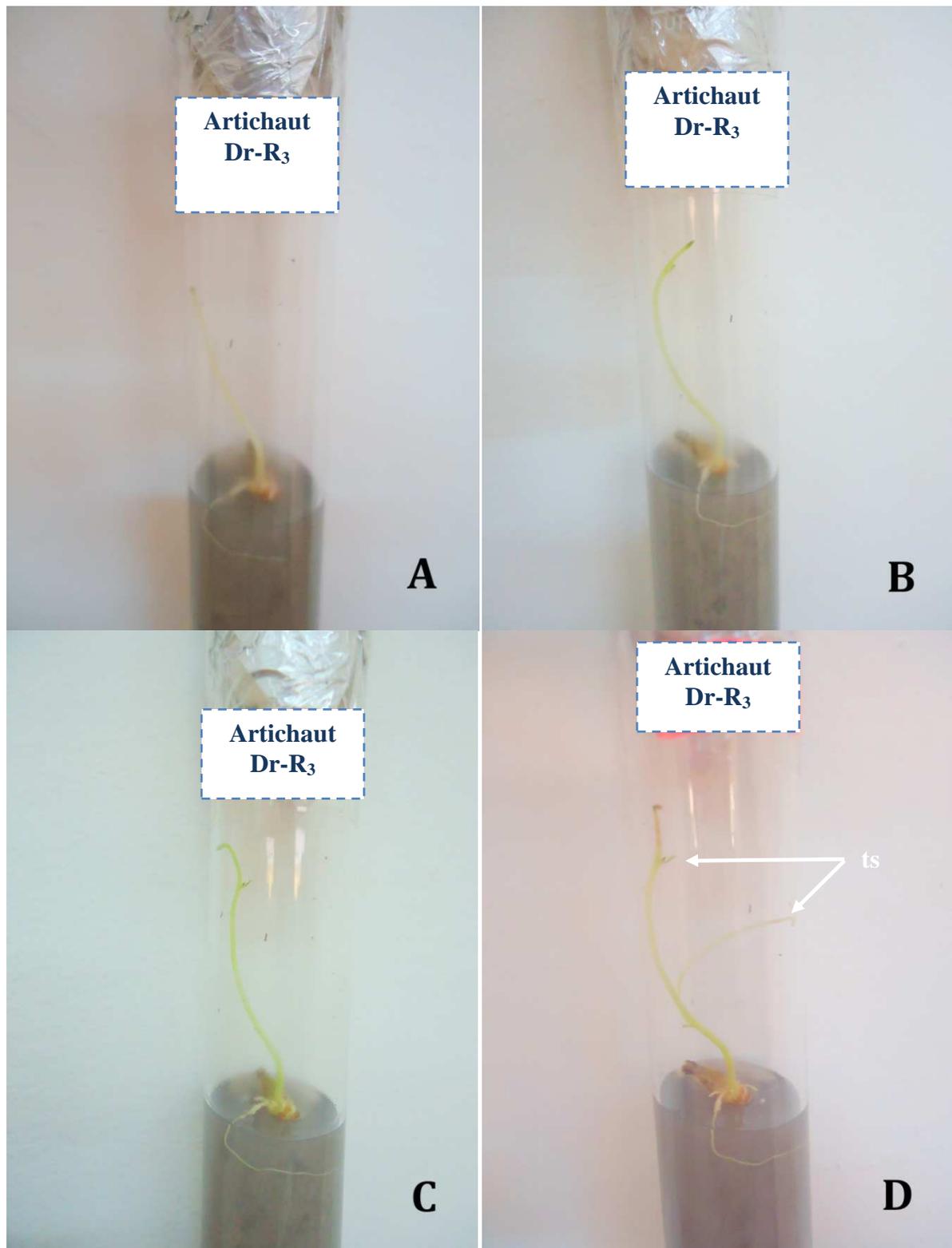


Planche n° 4.1 : La croissance de vitroplants du génotype *Désirée* durant toute la période d'incubation dans le milieu à base des cendres d'Artichaut « A S1, B S2, C S3, D S4 ». ts : Néof ormation de tiges secondaires.

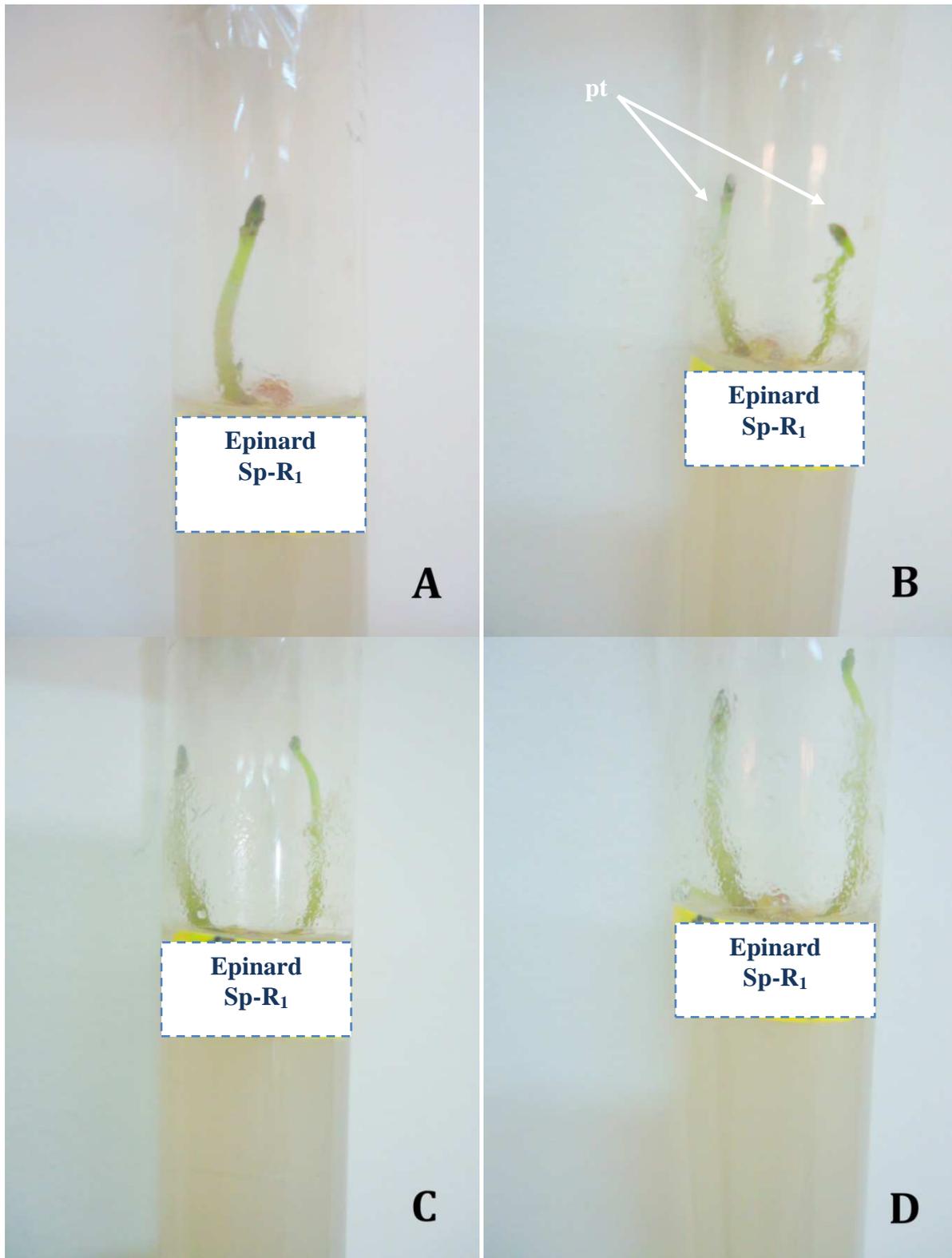


Planche n° 4.2 : La croissance de vitroplants du géotype *Spunta* durant toute la période d'incubation dans le milieu à base de cendres d'Epinard « A S1, B S2, C S3, D S4 ». pt : Néof ormation de plusieurs tiges.

Tableau n°18 : Effet des milieux sur le nombre de tiges des deux variétés en fonction du temps.

Milieux	Désirée				Spunta			
	S1	S2	S3	S4	S1	S2	S3	S4
Ail	1,33	1,33	1,33	1,33	1,33	1,33	1,67	2,33
Artichaut	1,67	2,33	2,33	2,33	1,00	1,00	1,00	1,00
Aubergine	1,00	1,67	2,00	3,00	1,00	1,00	1,67	1,67
Banane	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,33	1,33	1,33
Betterave	1,00	1,67	1,67	2,33	1,00	1,00	1,00	1,67
Cardon	1,33	2,00	2,00	2,00	2,00	2,00	2,00	2,00
Carotte	1,67	1,67	2,00	2,00	1,33	2,00	2,00	2,00
Céleri	1,00	1,33	1,67	1,67	1,00	1,33	1,33	1,67
Chou-fleur	2,00	2,00	2,00	2,00	1,00	1,00	1,00	1,00
Choux	1,00	1,67	1,67	1,67	0,33	1,00	1,00	1,33
Citron	1,67	1,67	1,67	1,67	0,67	1,00	1,00	1,00
Coing	1,33	1,67	2,00	2,00	0,67	1,00	1,33	1,33
Concombre	0,67	1,00	1,00	1,00	0,67	0,67	1,00	1,00
Coriandre	1,00	1,00	1,00	1,33	1,33	1,33	1,33	1,33
Courgette	1,00	1,00	1,00	1,67	1,00	1,33	1,33	2,33
Epinard	0,67	1,00	1,67	2,00	1,67	1,67	2,33	2,33
Fenouil	1,00	1,67	1,67	2,00	1,00	1,00	1,00	1,00
Fève	1,00	1,67	1,67	1,67	1,33	1,67	1,67	1,67
Grenadine	2,00	2,00	2,00	2,00	0,67	1,00	1,00	1,00
Haricot	1,00	1,33	1,67	2,00	1,00	1,00	1,00	1,00
Kiwi	1,67	2,00	2,00	2,00	1,33	1,33	1,33	1,33
Laitue	2,00	2,00	2,33	2,33	1,33	1,33	1,33	1,33
Mandarine	1,00	1,00	1,33	1,33	1,00	1,00	1,33	1,33
Mélange	1,00	1,00	1,67	2,00	1,00	1,00	1,00	1,00
Melon	1,33	1,67	1,67	1,67	1,33	1,33	1,33	1,33
Menthe	1,67	1,67	1,67	2,67	1,00	1,00	1,00	1,00
MS	1,67	2,67	3,00	3,67	1,00	1,67	1,67	2,67
Navet	1,00	1,33	1,33	1,33	1,33	2,00	2,00	2,00
Oignon	1,00	1,00	1,00	1,00	1,67	1,67	2,33	2,33
Orange	0,67	0,67	1,00	1,33	1,33	1,33	1,33	1,67
Patate douce	1,00	1,67	1,67	2,00	1,67	1,67	1,67	1,67
Persil	1,00	1,33	1,33	1,33	1,00	1,33	1,67	1,67
Petit pois	1,00	1,33	1,67	1,67	1,00	1,00	1,00	1,00
Piment	1,00	1,67	1,67	1,67	1,00	1,00	1,00	1,00
Poire	1,00	1,33	2,00	2,00	1,00	1,00	1,00	1,67
Poivron	1,00	1,00	2,00	3,33	1,67	1,67	1,67	1,67
Pomme	1,33	1,33	1,33	1,33	1,33	2,00	2,00	2,00
Pomme de terre	2,00	2,00	2,00	2,00	1,00	1,00	1,00	1,00
Potiron	1,33	2,00	2,33	2,33	1,00	1,00	1,00	1,00
Tomate	1,00	1,33	1,67	2,00	1,00	1,00	1,00	1,67
Topinambour	1,67	1,67	1,67	2,00	1,00	1,67	1,67	2,00

I.2.2. La longueur de la tige

Une des réponses des microboutures de pomme de terre aux milieux de culture est l'élongation des tiges. Cette dernière est variable selon la variété et le milieu. Il faut remarquer que la longueur initiale des explants est composée dans les mesures qui suivent.

L'analyse de la variance révèle des effets très hautement significatifs pour les trois facteurs milieux, variétés et temps et des effets d'interactions milieux, variétés et temps et l'interaction entre milieux et temps non significatifs. A l'opposé l'interaction milieu et variétés présente une haute signification (**Tab.19**), ce qui montre que la longueur et le nombre des tiges sont influencé par le génotype testé et les différents types de milieux utilisés.

Tableau n°19 : Analyse de la variance de la longueur de la tige.

	Somme des carrés	ddl	Moyenne des carrés	F	Signification
Milieu	577,90	40	14,45	10,53	0,00
Variété	250,42	1	250,42	182,52	0,00
Temps	233,93	3	77,98	56,83	0,00
Milieu * variété	411,48	40	10,29	7,50	0,00
Milieu * temps	86,09	120	0,72	0,52	1,00
Variété * temps	9,76	3	3,25	2,37	0,07
Milieu * variété * temps	65,04	120	0,54	0,40	1,00

Selon les résultats moyens obtenus (**Tab.20**), il se révèle que la solution nutritive standard a permis une élongation caulinaire d'une valeur de 3.17 cm chez la variété *Désirée* et 2.73 cm chez *Spunta*. A partir de ces données de référence, les autres milieux reconstitués ont engendré des longueurs très variables, suivant leur nature et en fonction du matériel végétal utilisé. Il faut rappeler qu'à travers l'ensemble de ces milieux, les élongations caulinaires obtenues sont de valeurs supérieures par rapport à celles constatées précédemment, en appliquant le milieu MS et ce sont les milieux à base de cendres d'ail, d'aubergine, de menthe, de poivron, de potiron et celui issu du mélange.

En comparant les résultats, il s'expose que les milieux préparés à partir des cendres des déchets d'aubergine, d'haricot, du mélange, de persil, de poivron, et de potiron ont permis des élongations appréciables chez la variété *Désirée* (**Fig.24**).

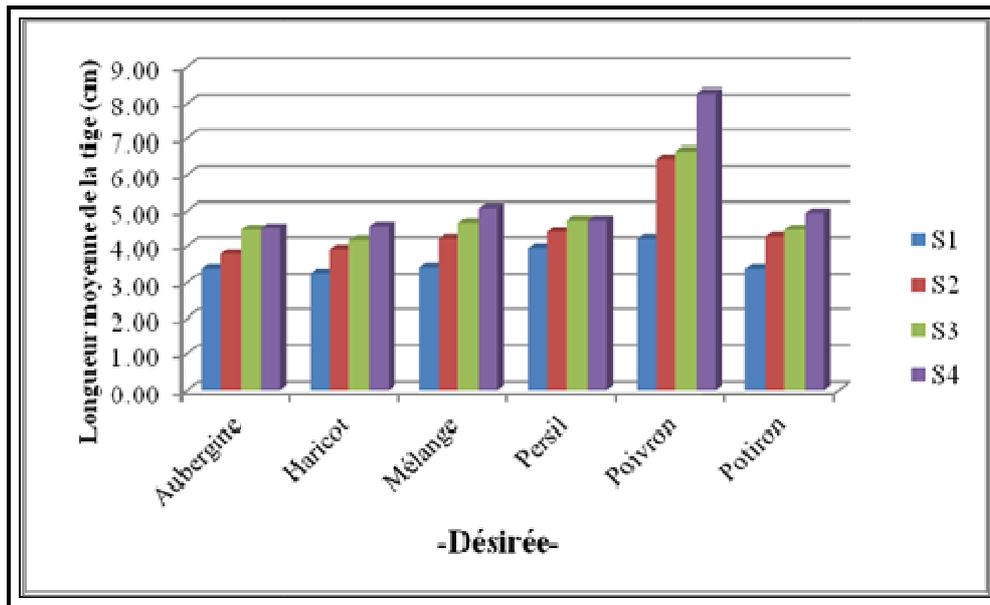


Figure n°24 : Evolution de la longueur moyenne de tiges durant la période de culture chez *Désirée* en fonction du temps.

Chez la variété *Spunta*, ce sont les milieux confectionnés par les déchets d’ail, d’aubergine, de la courgette, de la menthe, du navet et du potiron qui ont permis les meilleures élongations de la tige (**Fig.25**).

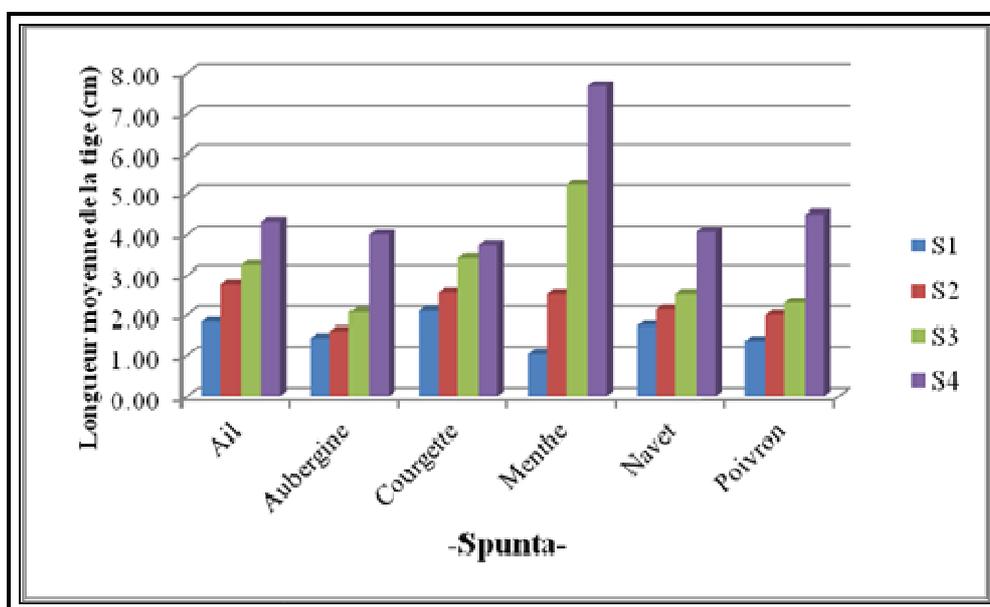


Figure n°25 : Evolution de la longueur moyenne de tiges durant la période de culture chez *Spunta* en fonction du temps.

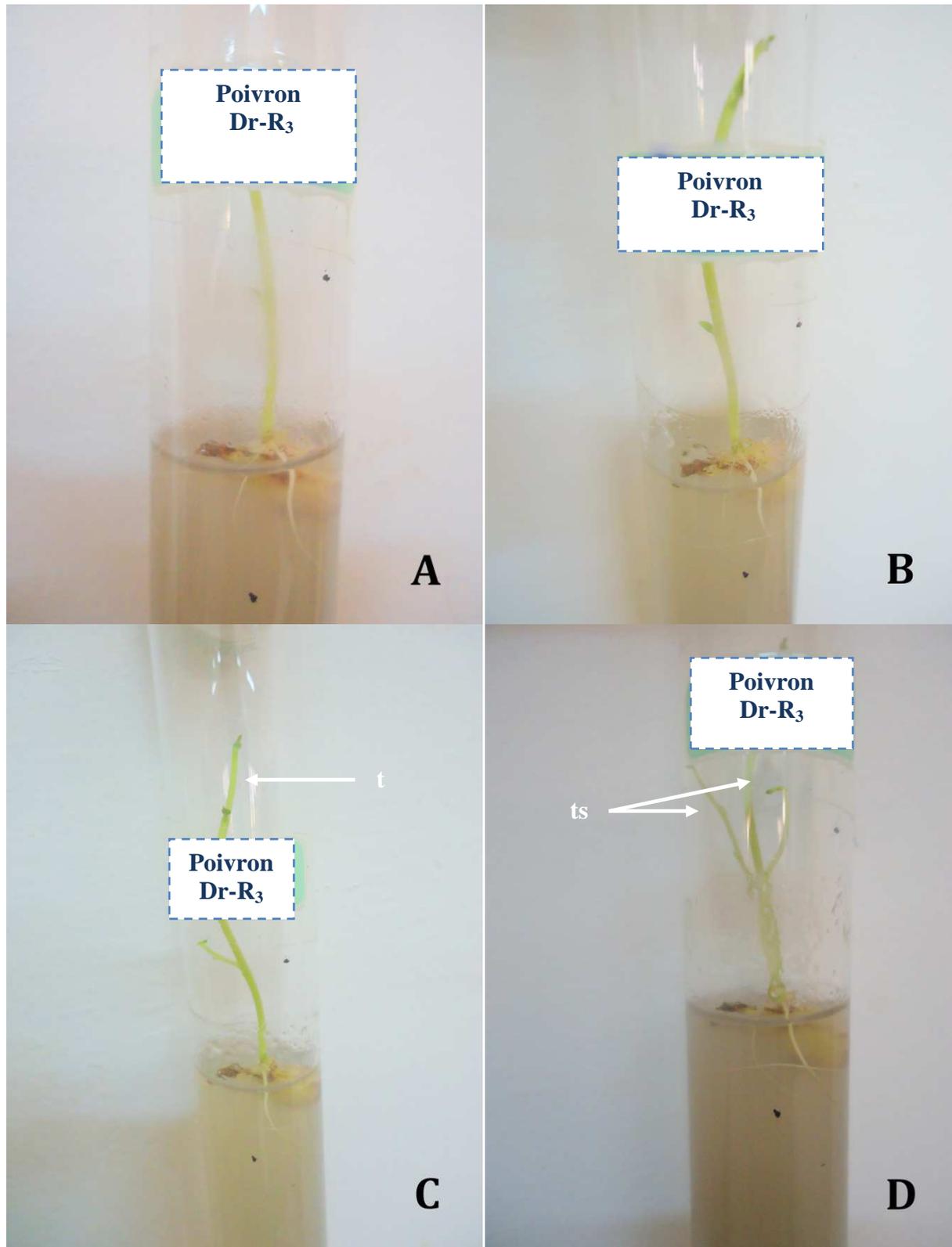


Planche n° 5.1 : La croissance de vitroplants du génotype *Désirée* durant toute la période d'incubation dans le milieu à base des cendres de Poivron « A S1, B S2, C S3, D S4 ». t : Expression de la tige en longueur ; ts : Néoformation de tiges secondaires.

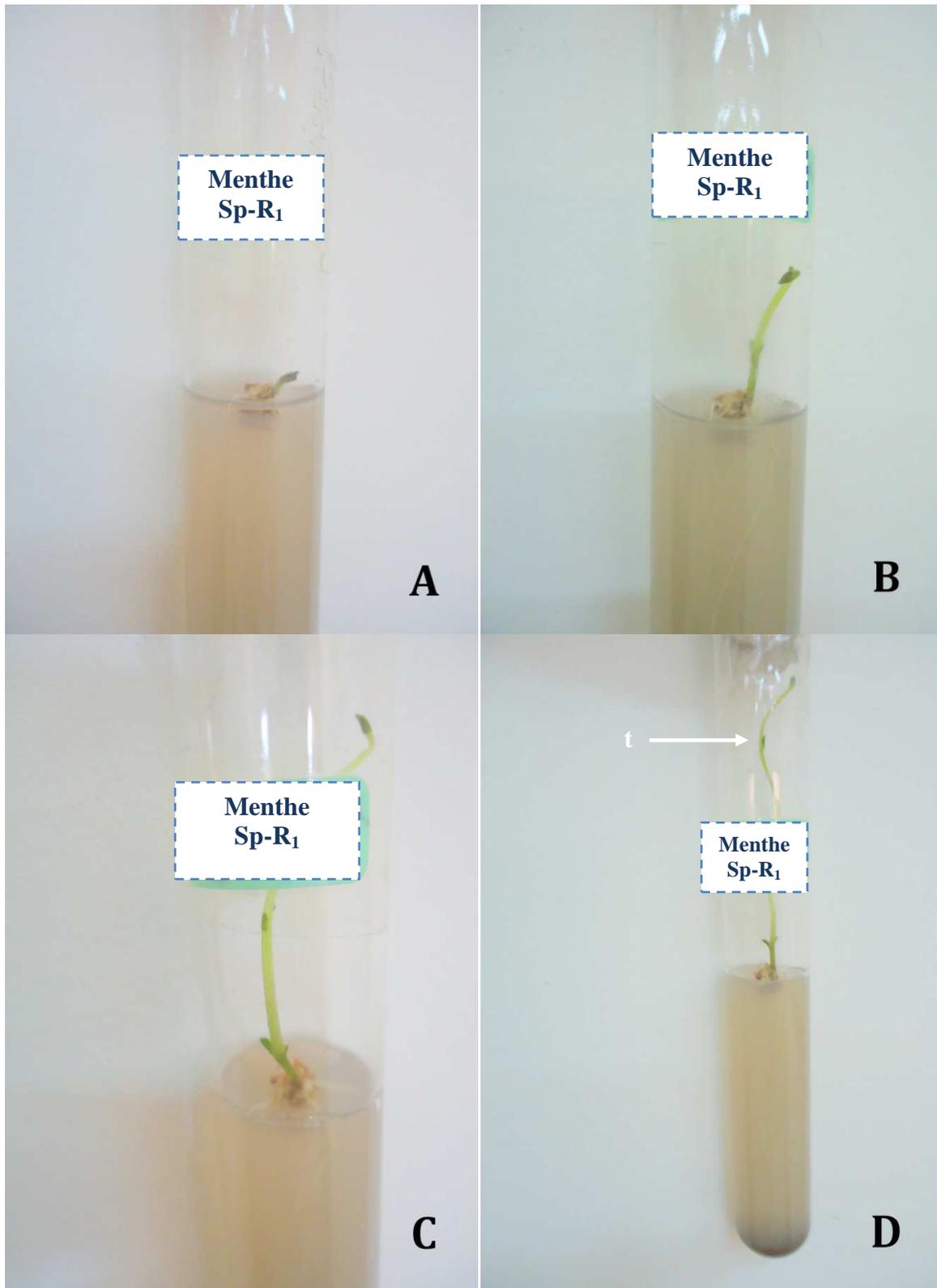


Planche n° 5.2 : La croissance de vitroplants du génotype *Spunta* durant toute la période d'incubation dans le milieu à base de cendres de Menthe « A S1, B S2, C S3, D S4 ». t : Expression de la tige en longueur.

Tableau n°20 : Effet des milieux sur la longueur de tiges des deux variétés en fonction du temps.

Milieux	Désirée				Spunta			
	S1	S2	S3	S4	S1	S2	S3	S4
Ail	1,43	3,17	3,60	4,17	1,83	2,77	3,23	4,33
Artichaut	2,27	3,07	3,07	3,17	0,83	1,43	2,07	2,80
Aubergine	3,40	3,77	4,47	4,50	1,43	1,60	2,07	4,00
Banane	0,50	0,57	0,97	1,03	0,27	0,47	0,50	0,63
Betterave	2,77	3,30	3,67	3,93	0,73	0,97	1,40	2,67
Cardon	1,03	1,40	1,63	1,83	1,10	1,23	1,30	1,67
Carotte	2,07	2,20	2,40	2,80	1,17	1,37	1,40	1,43
Céleri	0,40	0,63	0,83	1,50	0,50	0,97	1,17	1,87
Chou-fleur	1,10	1,17	1,37	1,40	0,97	1,17	1,27	1,67
Choux	2,40	3,53	3,93	4,33	0,17	0,53	0,93	1,70
Citron	1,73	1,83	1,83	1,83	0,37	0,43	0,67	1,10
Coing	1,47	1,80	1,87	2,00	0,77	1,07	1,17	1,53
Concombre	0,50	0,93	1,40	1,67	0,80	1,00	1,40	2,07
Coriandre	1,50	1,97	3,00	3,30	0,87	0,97	1,03	1,37
Courgette	1,83	1,93	2,07	2,60	2,10	2,57	3,40	3,73
Epinard	0,67	1,00	1,40	2,00	2,13	2,90	2,63	3,33
Fenouil	1,80	2,40	3,90	4,03	0,67	1,17	1,47	1,73
Fève	1,50	1,90	2,10	2,33	0,97	1,27	1,63	2,60
Grenadine	0,77	1,23	1,33	2,00	1,07	1,50	2,10	3,83
Haricot	3,27	3,90	4,17	4,57	0,93	1,30	2,03	2,57
Kiwi	1,23	1,27	1,37	1,53	1,10	1,40	1,63	2,83
Laitue	2,10	2,27	2,43	2,50	0,60	0,80	0,97	1,33
Mandarine	2,17	3,23	4,03	4,30	1,13	1,50	1,63	2,07
Mélange	3,43	4,20	4,67	5,07	0,70	1,13	1,53	2,17
Melon	2,83	2,93	3,10	3,40	0,63	0,73	1,07	1,63
Menthe	2,43	2,93	3,33	3,77	1,03	2,53	5,23	7,67
MS	2,33	3,13	3,13	3,17	1,07	1,13	1,57	2,73
Navet	1,67	2,03	2,27	2,53	1,73	2,13	2,53	4,07
Oignon	1,97	2,47	2,63	2,73	0,30	0,50	0,53	1,27
Orange	1,83	2,27	2,40	2,50	0,77	1,07	1,40	2,00
Patate douce	1,83	3,20	3,23	3,77	1,00	1,87	2,47	3,50
Persil	3,93	4,40	4,73	4,73	0,30	0,60	1,00	1,47
Petit pois	0,97	1,13	1,20	2,77	1,27	1,93	1,83	1,70
Piment	2,50	2,63	2,67	2,90	1,03	1,63	2,23	3,27
Poire	2,17	2,43	2,63	3,03	1,10	1,43	1,73	2,17
Poivron	4,20	6,43	6,67	8,27	1,37	2,00	2,30	4,50
Pomme	0,77	1,13	1,27	1,57	0,73	0,83	0,87	1,73
Pomme de terre	2,53	4,50	5,00	5,00	0,47	0,60	1,00	2,53
Potiron	3,40	4,27	4,47	4,93	0,80	1,50	2,33	3,13
Tomate	2,57	3,07	3,57	4,43	0,73	1,07	1,33	1,63
Topinambour	1,20	1,40	1,43	1,73	1,03	1,20	1,20	1,60

I.2.3. Nombre de feuilles

La réponse au milieu de culture des microboutures de pomme de terre se manifeste lors des premières étapes de reprise par l'augmentation du nombre de feuilles néoformées. Cette augmentation varie avec la variété en question et en fonction du milieu de prolifération expérimenté.

L'analyse de la variance montre un effet très hautement significatif pour les effets milieux, variétés, temps et pour l'interaction milieux x variétés de même il en est hautement significatif pour l'effet d'interaction variété x temps, quant à l'effet d'interaction entre les trois facteurs reste non significatif de même pour l'effet milieux x temps (**Tab.21**). Cependant les variétés et les milieux ont montré un effet beaucoup plus significatif sur le nombre de feuilles que celui du temps comme il était signalé précédemment pour le nombre et la longueur de la tige.

Tableau n°21 : Analyse de la variance du nombre de feuilles.

	Somme des carrés	ddl	Moyenne des carrés	F	Signification
Milieu	812,49	40	20,31	11,43	0,00
Variété	65,05	1	65,05	36,60	0,00
Temps	1274,74	3	424,91	239,06	0,00
Milieu * variété	459,24	40	11,48	6,46	0,00
Milieu * temps	192,63	120	1,61	0,90	0,75
Variété * temps	14,52	3	4,84	2,72	0,04
Milieu * variété* temps	143,68	120	1,20	0,67	1,00

Le nombre de feuilles formées à partir des explants cultivés sur milieu de culture standard MS, varie de manière notable à travers la variabilité génétique conduite (**Tab.22**). En effet, le nombre marque une valeur moyenne de 7.67 chez *Désirée* et 6.33 chez *Spunta*. Dans ce contexte les milieux de culture à base de cendres d'ail, de courgette, des épinards, de menthe, de poire, de poivron, de potiron ont enregistré aussi des valeurs moyennes comparables avec ce dernier.

Les autres milieux ont conditionné des formations foliaires divergentes, dépendant étroitement de la nature des génotypes testés. Cependant, au niveau de la variété *Désirée*, ce sont les milieux préparés à partir des cendres des déchets d'aubergine, de fenouil, d'haricot, de persil, de poire, de poivron et de potiron qui ont engendré des formations foliaires appréciables, et pour certaines ont des niveaux dépassant celui enregistré pour le milieu MS de référence (**Fig.26**).

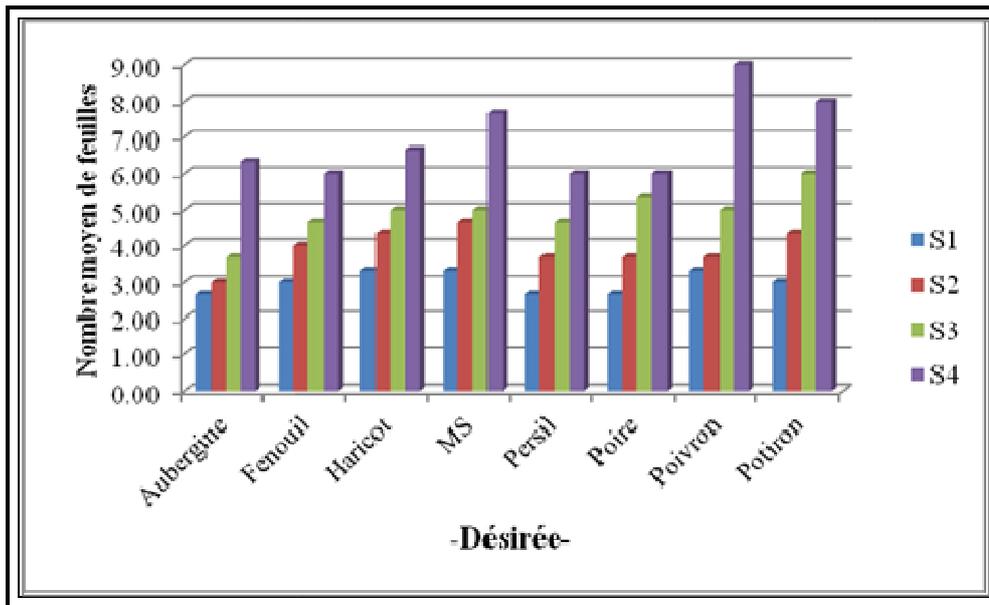


Figure n°26 : Evolution du nombre moyen de feuilles formées durant la période de culture chez *Désirée*.

Chez la variété *Spunta*, ce sont surtout les milieux préparés à base d'ail, de courgette, d'épinards, de menthe, de navet, et de potiron qui ont fourni les résultats les plus satisfaisants (Fig.27).

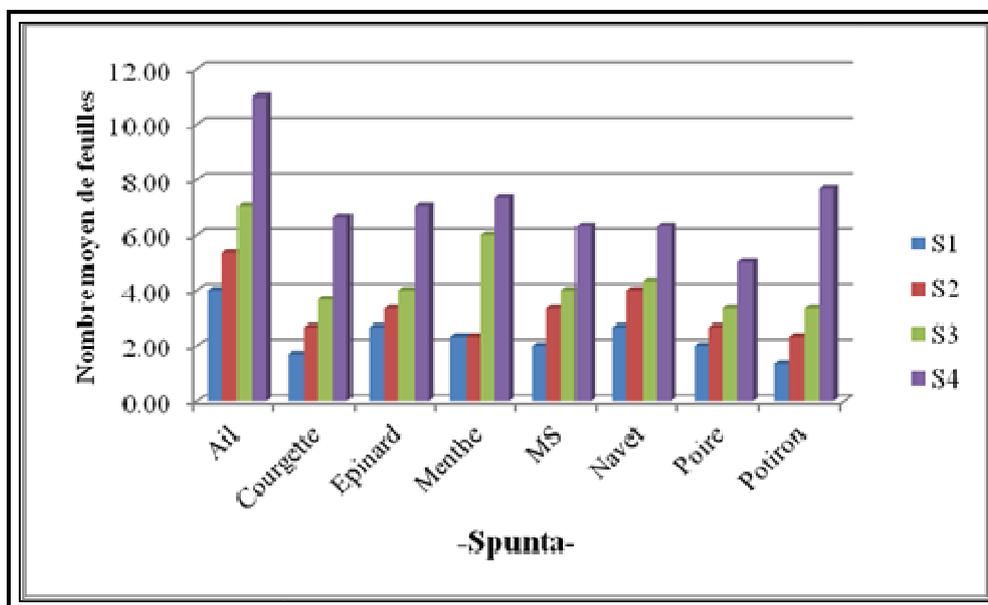


Figure n°27 : Evolution du nombre moyen de feuilles formées durant la période de culture chez *Spunta*.

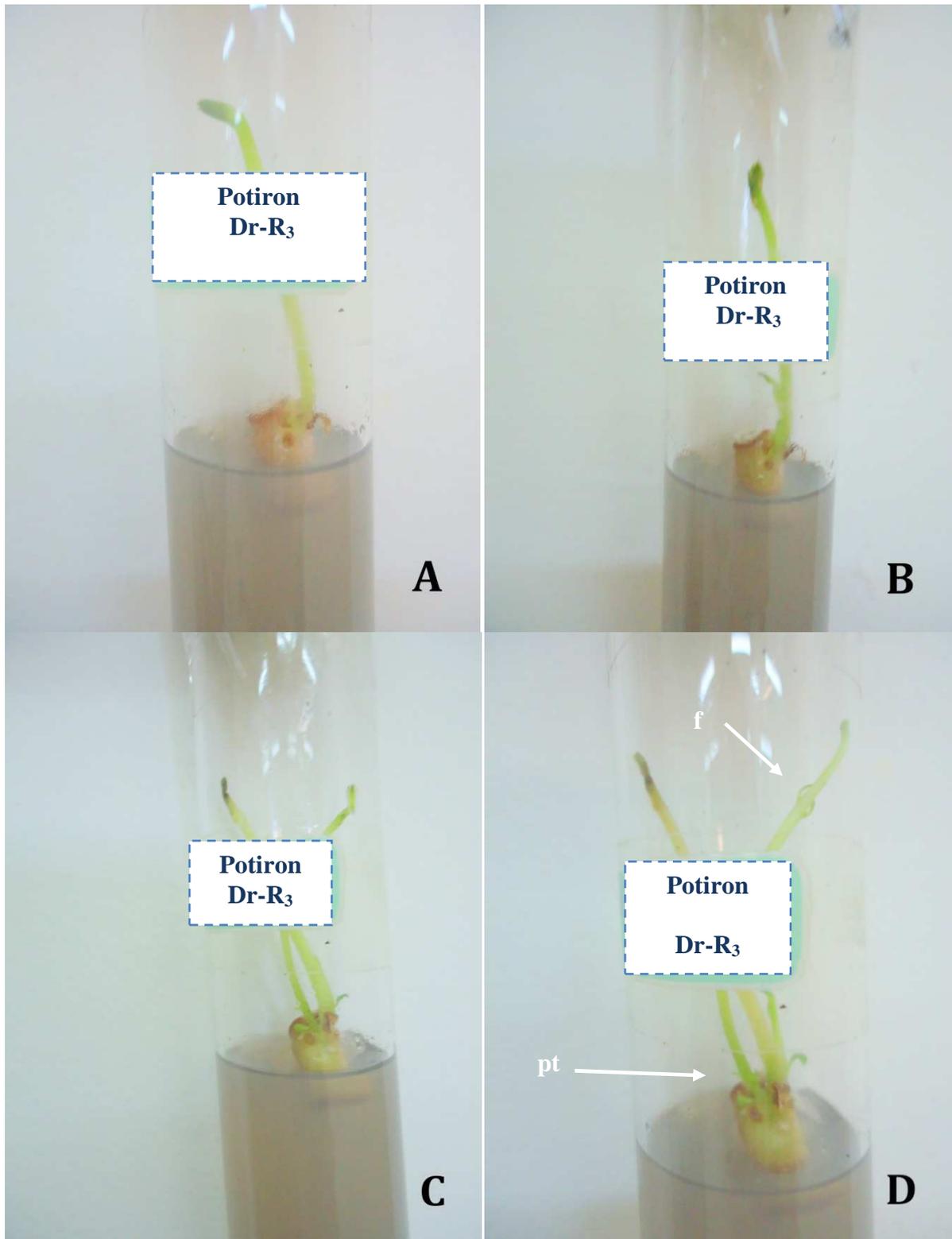


Planche n° 6.1 : La croissance de vitroplants du génotype *Désirée* durant toute la période d'incubation dans le milieu à base des cendres de Potiron « A S1, B S2, C S3, D S4 ». f : Néoformation des feuilles ; pt : Formation de plusieurs tiges.

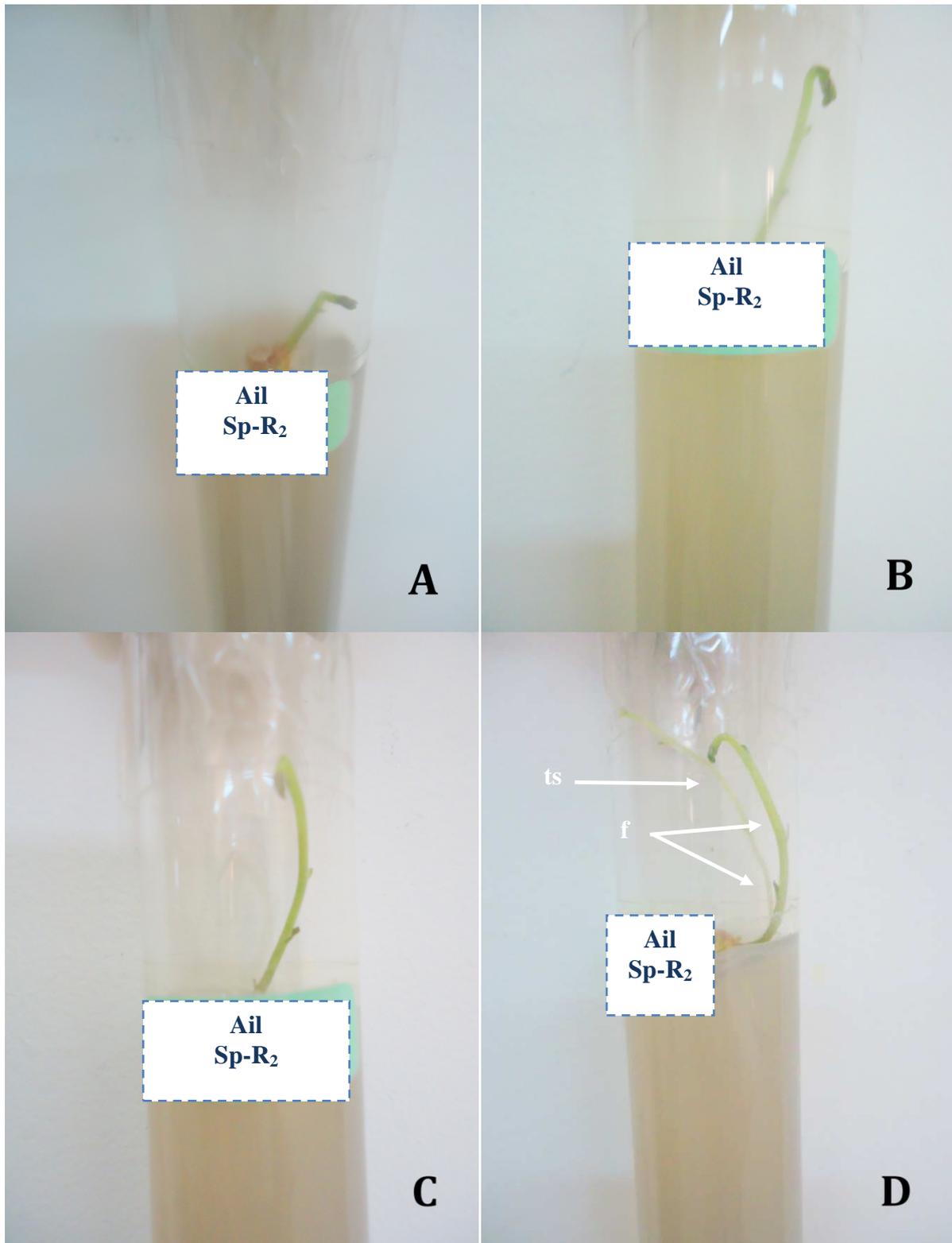


Planche n°6.2 : La croissance de vitroplants du génotype *Spunta* durant toute la période d'incubation dans le milieu à base de cendres d'Ail « A S1, B S2, C S3, D S4 ». f : Néof ormation des feuilles ; ts : Néof ormation de tiges secondaires.

Tableau n°22 : Effet des milieux sur le nombre de feuilles des deux variétés en fonction du temps

Milieux	Désirée				Spunta			
	S1	S2	S3	S4	S1	S2	S3	S4
Ail	1,33	3,33	4,00	4,67	4,00	5,33	7,00	11,00
Artichaut	1,67	2,00	2,33	3,00	0,00	1,33	2,67	3,33
Aubergine	2,67	3,00	3,67	6,33	1,67	3,00	3,67	5,33
Banane	0,00	1,00	1,33	2,00	0,00	0,00	0,00	0,67
Betterave	2,67	4,00	5,67	7,67	2,00	2,00	2,67	4,33
Cardon	1,00	1,33	1,67	2,67	2,67	2,67	4,33	5,00
Carotte	1,33	2,33	3,33	3,33	1,00	4,00	4,00	4,00
Céleri	1,00	2,00	2,33	3,00	0,33	2,00	3,00	4,33
Chou-fleur	0,67	0,67	2,67	3,00	1,33	1,33	2,67	2,67
Choux	2,67	3,67	5,33	6,33	0,33	1,33	2,00	5,00
Citron	1,67	2,00	2,00	2,33	0,33	0,33	1,00	2,33
Coing	1,33	2,67	3,00	4,00	1,00	2,33	3,00	3,33
Concombre	0,67	1,33	2,33	3,67	1,67	2,00	3,33	4,67
Coriandre	2,00	3,33	3,33	4,67	2,00	2,67	3,00	3,33
Courgette	2,00	2,00	2,33	4,33	1,67	2,67	3,67	6,67
Epinard	0,67	1,67	2,67	4,33	2,67	3,33	4,00	7,00
Fenouil	3,00	4,00	4,67	6,00	2,00	2,00	2,67	4,00
Fève	1,67	3,00	4,00	5,00	1,00	1,00	3,00	4,67
Grenadine	2,67	2,67	2,67	2,67	1,33	2,00	3,00	5,33
Haricot	3,33	4,33	5,00	6,67	1,67	2,33	3,33	5,00
Kiwi	3,00	3,67	3,67	5,67	1,33	2,33	2,67	3,67
Laitue	3,00	3,00	3,33	3,33	1,00	1,33	2,00	4,00
Mandarine	2,33	3,67	4,00	4,67	1,67	2,33	2,67	4,33
Mélange	3,00	3,33	4,67	4,67	1,00	2,00	2,67	4,33
Melon	2,00	2,00	3,00	4,67	0,00	0,00	2,00	3,00
Menthe	2,00	3,33	4,33	5,67	2,33	2,33	6,00	7,33
MS	3,33	4,67	5,00	7,67	2,00	3,33	4,00	6,33
Navet	1,67	2,00	2,67	4,00	2,67	4,00	4,33	6,33
Oignon	2,33	2,33	2,33	2,33	0,00	0,00	1,33	3,33
Orange	1,67	2,33	3,00	3,67	0,33	1,67	3,00	4,00
Patate douce	3,00	2,33	3,00	5,33	0,00	2,67	3,67	5,00
Persil	2,67	3,67	4,67	6,00	1,33	2,00	3,00	4,67
Petit pois	0,67	1,33	2,67	4,67	2,00	2,00	2,00	3,00
Piment	2,00	2,67	3,00	4,00	1,00	1,67	4,00	5,00
Poire	2,67	3,67	5,33	6,00	2,00	2,67	3,33	5,00
Poivron	3,33	3,67	5,00	9,00	0,33	1,67	3,00	5,33
Pomme	0,00	2,00	2,67	3,33	0,00	1,67	2,00	4,67
Pomme de terre	2,00	2,67	3,00	3,00	0,00	0,00	0,00	3,67
Potiron	3,00	4,33	6,00	8,00	1,33	2,33	3,33	7,67
Tomate	2,33	4,00	5,33	7,67	0,00	1,00	2,00	3,67
Topinambour	0,67	0,67	2,67	3,67	1,67	1,67	1,67	3,33

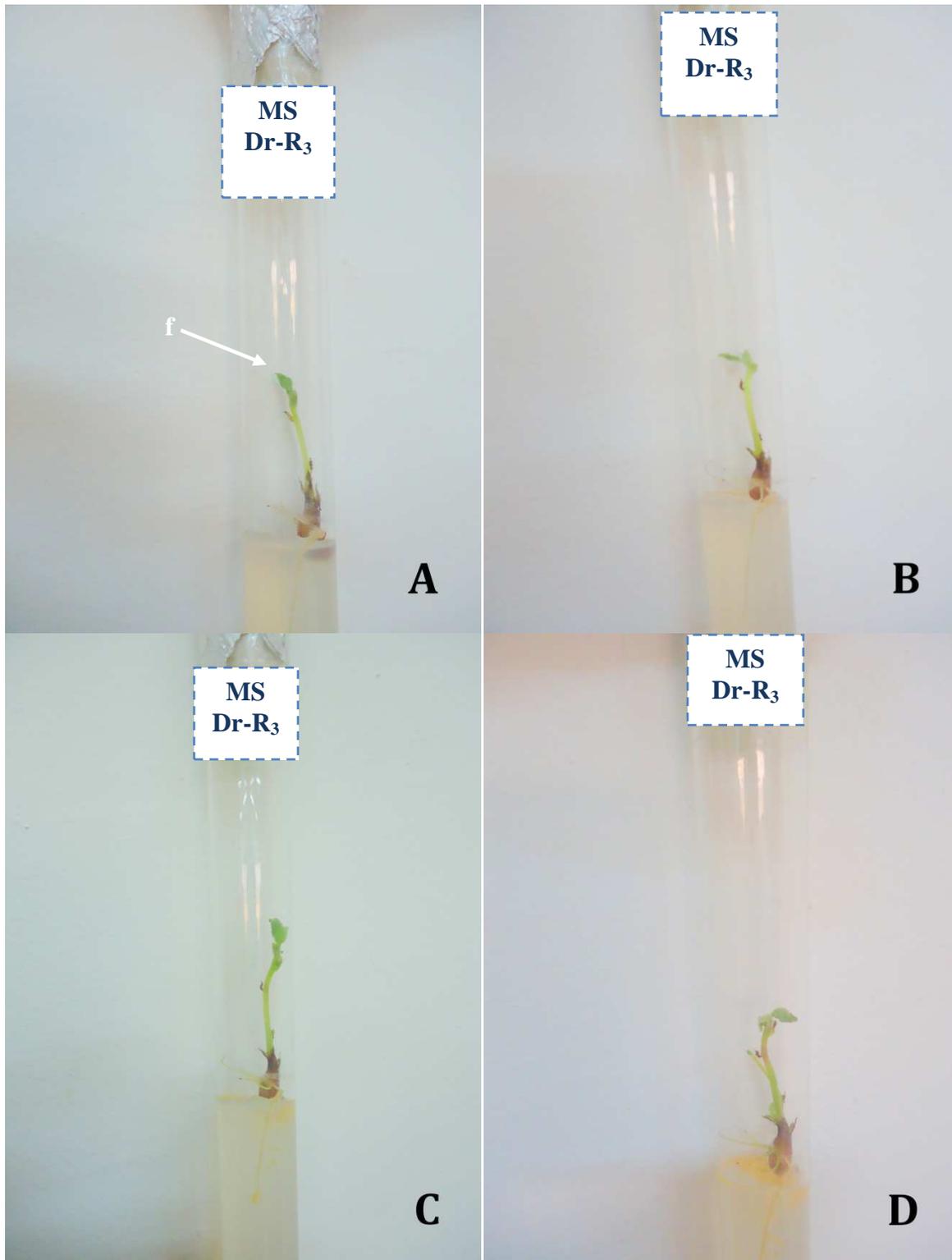


Planche n°7.1 : La croissance de vitro plants du génotype *Désirée* durant toute la période d'incubation dans le milieu standard MS « A S1, B S2, C S3, D S4 ». f : Néof ormation des feuilles.

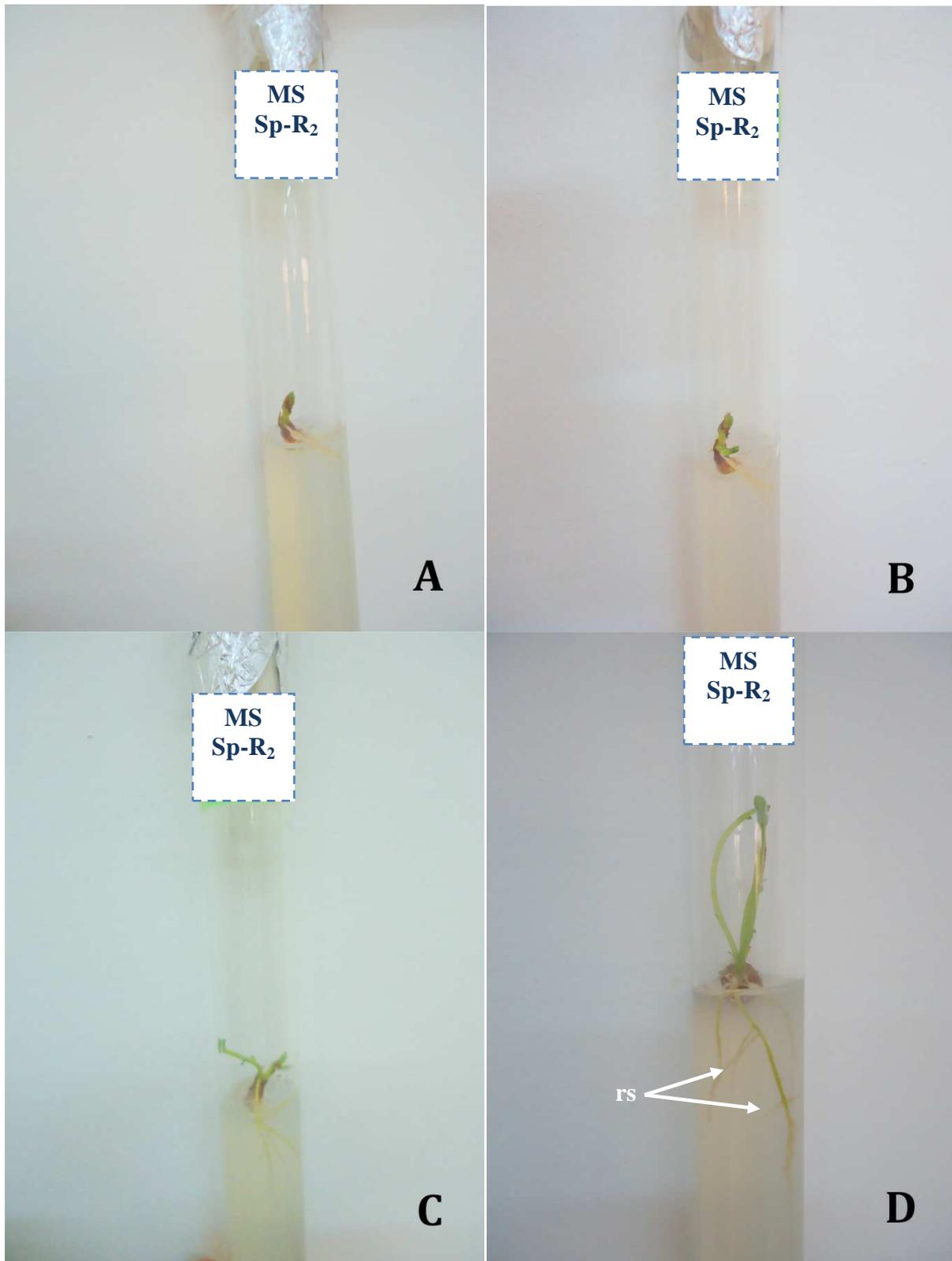


Planche n° 7.2 : La croissance de vitro plants du génotype *Spunta* durant toute la période d'incubation dans le milieu standard MS « A S1, B S2, C S3, D S4 ». rs : Formation de racines secondaires.

I.3. Etudes des corrélations

Les paramètres étudiés dans cette matrice ont révélé des corrélations avec le temps surtout pour la longueur de la tige et le nombre de feuilles qui ont montré une haute signification (respectivement $r= 0.303$; $r= 0.549$). Il en est de même pour le nombre de feuilles qui est très hautement corrélé avec le nombre et la longueur de la tige ($r=0.418$; $r=0.659$) ainsi pour le nombre des racines principales et la longueur des racines principales ($r=0,464$) qui est au même temps signifié avec le nombre de racines secondaires ($r=0,336$).

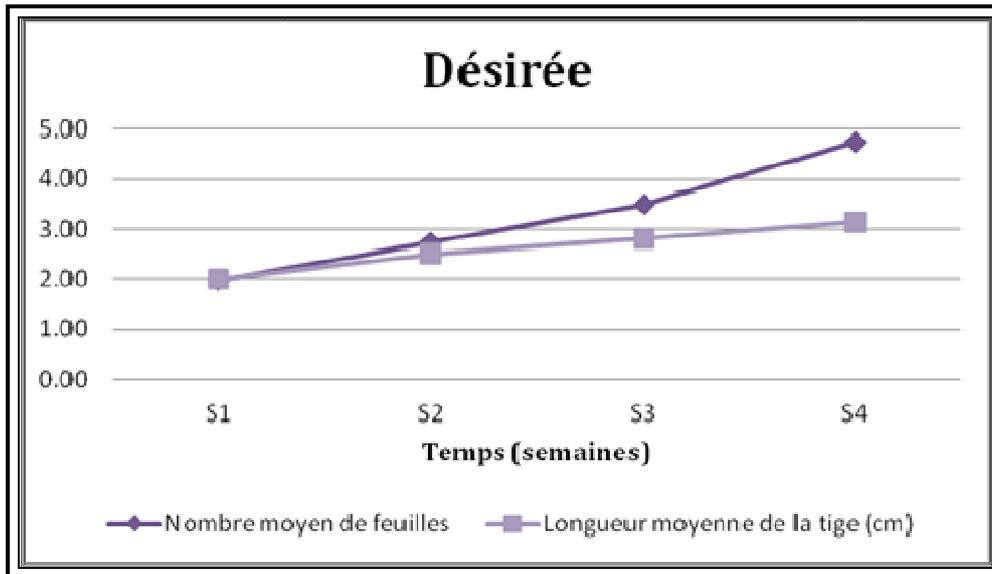
L'étude nous a montré aussi que les variétés sont présentées une corrélation avec tous les paramètres étudiés sauf pour le nombre de racines principales et le nombre de racines secondaires, cependant les milieux ne présentent aucune corrélation avec les autres paramètres sauf pour la longueur de la tige qui est faiblement significative (**Tab.23**).

Tableau n°23 : Matrice des corrélations totales entre les différents paramètres de la micropropagation. NRP: Nombre de racines principales, LRP : Longueur des racines principales, NRS : Nombre racines secondaires, NT : Nombre de tiges, LT : longueur de la tige, NF : nombre de feuilles.

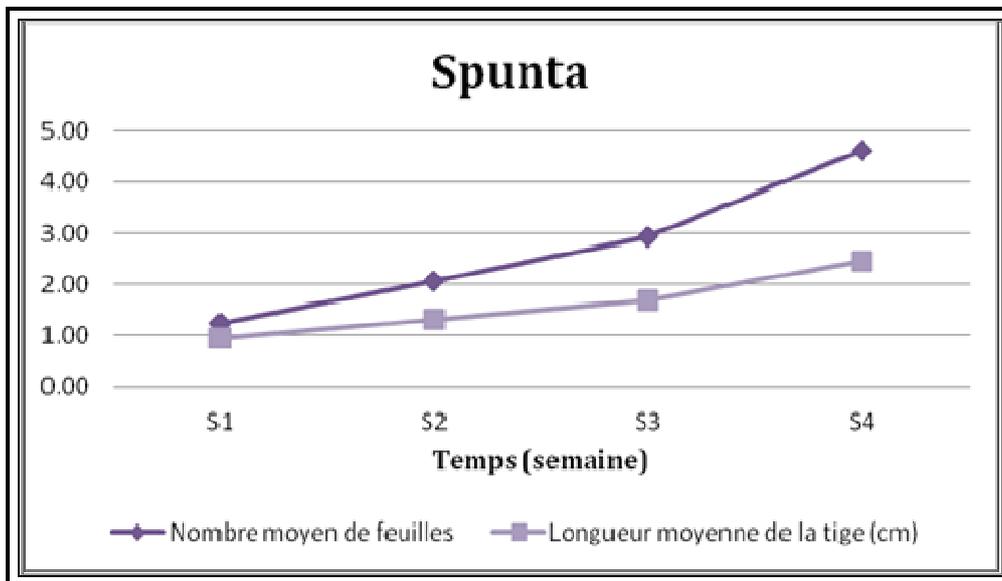
	Milieux	Variétés	Temps	NRP	LRP	NRS	NT	LT	NF
Milieux									
Variétés	0,000								
Temps	0,000	0,000							
NRP	-0,033	0,026	0,116**						
LRP	0,075*	0,117**	0,267**	0,464**					
NRS	0,075*	0,013	0,163**	0,282**	0,336**				
NT	0,018	-0,194**	0,284**	0,293**	0,258**	0,282**			
LT	0,113**	-0,314**	0,303**	0,157**	0,209**	0,204**	0,281**		
NF	0,036	-0,126**	0,549**	0,142**	0,259**	0,294**	0,418**	0,659**	

* La corrélation est significative au niveau 0.05 (bilatéral).

** La corrélation est significative au niveau 0.01 (bilatéral).



-A-



-B-

Figure n°28 : Evolution de la longueur moyenne de la tige et du nombre moyen de feuilles en fonction du temps et des variétés. A : Désirée, B : Spunta.

II. Microtubérisation

Durant la deuxième partie de notre travail, nous avons utilisé les vitroplants de la première génération (micropropagation), dans le but d'étudier l'effet de trois facteurs qui sont:

- Variétés avec *Désirée* (Dr) et *Spunta* (Sp).
- Milieu MS sans régulateurs de croissance (MS) et le milieu MS plus 5 mg/l d'acide naphthalène acétique (MS+ANA).
- Et enfin la photopériode obscurité totale (0 h) ; 8 heures ; 16 heures. En résumé, six traitements pour chaque variété en considérant les milieux et les photopériodes.

II.1. Rhizogénèse

II.1.1. Nombre de racines

L'analyse de la variance indique des effets très hautement significatifs concernant les facteurs, milieu, variété et l'interaction milieu x photopériode (**Tab.24**), ce qui signifie que le nombre de racines est en fonction de la variété et du milieu et c'est : le milieu qui en a plus d'influence que l'effet génotypique.

Tableau n°24: Analyse de la variance du nombre de racines.

	Somme des carrés	ddl	Moyenne des carrés	F	Signification
Milieu	33,35	1,00	33,35	5,03	0,03
Variété	485,68	1,00	485,68	73,19	0,00
Photopériode	10,53	2,00	5,26	0,79	0,46
Milieu * variété	7,35	1,00	7,35	1,11	0,30
Milieu * photopériode	71,36	2,00	35,68	5,38	0,01
Variété * photopériode	6,69	2,00	3,35	0,50	0,61
Milieu * variété * photopériode	20,19	2,00	10,10	1,52	0,23

Le test de Newman et Keuls montre la présence de huit groupes homogènes (**Tab.25**). Le traitement de MS avec toutes les photopériodes constitue un seul groupe pour la variété *Désirée*, de même les photopériodes du milieu MS+ANA à l'exception du traitement de 08 heures englobent aussi un autre groupe pour la même variété.

Tableau n°25: Détermination des groupes homogènes sur l'influence du nombre de racines en fonctions du milieu, la variété et la photopériode (Test de Newman et Keuls).

Milieu	Variété	Photopériode	Moyenne du nombre de racines	Groupe homogène
MS	Désirée	0h	5,33	ABC
		08h	4,50	ABC
		16h	5,17	ABC
	Spunta	0h	11,50	DE
		08h	8,17	ABDE
		16h	9,00	BDE
MS+ANA	Désirée	0h	2,50	C
		08h	3,83	AC
		16h	2,67	C
	Spunta	0h	7,50	ABDE
		08h	11,50	E
		16h	7,50	ABD

Le nombre de racines le plus élevé est obtenu chez la variété *Spunta* avec une grande fréquence à l'obscurité totale pour le milieu MS et à 8 heures de photopériode du milieu MS à ANA. Cependant, ce nombre est faible dans le milieu MS avec une légère supériorité chez le milieu MS qui contient l'ANA pour tous les traitements de photopériode. Ce résultat est remarqué chez la variété *Désirée* où l'on observe le même effet pour les deux milieux (Fig.29).

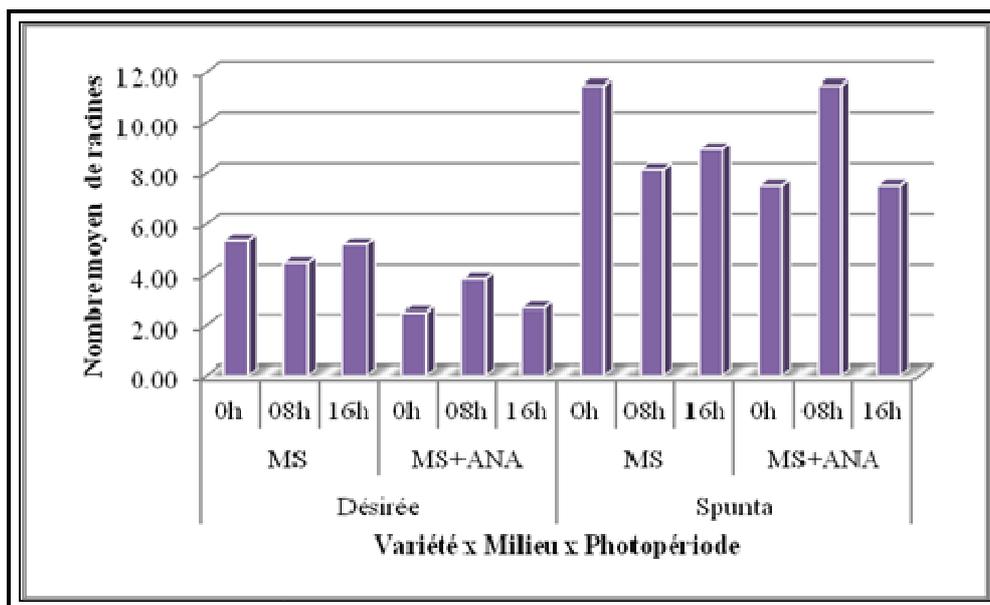


Figure n°29: Nombre de racines en fonction de la photopériode, du milieu et de la variété.

II.1.2. Longueur de racines

L'analyse de la variance montre un effet très hautement significatif pour les effets milieu x photopériode. Il en est de même pour l'effet d'interaction entre milieu, variété et photopériode et il est aussi significatif pour l'interaction entre les deux effets variété et photopériode. Cependant l'interaction entre les deux effets milieu et variété ainsi l'effet d'interaction milieu et photopériode n'ont aucun effet significatif sur la longueur des racines. Ce qui s'explique par le fait que la longueur des racines est beaucoup plus influencée par la photopériode que le milieu (**Tab.26**).

Tableau n°26: Analyse de la variance de la longueur de racines.

	Somme des carrés	ddl	Moyenne des carrés	F	Signification
Milieu	32,67	1,00	32,67	4,94	0,03
Variété	13,96	1,00	13,96	2,11	0,15
Photopériode	46,84	2,00	23,42	3,54	0,04
Milieu * variété	10,97	1,00	10,97	1,66	0,20
Milieu * photopériode	8,46	2,00	4,23	0,64	0,53
Variété * photopériode	42,97	2,00	21,49	3,25	0,05
Milieu * variété * photopériode	43,85	2,00	21,92	3,31	0,04

Le test de Newman et Keuls révèle l'existence de trois groupes homogènes pour tous les traitements. On observe un seul groupe qui englobe tous les traitements photopériodiques quelque soit les milieux utilisés MS ou MS+ANA pour la variété *Désirée* sauf le traitement MS à 16 heures de photopériode. Ce groupe représente les plus faibles longueurs de racines. Ainsi un autre groupe contient tous les traitements milieux et photopériodes pour la *Spunta* qui montre les longueurs moyennes de racines à l'exception du traitement MS+ANA à l'obscurité totale. Cependant le troisième groupe expose la longueur fréquente de racines pour le traitement MS à 16 heures de photopériode chez *Désirée* (**Tab.27**).

Tableau n°27: Détermination des groupes homogènes sur l'influence de la longueur de racines en fonctions du milieu, la variété et la photopériode (Test de Newman et Keuls).

Milieu	Variété	Photopériode	Moyenne de la longueur de racines	Groupe homogène
MS	Désirée	0h	7,68	A
		08h	8,90	A
		16h	13,55	B
	Spunta	0h	9,58	AB
		08h	11,52	AB
		16h	9,33	AB
MS+ANA	Désirée	0h	7,65	A
		08h	7,68	A
		16h	8,42	A
	Spunta	0h	8,67	A
		08h	9,90	AB
		16h	10,17	AB

La meilleure longueur de racines est obtenue pour le milieu MS à 16 heures de photopériode pour la *Désirée* et à 8 heures de photopériode pour *Spunta*. Ces résultats confirment les résultats de KECHID (2005). A l'opposé, ce paramètre est noté faiblement pour le milieu MS à ANA par rapport au milieu MS et ce pour les deux génotypes (**Fig.30**).

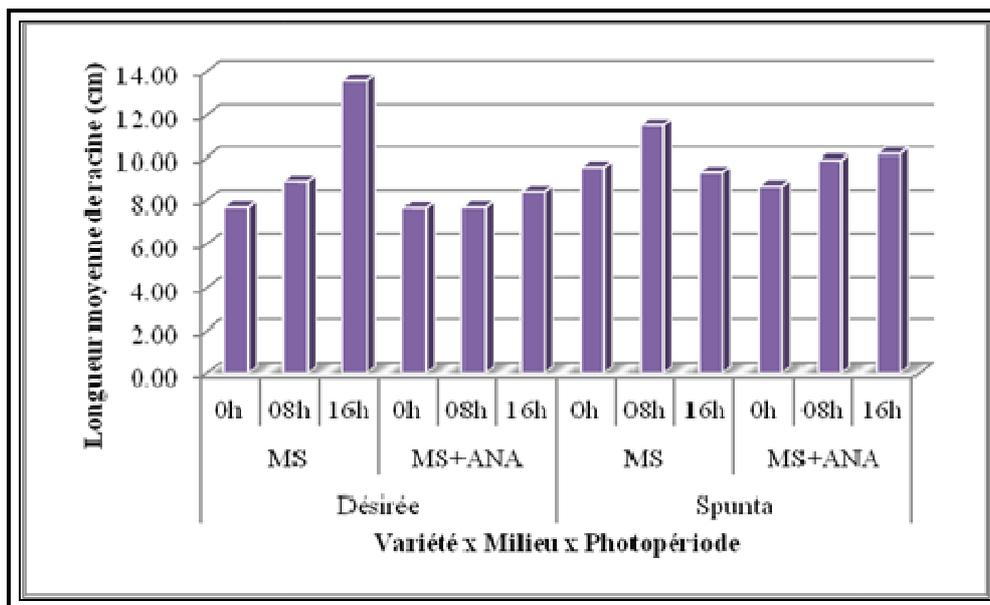


Figure n°30: Longueur de racines en fonction de la photopériode, du milieu et de la variété.

II.1.3. Poids de racines

L'analyse de variance des effets milieu et photopériode et d'interaction entre variété et photopériode nous indique l'existence d'un effet très hautement significatif sur le poids de racines. Ce qui signifie que le poids des racines est variable selon les différents types de milieu, et surtout la photopériode (**Tab.28**).

Tableau n°28: Analyse de la variance du poids de racines.

	Somme des carrés	ddl	Moyenne des carrés	F	Signification
Milieu	21535,04	1,00	21535,04	8,16	0,01
Variété	6589,52	1,00	6589,52	2,50	0,12
Photopériode	23278,34	2,00	11639,17	4,41	0,02
Milieu * variété	349,36	1,00	349,36	0,13	0,72
Milieu * photopériode	7215,47	2,00	3607,73	1,37	0,26
Variété * photopériode	61065,17	2,00	30532,59	11,57	0,00
Milieu * variété * photopériode	1510,59	2,00	755,29	0,29	0,75

Le test de Newman et Keuls indique que les différents traitements se répartissent en six groupes. Le milieu MS à 8 et 16 heures de photopériodes avec le milieu MS+ANA à l'obscurité totale et à traitement photopériodique de 8 heures pour la variété *Spunta* constituent un seul groupe. On a observé aussi que la variété *Désirée* conduite sur le milieu MS à ANA avec les traitements de 0 et 8 heures de photopériodes appartient au groupe de très faible poids des racines (**Tab.29**).

Tableau n°29: Détermination des groupes homogènes sur l'influence du poids de racines en fonctions du milieu, la variété et la photopériode (Test de Newman et Keuls).

Milieu	Variété	Photopériode	Moyenne du poids des racines	Groupe homogène
MS	Désirée	0h	87,58	ABC
		08h	70,30	AB
		16h	151,67	BC
	Spunta	0h	174,12	C
		08h	107,72	ABC
		16h	98,33	ABC
MS+ANA	Désirée	0h	39,30	A
		08h	33,03	A
		16h	146,67	BC
	Spunta	0h	99,57	ABC
		08h	86,95	ABC
		16h	76,67	AB

Le poids des racines le plus élevé est observé dans le milieu MS à 16 heures de photopériode pour *Désirée* et à l'obscurité totale pour *Spunta*, cependant il est faible pour le milieu MS+ANA (**Fig.31**). De même pour le nombre et la longueur des racines, l'effet de l'ANA est inférieur au milieu MS sans hormones et ce pour tous les traitements photopériodiques et pour les deux génotypes testés.

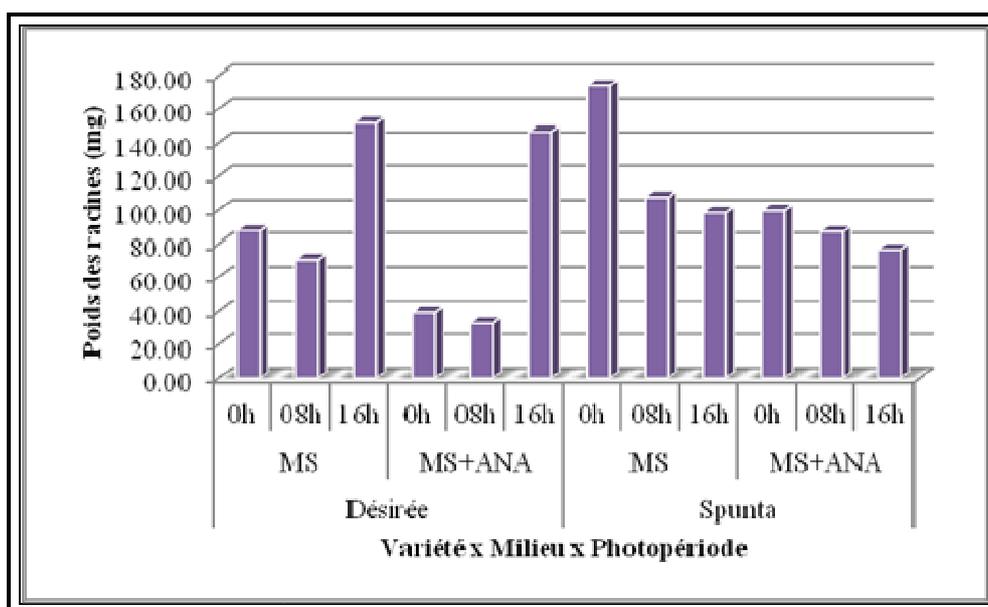


Figure n°31: Poids de racines en fonction de la photopériode, du milieu et de la variété.

II.2. Caulogénèse

II.2.1. Longueur de la tige

L'analyse de la variance nous montre un effet milieu, photopériode et l'interaction entre ces deux très hautement significatif, par contre l'effet variété est non significatif. Cependant tous les autres effets d'interaction soit à deux ou à trois facteurs ne sont pas significatifs (**Tab.30**). Ce résultat peut s'expliquer par le fait que la longueur de la tige est influencée par les différents types de milieu et les différents traitements de photopériode.

Tableau n°30: Analyse de la variance de la longueur de la tige.

	Somme des carrés	ddl	Moyenne des carrés	F	Signification
Milieu	86,24	1,00	86,24	14,16	0,00
Variété	0,00	1,00	0,00	0,00	0,99
Photopériode	406,50	2,00	203,25	33,36	0,00
Milieu * variété	1,93	1,00	1,93	0,32	0,58
Milieu * photopériode	54,97	2,00	27,48	4,51	0,01
Variété * photopériode	6,50	2,00	3,25	0,53	0,59
Milieu * variété * photopériode	4,23	2,00	2,12	0,35	0,71

Le test de Newman et Keuls nous révèle la présence de cinq groupes homogènes dont on retrouve un qui regroupe tous les milieux MS et MS à ANA avec la photopériode de 16 heures pour les deux génotypes. Cependant le traitement photopériodique à 8 heures avec les deux milieux utilisés pour *Désirée* et *Spunta* à l'exception du traitement MS+ANA chez *Désirée* constitue un autre groupe, ce qui signifie que la photopériode joue un rôle dans la répartition des groupes en fonction du milieu et la variété (**Tab.31**).

Tableau n°31: Détermination des groupes homogènes sur l'influence de la longueur de la tige en fonctions du milieu, la variété et la photopériode (Test de Newman et Keuls).

Milieu	Variété	Photopériode	Moyenne de la longueur de tiges	Groupe homogène
MS	Désirée	0h	12,25	BC
		08h	13,72	B
		16h	7,17	A
	Spunta	0h	12,25	B
		08h	13,75	B
		16h	6,17	A
MS+ANA	Désirée	0h	8,42	AC
		08h	10,42	ABC
		16h	6,75	A
	Spunta	0h	7,75	A
		08h	12,08	B
		16h	6,75	A

En général les meilleures longueurs de la tige sont observées dans le milieu MS à la photopériode de 8 heures pour *Désirée* et *Spunta*. Concernant le milieu MS+ANA seule pour *Spunta* qui a marquée des longueurs intéressantes. Cependant, les faibles longueurs de la tige sont observées dans les deux milieux à photopériodique de 16 heures chez *Désirée* et *Spunta* (Fig.32).

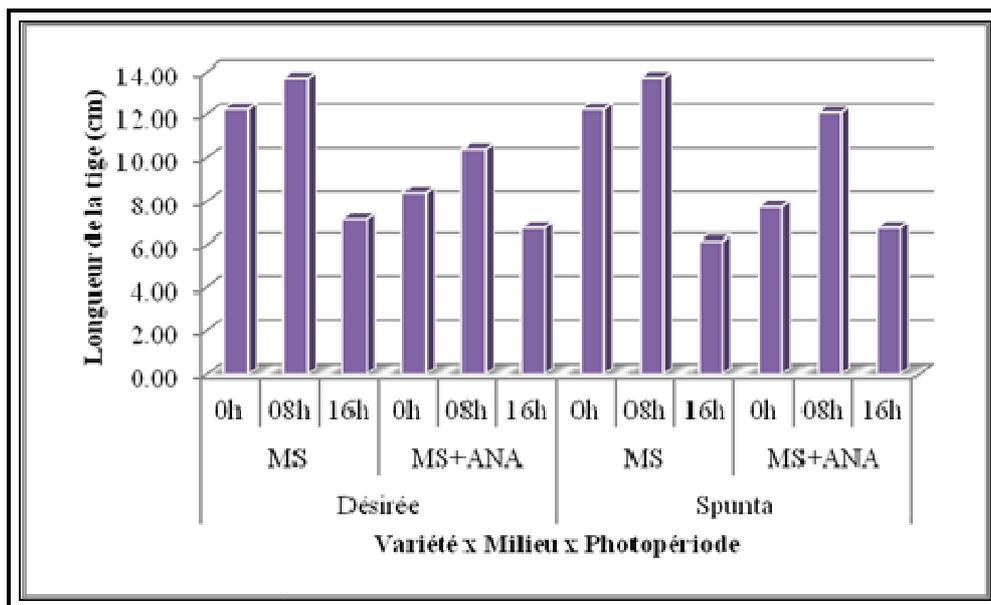


Figure n°32: Longueur de la tige en fonction de la photopériode, du milieu et de la variété.

II.2.2. Nombre de nœuds

L'analyse de la variance montre un effet très hautement significatif pour l'effet photopériode et l'interaction milieu x photopériode. De même il en est significatif pour l'effet milieu et l'interaction entre les trois facteurs. Cependant la photopériode a montré un effet beaucoup plus significatif que celui du milieu (**Tab.32**).

Tableau n°32: Analyse de la variance du nombre de nœuds.

	Somme des carrés	ddl	Moyenne des carrés	F	Signification
Milieu	10,13	1,00	10,13	4,10	0,05
Variété	7,35	1,00	7,35	2,98	0,09
Photopériode	68,25	2,00	34,12	13,82	0,00
Milieu * variété	2,35	1,00	2,35	0,95	0,33
Milieu * photopériode	18,75	2,00	9,38	3,80	0,03
Variété * photopériode	9,36	2,00	4,68	1,90	0,16
Milieu * variété * photopériode	15,53	2,00	7,76	3,14	0,05

Le test de Newman et Keuls du nombre de nœuds est reparti en cinq groupes. Le traitement photopériodique de 8 heures constitue un seul groupe quelque soit le milieu utilisé avec le traitement MS+ANA et 16 heures de photopériode chez les deux variétés. Cependant le traitement MS à l'obscurité totale révèle un autre groupe pour *Désirée* et *Spunta* (**Tab.33**).

Comme pour la longueur de la tige, le nombre de nœuds le plus important est observé dans le milieu MS à photopériode de 16 heures pour la *Désirée* avec un nombre supérieur (10.17). Pour le milieu MS+ANA les meilleurs nombres sont observés à 8 heures de photopériode pour *Désirée* et *Spunta* respectivement 8.17 et 8.50, cependant les deux génotypes présentent le même nombre entre les deux traitements photopériodiques : l'obscurité totale et 16 heures pour le milieu MS (**Fig.33**).

Tableau n°33: Détermination des groupes homogènes sur l'influence du nombre de nœuds en fonctions du milieu, la variété et la photopériode (Test de Newman et Keuls).

Milieu	Variété	Photopériode	Moyenne du nombre de nœuds	Groupe homogène
MS	Désirée	0h	7,00	A
		08h	7,83	AB
		16h	10,17	B
	Spunta	0h	7,17	A
		08h	7,83	AB
		16h	7,00	A
MS+ANA	Désirée	0h	5,67	AC
		08h	8,17	AB
		16h	7,83	AB
	Spunta	0h	4,50	C
		08h	8,50	AB
		16h	7,83	AB

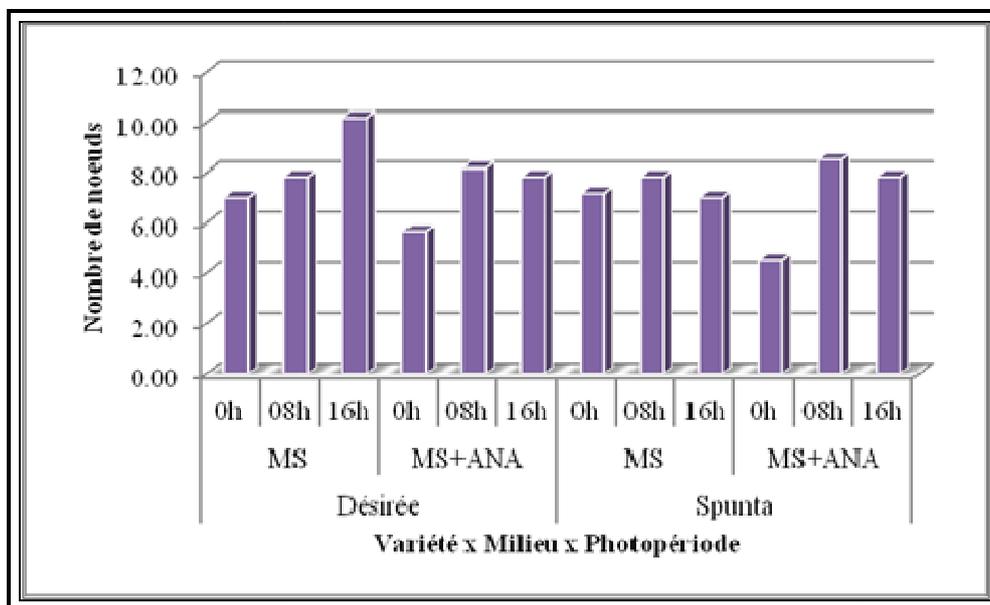


Figure n°33: Nombre de nœuds en fonction de la photopériode, du milieu et de la variété.

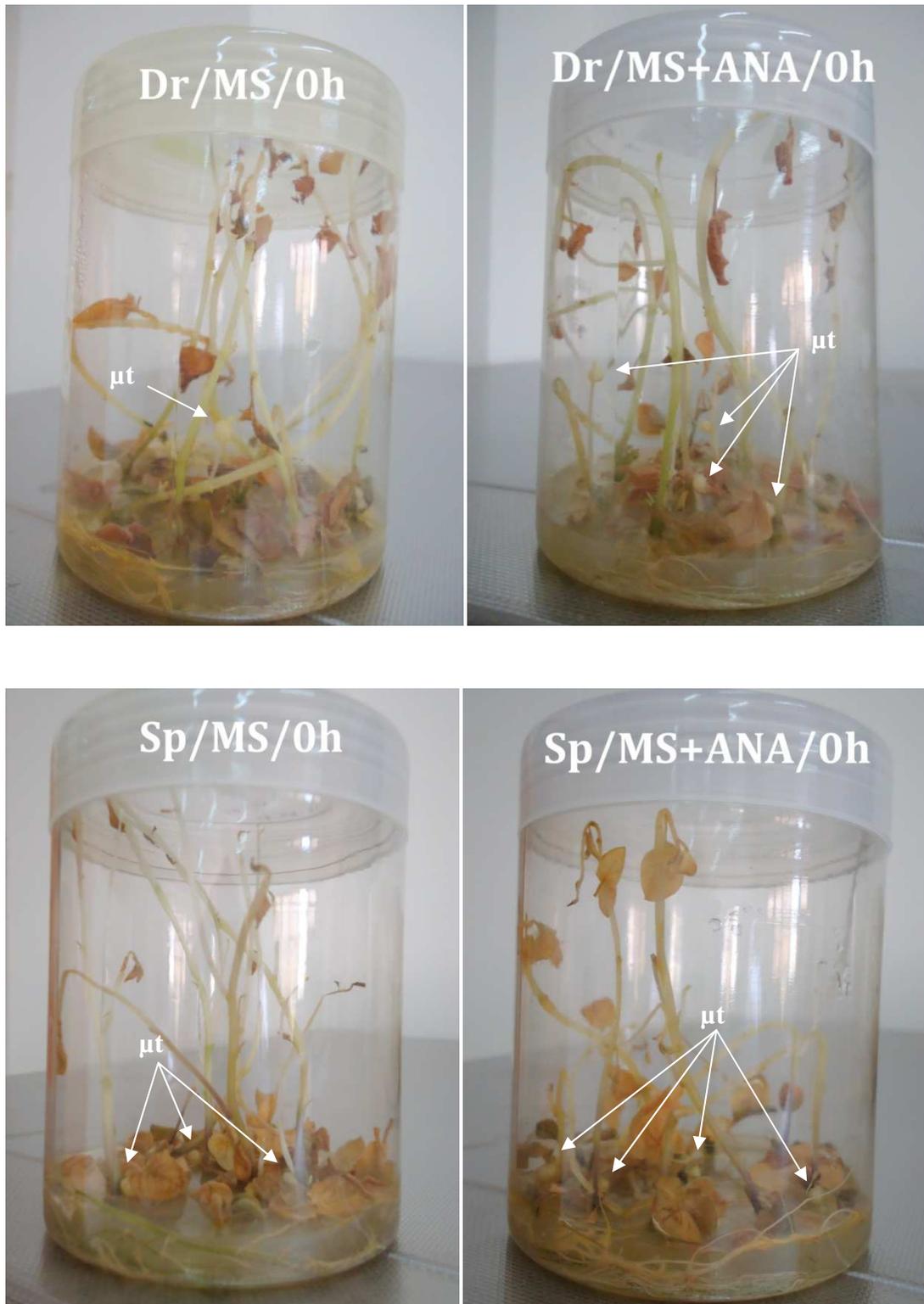


Planche n°8: Production des microtubercules à l'obscurité totale chez les deux génotypes, Dr : *Désirée*, Sp : *Spunta*, μt : microtubercules.



Planche n°9: Production des microtubercules à une photopériode de 8 heures chez les deux génotypes, Dr : *Désirée*, Sp : *Spunta*, μt : microtubercules.



Planche n°10: Production des microtubercules à une photopériode de 16 heures chez les deux génotypes, Dr : *Désirée*, Sp : *Spunta*, μ t : microtubercules.

II.3. Microtubercules

II.3.1. Positions et formes

Durant la microtubérisation on a remarqué que les microtubercules se positionnent selon trois modes :

- Au niveau du bourgeon basal (**planche.10**).
- Au niveau du bourgeon axillaire (**planche.9**).
- Au niveau du bourgeon apical (**planche.8**).

Cependant on a noté trois formes de renflement ce qui confirme les résultats de SEABROOK *et al.*, (1993) :

- Renflement au niveau des bourgeons de la tige principale (**planche.9**).
- Renflement au niveau des bourgeons des tiges secondaires (**planche.8**).
- Apparition d'un microtubercule secondaire au dessus du premier (**planche.10**), cette croissance secondaire ou la multiforme de microtubercules est provoquée par un désordre physiologique.

II.3.2. Aspect morphologique

On a observé au cours de la microtubérisation plusieurs formes de microtubercules, les plus fréquentes sont les formes ovales, rondes et cela pour les deux variétés.

Selon CESTY BORDA YEPEZ *et al* (2001) la couleur du périoderme des microtubercules est différente entre ceux incubés à la lumière et ceux à l'obscurité totale. De même les microtubercules ont présenté trois couleurs du périoderme selon le traitement photopériodique utilisé, de sorte qu'on a observé des microtubercules anthocyane clair à foncé, vert clair et blancs respectivement pour les photopériodes de 16 heures, de 8 heures et d'obscurité totale (**planche.11 ; 12**). Ceci est expliqué par le phénomène de photosynthèse où la lumière joue un rôle important dans l'expression de chlorophylle.

II.3.3. Nombre de microtubercules par vitroplant

Le nombre de microtubercules est en fonction de la variété, cela est confirmé par l'analyse de variance qui nous révèle un effet variété très hautement significatif ainsi pour l'effet photopériode et l'effet d'interaction variété x photopériode qui révèle une signification très haute. Il est de même pour l'effet milieu. Cependant, les autres effets d'interaction aucune signification n'est à noter (**Tab.34**).

Tableau n°34: Analyse de la variance du nombre de microtubercules par vitroplant.

	Somme des carrés	ddl	Moyenne des carrés	F	Signification
Milieu	1,68	1,00	1,68	5,99	0,02
Variété	11,68	1,00	11,68	41,63	0,00
Photopériode	30,11	2,00	15,06	53,66	0,00
Milieu * variété	0,35	1,00	0,35	1,24	0,27
Milieu * photopériode	0,78	2,00	0,39	1,39	0,26
Variété * photopériode	8,44	2,00	4,22	15,05	0,00
Milieu * variété * photopériode	1,44	2,00	0,72	2,57	0,08

Le test de Newman et Keuls nous montre la présence de cinq groupes homogènes. Les milieux MS et MS+ANA utilisés constituent un seul groupe homogène avec des traitements photopériodique de l'obscurité totale et de 8 heures pour *Spunta* et seulement de 8 heures de photopériode pour *Désirée* (Tab.35).

Tableau n°35: Détermination des groupes homogènes sur l'influence du nombre de microtubercules par vitroplant en fonctions du milieu, la variété et la photopériode (Test de Newman et Keuls).

Milieu	Variété	Photopériode	Moyenne du nombre de microtubercules par vitroplant	Groupe homogène
MS	Désirée	0h	2,50	B
		08h	1,00	A
		16h	3,50	C
	Spunta	0h	1,17	A
		08h	1,50	A
		16h	2,33	B
MS+ANA	Désirée	0h	3,33	C
		08h	1,67	A
		16h	3,33	CD
	Spunta	0h	1,50	A
		08h	1,33	A
		16h	2,67	BD

Comme l'ont souligné GARNER et BLAKE en 1989, le nombre de microtubercules par vitro plant est de 1 à 2. Il est presque identique pour les deux variétés testées, les milieux et les traitements photopériodiques, sauf pour *Désirée* qui présente un nombre un peu élevé qui peut atteindre parfois trois microtubercules par vitro plant et cela est observé dans les deux milieux à l'obscurité totale et à 16 heures de photopériode.

Cependant la variété *Spunta* a présenté quelques différences entre les différents traitements, de sorte que le meilleur résultat est observé à 16 heures pour les deux milieux (Fig.34).

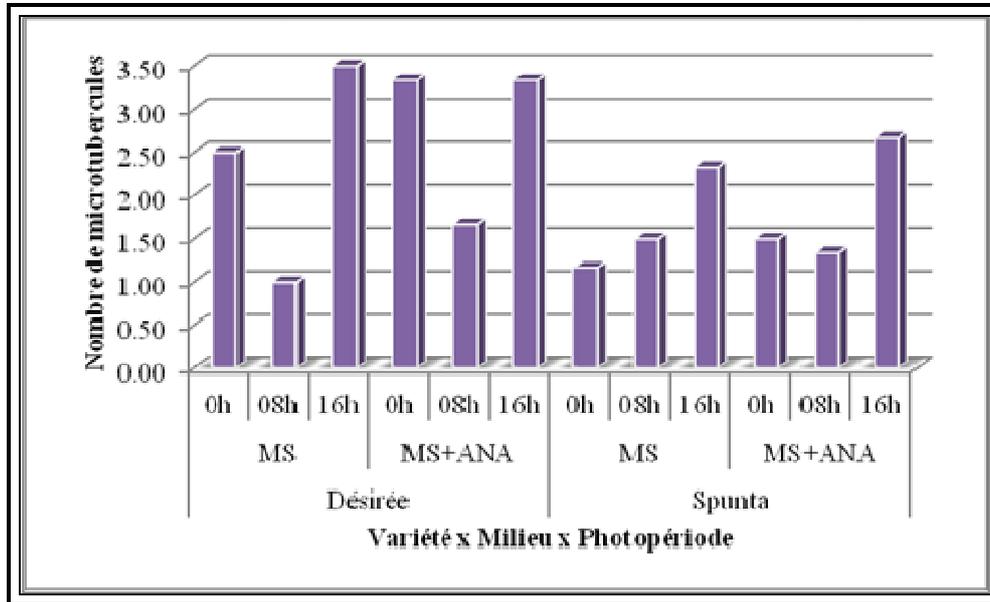


Figure n°34: Nombre de microtubercules par vitroplant en fonction de la photopériode du milieu et de la variété.

II.3.4. Diamètre de microtubercules

L'analyse de la variance nous révèle un effet milieu très hautement significatif. Cependant, l'effet d'interaction à deux facteurs (milieu x photopériode) est très hautement significatifs ; de même l'effet d'interaction variété x milieu et photopériode est hautement significatif, ce qui signifie que la variété n'a presque aucun effet sur le diamètre, par contre c'est la photopériode et le milieu qui ont en plus d'influence (Tab.36).

Tableau n°36: Analyse de la variance du diamètre de microtubercules.

	Somme des carrés	ddl	Moyenne des carrés	F	Signification
Milieu	18,30	1,00	18,30	30,61	0,00
Variété	0,42	1,00	0,42	0,70	0,41
Photopériode	2,50	2,00	1,25	2,09	0,13
Milieu * variété	0,13	1,00	0,13	0,22	0,64
Milieu * photopériode	5,58	2,00	2,79	4,66	0,01
Variété * photopériode	2,17	2,00	1,09	1,82	0,17
Milieu * variété * photopériode	4,38	2,00	2,19	3,66	0,03

Le test de Newman et Keuls nous montre la présence de six groupes homogènes. On a ainsi observé que la *Désirée* regroupe tous les traitements de 16 heures de photopériode dans le même groupe quelque soit le milieu utilisé. Il en est de même pour la *Spunta* à l'exception du milieu MS (**Tab.37**).

Tableau n°37: Détermination des groupes homogènes sur l'influence du diamètre de microtubercules en fonctions du milieu, la variété et la photopériode (Test de Newman et Keuls).

Milieu	Variété	Photopériode	Moyenne du diamètre de microtubercules	Groupe homogène
MS	<i>Désirée</i>	0h	4,28	AB
		08h	3,45	A
		16h	4,48	ABCD
	<i>Spunta</i>	0h	4,05	AB
		08h	4,50	ABC
		16h	3,87	AB
MS+ANA	<i>Désirée</i>	0h	4,40	ABC
		08h	5,83	D
		16h	4,75	ABCD
	<i>Spunta</i>	0h	5,30	BCD
		08h	5,70	CD
		16h	4,70	ABCD

Le diamètre de microtubercules est en relation avec le milieu et la photopériode. Les meilleurs traitements photopériodiques observés sont ceux de 8 heures avec le milieu MS+ANA pour les deux variétés, ensuite vient le milieu MS dont la meilleure photopériode est celle de 8 heures pour *Spunta* et 16 heures pour *Désirée* (**Fig.35**) (**planche.11 ; 12**).

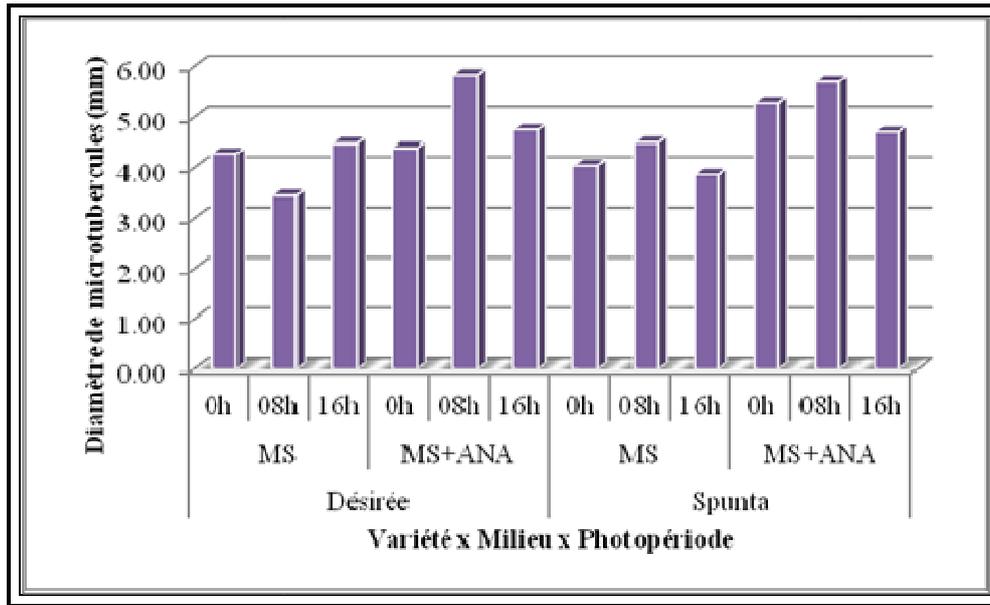


Figure n°35: Diamètre de microtubercules en fonction de la photopériode, du milieu et de la variété.

II.3.5. Poids de microtubercules

L'analyse de la variance nous renseigne sur un effet très hautement significatif pour les effets milieu x photopériode, ainsi pour les effets d'interaction soit à deux (milieu x photopériode) ou à trois facteurs révèlent une très haute signification (**Tab.38**). Cela nous montre que le poids est en fonction du milieu et de la photopériode.

Tableau n°38: Analyse de la variance du poids de microtubercules.

	Somme des carrés	ddl	Moyenne des carrés	F	Signification
Milieu	6167,90	1,00	6167,90	38,00	0,00
Variété	0,14	1,00	0,14	0,00	0,98
Photopériode	2518,24	2,00	1259,12	7,76	0,00
Milieu * variété	15,49	1,00	15,49	0,10	0,76
Milieu * photopériode	2441,67	2,00	1220,83	7,52	0,00
Variété * photopériode	554,17	2,00	277,09	1,71	0,19
Milieu * variété * photopériode	2398,78	2,00	1199,39	7,39	0,00

Le test de Newman et Keuls nous révèle que tous les traitements utilisés se répartissent en six groupes homogènes. On remarque ainsi que les deux variétés qui ont évolué sur traitement milieu MS et à obscurité totale appartiennent au même groupe (**Tab.39**). De même le traitement du milieu MS à ANA à 16 heures de photopériode constitue un autre groupe.

Tableau n°39: Détermination des groupes homogènes sur l'influence du poids de microtubercules en fonctions du milieu, la variété et la photopériode (Test de Newman et Keuls).

Milieu	Variété	Photopériode	Moyenne du poids de microtubercules	Groupe homogène
MS	Désirée	0h	27,35	AB
		08h	16,55	A
		16h	37,47	ABC
	Spunta	0h	20,83	AB
		08h	38,77	ABC
		16h	24,28	AB
MS+ANA	Désirée	0h	32,25	AB
		08h	68,20	D
		16h	39,23	ABC
	Spunta	0h	43,62	BC
		08h	56,17	CD
		16h	36,85	ABC

Les meilleurs poids sont observés dans le milieu MS+ANA qui présente les poids les plus élevés à une photopériode de 8 heures pour *Désirée* et *Spunta*. Par contre, le milieu MS présente les meilleurs poids à 16 heures pour *Désirée* et à 8 heures pour *Spunta* (**Fig.36**).

Enfin et comme c'était évoqué pour le diamètre, les traitements qui ont donné les poids les plus faibles sont ceux de l'obscurité totale pour *Désirée* dans le milieu MS+ANA et pour *Spunta* dans le milieu MS, ces résultats sont confirmés par les travaux de PRUSKI *et al* (2001, 2002).

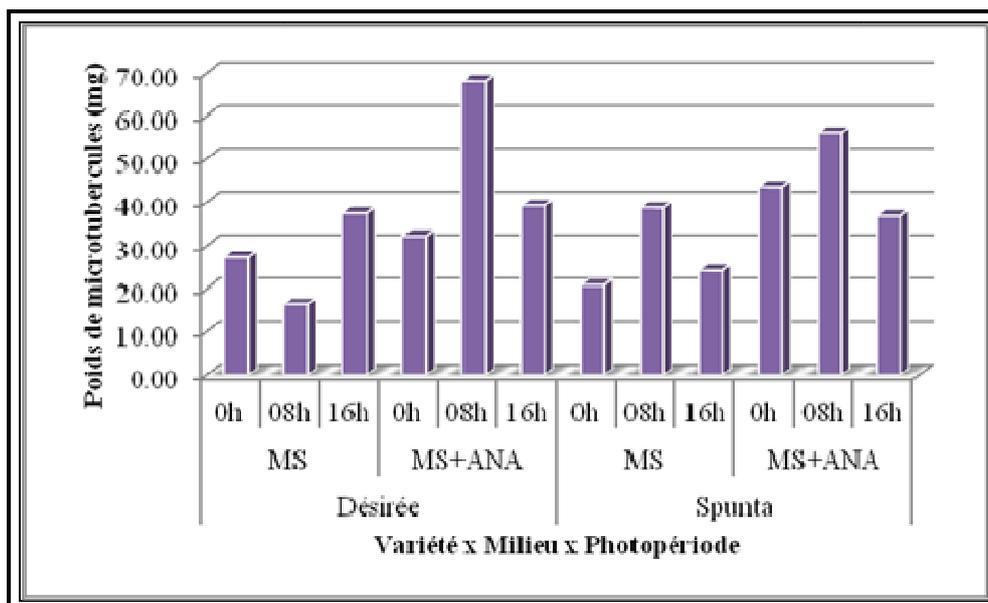


Figure n°36: Poids de microtubercules en fonction de la photopériode, du milieu et de la variété.

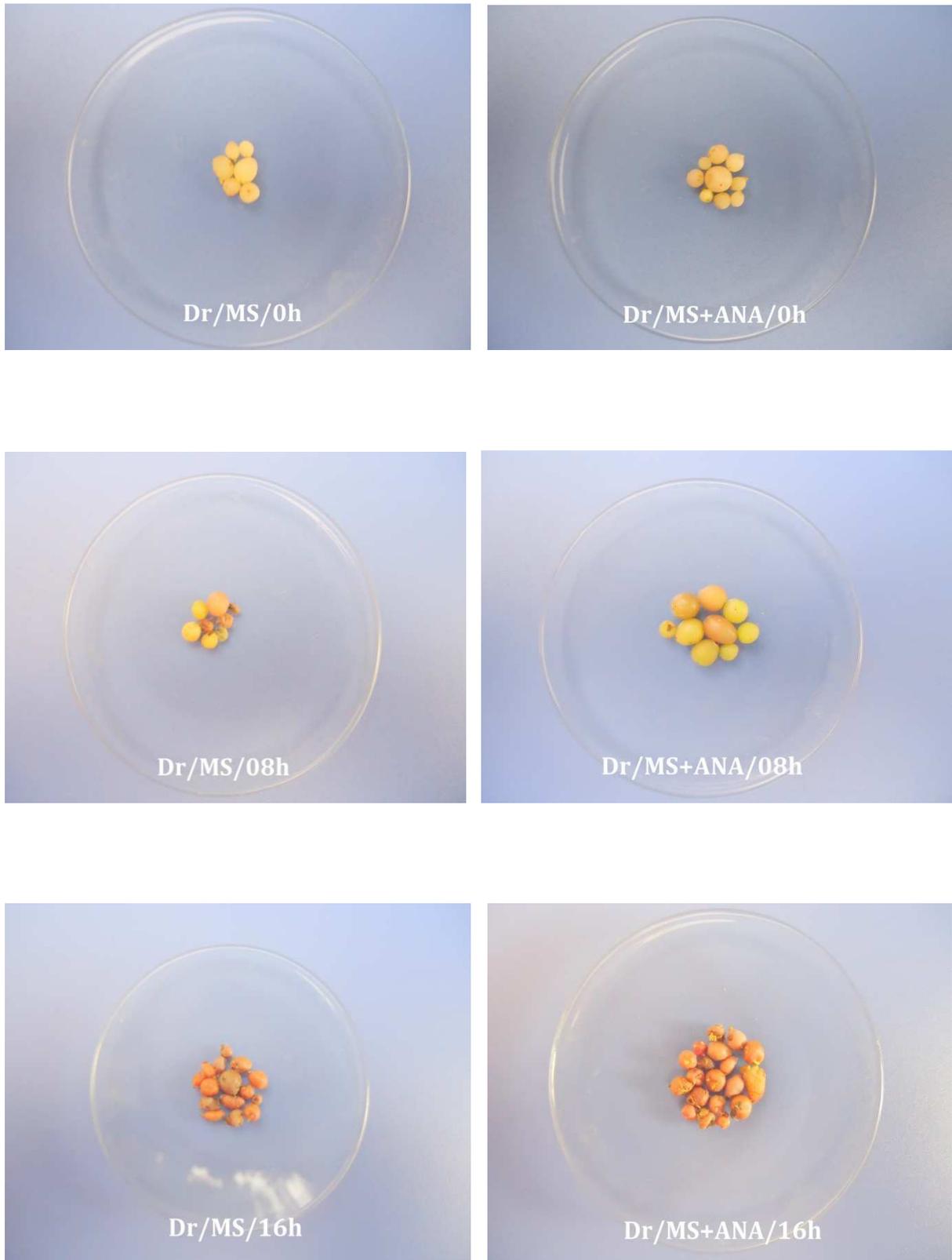


Planche n°11: production des microtubercules selon différents traitements chez *Désirée*.

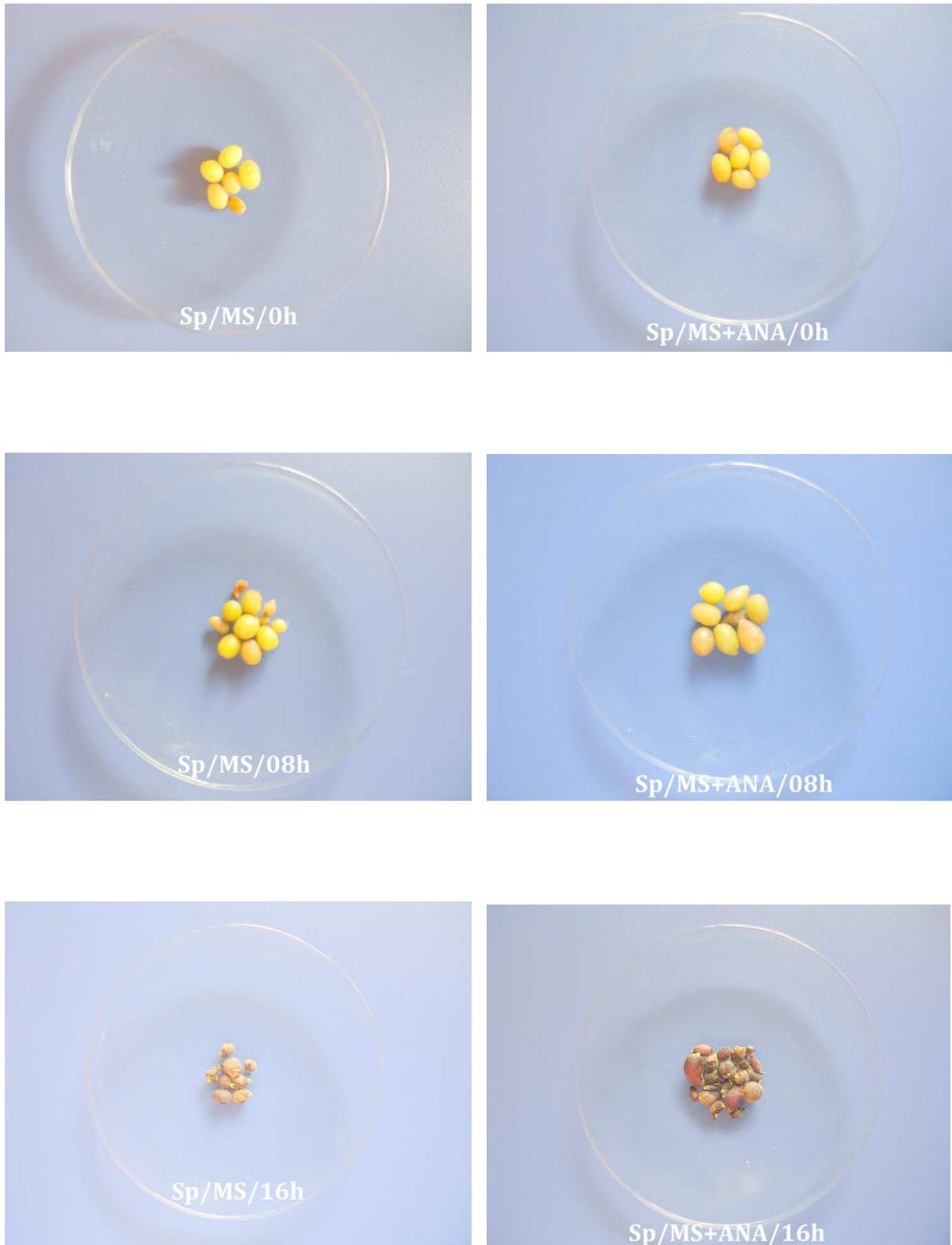


Planche n°12: production des microtubercules selon différents traitements chez *Spunta*.

II.4. Etude des corrélations

Les paramètres étudiés dans cette matrice ont présenté des corrélations avec le milieu et surtout pour le diamètre des microtubercules et le poids des microtubercules. Elle est aussi marquée pour la longueur de la tige et le nombre des microtubercules avec une haute corrélation. Il en est de même pour le diamètre des microtubercules qui est très hautement corrélé avec le poids des microtubercules ($r=0,758$), ainsi que pour la variété et le nombre de racines ($r=0,686$).

L'étude nous a montré aussi que la variété est faiblement corrélée avec les autres paramètres étudiés. Cependant la photopériode a présenté une corrélation avec tous les paramètres sauf pour le nombre de racines, le diamètre de microtubercules et le poids de microtubercules (**Tab.40**).

Tableau n°40: Matrice des corrélations entre les différents paramètres de la microtubérisation. Mil : Milieu, Var : Variété, Php : Photopériode, NR : Nombre de racines, LR : Longueur des racines, PR : Poids des racines, LT : longueur de la tige, NF : nombre de noeuds, NM : Nombre de microtubercules, DM : Diamètre des microtubercules, PM : Poids des microtubercules.

	Mil	Var	Php	NR	LR	PR	LT	NN	NM	DM	PM
Mil											
Var	0,000										
Php	0,000	0,000									
NR	-0,180	0,686*	-0,067								
LR	-0,234*	0,153	0,279*	0,190							
PR	-0,277*	0,153	0,119	0,339*	0,214						
LT	-0,305*	0,001	-0,394*	0,231	0,022	0,124					
NN	-0,190	-0,162	0,440	0,131	0,312*	0,355*	0,376*				
NM	0,154	-0,405*	0,342*	-0,337*	0,106	-0,018	-0,506*	0,063			
DM	0,514*	0,078	-0,024	0,171	-0,001	-0,101	0,050	0,234*	0,011		
PM	0,509*	-0,002	0,077	0,032	-0,056	-0,117	0,016	0,285*	-0,023	0,758*	

* La corrélation est significative au niveau 0.05 (bilatéral).

* La corrélation est significative au niveau 0.01 (bilatéral).

I. La micropropagation

Durant la première partie d'expérimentation, on a noté une croissance normale de la tige et cela en fonction du temps. On a observé ainsi une rhizogénèse très développée. La culture *in vitro*, technique de reproduction, plus performante dans la conservation des potentialités génétiques et la qualité phytosanitaire, se conditionne par l'initiation des racines et tiges feuillues. La détermination d'un milieu adéquat pour l'élaboration de cette organogénèse a toujours constitué des sujets des principales recherches inscrites dans ce domaine. Les objectifs escomptés visent essentiellement à mettre au point des compositions engendrant une aisance dans la réussite de l'opération.

L'étude présentée s'attelle principalement à mettre en comparaison les résultats d'organogénèse, dégagés d'un milieu nutritif reconnu universellement apte à reproduire cette espèce, avec ceux préparés par nos soins et issus des déchets ménagers.

Parmi les résultats obtenus, il se confirme que la régénération *in vitro* de la pomme de terre repose essentiellement sur la variabilité intra-spécifique. En effet le comportement des deux génotypes expérimentés dans les processus d'initiation et formation des racines et tiges à partir des méristèmes s'avère très différent. Il en ressort de ces résultats, que toute tentative de mise en culture *in vitro*, serait précédée d'une définition du matériel végétal concerné par ces manipulations. Ce résultat se confirme largement par les travaux de MARGARA (1984) qui démontrent qu'à travers l'ensemble des espèces mises en culture, les résultats de l'organogénèse se trouvent grandement influencés par les caractéristiques intrinsèques des explants.

Etant donné que le nombre des racines principales est fortement influencé à la fois, par le génotype et la nature du milieu utilisé dans le temps, il serait plus évident d'étudier le phénomène de la rhizogénèse en se basant seulement sur ce paramètre. Les milieux préparés à base de cendres d'aubergine, du coing, de la fève, du piment, du poivron et de la pomme de terre permettent d'obtenir des résultats satisfaisants au même titre que le milieu nutritif standard MS.

En comparaison avec ce qui est observé au niveau des méristèmes mis en culture sur milieu nutritif standard, il est évident que les préparations à base de cendres contiendraient l'ensemble des éléments nutritifs assurant une nutrition minérale équilibrée. Ces faits sont à l'origine d'une rhizogénèse d'une importance comparable à celle affichée par le milieu

témoin. A travers cette étude, on a même constaté que les résultats issus des solutions de cendres sont d'un intérêt pratique plus intéressant. Ceci serait la conséquence d'une éventuelle interaction entre constituants de ces dernières qui ont pu engendrer un environnement épigénétique favorable à l'initiation et la formation des racines.

La plupart des milieux utilisés, reconstitués à partir des déchets et le milieu standard, ont engendré une caulogénèse abondante. Les mêmes constatations sont faites pour ce processus que celui de la rhizogénèse. Ainsi certaines solutions issues des déchets ont initié un nombre de tiges plus élevé que celui du milieu témoin.

La caulogénèse a été importante par utilisation des milieux à base d'artichaut, d'aubergine, de la laitue, du mélange, du milieu MS, du poivron, et du potiron chez la variété *Désirée*. Les résultats sont plus intéressants sur milieux de culture issus des déchets du cardon, de la carotte, des épinards, des oignons, de la pomme et le milieu standard MS chez la variété *Spunta*.

Les meilleurs valeurs de longueur des tiges sont obtenues après 4 semaines pour les milieux de culture à base de cendres d'ail, d'aubergine, de la menthe, du poivron, du potiron et celui issu du mélange chez *Désirée* et *Spunta* et elles sont de 8.27 et 7.67 cm respectivement pour les deux variétés. Ces valeurs rejoignent les résultats de NOWBUTH *et al.*, (2005) qui ont trouvé que la taille des vitroplants atteint 8.9 ± 5 cm après 40 jours de culture. La différence entre la longueur des tiges de la même variété dans les quarante un milieux de prolifération peut être expliquée par la différence entre les concentrations des éléments minéraux qui les constituent. Cette différence est expliquée par BRHADDA *et al.*, (2003) beaucoup plus par la teneur en azote et potassium. La bonne élongation des tiges dans un milieu de culture est le résultat de la présence de N avec des concentrations importantes, cet élément chimique est le constituant fondamental des matières vivantes. La présence de K⁺ joue un rôle dans l'élongation des tiges et la production des matières vivantes comme il est signalé par SKIRFDJ, (2007). Dans notre expérimentation on a observé des différences d'élongation des tiges entre les deux variétés dans tous les milieux et pendant toutes les périodes d'études, ces différences sont expliquées par la capacité de régénération de chaque variété, nous avons remarqué que la variété *Spunta* a toujours donné les mauvaises longueurs que la *Désirée*. A ce moment, nos résultats contredisent ceux de JARRET *et al.*, (1980); LÊ *et al.*, (1997) ,qui ont trouvé que la *Désirée* possède une capacité moyenne de multiplication avec une taille réduite.

Une des réponses aussi des explants dans les milieux testés est la formation de feuilles avec leur nombres, nous avons trouvé qu'il y a des différences hautement significatives entre les quarante un milieux durant les quatre périodes de culture des deux variétés. Les meilleures valeurs sont obtenues avec les milieux de culture à base de cendres d'ail, de la courgette, des épinards, de la menthe, de la poire, du poivron, du potiron qui ont enregistré des valeurs moyennes comparables avec celui du milieu témoin de MS dans la troisième à la quatrième semaine pour les deux variétés. GEORGE, (1993) a expliqué l'augmentation du nombre de feuilles, par la bonne élongation des tiges. Nous avons remarqué par ailleurs que le pourcentage du nombre de feuilles était élevé dans la période 3 à 4 semaines dans tous les milieux, ce qui favorise la photosynthèse qui assure le bon développement des vitroplants, ce qui explique l'augmentation de la vitesse de croissance des tiges et racines des deux variétés dans la période 3 à 4 semaines. La différence entre les deux variétés est due toujours à la différence génétique des deux variétés.

Le nombre de feuilles est un paramètre très recherché dans le processus de la culture in vitro chez la pomme de terre. Ceci revient au fait qu'à l'aisselle de chaque feuille il y'aura la formation d'un bourgeon axillaire contenant une copie de méristème caulinaire terminal susceptible d'être prélevé et faire l'objet d'un repiquage, technique indispensable à la multiplication par boutures (DUCREUX *et al.*, 1998).

II. La micotubérisation

Nos meilleurs résultats sont obtenus avec les microboutures inoculées dans les bocaux que ce soit pour la rhizogénèse, la caulogénèse ou la micotubérisation. Cela est expliqué par SAKAR et NAIK, (1998) dont les travaux ont porté sur des densités d'inoculation allant de 1 à 5 microboutures par récipient et ils ont obtenu leurs meilleurs résultats avec les densités de 4 à 5 boutures par récipient ; dans leurs travaux ils pensent que ce serait peut être du à la diffusion de quelques substances de croissances par les boutures repiquées qui favoriseraient le développement caulescent et racinaire des plantules.

La micotubérisation est un processus physiologique réglé par plusieurs facteurs comme la température, la photopériode et les régulateurs de croissance (SEABROOK *et al.*, 1993 ; KHURI et MOORBY, 1996).

Au cours de la micotubérisation on a observé une croissance racinaire très développée dans le milieu MS ; par contre elle était très faible avec le régulateur de croissance : l'ANA.

Cependant PELACHO *et* MINGO-CASTEL (1991) ont expliqué que l'augmentation de la rhizogénèse pourrait perturber ou retarder la microtubérisation, et que le faible poids des racines favorise la microtubérisation. Cela est observé dans notre étude, de sorte que le milieu MS a présenté le taux de racines le plus élevé; cela pourrait expliquer ainsi le fait que l'ANA a donné le meilleur taux de microtubérisation et cela à cause d'un apport d'auxine exogène qui inhibe rapidement et sévèrement l'élongation des racines alors que la même concentration stimule la même réponse dans les tissus aériens (ANONYME, 2007b). Donc l'arrêt de la croissance des racines, entraîne le début de la microtubérisation.

Selon HUSSEY *et* STACEY (1981) qui expliquent que les jours longs favorisent une vigueur de la croissance et une production de nœuds plus importantes tandis que les jours courts favorisent la production des microtubercules avec des diamètres importants (HUSSEY *et* STACEY, 1981 ; SEABROOK *et al.*, 1993 ; CHARLES *et al.*, 1995).

Dans le milieu MS sans ANA les tiges donnent les meilleures longueurs, cela à cause de l'absence des Cytokinines qui sont considérées comme des inductrices et stimulatrices de la tubérisation (PALMER *et* SMITH, 1970 ; EWING, 1985) et la BAP (LECLERC *et al.*, 1994) et la Kinétine (VILLAFRANCA *et al.*, 1998) font partie des meilleurs inducteurs de la microtubérisation.

Et comme on l'a déjà évoqué au dessus avec les racines, la croissance des tiges est aussi en relation avec la microtubérisation. Sachant que la tubérisation à lieu au niveau de l'extrémité des stolons, qui sont du point de vue morphologique des tiges, les substances inductrices de la tubérisation semblent être des inhibitrices de croissance car la tubérisation débute juste après l'arrêt de l'élongation des stolons ; il semblerait qu'elles inhibent aussi la croissance des tiges.

Le nombre de microtubercules par vitroplant est entre 1 à 3 et aucun effet significatif n'a été observé entre les trois facteurs variété, milieu et photopériode. Cela se confirme avec les résultats de CESTY BORDA YEPEZ *et al* (2001) où ils ont observé qu'il y a aucun effet significatif entre les variétés et les régulateurs de croissances sur le nombre de microtubercules par vitroplant. Dans notre étude on a obtenu un nombre presque identique entre les deux variétés.

Selon PRUSKI *et al* (2001) l'exposition des vitroplants à une photopériode de 08 heures durant la microtubérisation est essentielle pour produire un nombre suffisant de microtubercules par vitroplant. Cependant on a trouvé le meilleur nombre de microtubercules à 16 heures de photopériode, ensuite à l'obscurité totale. Cependant le plus faible nombre est observé dans les traitements de 08 heures.

Les diamètres de microtubercules varient selon le traitement photopériodique utilisé, de sorte qu'on a eu les meilleurs diamètres à une photopériode de 8 heures. De même SEABROOK *et al* (1993) ont remarqué que les microboutures exposées à des traitements de photopériodes de courtes durées (8 heures) produisent des microtubercules dont le diamètre est supérieur à celui des traitements de longue durée (16 heures). PRUSKI *et al* (2001) ont confirmé cela et ont ajouté que les diamètres les plus faibles sont ceux obtenus à l'obscurité totale.

Comme nous l'avons précisé plus haut avec le diamètre, la lumière et l'obscurité totale ont un effet sur le poids des microtubercules CESTY BORDA YEPEZ *et al* (2001). Dans les travaux de SEABROOK *et al* (1993) les meilleurs poids obtenus des microtubercules sont ceux de 8 heures de photopériode qui est précédé par une photopériode de 16 heures. Ces résultats sont similaires avec nos résultats à l'exception du milieu MS où la variété Désirée a donné son meilleur poids à une photopériode de 16 heures au lieu de 8 heures. Cela se confirme avec les résultats de PRUSKI *et al* (2002) où ils ont observé un effet significatif entre la variété et la photopériode sur le poids des microtubercules, et aussi pour l'interaction entre variété, milieu et photopériode. Donc la lumière a un effet direct sur le poids des microtubercules. GOPAL *et al* (1997) (1998) déclarent que le poids des microtubercules de certaines variétés augmente en lumière surtout si la photopériode est entre 8 heures et 10 heures.

La vitesse de microtubérisation est beaucoup plus influencée par le milieu et le régulateur de croissance. L'ANA a montré un effet significatif sur la vitesse (un cycle de culture de 10 semaines), par contre le milieu MS a présenté la durée la plus longue de tubérisation : il a atteint la moyenne de 12 semaines. Au temps que LÊ et THOMAS (2009) avait montré qu'après une période de croissance et d'induction *in vitro*, les microboutures de pomme de terre cultivées étaient capables de développer des tubercules au bout de 16 semaines. Cependant la meilleure photopériode est celle de 08 heures et d'obscurité totale ;

cette dernière correspond avec les déclarations de FORTI *et al* (1991), selon les quelles la microtubérisation est rapide en obscurité totale.

En général la durée de microtubérisation dans notre travail est considérée courte par rapport aux autres travaux et cela s'explique par le point de réjuvénalisation (le retour à l'état juvénile), état favorisant la microtubérisation des boutures issues des vitroplants (MARGARA, 1984 ; NOZERAN et BANCILHON, 1972). HAÏCOUR (2002) signale que la réjuvénalisation physiologique du matériel végétal n'est atteinte qu'après 2 à 3 subcultures (2 à 3 générations). LECLERC *et al* (1994) constatent que la durée de tubérisation n'influe pas sur le nombre de microtubercules produits par explant, malgré un prolongement important de la durée de culture des variétés Kennebec, Superior et Russet Burbank.

Le nombre de microtubercules produits par culture *in vitro* varie selon la variété et le type de traitement photopériodique (SEABROOK *et al.*, 1993 ; GOPAL *et al.*, 1998). Notre procédé de développement de microtubercules *in vitro* est comparable au système de culture de KÄMÄRÄINEN-KARPPINEN *et al* (2010) qui, en prolongeant l'exposition des plantules au milieu de culture, obtiennent effectivement d'avantage de microtubercules sur un cycle de culture de 16 semaines. Toutefois, ils constatent que le rendement par explant initial reste encore faible : le taux moyen varie, selon le cultivar, entre 0,7 et 1,4 microtubercules par explant initial et par cycle de culture. Comparativement, notre procédé fournit, pour une période de tubérisation de 12 semaines, deux fois plus pour *Désirée* qui a atteint trois microtubercules par vitroplant et cela est observé dans les deux milieux à l'obscurité totale et 16 heures de photopériode. Ce fait corrobore les résultats de LÊ et THOMAS (2010) qui ont aboutit à un taux moyen d'environ trois microtubercules utilisables par explant initial a été relevé pour la variété Bintje pour une période de 16 semaines et ils ont amené à l'augmentation du nombre de tubercules de qualité en termes de poids et de taille, en prolongeant la culture du cultivar Bintje au-delà de 16 semaines. La faible production de microtubercules obtenue par KÄMÄRÄINEN-KARPPINEN *et al* (2010) semble être due à la quantité réduite en éléments nutritifs mise à la disposition des explants initiaux.

RANALLI (1997), affirme que la plupart des variétés présentent une meilleure production de microtubercules dans les courtes photopériodes (8 heures) que dans l'obscurité totale. De même SEABROOK *et al* (1993) ont obtenu des meilleurs résultats dans les courtes photopériodes (8 heures) que dans les longues (16 heures) et cela avec les variétés katahdin et russet burbank. Ces résultats corroborent les nôtres de sorte qu'on a eu les meilleurs résultats

à 08 heures de photopériode et avec le milieu MS à ANA, chez *Désirée* et *Spunta*. Cependant les plus faibles taux sont obtenus dans les milieux MS sans ANA. CUTTER (1978) explique que cette faible production des microtubercules peut être associée à :

- L'inhibition corrélative des bourgeons axillaires par le bourgeon apical (dominance apicale). SACHS et THIMANN (1964) montrent que les Cytokinines peuvent diminuer l'inhibition corrélative.
- Le prolongement de la durée de culture au-delà de 16 semaines favorise en revanche l'augmentation de la biomasse des microtubercules (LÊ et THOMAS, 2010).
- Le manque de stimulateurs de tubérisation.
- La nutrition insuffisante.

Ces résultats différents peuvent être expliqués par ESTRADA *et al* (1986) où il affirme que la photopériode n'est pas le seul stimulateur de tubérisation et qu'il y a d'autres facteurs comme l'ajout du saccharose et des Cytokinines. Cela peut être expliqué aussi par SEABROOK *et al* (1993) ; BIZARRI *et al* (1995) ; GOPAL *et al* (1997) où ils démontrent que la production des microtubercules est un processus d'une dépendance variétale. Des caractéristiques particulières liées au génotype pourraient être à l'origine de cette variabilité de tubérisation en milieu de culture contrôlé, comme l'ont souligné RANALLI *et al* (1994) et HOSSAIN (2005) qui rapportent que le potentiel de microtubérisation des pommes de terre est un caractère dépendant du génotype, lui-même fortement influencé par les facteurs environnementaux. En outre, le renouvellement d'éléments nutritifs adaptés à chaque phase de culture permet d'augmenter le nombre de microtubercules autant que l'apport de l'azote sous forme de NH_4NO_3 permet également le grossissement des microtubercules (LÊ et THOMAS, 2009).

Entre obscurité totale et éclairage JAKSON (1999) conclue que c'est la durée de la période d'obscurité et non pas celle d'éclairage qui joue un rôle important dans l'induction des microtubercules. Cependant la photopériode joue un rôle très important après l'obtention des microtubercules. Selon FORTI *et al* (1991) les microtubercules produits sous une photopériode de 8 heures sont plus résistants à la déshydratation que ceux produits sous une obscurité totale. De même plusieurs chercheurs ont affirmé que la dormance des microtubercules dépend de la durée de la photopériode appliquée durant la microtubérisation (TÁBÓRI *et al.*, 1999 ; COLEMAN *et* COLEMAN, 2000).

Conclusion



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.

Notre étude renferme deux volets : la micropropagation et la microtubérisation. Lors de la micropropagation, les microboutures ont été inoculées sur le milieu témoin MS et sur les milieux nutritifs à base de cendres prévus à cet usage est d'une réalisation facile et pratique (techniques et préparations simples) d'une part, économique et hygiénique (déchets et leur récupération) d'autre part. L'incinération des déchets des végétaux constitue la principale étape pour la préparation des milieux nutritifs essentiels à la croissance des méristèmes; ainsi les déchets récupérés et transformés permettent d'éviter la pollution de l'environnement.

L'utilisation des différents milieux de culture, issus des déchets ménagers récupérés a fournit des résultats encourageants dans les deux processus conditionnant la réussite de la régénération *in vitro*, à savoir la formation, des racines et tiges. L'utilisation de certains milieux nutritifs a même déclenché et de manières similaires, une rhizogenèse et une caulogenèse aussi performantes que celles constatées au niveau du milieu de culture MS, utilisé comme témoin. Les résultats obtenus et les constatations faites dans cette partie restent forcément incomplets pour élucider l'ensemble des interrogations liées à cette étape. Il est indispensable de procéder dans des travaux futurs à une meilleure caractérisation minérale de solutions issues de ces déchets et d'en expliquer les effets inductifs de l'organogenèse chez cette espèce.

Le but de ce travail c'est l'obtention des microtubercules de différents traitements, c'est la raison pour laquelle on a précédé la microtubérisation par la micropropagation et cela dans le but d'obtenir des vitroplants sains et avec un grand nombre de microboutures.

Au cours de la microtubérisation, plusieurs remarques ont été observées. Le milieu MS sans régulateur de croissance et sous différents traitements photopériodiques a présenté le meilleur enracinement. Cependant l'ANA a donné un taux d'enracinement très faible; les

mêmes observations ont été obtenues avec la longueur de la tige. Cependant la photopériode de 08 heures avec le milieu MS à ANA a donné les meilleurs taux de microtubérisation.

Le nombre de microtubercules par vitroplant reste identique entre tous les traitements, cependant la variété *Désirée* a présenté un nombre un peu élevé par rapport au *Spunta*.

En ce qui concerne le poids et le diamètre, la photopériode a exercé une grande influence sur eux, de façon qu'on a obtenu des poids et des diamètres supérieurs dans les traitements photopériodiques de 8 heures et de 16 heures que dans ceux de l'obscurité totale ; cette dernière a donné les plus faibles diamètres et les plus faibles poids. Donc la photopériode a un effet direct sur le poids et le diamètre.

Les microtubercules de pomme de terre produits *in vitro* sont actuellement utilisés dans de nombreux secteurs de l'agriculture comme matériel pour la recherche, la conservation des ressources génétiques et la distribution internationale de génotypes cultivés, ainsi que pour les systèmes de certification.

Concernant l'amélioration de la pomme de terre, les constatations faites suite à ces divers résultats pour les recherches à venir devraient porter sur l'étude de:

- L'amélioration de la nutrition des plants *in vitro* par substitution des milieux de culture chimiques par ceux confectionnés à partir des résidus des végétaux d'en expliquer les effets inductifs de l'organogenèse tout en contribuant à la réduction du coût économique d'une part et au recyclage et la valorisation des déchets d'autre part .
- La dormance des microtubercules qui pose toujours un problème.
- L'amélioration de la qualité des microtubercules en termes de poids (> 1 g) et de taille (> 1 cm) pour être utilisables dans les systèmes de production et de certification des semences.
- La création d'une variété typiquement algérienne correspond avec toutes nos conditions de culture.
- L'utilisation des techniques de culture *in vitro* pour la production des métabolites secondaires.

Références Bibliographiques

Références Bibliographiques

A

Achille C., 2006. Éléments nutritifs pour les plantes: www.capinov.fr/file/cahier-agronomie.

Akita M., Takayama S., 1994. Induction and development of potato tubers in a jar fermentor. *Plant Cell Tiss Org Cult* 36/177-182.

Ambroise A., 2002. Microtubérisation : Pomme de terre (*Solanum tuberosum* L.). In *Biotechnologies végétales, Techniques de laboratoire*. Robert Haïcour, 2002. Ed Lavoisier. Londre-Paris-New York, pp 67-77.

Ambroise A., Grapin A., 2002. Influence of donor material and genotype on protoplast regeneration in banana and plantain cultivars (*Musa spp.*). *Plant Science*, 162: 355-362.

Anonyme., 1999. Micropropagation pour l'entreprise sericole-Cahier de références techniques. **CIDES** (Centre d'Information et de Développement Expérimental en Sericulture): www.cides.qc.ca

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

Anonyme., 2001. Variétés. Le jardin naturel. Festival des variétés de pomme de terre: www.elboursa.ma.

Anonyme., 2003. Age physiologique et préparation des semences. Ministère de l'Agriculture, des Pêches et de l'Aquaculture : www.gnb.ca.

Anonyme., 2007a. Catalogue néerlandais des variétés de pomme de terre 2007: www.nivap.nl.

Anonyme., 2007b. Auxine. Nouvelle édition de l'Encyclopédie Universelle, article de vulgarisation, 2007.

Anonyme., 2011. La pomme de terre, Bilan de la campagne 2009/10. France Agri Mer 2011: www.franceagrimer.fr / <http://agriculture.gouv.fr>.

Arakawa T., Yu J., Langridge W.H., 1999. Food plant-delivered cholera toxinB subunit for vaccination and immunotolerization. *Adv Exp Med Bio* 464:161- 178.

Augé R., Boccon-Gibob J., 1989. Les applications à l'horticulture. In: *La culture in vitro et ses applications horticoles*. Lavoisier, Paris, pp. 63-89.

Auge D., 1992. La culture in vitro et ses applications horticoles, 3^{ème} édition. Technique et documentation, Lavoisier, Paris, 225p.

B

Bado B. V., 2002. Rôle des légumineuses sur la fertilité des sols ferrugineux tropicaux des sols guinéenne et soudanienne du Burkina-faso. *Thèse doctorat Université Lava*, 197 p: www.theses.ulaval.ca/2002/20487/20487.

Belliard G., Vedel F., Pelletier G., 1979. Mitochondrial recombination in cytoplasmic hybrids of *Nicotiana tabacum* by protoplast fusion. *Nature*, 281: 401-403.

Benfalvi Z., Molnar A., Kostyal Z., Lakatos L., Molnar G., 1997. Comparative studies on potato tuber development using an in vitro tuber induction system. *Acta Biol Hung*, 48 (1): 77-86.

Bernhards U., 1998. La pomme de terre *Solanum tuberosum L.* Monographie. Institut National Agronomique Paris – Grignon.

Bhojwani S.S., 2001. Role of Tissue Culture in Plant Industry. Department of Botany, University of Delhi, India.

Bizarri M., Borghi L., Ranalli P., 1995. Effects of activated charcoal effects on induction and development of microtubers in potato (*Solanum tuberosum L.*). In *Ann. Appl. Biolo.* 127: 175-181.

Boccon-Gibod J., Jalouzot R., 1989. Les biotechnologies en horticulture, possibilités et perspectives. In *La Culture in Vitro et ses applications horticoles*. Augé R., Beauuchene G., Boccon-Gibod J., Decourtye L., Digat B., Jalouzot R., Minier R., Moran, d J CL., Reynoird JP., Strullu DG., Vidalie H., 1989. ed JB Baillièrè pp 91-131.

Bommineni U R., Jauhar PP., 2003. Regeneration of plant through isolated scirtelum culture of durum . *Wheat .plant sci* .116; 197.

Bretauudeau A., 2006. Les techniques de culture in vitro et la micropropagation des espèces végétales .,IPR/Kolibougou Koulikoro B P 06.

Brhadda N, Abousalim A , Walali Loudiyi D, Benali D ., 2003 Effet du milieu de culture sur le microbouturage de l'olivier (*Olea europeae L.*) cv. Picholine Marocaine *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.* 7 (3R4), 177R182.

Briggs W B., 1964. Phototropism; in higher plants in physiology academic press :1; 223-271.

C

Casselle A.C., 1987. In vitro induction of free-virus potatoes by chemotherapy .In *biotechnology and forestry* Pp: 40-50.

Catchpole A.H., Hillman J., 1969. Effect of ethylene on tuber initiation in *Solanum tuberosum L.* *Nature* 223, 1387-1388.

Charles G., Rossignol L., Rossignol M., 1995. Mise au point d'un modèle de développement et de tubérisation contrôlée et synchrone chez la pomme de terre cultivée *in vitro*. Acta Botanica Gallica, 1995, 142(4), pp 289 – 300.

Chauvin J., Esnault F., Ellissèche D., 2008. Les recherches pour la filière pomme de terre; verrous et avancées. Ressources génétiques et innovation variétale chez la pomme de terre. Stand Inra. Parc des expositions de Paris.

CIRAD-GRET .Centre de coopération internationale en recherche agronomique pour le développement –Groupe de recherche et d'échange technologique., 2002. MEMENTO de l'agronome .Ed. GRET-CTA. pp854-858.

Coleman W K., Coleman S E., 2000. Modification of potato microtuber dormancy during induction and growth *in vitro* and *ex vitro*. Amer J Potato Res 77: 103-110.

Coleman W K., Donnelly D J., Coleman S E., 2001. Potato microtubers as research tools: A Review. Amer J of Potato Research 78: 47-55.

Collet G F., LE C L., 1988. Micro propagation de porte-greffes de pommier et de poirier. Enracinement *in vitro* de *Pyrus malus* L.(M25,26,27,MM106 ,M9 type jork) et *Cydonia oblonga* Mill.(A) .Revue suisse Vitic .Arboric ,Hortic .Vol 20(2) :131-138.

Cutter E.G., 1978. Structure and development of the potato plant. In Harris P.M. Ed : The potato crop. The scientific basis for improvement. London, UK: Chapman and Hall: 70-152.

Cysty Borda Yapez C., Toledo J., Golmirzaie A., Roca W., 2001. Efecto de inductores de tuberización y fotoperiodo sobre la microtuberización de *Solanum tuberosum* L. *in vitro*. Centro Internacional de la Papa 2001 (CIP).

D

Darpoux R., Debelley M., 1967. Les plantes sarclées. Edition. J.B. Baillière et fils france. Collection d'Enseignement Agricole. 307p.

Delaplace P., 2007. Caractérisation physiologique et biochimique du processus de vieillissement du tubercule de pomme de terre (*Solanum tuberosum* L.) (Thèse de doctorat). Gembloux, Faculté Universitaire des Sciences Agronomiques, 171 p.

Demarly Y., 1985. L'épigénétique. Bull. Soc. Bot. Fr.132. Actual. Bot (314),pp 79- 94.

Demarly Y., Sibi M., 1996. Amélioration des plantes et biotechnologie. Edition J.L Eurotexte, pp 99-111.

Deza L.G., 1991. Construction à la caractérisation de variants somaclonaux obtenus à partir d'explants de pomme de terre (*Solanum tuberosum* L ssp. *tuberosum* cv. Désirée) irradiés aux rayons Gamma. Faculté des Sciences Agronomiques de Gembloux, U.E.R. de phytopathologie, Belgique, 127p.

Diehl R., 1975. Agriculture générale. Ed. J.B.Baillière, paris, 396p.

Dodds J.H., Huaman Z., Lizarraga R., 1991. Potato germplasm conservation. *In vitro* methods for conservation of plant genetic resources. Edited by John H. Dodds. Published by Chapman and hall. London.

Donnelly D.J., Coleman W.K., Coleman S.E., 2003. Potato microtuber production and performance : A review . American journal of potato research, vol 80: 103-115.

Doré C., Varoquaux F., Coordinateur., 2006 .Histoire et amélioration de cinquante plantes cultivées RINRA.

Ducreux G., De Buyser J., Dodeman V., Haïcour R., 1998. Recherches récentes et biotechnologies de la multiplication végétative. Cahiers Agricultures 1998 ; 7 :447-58.

Dussert S., Chabrillange N., Engelmann F., 2002. Cryoconservation. In Biotechnologies végétales, Techniques de laboratoire. Robert Haïcour, 2002. Ed Lavoisier. Londre-Paris-New York, pp 105-120.

E

Ellissèche, D. 2008. Production de pomme de terre; quels défis pour aujourd'hui et pour demain?

Epstein, E. 1972. Mineral nutrition of plants: Principles and perspectives. John Wiley, New York.

Espanoza N., Lizarraga R., Siguna S C., Brayn J., Dodds H., 1992. Tissu culture: Micropropagation .Conservation and export of potato gerplasm .CIP Reshjerche Ghide, edtCIP ,19p.

Estrada R., Tovar P., Dodds J.H., 1986. Induction of *in vitro* tubers in a broad range of genotypes. Plant Cell Tiss. Org. Cult. 7: 3-10.

Ewing E.E., 1985. The role of hormones in potato (*Solanum tuberosum* L.) tuberization. In Davis P.J, Ed: Plant hormones and their role in plant growth and development. Dordrecht, The Netherlands: Martinus Nijhoff Publishers. 515-538.

F

Fouarge G., 1994. Quel avenir pour l'amélioration des plantes? Ed. AUPELF-UREF. Paris, pp. 205-209.

Forti E., Mandolino G., Ranalli P., 1991. *In vitro* tuber induction: influence of the variety and of the media. Acta Horticulturae 300, 127-132.

G

Gallais A., Bannerot H., 1992. Amélioration des espèces végétales cultivées; objectifs et critères de sélection. INRA, Paris, 768 p.

Garner N., Blake J., 1989. The induction and development of potato microtubers *in vitro* on media free of growth regulating substances. *Annals of Botany* 63: 663-74.

Gauthier J., 1991. Notions d'agriculture; le sol, les cultures, les élevages, l'économie et la gestion. Ed. Tech, Doc. Lavoisier, Paris, 575 p.

George E.F., 1993. Plants propagation through tissue culture .Exgehies Ltd England .574p.

Gopal J., Minocha J., Sidhu J., 1997. Comparative performance of potato crops raised from microtubers induced in the dark versus microtuber induced in light. In *Potato Research* 40: 407-412.

Gopal J., Minocha J L., Dhaliwal H S., 1998. microtuberization in potato (*Solanum tuberosum* L.). *Plant Cell Rep.* 17:794-798.

Gray D G., Compton N E., Harell R C., Cantliffe D J., 1995. Somatic embryogenesis and the technology of synthetic seed. In *Somatic embryogenesis on various potato tissues from a range of genotypes and ploidy levels.* Seabrook JEA., Douglass LK., 2001. *plant Cell Reports* (2001) 20: 175-182.

Griffiths H M., Slack S.A., Dodds J H., 1990. Effect of chemical and heat therapy on virus concentration in *in vitro* plantlets. *Can. J. Bot.* 68:1515-1521.

H

Haïcour R., 2002. Multiplication de plantes herbacées *in vitro* : Pomme de terre *Solanum tuberosum* L. In *Biotechnologies végétales, Techniques de laboratoire.* Robert Haïcour, 2002. Ed Lavoisier. Londre-Paris-New York, pp 1-12.

Haïcour R., Zouine J., Guédira A., J'Aïti F., El Hadrami I., 2002. Multiplication des plantes herbacées *in vitro* In: *Biotechnologies végétales : Techniques de laboratoire.* Ed Tec et Doc, AUF, Paris, pp. 1-12.

Hawkes J G., 1990. The potato. Evolution, biodiversity and genetic resources. Londres : Belhaven Press. 259p.

Helgeson P., Haberlach G.T., Pohlman J., Austin S., 1988. Somatic fusions of *Solanum* species pp 205-207. In *Progress in plant protoplast research . Current plant science and biotechnology in agriculture.* Ed K.J Puite, J.J.M Dons, H.J Huizing, A.J Kool, M Koornneet, F.A Krens. Kluwer Academic Publishers.

Heller R., Esnault R., Lance C., 1998. *Physiologie végétale.* (1- nutrition). Ed. MASSON, Paris, 323p.

Hopkins W E., 2003. *Physiologie végétale.* 1^{ère} édition. Ed. De Boeck & Larcier, Paris, 514p.

Hosake K., 1986. Who is the mother of the potato. Restriction and nuclease analyses of chloroplast DNA of cultivated potatoes .*Theor .Appl. Gnet.,* 72,606-618.

Hossein M. J., 2005. In vitro microtuberisation in potato obtained from diverse sources. Plant Tissue Cult. & Biotech. **15** (2), 157 – 166.

Hussey G., Stacey N J., 1981. In vitro propagation of potato (*Solanum tuberosum*) of potato of photoperiod on in vitro tuberisation of potato- *S tuberosum*- .JEA Seabrook shirlyn m CD. levey .1993 .plant cell m tissue and organe culture .1993.34; 43-51.

I

Iwanga M., Peloquiun S J., 1982. Origin and evolution of cultivated tetraploid Potato's via 2n gametes .Theor Appl.Genet., 61,161-169.

J

Jackson S.D., 1999. Multiple signalling pathways control tuber induction in potato. Plant Physiology 119: 1-8.

Jarret R.L, Hasegawa P.M. and Erickson H.T., 1980. Factors affecting shoot initiation from tuber discs of potato *Solanum tuberosum* .Phsiol.plants .49, 177-184.

K

Kämäräinen-Karppinen T., Virtanen E., Rokka V.-M. & Pirttilä A. M., 2010. Novel bioreactor technology for mass propagation of potato microtubers. Plant Cell Tiss. & Org. Cult. **101**, 245 – 249.

Kechid M., 2005. Physiologie et Biotechnologie de la microtuberisation de la pomme de terre *Solanum tuberosum*. L. Mémoire de Magister, faculté des Sciences de la Nature et de la Vie de l'université Mentouri de Constantine, 128p.

Karp A., Nelson R S., Thomas E., Bright S W J., 1982. Chromosome variation protoplast derived potato plants .Theor .Appl.Génét .,63,265-272.

Khuri S., Moorby J., 1995. Investigations into the role of sucrose in potato cv Estima microtuber production *in vitro*. Annals of Botany 75, 295-203.

Khuri Y., Moorby J., 1996. Nodal segmentes or microtubers as explants for *in vitro* microtuber production of potato. In Plant Cell, Tissue and Organ Culture 45: 215-222.

Kim S Y., Kim J K., Choi K H., Joung Y H., Joung H., 1999. Effects of rindite on breaking dormancy of potato microtubers. Am J Potato Res 76: 5-8.

Kumar A., 1994. Somaclonal variation. *In potato genetics*. Edit by Bradshaw JE.; Macay GR., 1994. ed. CAB International, pp 179-208.

Kraus A., Marschner H., 1998. Influence of nitrogen nutrition, day-length and temperature on contents of gibberellic acid and abscisic acid and on tuberization in potato plants. Potato research 25, 13-21.

L

- Lamaze T., S Khamis., C Foyer., J Farineau., M H Valadier., J F Morot-Gaudty., 1990.** Effet d'une limitation en N sur la photosynthèse chez le maïs. In : *Physiologie et Production du maïs*. INRA, Paris, 113-121.
- Larkin P J., Scowcroft W R., 1981.** Somaclonal variation – a novel source of variability from cell cultures for plant improvement . *Théor. Appl. Génét.*, 60, 197-214.
- Laumonier R., 1979.** Cultures légumières et maraichères. Tome 3. Haut feuille, Paris, 274p.
- LÊ C L., 1994.** Apport de l'électrophorèse dans l'identification des variétés de pomme de terre cultivées en Suisse. *Revue suisse Agric* 26(6) ,373-379.
- LÊ C.L., Nowbuth L., Hediger S., Collet G.F., 1997.**Régénération de la pomme de terre cultivée (*Solanum tuberosum* L.).*Revue suisse Agric* .29 (3) :143-150.
- LÊ C L., 2001.** Identification of potato by AFLP. In *Conservation des pomme de terre in vitro et caractérisation des variétés cultivées en suisse*. LÊ C, L, Thomas, D,
- LÊ C L., Thomas D., Nowbuth L., 2002.** Conservation des pomme de terre in vitro et caractérisation des variétés cultivées en suisse .*suisse Agric* 34(3):133-136.
- LÊ C. L. & Thomas D., 2009.** Production de microtubercules de pomme de terre in vitro. *Revue suisse Agric*. **41** (5), 289 – 293.
- LÊ C. L. & Thomas D., 2010.** Production de microtubercules de pomme de terre *in vitro*: effet de la durée de culture. *Revue suisse Agric*. 1 (11–12): 404–409.
- Leclerc Y., Donnelly D J., Seabrook J E A., 1994.** Microtuberization of layered shoots and cuttings of potato: The influence of growth regulators and incubation periods. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 37: 113-120.
- Le Hingrat Y., 1994.** La production de souches, point de départ d'un plant de qualité. *La Pomme de Terre Française* n° 485- Novembre- Décembre 1994.pp 243-248.
- Levy D., Seabrook J E A., Coleman S., 1993.** Enhancement of tuberization of axillary shoot buds of potato (*Solanum tuberosum* L.) cultivars cultured *in vitro*. *J Expt Bot* 44:381-386.
- Lian Y., Dong H R., Jin L P., Jin Y B., Lin H., Zou Y., 1998.** Effect of inductive stimulus on the changes of endohormones during microtuber formation *in vitro* in *Solanum tuberosum* L. *Adv Hort* 2:494-498.
- Lo F. M., Irvine B. R. & Barker W. G., 1972.** In vitro tuberization of the common potato (*Solanum tuberosum*) is not a response to the osmotic concentration of the medium. *Canadian Journal of Botany* **50**, 603 – 605.
- Lommen W J M., 1995.** Basic studies on the production and performance of potato minitubers. PHD thesis, Agriculture University of Wageningen, The Netherlands.

M

Maarouf A., 2000. Dictionnaire de botanique .54 p.

Margara J., 1984. Base de la multiplication végétatives .Les méristèmes et l'organogénèse. Institut National de la recherche Agronomique(INRA), 262p.

Marschner H., 1993. Mineral nutrition of higher plants. London, *Academic Press Ltd, Harcourt Brace & Co. Publishers.*

Martinez S., 2000. Procède d'optimisation de la gestion du recyclage des effluents des serres (P.R.O.G.R.E.S.) .Thèse Doct; L'institut National Polytechnique de Toulouse Paris, 121 p.

Mattila P., Hellström J., 2007. Phenolic acids in potatoes, vegetables, and some of their products. *Journal of Food Composition and Analysis.* Vol. 20, 152-160.

Meziane D., 1991. Histoire de la pomme de terre .Detitique n°25 pp:29.

Moinet M L., 1990. Les plantes ne sont plus à nous. In *Science et Vie* n° 874, Juillet 1990, pp 72-81.

Murashige T., Skoog F., 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiologia Plantarum* 15, 473-497.

N

Naik P S., Sarkar D., 1998. Effect of potassium on the *in vitro* potato microtuber production. *Biologia Plantarum* 41(1): 121-125.

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.

Nowak J., Asiedu S., 1992. Gelling agent and light effects on *in vitro* tuberization of potato cultivars. *American Potato Journal* 69:461-470.

Nowbuth L et LE C.L., 2004. An important aspect of somaclonal variation in potato (*Solanum tuberosum* L.).In *Teneur non- conforme en ADN comme indicateur de variation soma clonale chez la pomme de terre .suisse agric .37 (6):257-266.*

Nowbuth L., C L LE., Agroscope RAC changines., 2005. Teneur non- conforme en ADN comme indicateur de variation soma clonale chez la pomme de terre .suisse agric .37 (6):257-266.

O

Ochatte C., 2005. Growth, quality and biotechnology, WFP publisher .Finland.

Okazawa Y., 1967. Physiological studies on the tuberization of potato plants. *Journal of Faculty of Agriculture Hokkaido university.* 55, 267-347.

Obata-Sasamoto H., Suzuki H., 1979. Activities of enzymes relating to starch synthesis and endogenous levels of growth regulators in potato stolon tips during tuberization. *Physiologia Plantarum* 45, 320-324.

Ould Ramoul A., 1997. Etude des possibilités de production de semences de pomme de terre *Solanum tuberosum* L. variété Désirée à partir de minitubercules issus de cultures *in vitro*. Thèse de magistère INA, ALGER.

P

Palmer C E., Smith O E., 1969. Cytokinins and tuber initiation in the potato *Solanum tuberosum* L. *Nature* 221, 279-280.

Palmer C., Smith E., 1970. Effect of kinitin on tuber formation on isolated stolons of *Solanum tuberosum* L. Cultured *in vitro*. In *Plant Cell Physiology*. 11: 303-314.

Palmer J D., Shields C R., 1984. Tripartite structure of the *Brassica campestris* mitochondrial genome. *Nature*, 307: 437-440.

Pelacho A.M., Mingo-Castel A.M., 1991. Jasmonic acid induced tuberization of potato stolons cultured *in vitro*. *Plant Physiology* 97: 1253-1255.

Péron J Y., 2006. Références productions légumières, 2ème édition. synthèse Agricole p 538-547.

Peter H R., Ray F E., Susan E., Eichhorn., 2007. Biologie végétale, (trad. de la 7ième édition américaine Jules Bouharmont et révision scientifique Charles-Marie Evrard) : 2^{ème} édition, De Boeck, 2007.

Potter R H., Jones M G K., 1991. An assessment of genetic stability of potato *in vitro* by molecular and phenotypic analysis. *Plant Science* 76, 239-248.

Pruski K., Duplessis P., Lewis T., Astatkie T., Nowak J., Struik P.C., 2001. Jasmonate effect on *in vitro* tuberization of potato (*Solanum tuberosum* L.) cultivars under light and dark conditions. *Potato Research* 44: 315-325.

Pruski K., Astatkie T., Nowak J., 2002. Jasmonate effects on *in vitro* tuberization and tuber bulking in two potato cultivars (*Solanum tuberosum* L.) under different media and photoperiod conditions. (Society for *In Vitro* Biology). *In Vitro Cell. Dev. Biol.-Plant* 38: 203-209.

Q

Quézel P. Santa .S., 1963. Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales .Ed .C.N.R.S, Paris.

R

Ranalli P., Bizarri M., Borghi L. & Mari M., 1994. Genotypic influence on in vitro induction, dormancy length, advancing age and agronomical performance of potato microtubers (*Solanum tuberosum* L.). *Ann. Appl. Biol.* **125**, 161 – 172.

Ranalli P., 1997. Innovative propagation methods in seed tuber multiplication programmes. *Potato Research* 40: 439-453.

Reust W., 1982. Contribution à l'appréciation de l'âge physiologique des tubercules de pommes de terre (*Solanum tuberosum* L.) et étude de son importance sur le rendement (thèse de doctorat). Zurich : Ecole Polytechnique Fédérale, 113 pp.

Redenbaugh K., 1993. Applications of synthetic seeds to crop improvement in Somatic embryogenesis on various potato tissues from a range of genotypes and ploidy levels. *Seabrook JEA., Douglass LK., 2001. plant Cell Reports (2001) 20: 175-182.*

Reynoird J.P., Vidalie H., 1989. Les aspects pratiques actuels et les perspectives. In *La Culture in Vitro et ses applications horticoles.* Augé R., Beauchêne G., Boccon- Gibod J., Decourtye L., Digat B., Jalouzot R., Minier R., Moran, d J CL., Reynoird JP., Strullu DG., Vidalie H., 1989. ed JB Baillièrè pp 185-198.

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

Rousselle P., Robert Y., Crosnier J C., 1996. La pomme de terre – Production, amélioration, ennemis et maladies, utilisations. 1 éd. Paris : INRA Editions. P278.

Rousselle P., Rousselle B., Ellisseche D ., 1992 . La pomme de terre in *Amélioration des espèces végétales cultivées .Gallais A , Bammerot H .1992.*

Ross H., 1986. Potato breeding-problems and perspectives. *Suppl. 13, j. Plant breed., 132 p.* Berlin, humburg, perey.

Ross A H., Davies H V., Burch L R., Viola R., Mcrae D., 1994. Developmental changes in carbohydrate content and sucrose degrading enzymes in tuberising stolons of potato (*Solanum tuberosum*). *Physiologia Plantarum* 90, 748-756.

S

Sachs T., Thimann K.V., 1964. Release of lateral buds from apical dominance. *Nature* 201: 939-940.

Sarkar D., Naik P S., 1998. Effect of inorganic nitrogen nutrition on cytokinininduced potato microtuber production *in vitro*. *Potato Res* 41:211-217.

Sattelmacher B., Marschner H., 1978. Relation between nitrogen nutrition, cytokinin activity and tuberization in *Solanum tuberosum*. *Physiologia Plantarum* 44, 65-68.

Seabrook J E A., Coleman S., Levy D., 1993. Effect of photoperiod on *in vitro* tuberization of potato (*Solanum tuberosum* L.). *Plant Cell. Tissue and Organ Culture* 34: 43-51.

- Seabrook J E A., Douglass L K., 2000.** Regeneration of somatic embryos from tissues. In Segregation for somatic embryogenesis on stem-internodes explants from potato seedlings, 2001. *Plant and Organ Culture*, 2001.65:69-73.
- Shepard J. ,1982.** La régénération in vitro de plantes de pomme de terre pour la science, Juillet .34-47.
- 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.
- Sihachkr D., 2002.** Protoplastes: isolement, culture, régénération et fusion au polyéthylène glycol. In: *Biotechnologies végétales, technique de laboratoire*. Tec et Doc eds., pp. 177-199.
- Skiredj A., 2007.** Besoin des plantes en eau et en élément nutritif .<http://kiredj+element+nutritionnelle&spell=1>
- 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.
- Snyder G.W., Beiknap W.R., 1993.** A modified method for routine *Agroba.acterium-mediated* transformation of *in vitro* grown potatomicrotubers. *Plant Cell Rep* 12:324- 327.
- Soltner D., 1990.** Les grandes productions végétales; céréales, plantes sarclées, prairies. Ed. Saint. Gémme –sur- Loire, Sciences et techniques agricoles, 464 p.
- Soltner D., 2005a.** Les grandes productions végétales, phytotechnie spéciale-céréales-plantes sarclées-prairies .Collection Sciences et Techniques Agricoles 20eme édition 472P.
- Soltner D., 2005b.** Les bases de la production végétale, phytotechnie générale-Tome III: la plante et son amélioration .Collection Sciences et Techniques Agricoles 4eme édition 304P.
- Stevenson J F., 1986.** Cycles of soil: carbon, nitrogen, phosphorus, sulfur, micronutrients. John Wiley & Sons, New York.
- Struik P C., Wiersema S G., 1999a.** Production of pre-basic seed. *In: Seed Potato Technology*. Wageningen Pers. Pp. 173-216.
- Struik P C., Wiersema S G., 1999b.** *Seed Potato Technology*. Wageningen Pers, The Netherlands.
- Struik P. C., 2007.** Above-ground and below-ground plant development. In: *Potato Biology and Biotechnology-Advances and Perspectives*. Ed. Dick Vreugdenhil, Elsevier, ISBN-13: 978 – 0 – 444 – 51018 – 1, 000 – 000.
- Suttle J C., 1998.** Involvement of ethylene in potato microtuber dormancy. *Plant Physiology*. 118: 843-848.

T

Tábóri K M., Dobránszki J., Ferenczy A., 1999. Some sprouting characteristics of microtubers. *Potato Res* 42: 611-617.

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

Torres K.C., 1989. *Tissue Culture Techniques for Horticultural Crops.* (Eds),CHAPMAN & HALL, New York, USA. Pp 286.

Tourte Y., Bordonneau M., henry M., 2005. *Le monde des végétaux, organization, physiology et génétique .*édition Dunod .p 384.

V

Verhees J., 2002. *Cell cycle and storage related gene expression in potato tubers* (Thèse de doctorat). Wageningen : Wageningen Agricultural University, 133 p.

Villafranca M J., Veramendi J., Sota V., Mingo-Castel A M., 1998. Effect of physiological age of mother tuber and number of subcultures on *in vitro* tuberization of potato (*Solanum tuberosum* L.). *Plant Cell Rep* 17:787-790.

Vinterhalter D., Vinterhalter B., Calovic., 1997. The relationship between sucrose and cytokinins in the regulation of growth and branching in potato cv Désiree shoot cultures. *Acta Horticulturae* 462, 319-323.

Vreugdenhil D., Boogaard Y., Visser R.G.F., De Bruijn S.M., 1998. Comparison of tuber and shoot formation from *in vitro* cultured potato explants. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 53, 197-204.

Vreugdenhil D., Struik P C., 1989. An integrated view of the hormonal regulation of tuber formation in potato (*Solanum tuberosum*). *Physiologia Plantarum* 75, 525-531.

W

Wang B.S.P., Charest P.J., Downnie B., 1994. Conservation *ex situ* de pollen et de graines et culture *in vitro* de plantes ligneuses pérennes.FAO.Rom.75p.

Wenzel H., 1994. Tissue culture. In potato genetics. Edit by Bradshaw JE.; Macay GR., 1994. Ed. CAB International, pp 173.

X

Xuan Chun Piao., Debasis Chakrabarty., Eun Joo Hann., Kee Yocup Pack., 2003. A simple method for mass production of potato microtubers using a bioreactor system. *Curent Science*, Vol 84, No : 8,25: 1129-1132.

Y

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

Yu W C., Joyce P J., Cameron D C., McCown B H., 2000. Sucrose utilization during potato microtuber growth in bioreactors. Plant Cell Reports 19: 407-413.

Z

Zarrabeitia A., Lejarcegui X., Veramendi J., Mingo-Castel A M., 1997. Influence of nitrogen supply on micropropagation and subsequent microtuberization of four potato cultivars. Am Potato J 370:369-378.

Zryd J P., 1988. Culture de cellules, tissus et organes végétaux. Fondements théoriques et utilisations pratiques. Lausanne, Suisse : Presses Polytechnique Romandes, 305 p.

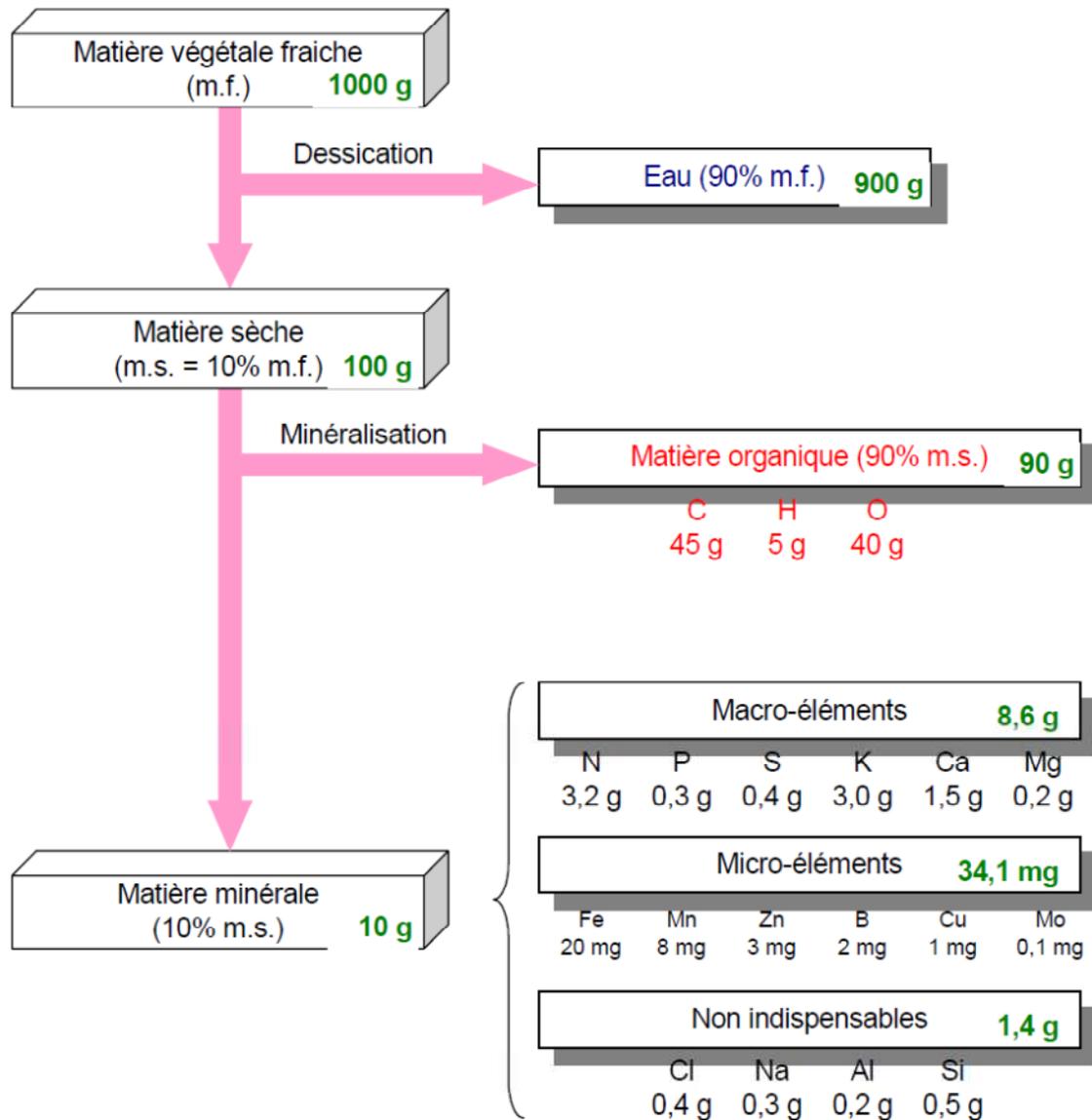
Annexes



Annexes

Annexe n°1: Espèces utilisées pour la préparation des milieux à base de cendres.

Espèces	Nom scientifique	Famille
Ail	Allium sativum	Liliacées
Artichaut	Cynara scolymus	Asteracées
Aubergine	Solanum melongena	Solanacées
Banane	Genre : Musca	Musacées
Betterave	Beta vulgaris	Chénopodiacées
Cardon	Cynara cardunculus	Asteracées
Carotte	Daucus carota	Apiacées
Céleri	Apium graveolens	Apiacées
Chou-fleur	Brassica oleracea	Brassicacées
Choux	Brassica oleracea	Brassicacées
Citron	Citrus limon	Rutacées
Coing	Cydonia oblonga	Rosacées
Concombre	Cucumis sativus	Cucurbitacées
Coriandre	Coriandrum sativum	Ombellifères
Courgette	Cururbita pepo	Cucurbitacées
Epinard	Spinacia oléracea	Ombellifères
Fenouil	Foeniculum vulgare	Ombellifères
Fève	Vicia faba	Fabacées
Grenadine	Punica granatum	Punicacées
Haricot	Phaseolus vulgaris	Fabacées
Kiwi	Actinidia deliciosa	Actinidiacées
Laitue	Lactuca sativa	Asteracées
Mandarine	Citrus reticulata	Rutacées
Melon	Cucumis melo	Cucurbitacées
Menthe	Mentha aquatica	Lamiacées
Navet	Brassica campestris	Brassicacées
Oignon	Allium cepa	Alliacées
Orange	Citrus sciensis	Rutacées
Patate douce	Ipomoea batatas	Convolvulacées
Persil	Petroselinum crispum	Ombellifères
Petit pois	Pisum sativum	Papilionacées
Piment	Genre : capsicum	Solanacées
Poire	Pyrus communis	Rosacées
Poivron	Capsicum annuum	Solanacées
Pomme	Malus pumila	Rosacées
Pomme de terre	Solanum tuberosum	Solanacées
Potiron	Cucurbita maxima	Cucurbitacées
Tomate	Lycopersicon exulentum	Solanacées
Topinambour	Heliantus tuberosus	Asteracées



Annexe n°2: Analyse minérale d'un modèle végétal (d'après MORARD, 1995 in MARTINEZ, 2000).

Annexe n°3: Macronutriments essentiels à la majorité des plantes vasculaires et concentrations internes considérées comme adéquates (d'après PETER *et al.*, 2007).

Elément	Symbole Chimique	Forme disponible pour les plantes	Concentration adéquate dans un tissu sec en mg/kg	Fonctions
Hydrogène	H	H_2O	60000	L'hydrogène est seulement nécessaire à la construction des sucres et par conséquent à la croissance. Il provient de l'air et de l'eau.
Carbone	C	CO_2	450000	Le carbone est le constituant majeur des plantes. On le retrouve dans le squelette de nombreuses biomolécules comme l'amidon ou la cellulose. Il est fixé grâce à la photosynthèse, à partir du dioxyde de carbone provenant de l'air, pour former des hydrates de carbone servant comme stockage d'énergie à la plante.
Oxygène	O	O_2, H_2O, CO_2	450000	L'oxygène est nécessaire à la respiration cellulaire, les mécanismes de production d'énergie des cellules. On le retrouve dans de très nombreux autres composants cellulaires. Il provient de l'air.
Azote	N	NO_3^-, NH_4^+	15000	L'azote est le composant des acides aminés, des acides nucléiques, des nucléotides, de la chlorophylle, et des coenzymes.

Potassium	K	K^+	10000	Le potassium intervient dans l'osmose et l'équilibre ionique, ainsi que dans l'ouverture et la fermeture des stomates; active également de nombreuses enzymes.
Calcium	Ca	Ca^{2+}	5000	Le calcium est un composant de la paroi cellulaire; cofacteur d'enzymes; intervient dans la perméabilité des membranes cellulaires ; composant de la calmoduline, régulateur d'activités membranaires et enzymatiques.
Magnésium	Mg	Mg^{2+}	2000	Le magnésium est un composant de la chlorophylle; activateur de nombreuses enzymes.
Phosphore	P	$H_2PO_4^-$, HPO_4^{2-}	2000	Le phosphore on retrouve dans les composés phosphatés transporteurs d'énergie (ATP, ADP), les acides nucléiques plusieurs coenzymes et les phospholipides.
Soufre	S	SO_4^{2-}	1000	Le soufre fait partie de certains acides aminés (cystéine, méthionine), ainsi que de la coenzyme A.

Annexe n°4: Micronutriments essentiels à la majorité des plantes vasculaires et concentrations internes considérées comme adéquates (d'après PETER *et al.*, 2007).

Élément	Symbole Chimique	Forme disponible pour les plantes	Concentration adéquate dans un tissu sec en mg/kg	Fonctions
Chlore	Cl	Cl^{-}	100	Le chlore intervient dans l'osmose et l'équilibre ionique; probablement indispensable aux réactions photosynthétiques produisant l'oxygène.
Fer	Fe	Fe^{3+}, Fe^{2+}	100	Le fer est nécessaire à la synthèse de la chlorophylle; composant des cytochromes et de la nitrogénase.
Bore	B	H_3BO_3	20	Le bore intervient dans l'utilisation du Calcium, la synthèse des acides nucléiques et l'intégrité des membranes.
Manganèse	Mn	Mn^{2+}	50	Le manganèse est l'activateur de certaines enzymes; nécessaires à l'intégrité de la membrane chloroplastique et pour la libération d'oxygène dans la photosynthèse.
Zinc	Zn	Zn^{2+}	20	Le zinc est l'activateur ou composant de nombreuses enzymes.

Cuivre	Cu	Cu^+, Cu^{2+}	6	Le cuivre est l'activateur ou composant de certaines enzymes intervenant dans les oxydations et les réductions.
Nickel	Ni	Ni^{2+}	-	Le nickel forme la partie essentielle d'une enzyme fonctionnant dans le métabolisme.
Molybdène	Mo	MoO_4^{2-}	0,1	le molybdène est nécessaire à la fixation de l'azote et à la réduction des nitrates.

Annexe n°5: Temps minimal de stérilisation du milieu de culture (TORRES, 1989 ; ANONYME., 1999).

Volume du milieu (ml)	Temps minimal de stérilisation (min)
20-50	15
75	20
250-500	25
1000	30
1500	35
2000	40

Annexe n°6: Niveaux relatifs généralement acceptés de variation somaclonale dans la culture *in vitro* de matériel végétal (WANG et al., 1994).

Méthode de culture de tissus	Niveau relatif de variation
<ul style="list-style-type: none"> ▪ Méristèmes (apicaux +axiliaires) ▪ Masses embryogéniques <ul style="list-style-type: none"> -embryons somatiques -embryons gamétogéniques ▪ Cal inorganisé <ul style="list-style-type: none"> -bourgeons adventifs ▪ Suspensions cellulaires ▪ Protoplastes 	<p>BAS</p>  <p>ELEVE</p>

Annexe n°7: Type de régulateurs de croissance et leur solubilité (ANONYME, 1999).

<i>Régulateurs</i>		<i>Solvants</i>
1- Auxines	2-4-D	EtOH ou 1 N NaOH
	AIA	EtOH ou 1N NaOH
	AIB	EtOH ou 1N NaOH
	ANA	1 N NaOH
2- Cytokinines	Adénine	1.0 HCl ou NaOH
	Adénine sulfate	NaOH ou HCl
	BAP	EtOH ou NaOH
	BA	1 N NaOH
	2Ip	1 N NaOH
	Kinétine	1 N NaOH
	Thidiazuron	DMSO
Zéatine	1 N NaOH	
3- Gibberellines	GA3	EtOH

Source: Cahier de références techniques. Micropropagation pour l'entreprise serricole. Centre d'Information et de Développement Expérimental en Serriculture (CIDES) : www.cides.qc.ca

1. Micropropagation

Annexe n°8: Le nombre moyen de racines principales en fonction des milieux.

Milieux	Moyenne NRP
Ail	3,25
Artichaut	3,29
Aubergine	5,67
Banane	3,75
Betterave	2,54
Cardon	2,71
Carotte	4,54
Céleri	4,42
Chou-fleur	3,96
Choux	2,04
Citron	3,17
Coing	3,92
Concombre	1,50
Coriandre	3,00
Courgette	2,13
Epinard	2,46
Fenouil	2,67
Fève	4,96
Grenadine	2,13
Haricot	2,58
Kiwi	4,13
Laitue	2,63
Mandarine	3,00
Mélange	2,04
Melon	3,04
Menthe	2,79
MS	5,08
Navet	3,54
Oignon	2,04
Orange	3,33
Patate douce	2,67
Persil	1,96
Petit pois	3,83
Piment	3,83
Poire	2,25
Poivron	5,46
Pomme	4,75
Pomme de terre	4,83
Potiron	1,96
Tomate	1,79
Topinambour	3,13

Annexe n°9: La longueur moyenne de racines principales en fonction des milieux.

Milieux	Moyenne LRP
Ail	3,42
Artichaut	4,01
Aubergine	4,10
Banane	2,28
Betterave	1,45
Cardon	5,04
Carotte	3,22
Céleri	4,85
Chou-fleur	5,26
Choux	0,64
Citron	2,22
Coing	2,94
Concombre	0,81
Coriandre	2,40
Courgette	1,13
Epinard	2,88
Fenouil	2,65
Fève	4,52
Grenadine	1,17
Haricot	0,84
Kiwi	4,28
Laitue	1,68
Mandarine	3,08
Mélange	2,19
Melon	5,01
Menthe	2,35
MS	3,22
Navet	3,39
Oignon	3,88
Orange	2,25
Patate douce	3,77
Persil	0,92
Petit pois	5,41
Piment	3,78
Poire	2,84
Poivron	6,30
Pomme	4,15
Pomme de terre	3,95
Potiron	2,51
Tomate	1,20
Topinambour	5,38

Annexe n°10: Le nombre moyen de racines secondaires en fonction des milieux.

Milieux	Moyenne NRS
Ail	1,46
Artichaut	0,00
Aubergine	1,54
Banane	0,38
Betterave	0,00
Cardon	1,83
Carotte	0,00
Céleri	0,00
Chou-fleur	0,46
Choux	0,00
Citron	0,17
Coing	1,29
Concombre	0,00
Coriandre	0,38
Courgette	0,00
Epinard	0,00
Fenouil	0,00
Fève	0,63
Grenadine	0,00
Haricot	0,00
Kiwi	2,54
Laitue	0,00
Mandarine	0,38
Mélange	0,00
Melon	0,25
Menthe	0,25
MS	3,54
Navet	0,83
Oignon	0,33
Orange	0,96
Patate douce	1,25
Persil	0,17
Petit pois	0,33
Piment	1,25
Poire	0,38
Poivron	3,67
Pomme	0,88
Pomme de terre	0,38
Potiron	0,88
Tomate	0,00
Topinambour	0,29

Annexe n°11: Le nombre moyen de tiges en fonction des milieux.

Milieux	Moyenne NT
Ail	1,50
Artichaut	1,54
Aubergine	1,63
Banane	1,17
Betterave	1,42
Cardon	1,92
Carotte	1,83
Céleri	1,38
Chou-fleur	1,50
Choux	1,21
Citron	1,29
Coing	1,42
Concombre	0,88
Coriandre	1,21
Courgette	1,33
Epinard	1,67
Fenouil	1,29
Fève	1,54
Grenadine	1,46
Haricot	1,25
Kiwi	1,63
Laitue	1,75
Mandarine	1,17
Mélange	1,25
Melon	1,46
Menthe	1,54
MS	2,25
Navet	1,54
Oignon	1,50
Orange	1,17
Patate douce	1,63
Persil	1,33
Petit pois	1,21
Piment	1,25
Poire	1,38
Poivron	1,75
Pomme	1,58
Pomme de terre	1,50
Potiron	1,50
Tomate	1,33
Topinambour	1,67

Annexe n°12: La longueur moyenne de la tige en fonction des milieux.

Milieux	Moyenne LT
Ail	3,07
Artichaut	2,34
Aubergine	3,25
Banane	0,62
Betterave	2,43
Cardon	1,40
Carotte	1,85
Céleri	0,98
Chou-fleur	1,18
Choux	2,19
Citron	1,23
Coing	1,46
Concombre	1,22
Coriandre	1,75
Courgette	2,53
Epinard	2,01
Fenouil	2,15
Fève	1,79
Grenadine	1,57
Haricot	2,84
Kiwi	1,53
Laitue	1,63
Mandarine	2,51
Mélange	2,86
Melon	2,04
Menthe	3,62
MS	2,28
Navet	2,37
Oignon	1,55
Orange	1,78
Patate douce	2,61
Persil	2,65
Petit pois	1,60
Piment	2,36
Poire	2,09
Poivron	4,47
Pomme	1,11
Pomme de terre	2,70
Potiron	3,10
Tomate	2,30
Topinambour	1,35

Annexe n°13: Le nombre moyen de feuilles en fonction des milieux.

Milieux	Moyenne NF
Ail	5,08
Artichaut	2,04
Aubergine	3,67
Banane	0,63
Betterave	3,88
Cardon	2,67
Carotte	2,92
Céleri	2,25
Chou-fleur	1,88
Choux	3,33
Citron	1,50
Coing	2,58
Concombre	2,46
Coriandre	3,04
Courgette	3,17
Epinard	3,29
Fenouil	3,54
Fève	2,92
Grenadine	2,79
Haricot	3,96
Kiwi	3,25
Laitue	2,63
Mandarine	3,21
Mélange	3,38
Melon	2,08
Menthe	4,42
MS	4,54
Navet	3,46
Oignon	1,75
Orange	2,46
Patate douce	3,13
Persil	3,50
Petit pois	2,33
Piment	2,92
Poire	3,83
Poivron	3,92
Pomme	2,04
Pomme de terre	1,79
Potiron	4,50
Tomate	3,25
Topinambour	2,00

2. Microtubérisation

Annexe n°14: Nombre moyen de racines en fonction du milieu, de la variété et de la photopériode.

Milieux	Variétés	Photopériodes	NR
MS	Désirée	0h	5,33
		08h	4,50
		16h	5,17
	Spunta	0H	11,50
		08h	8,17
		16h	9,00
MS+ANA	Désirée	0h	2,50
		08h	3,83
		16h	2,67
	Spunta	0h	7,50
		08h	11,50
		16h	7,50

Annexe n°15: Longueur moyenne de racines en fonction du milieu, de la variété et de la photopériode.

Milieux	Variétés	Photopériodes	LR
MS	Désirée	0h	7,68
		08h	8,90
		16h	13,55
	Spunta	0H	9,58
		08h	11,52
		16h	9,33
MS+ANA	Désirée	0h	7,65
		08h	7,68
		16h	8,42
	Spunta	0h	8,67
		08h	9,90
		16h	10,17

Annexe n°16: Poids moyen de racines en fonction du milieu, de la variété et de la photopériode.

Milieux	Variétés	Photopériodes	PR
MS	Désirée	0h	87,58
		08h	70,30
		16h	151,67
	Spunta	0H	174,12
		08h	107,72
		16h	98,33
MS+ANA	Désirée	0h	39,30
		08h	33,03
		16h	146,67
	Spunta	0h	99,57
		08h	86,95
		16h	76,67

Annexe n°17: Longueur moyenne de la tige en fonction du milieu, de la variété et de la photopériode.

Milieux	Variétés	Photopériodes	LT
MS	Désirée	0h	12,25
		08h	13,72
		16h	7,17
	Spunta	0H	12,25
		08h	13,75
		16h	6,17
MS+ANA	Désirée	0h	8,42
		08h	10,42
		16h	6,75
	Spunta	0h	7,75
		08h	12,08
		16h	6,75

Annexe n°18: Nombre moyen de nœuds en fonction du milieu, de la variété et de la photopériode.

Milieux	Variétés	Photopériodes	NN
MS	Désirée	0h	7,00
		08h	7,83
		16h	10,17
	Spunta	0H	7,17
		08h	7,83
		16h	7,00
MS+ANA	Désirée	0h	5,67
		08h	8,17
		16h	7,83
	Spunta	0h	4,50
		08h	8,50
		16h	7,83

Annexe n°19: Nombre moyen de microtubercules par vitroplant en fonction du milieu, de la variété et de la photopériode.

Milieux	Variétés	Photopériodes	NM
MS	Désirée	0h	2,50
		08h	1,00
		16h	3,50
	Spunta	0H	1,17
		08h	1,50
		16h	2,33
MS+ANA	Désirée	0h	3,33
		08h	1,67
		16h	3,33
	Spunta	0h	1,50
		08h	1,33
		16h	2,67

Annexe n°20: Diamètre moyen de microtubercules en fonction du milieu, de la variété et de la photopériode.

Milieux	Variétés	Photopériodes	DM
MS	Désirée	0h	4,28
		08h	3,45
		16h	4,48
	Spunta	0H	4,05
		08h	4,50
		16h	3,87
MS+ANA	Désirée	0h	4,40
		08h	5,83
		16h	4,75
	Spunta	0h	5,30
		08h	5,70
		16h	4,70

Annexe n°21: Poids moyen de microtubercules en fonction du milieu, de la variété et de la photopériode.

Milieux	Variétés	Photopériodes	PM
MS	Désirée	0h	27,35
		08h	16,55
		16h	37,47
	Spunta	0H	20,83
		08h	38,77
		16h	24,28
MS+ANA	Désirée	0h	32,25
		08h	68,20
		16h	39,23
	Spunta	0h	43,62
		08h	56,17
		16h	36,85

Résumé

Notre étude nous a permis, tout d'abord, d'atteindre l'objectif principal que nous nous sommes fixé au départ, à savoir la possibilité de régénérer *in vitro* une plante entière des deux variétés de pomme de terre à savoir *Désirée* et *Spunta* via la caulogénèse et la rhizogénèse dans des milieux confectionnés à partir des cendres de déchets végétaux. Elle nous a permis de connaître l'effet de la composition minérale des milieux d'induction sur les processus organogénétiques des deux variétés étudiées. Par ailleurs, cette étude nous a permis de conclure que les méristèmes constituent les explants ont des bonnes aptitudes organogénétiques. Cette première génération représente la phase de micropropagation qui a pour but l'obtention d'une quantité suffisante de vitro plants sains.

Nous avons par la suite étudié la microtubérisation de ces deux variétés selon deux types de milieux MS à savoir MS sans hormones et MS à ANA et selon trois photopériodes : obscurité totale, 8 heures et 16 heures. Le milieu MS a présenté une croissance des racines et des tiges très élevée par rapport au milieu MS à ANA, cependant l'effet inverse a été observé pour le taux et la durée de microtubérisation. La photopériode a influencé la microtubérisation et son effet a été fortement observé sur les poids et les diamètres des microtubercules de sorte que les photopériodes de 8 heures et de 16 heures ont donné des poids et des diamètres supérieurs à ceux obtenus dans l'obscurité totale.

Mots clés : Culture *in vitro*, *Solanum tuberosum*. L, cendres, milieu standard MS, caulogénèse, rhizogénèse, Micropropagation, Microtubérisation, ANA, Photopériode, Variété.

Abstract

Our study has enabled to us, first of all, to achieve the main aim that we fixed ourselves at the beginning, namely the possibility of regenerating *in vitro* a whole plant of the two varieties of potato to knowing *Désirée* and *Spunta* via the caulogenesis and the rhizogenesis in mediums made starting from ashes of vegetation wastes. It enabled us to know the effect of the mineral composition of the mediums of induction on the processes organogenetic of the two studied varieties. In addition, this study concluded that the meristem explants have good skills to primordia. This first generation represents the phase of micropropagation the purpose of which is obtaining of a sufficient quantity of *in vitro* healthy seedlings.

We thereafter studied the microtuberization of these two cultivars according to two types of mediums MS to knowing MS without hormones and MS with ANA and according to three photoperiods: total darkness, 8 hours and 16 hours. Medium MS presented a growth of the roots and stems very high compared to medium MS to ANA, however the opposite effect was observed for the rate and the duration of microtuberization. The photoperiod influenced the microtuberization and its effect was strongly observed on the weights and the diameters of the microtubers so that the 8 hours photoperiods and 16 hours gave weights and diameters higher than those obtained in the total darkness.

Key words: *In vitro* culture, *Solanum tuberosum* L, ashes, standard medium MS, caulogenesis, rhizogenesis, Micropropagation, Microtubérisation, ANA, Photoperiod, cultivar.

الملخص

لقد سمحت لنا دراستنا، أولاً ، إلى تحقيق الهدف الذي حددناه في البداية، أي إمكانية تجديد شتلة بطاطا كاملة من صنفين *Spunta* و *Désirée* في بيئة مصطنعة و محضرة عن طريق *caulogénèse* و *rhizogénèse* داخل وسط محضر من رماد البقايا النباتية. كما مكنتنا التجربة من معرفة أثر التركيب المعدني للوسط الاستقرائي على الديمومة الوراثية للنوعين المدروسين. من ناحية أخرى، هذه الدراسة مكنتنا من استنتاج أن النسيج الإنشائي في النبات يكون مزدرع ذو قابلية *organogénétique* جيدة. الجيل الأول يمثل مرحلة الميكروانتشار الهدف منها الحصول على أكثر عدد من النباتات الفتية و السليمة.

ثم قمنا بدراسة الميكرودرن. لهذين الصنفين في نوعين من وسط *MS* دون الهرمونات *MS+ANA* حسب ثلاثة مراحل ضوئية : ظلام كامل، 8 ساعات و 16 ساعة. الوسط *MS* اثبت نمو الجذور والسيقان عالية جدا مقارنة بالوسط *MS+ ANA* ، في حين، لوحظ العكس بالنسبة لمعدل ومدة الميكرودرن، التي أثرت عليها الإضاءة بشدة خاصة على أوزان وأقطار الميكرودرنات بحيث أن المرحلات الضوئية: 8 ساعات و 16 ساعة أعطت أوزنا و أقطارا أكبر من تلك التي تحصلنا عليها في الظلام الكامل.

الكلمات الرئيسية: الزراعة المخبرية، *Solanum tuberosum. L* ، الرماد، الوسط القياسي *MS* ، *caulogénèse* ، *rhizogénèse* ، *ANA* ، الميكروانتشار، الميكرودرن، المرحلة الضوئية، الصنف.

<p>Nom : BELGUENDOZ</p> <p>Prénom : AMINA</p>	<p>Date de soutenance :</p>										
<p>Titre : <i>Essai de substitution des milieux de culture en micropropagation et la physiologie de la microtubérisation de la pomme de terre (Solanum tuberosum. L)</i></p>											
<p>Nature du diplôme : Magistère en amélioration de la production végétale et biodiversité.</p>											
<p>Résumé</p> <p>Notre étude nous a permis, tout d'abord, d'atteindre l'objectif principal que nous nous sommes fixé au départ, à savoir la possibilité de régénérer <i>in vitro</i> une plante entière des deux variétés de pomme de terre à savoir <i>Désirée</i> et <i>Spunta</i> via la caulogénèse et la rhizogénèse dans des milieux confectionnés à partir des cendres de déchets végétaux. Elle nous a permis de connaître l'effet de la composition minérale des milieux d'induction sur les processus organogénétiques des deux variétés étudiées. Par ailleurs, cette étude nous a permis de conclure que les méristèmes constituant les explants ont des bonnes aptitudes organogénétiques. Cette première génération représente la phase de micropropagation qui a pour but l'obtention d'une quantité suffisante de vitro plants sains.</p> <p>Nous avons par la suite étudié la microtubérisation de ces deux variétés selon deux types de milieux MS à savoir MS sans hormones et MS à ANA et selon trois photopériodes : obscurité totale, 8 heures et 16 heures. Le milieu MS a présenté une croissance des racines et des tiges très élevée par rapport au milieu MS à ANA, cependant l'effet inverse a été observé pour le taux et la durée de microtubérisation. La photopériode a influencé la microtubérisation et son effet a été fortement observé sur les poids et les diamètres des microtubercules de sorte que les photopériodes de 8 heures et de 16 heures ont donné des poids et des diamètres supérieurs à ceux obtenus dans l'obscurité totale.</p>											
<p>Mots clés : Culture <i>in vitro</i>, <i>Solanum tuberosum. L</i>, cendres, milieu standard MS, caulogénèse, rhizogénèse, Micropropagation, Microtubérisation, ANA, Photopériode, Variété.</p>											
<p>Laboratoire de recherche : physiologie et biotechnologie végétale de l'Université Ibn Khaldoun et le laboratoire d'amélioration et de production des semences de pomme de terre de Tiaret.</p>											
<p>Membres de jury :</p> <table border="0"> <tr> <td>Président : Mr ELHAITOUN. A</td> <td>M.C. Université Abou Bekr Belkaid. Tlemcen</td> </tr> <tr> <td>Promoteur : Mr SAHNOUNE. M</td> <td>Prof. Université Ibn Khaldoun. Tiaret</td> </tr> <tr> <td>Examineurs : Mr ADDA. A</td> <td>M.C. Université Ibn Khaldoun. Tiaret</td> </tr> <tr> <td>Mr BENMAHIOUL. B</td> <td>M.C. Université Abou Bekr Belkaid. Tlemcen</td> </tr> <tr> <td>Membre Invité: Mr CHIKH. M</td> <td>M.A. Université Abou Bekr Belkaid. Tlemcen</td> </tr> </table>		Président : Mr ELHAITOUN. A	M.C. Université Abou Bekr Belkaid. Tlemcen	Promoteur : Mr SAHNOUNE. M	Prof. Université Ibn Khaldoun. Tiaret	Examineurs : Mr ADDA. A	M.C. Université Ibn Khaldoun. Tiaret	Mr BENMAHIOUL. B	M.C. Université Abou Bekr Belkaid. Tlemcen	Membre Invité: Mr CHIKH. M	M.A. Université Abou Bekr Belkaid. Tlemcen
Président : Mr ELHAITOUN. A	M.C. Université Abou Bekr Belkaid. Tlemcen										
Promoteur : Mr SAHNOUNE. M	Prof. Université Ibn Khaldoun. Tiaret										
Examineurs : Mr ADDA. A	M.C. Université Ibn Khaldoun. Tiaret										
Mr BENMAHIOUL. B	M.C. Université Abou Bekr Belkaid. Tlemcen										
Membre Invité: Mr CHIKH. M	M.A. Université Abou Bekr Belkaid. Tlemcen										

