

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE  
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR  
ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE  
UNIVERSITE MENTOURI-CONSTANTINE

FACULTE DE SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE  
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE ET ECOLOGIE.

N°d'ordre :

Série :

## **Mémoire**

**En vue de l'obtention du diplôme de Magister en biologie et  
physiologie végétale**

**Option : Biodiversité et Production Végétale**

## **Thème**

**Etude comparée de régénération de plants  
par voie végétative en culture in vitro**

**Par : HIMOUR Sara**

**Devant le jury :**

<b>Président</b>	R .MERGHEM	<b>Prof. Université Mentouri .Constantine</b>
<b>Rapporteur</b>	M .BENLARIBI	<b>Prof. Université Mentouri .Constantine</b>
<b>Examineurs</b>	M .M. BENTCHIKOU	<b>Prof. Université Mentouri .Constantine</b>
	D .KHELIFI	<b>Prof. Université Mentouri .Constantine</b>

## **Remerciements**

*Nombreuses ont été les personnes qui apporté leur concours combien précieux pour la réalisation de ce mémoire .Je tiens à remercier*

- *Monsieur **M. BENLARIBI**, Professeur à l'université de Constantine, pour l'accueil dans son laboratoire de développement et valorisation des ressources phylogénétique, pour ses conseils, ses qualités scientifiques et son aide durant la réalisation de ce mémoire.*

- ***M R.MERGHEM**, Professeur à l'université de Constantine, pour l'honneur qu'il m'a fait d'avoir accepté de présider le jury de ce mémoire et aussi pour sa gentillesse ;*

- ***M M.M BENCHIKOU**, Professeur à l'université de Constantine de bien vouloir accepter d'examiner ce travaille ;*

- ***M D.KHELIFI**, Professeur à l'université de Constantine, qui m'a permis de travailler dans son laboratoire et réaliser une partie de ce travaille et aussi d'avoir accepter d'examiner ce mémoire ;*

*Je me permets d'adresser mes remerciements à **M.A.TAHER** Professeur à l'université d'ANNABA et l'équipe du laboratoire de **M. BOULAHROUF** et Melle **W.HAMDI** pour leur précieuses aides.*

<b>Introduction .....</b>	<b>01</b>
<b>Chapitre I : Revue bibliographique</b>	
<b>Partie I : Pomme de terre</b>	
1- Historique de la pomme de terre .....	<b>02</b>
2- Taxonomie et origine.....	<b>02</b>
3 - Botanique .....	<b>03</b>
3-1- Morphologie externe et interne des tubercules .....	<b>04</b>
4- Le cycle de vie et mode de reproduction .....	<b>05</b>
4-1- Cycle sexué .....	<b>05</b>
4-2- Cycle végétatif .....	<b>05</b>
5- Les maladies et les ennemies de la pomme de terre.....	<b>07</b>
6 -Valeur Nutritionnelle .....	<b>08</b>
7 - Production de la pomme de terre.....	<b>09</b>
<b>Partie II : Olivier</b>	
1- Historique .....	<b>10</b>
2 - Origine géographique .....	<b>10</b>
3 - Taxonomie et origine génétique.....	<b>10</b>
4 - Botanique .....	<b>11</b>
5 - Cycle de développement de l'olivier.....	<b>11</b>
6 – Les maladies de l'olivier .....	<b>13</b>
7 - La valeur nutritionnelle .....	<b>13</b>
8 - Production algérienne et mondiale de l'olivier .....	<b>14</b>
<b>Partie III : La multiplication des végétaux</b>	
1- La multiplication sexuée .....	<b>15</b>
2 - La multiplication végétative.....	<b>15</b>
2 -1- La multiplication végétative naturelle .....	<b>15</b>
2-2 - La multiplication artificielle .....	<b>16</b>
2-2-2 - Les méthodes modernes (la culture in vitro).....	<b>16</b>
2-2-2-1 Historique.....	<b>16</b>
2-2-2-2- Les catégories de la culture in vitro .....	<b>17</b>
2-2-2-3 Les facteurs influençant la culture in vitro .....	<b>18</b>
2-2-2-4 Les techniques à appliquer .....	<b>20</b>
2-2-2-5 Les avantages de la culture in vitro .....	<b>22</b>
2-2-2-6 Les inconvénients .....	<b>22</b>
<b>Chapitre II Matériels et méthodes</b>	

1- Le matériel végétal .....	<b>23</b>
1-1 La pomme de terre .....	<b>23</b>
1-2 Olivier .....	<b>23</b>
2-Les milieux de culture.....	<b>24</b>
2-1 Préparation des solutions mères des milieux de culture.....	<b>26</b>
2-1-1 Préparation de la solution mère de macro-éléments .....	<b>26</b>
2-1-2 Préparation de la solution mère de micro-éléments .....	<b>26</b>
2-1-3 Préparation de la solution mère de Fe-EDTA .....	<b>27</b>
2-1-4 Préparation de la solution mère des vitamines.....	<b>27</b>
2-1-5 Préparation de la solution mère des hormones .....	<b>27</b>
2-2 - Stérilisation du milieu de culture .....	<b>28</b>
3 - La Stérilisation des instruments.....	<b>28</b>
4 - Stérilisation des explants .....	<b>28</b>
4 - 1 - Stérilisation des explants de pomme de terre .....	<b>28</b>
4 - 2 - La stérilisation d'olivier .....	<b>29</b>
5 - Ensemencement des explants .....	<b>29</b>
6 - Incubation des explants .....	<b>29</b>
6 - 1 - Dans les tubes .....	<b>29</b>
6 - 2 Acclimatation .....	<b>30</b>
7 - Mesures et notation effectuées.....	<b>30</b>
7 - 1 - Extraction des protéines totales .....	<b>30</b>
7-1-2 - Electrophorèse .....	<b>30</b>
7-1-2-1- Préparation des gels .....	<b>30</b>
8-Analyse statistique .....	<b>32</b>

### **Chapitre III Résultats et discussions**

I - La régénération des vitro plants de pomme de terre .....	<b>33</b>
1.1 Nombre de feuilles .....	<b>33</b>
1-1-1 Effet du milieu MS sur le nombre de feuilles des deux variétés .....	<b>33</b>
1-1-2 : Effet du milieu B5 sur le nombre de feuilles des deux variétés .....	<b>35</b>
1-1-3 : Effet du milieu WHITE sur le nombre de feuilles des deux variétés ...	<b>39</b>
1-1-4 : Effet du milieu KNOP sur le nombre de feuilles des deux variétés ...	<b>41</b>
1.2 La longueur des tiges .....	<b>43</b>
1-2-1- Effet du milieu MS sur la longueur des tiges des deux variétés .....	<b>43</b>
1-2-2-Effet du milieu B5 sur la longueur des tiges des deux variétés .....	<b>44</b>
1-2-3 - Effet du milieu WHITE sur la longueur des tiges des deux variétés ...	<b>46</b>
1-2-4 -Effet du milieu KNOP sur la longueur des tiges des deux variétés .....	<b>48</b>

1.3 Nombre de racines .....	<b>50</b>
1.3-1-L'effet du milieu MS sur le nombre de racines des deux variétés .....	<b>51</b>
1.3.2 Effet du milieu B5 sur le nombre de racines des deux variétés .....	<b>53</b>
1.3.3 Effet du milieu WHITE sur le nombre de racines des deux variétés. ....	<b>55</b>
1.3.4 Effet du milieu KNOP sur le nombre de racines des deux variétés .....	<b>57</b>
1.4 Longueur des racines.....	<b>58</b>
1.4.1 Effet du milieu MS sur la longueur des racines des deux variétés .....	<b>58</b>
1.4.2 Effet du milieu B5 sur la longueur des racines des deux variétés.....	<b>59</b>
1.4.3 Effet du milieu WHITE sur la longueur des racines des deux variétés	<b>60</b>
1.4.4 Effet du milieu KNOP sur la longueur des racines des deux variétés.....	<b>61</b>
2 - La contamination de pomme de terre.....	<b>61</b>
3 - Acclimatation.....	<b>62</b>
4. L'électrophorèse des protéines totales .....	<b>62</b>
5 - La régénération des vitro plants d'olivier .....	<b>65</b>
5 – 1 - Phase de caulogénèse .....	<b>65</b>
5-2-Phase de rhizogénèse.....	<b>65</b>
6- La contamination d'explant d'olivier .....	<b>65</b>
Discussion générale.....	<b>67</b>
Conclusion.....	<b>74</b>
Références	

## *Liste des abréviations*

<b>MS</b>	: Muraschige et Skoog
<b>K</b>	: KNOP
<b>W</b>	: WHITE.
<b>B5</b>	: Gamborg .
<b>AIA</b>	: Acide Indole Acétique.
<b>NF</b>	: Nombre de feuilles
<b>NR</b>	: Nombre de racines
<b>LT</b>	: Longueur de la tige
<b>LR</b>	: Longueur des racines
<b>M</b>	: Mondial
<b>D</b>	: Désirée
<b>GA3</b>	: Acide gibbérellique.

## *Liste des figures :*

- Figure 1:** L'origine génétique des espèces cultivées de pomme de terre.
- Figure 2:** Caractéristiques morphologiques de la pomme de terre et cycle végétatif
- Figure 3:** Le cycle de vie de l'olivier
- Figure 4 :** la balance hormonale
- Figure 5:** production mondiale de l'olivier
- Figure 6:** Effet du milieu MS sur le nombre de feuilles des deux variétés.
- Figure 7:** Effet du milieu B5 sur le nombre de feuilles des deux variétés
- Figure 8:** Effet du milieu WHITE sur le nombre de feuilles des deux variétés
- Figure 9:** Effet du milieu KNOP sur le nombre de feuilles des deux variétés
- Figure 10:** Effet du milieu MS sur la longueur des tiges des deux variétés
- Figure 11 :** Effet du milieu B5 sur la longueur des tiges des deux variétés
- Figure 12 :** Effet du milieu WHITE sur la longueur des tiges des deux variétés
- Figure 13 :** Effet du milieu KNOP sur la longueur des tiges des deux variétés
- Figure 14 :** Effet du milieu MS sur le nombre de racines des deux variétés.
- Figure 15 :** Effet du milieu B5 sur le nombre de racines des deux variétés
- Figure 16 :** Effet du milieu WHITE sur le nombre de racines des deux variétés
- Figure 17 :** Effet du milieu KNOP sur le nombre de racines des deux variétés
- Figure 18 :** Effet du milieu MS sur la longueur des racines des deux variétés
- Figure 19 :** Effet du milieu B5 sur la longueur des racines des deux variétés
- Figure 20 :** Effet du milieu WHITE sur la longueur des racines des deux variétés
- Figure 21:** Effet du milieu KNOP sur la longueur des racines des deux variétés
- Figure 22 :** Electrophoregramme des protéines totales des deux variétés de pomme de terre.
- Figure 23** Effet des différents milieux de prolifération sur le taux de débourrement des explants d'olivier

## *Liste des planches :*

- Planche 1.1:** la croissance de vitro plants de pomme de terre (Mondial et Désirée) durant toutes la période d'essai dans le milieu MS « a MON 7 J, b DES 7J, c MON 15 J, d DES 15 J»
- Planche 1.2:** la croissance de vitro plants de pomme de terre (Mondial et Désirée) durant toutes la période d'essai dans le milieu MS « e MON 21 J, f DES 21J, g MON 40 J, h DES 40J »
- Planche 2.1:** la croissance de vitro plants de pomme de terre (Mondial et Désirée) durant toutes la période d'essai dans le milieu B5 « a MON 7 J, b DES 7J, c MON 15 J, d DES 15 J»
- Planche 2.2 :** la croissance de vitro plants de pomme de terre (Mondial et Désirée) durant toutes la période d'essai dans le milieu B5 « e MON 21 J, f DES 21J, g MON 40 J, h DES 40J »
- Planche 3.1:** la croissance de vitro plants de pomme de terre (Mondial et Désirée) durant toutes la période d'essai dans le milieu WHITE « a MON 7 J, b DES 7J, c MON 15 J, d DES 15 J»
- Planche 3.2:** la croissance de vitro plants de pomme de terre (Mondial et Désirée) durant toutes la période d'essai dans le milieu WHITE « e MON 21 J, f DES 21J, g MON 40 J, h DES 40J »
- Planche 4.1:** la croissance de vitro plants de pomme de terre (Mondial et Désirée) durant toutes la période d'essai dans le milieu KNOP « a MON 7 J, b DES 7J, c MON 15 J, d DES 15 J»
- Planche 4.2 :** la croissance de vitro plants de pomme de terre (Mondial et Désirée) durant toutes la période d'essai dans le milieu KNOP « e MON 21 J, f DES 21J, g MON 40 J, h DES 40J »
- Planche 5 :** la multiplication des vitro plants
- Planche 6 :** La chambre de culture
- Planche 7 :** L'acclimatation de la variété Désirée
- Planche 8 :** L'acclimatation de la variété Mondial
- Planche 9 :** Le débourrement de la variété Sigoise dans les quatre milieux
- Planche 10 :** La formation de deux feuilles de la variété Sigoise dans les milieux B5 et MS

## *Liste des tableaux*

<b>Tableau I:</b>	Les principales maladies de la pomme de terre
<b>Tableau II:</b>	Apport nutritionnel moyens de la pomme de terre pour 100 g cuite à l'eau
<b>Tableau III:</b>	La production mondiale de pomme de terre, 1990-2006
<b>Tableau IV:</b>	La production de la pomme de terre en Algérie (statistique de pomme de terre, 2006)
<b>Tableau V:</b>	Les principales maladies l'olivier
<b>Tableau VI:</b>	Apport nutritionnel moyens de 100 g d'olive noire
<b>Tableau VII:</b>	Caractéristique des variétés de pomme de terre
<b>Tableau VIII:</b>	Constituants du milieu MS
<b>Tableau IX:</b>	Constituants du milieu B5
<b>Tableau X:</b>	Les constituants de milieu WHITE
<b>Tableau XI:</b>	Composition de milieu KNOP
<b>Tableau XII:</b>	Type de régulateurs de croissance et leur solubilité
<b>Tableau XIII:</b>	Effet du test T de Student à deux échantillons sur le nombre de feuilles des deux variétés dans le milieu MS.
<b>Tableau XIV:</b>	Effet du test T de Student à deux échantillons sur le nombre de feuilles des deux variétés dans le milieu B5.
<b>Tableau XV:</b>	Effet de test T de Student à deux échantillons sur le nombre de feuilles des deux variétés dans le milieu WHITE.
<b>Tableau XVI:</b>	Effet de test T de student à deux échantillons sur le nombre de feuilles de deux variétés dans le milieu KNOP
<b>Tableau XVII:</b>	Effet de test T de Student à deux échantillons sur la longueur des tiges des deux variétés dans le milieu MS
<b>Tableau XVIII:</b>	Effet de test T de Student à deux échantillons sur la longueur des tiges des deux variétés dans le milieu B5
<b>Tableau XIX:</b>	Effet de test T de Student à deux échantillons sur la longueur des tiges des deux variétés dans le milieu WHITE
<b>Tableau XX:</b>	Effet de test T de Student à deux échantillons sur la longueur des tiges des deux variétés dans le milieu KNOP
<b>Tableau XXI:</b>	Effet de test T de Student à deux échantillons sur le nombre de racines des deux variétés dans le milieu MS
<b>Tableau XXII:</b>	Effet de test T de Student à deux échantillons sur le nombre de racines des deux variétés dans le milieu B5
<b>Tableau XXIII:</b>	Effet de test T de Student à deux échantillons sur le nombre de racines des deux variétés dans le milieu WHITE
<b>Tableau XXIV:</b>	Effet de test T de student à deux échantillons sur le nombre de racines de deux variétés dans le milieu KNOP
<b>Tableau XXV:</b>	Effet de test T de Student à deux échantillons sur la longueur des racines des deux variétés dans le milieu MS
<b>Tableau XXVI:</b>	Effet de test T de student à deux échantillons sur la longueur des racines des deux variétés dans le ce milieu
<b>Tableau XXVII:</b>	Effet de test T de Student à deux échantillons sur la longueur des racines des deux variétés dans le milieu WHITE
<b>Tableau XXVIII:</b>	Effet de test T de Student à deux échantillons sur la longueur des racines des deux variétés dans le milieu KNOP
<b>Tableau XXIX:</b>	Clé de détermination des variété de pomme de terre In vitro et In vivo
<b>Tableau XXX:</b>	Indices de ressemblance entre les diagrammes électrophorétique des protéines totales des deux variétés de pomme de terre (exprimés en %)
<b>Tableau XXXI:</b>	La vitesse de croissance des tiges des deux variétés dans les quatre milieux
<b>Tableau XXXII:</b>	Le pourcentage de nombre de feuilles des deux variétés dans les quatre milieux
<b>Tableau XXXIII:</b>	Le pourcentage de nombre de racines des deux variétés dans les quatre milieux
<b>tableau XXXIV</b>	La vitesse de croissance des racines des deux variétés dans les quatre milieux

## ***Introduction***

Les besoins alimentaires en l'Algérie sont assurés grâce à une production locale complétée par l'importation de quantités complémentaires de produits agricoles tels : sel céréales, les légumes secs, les tubercules et les huiles...

Avec la croissance démographique, on remarque une augmentation des déficits alimentaires.

Par ailleurs, la production agricole est menacée de temps à autre par les facteurs climatiques (pluviosité insuffisante, les maladies d'une manière générale et les viroses en particulier ainsi que les maladies bactériennes et les insectes...).

Pour faire face à ces problèmes, l'Algérie a été attirée par l'application des biotechnologies afin de moderniser les systèmes de recherche agronomique.

Dans ce cadre il est intéressant d'étudier la multiplication in vitro de deux espèces végétales (pomme de terre, olivier) pour leurs valeurs alimentaires.

Ainsi l'objectif de ce travail est d'une part l'acquisition des techniques de culture in vitro, d'autre part voir l'effet des quatre milieux (MS, WHITE, B5, KNOP) sur la croissance de deux variétés de pomme de terre (Mondial et Désirée) et une variété d'olivier (Sigoise) et finalement suivre l'état phytosanitaire des plants obtenus.

Les paramètres étudiés se rapportent à la caulogénèse et la rhizogénèse à côté du nombre de feuilles développées et racines néoformées.

L'acclimatation des vitro plants et l'aspect biochimique (protéines totales) ont été abordés.

# PARTIE I

POMME DE TERRE

## **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 prairials (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<sup>ème</sup> siècle et ceci par deux entrées; la première l'Espagne ver 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<sup>ème</sup> 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<sup>ème</sup> siècle, les colons vont la cultiver pour leur usage, car les algériens y sont réticent malgré les disettes successives.

C'est la dernière grande famine des années 30/40 qui viendra à bout de cette opposition (Meziane, 1991).

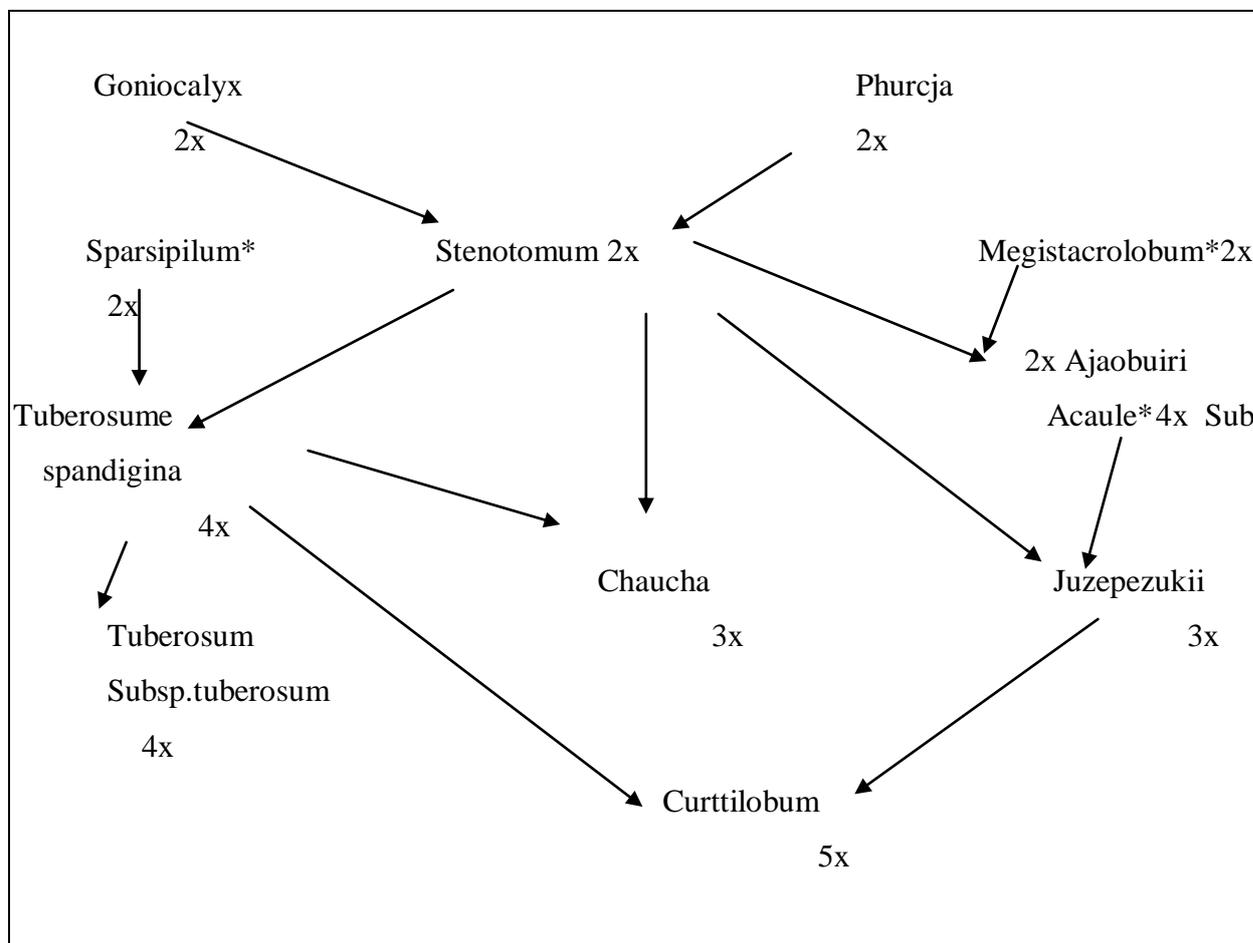
## **2- Taxonomie et origine :**

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 (Doré *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 ; Doré *et al.* ,2006).

La (figure 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 un 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 1:** L'origine génétique des espèces cultivées de pomme de terre

(D'après Hawkes ,1990 in Rousselle *et al.* , 1996).

### 3 - Botanique :

La plante est une espèce herbacée vivace par ces tubercules mais cultivée en culture annuelle selon Rousselle *et al.*, (1996). La plante est constituée de deux parties :

- **Une partie aérienne :**

Avec des tiges prostrées ou dressées, mesurant un mètre ou moins, les feuilles sont oblongues et pointues, les fleurs ont une couleur variante du blanc au violet, les fruits sont des baies de la taille d'une cerise, plus ou moins grosses, charnues, lisses, largement aplaties et sillonnées de deux cotés, celles-ci contiennent un grand nombre

de petites graines, lenticulaires, blanches attachées à un placenta hémisphérique et enveloppées d'une substance pulpeuse, comme les tiges et les feuilles, les fleurs contiennent une quantité significative de solanine , un alcaloïde toxique caractéristique du genre *Solanum* (Bruton ,1998).

Cette partie de la plante permet une reproduction sexuée .

- **Une partie souterraine :**

La plante comporte à la fois des tiges aériennes et des tiges souterraines (Darpoux et Delelly, 1967), et porte aussi des racines nombreuses, fines et fasciculées qui peuvent pénétrer profondément dans le sol s'il est suffisamment meuble (Soltner, 2005). Cette partie porte aussi des tubercules : C'est l'organe le plus intéressant de la plante, qui confère à la pomme de terre sa valeur alimentaire (LÊ *et al.* , 2002).

### **3-1- Morphologie externe et interne des tubercules :**

- **Structure externe :**

On peut voir un bourgeon terminal (bgt) à l'extrémité apicale du tubercule appelé « couronne ». A l'autre extrémité qualifiée de « talon », on trouve le point d'attache du stolon (st) : I « ombilic ». Sont régulièrement disposées, tout au long des tubercules, des dépressions en coup d'angle : « les yeux »(æ). Surtout fréquents dans la région de la couronne. Ils correspondent à l'emplacement des bourgeons axillaires et sont bordés par un épaulement ou « arcade » qui n'est rien d'autre que la cicatrice d'une écaille. On note la présence des lenticelles (len) qui ont une origine stomatique (Rousselle *et al.* 1996).

- **Structure interne :**

Sur la coupe longitudinale d'un tubercule arrivé à la maturité on observe de l'extérieur vers l'intérieur tout d'abord le péricarde (pré) (5à15 assises cellulaires), connu plus communément sous le nom de « peau ». Les lenticelles assurent la communication entre l'extérieur et l'intérieur du tubercule et jouent un rôle essentiel dans la respiration de cet organe. Lorsque la peau est endommagée, il y a subérisation des parois cellulaires et formation d'un péri derme de blessure (Beukema et Vander Zaag ,1990).

En dessous de la peau on trouve la « chair » du tubercule comprenant :

- Le cortex (cort) ou parenchyme cortical (pc) (épaisseur de 3 à 12mm).
- Anneau vasculaire (an.vasc), les phloèmes externes (ph.e), xylèmes (x) et parenchymes associés.
- La zone péri médullaire (z.péri) composée de tissus parenchymateux situés entre la moelle et l'anneau vasculaire avec du phloème interne (ph.i) typique de la famille

des solanacées. Elle est caractérisée par son épaisseur et son aspect largement marbré.

- La moelle (m) ou parenchyme médullaire (pm) constituée d'un tissu plus ou moins translucide.

La distance entre la peau et l'anneau vasculaire est d'environ un demi-centimètre, mais ces deux zones sont plus ou moins en contact au niveau des yeux et du point d'attache du stolon. (Rousselle *et al.*, 1996).

#### **4- Le cycle de vie et mode de reproduction :**

##### **4-1- Cycle sexué :**

Les phénomènes que nous venons d'indiquer ne favorisent pas la fructification.

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

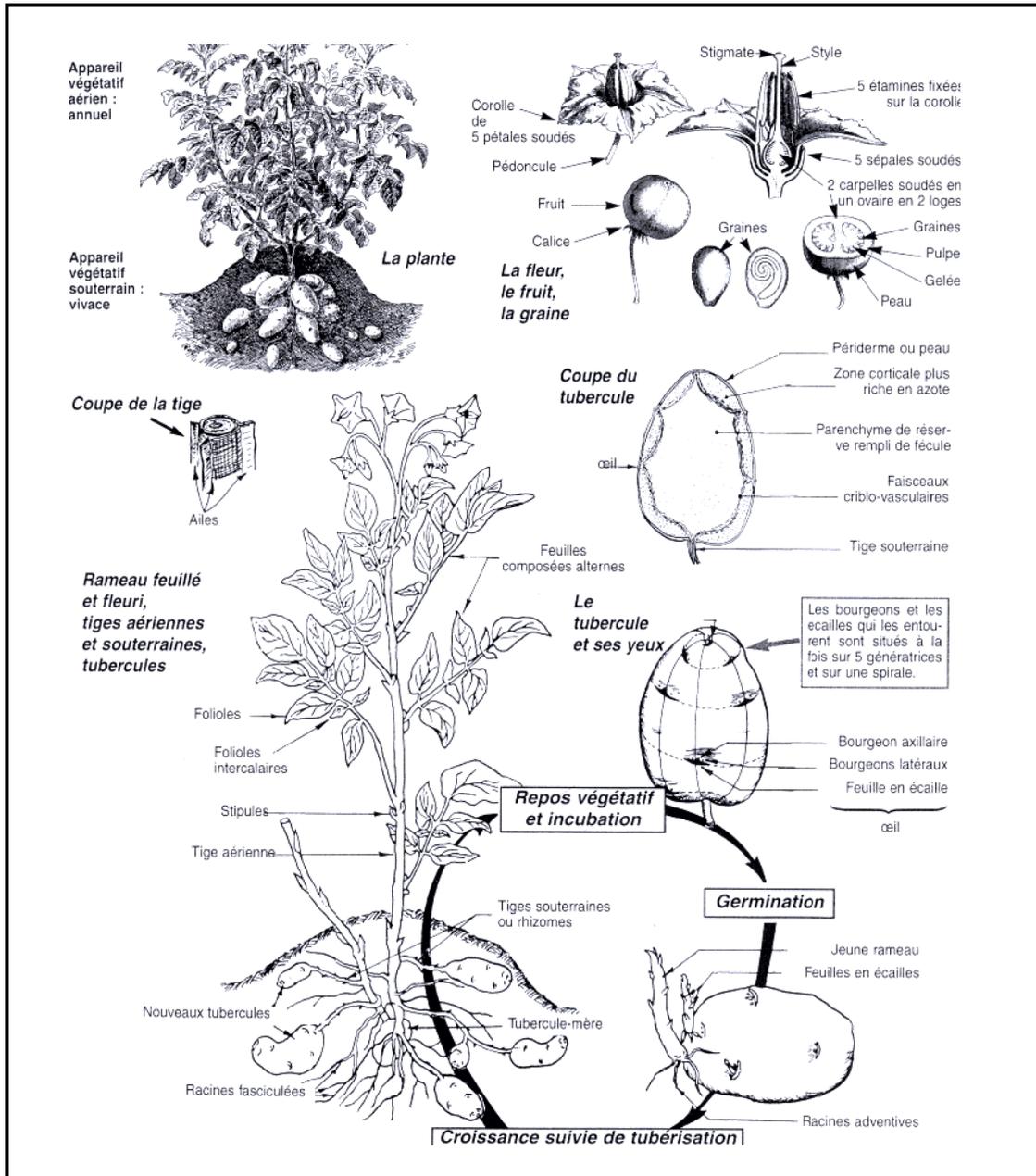
La pomme de terre est très peu produite par graines dans la pratique agricole, en même temps la graine est l'outil de création variétale. La germination est épigée et les cotylédons sont portés au dessus du sol, par le développement de l'hypo cotyle, en conditions favorables.

Quand la jeune plante à seulement quelques centimètres de hauteur, les stolons commencent à se développer d'abord au niveau de cotylédons puis aux aisselles situées au-dessus, et s'enfoncent dans le sol pour donner des tubercules (Bernhards, 1998).

##### **4-2- Cycle végétatif :**

Le cycle végétatif est un cycle annuel en quatre phases :

- ✓ Un tubercule germé et planté en terre, ses germes se transforment en tiges feuillées ce phénomène assure la nutrition et le fonctionnement physiologique de la plante dont les bourgeons axillaires donnent au dessus du sol des rameaux et au dessous des stolons : C'est la phase de croissance.
- ✓ Au bout d'un certain temps, variable selon la variété et le milieu de culture les extrémités des stolons cessent de croître et se renflent pour former en une ou deux semaines les ébauches des tubercules : C'est la tubérisation.
- ✓ La tubérisation se prolonge jusqu'à la mort de la plante, soit naturelle, soit dans les conditions optimales de température et d'humidité : C'est le repos végétatif.
- ✓ Enfin, après une évolution physiologique interne les tubercules deviennent capables d'émettre des bourgeons, plus couramment appelés germes : C'est la germination (Soltner, 2005).



**Figure 2** : Caractéristiques morphologiques de la pomme de terre et cycle végétatif. (Soltner ,2005)

## 5- Les maladies et les ennemies de la pomme de terre :

**Tableau I** : 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"> <li>▪ Brunissement de la base des tiges ou de portions de tige et de pétioles</li> <li>▪ Taches jaunâtres devenant brunes sur les feuilles de la base</li> </ul>
<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"> <li>▪ Faible décoloration des nervures, folioles apicales.</li> <li>▪ Légère coloration rougeâtre des feuilles terminales.</li> <li>▪ Une ondulation des bords et la formation de taches en mosaïque</li> </ul>
<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>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Bactéries de pourriture apparaît à cause du manque d'O<sub>2</sub></li> <li>▪ Le brusque passage de période sèche à période humide et vice-versa</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Les tissus de tubercules montre un surface de tissus noirs.</li> <li>▪ Excès de fumures azotées</li> </ul>
<u>Rhizoctone brun</u>	Rhizoctonia. Maladie fongique.	Attaques sévères sur les tiges et les stolons et enroulement des feuille
<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 p écher</u>	Puceron vert du p écher	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

## 6 -Valeur Nutritionnelle :

La pomme de terre est une source de sucre par l'amidon qu'elle contient, (100g de pomme de terre cuite à l'eau fournissent de 18 à 20 g amidon). Elle est également riche en fibres, qui favorisent l'impression de satiété, en vitamines B1, B2, B3, C et des oligo-éléments, comme le fer.

Pour ces raisons, elle est largement utilisée dans l'alimentation humaine, par conséquent elle constitue une grande production agricole aussi bien dans les pays développés que dans les pays en voie de développement.

## 7 - Production de la pomme de terre :

- **Production mondiale :**

Le secteur de la pomme de terre est en pleine évolution. Jusqu'au début des années 90, la plupart des pommes de terre étaient cultivées et consommées en Europe, en Amérique du Nord et dans les pays de l'ex-Union Soviétique. Depuis lors, la production et la demande de pomme de terre ont enregistré une forte croissance en Asie, en Afrique et en Amérique latine, où la production est passée de moins de 30 millions de tonnes au début des années 60 à plus de 100 millions de tonnes au milieu des années 90.

En 2005, pour la première fois, la production de la pomme de terre du monde en voie de développement - 161,5 millions de tonnes environ - a dépassé celle du monde développé (155,9 millions de tonnes). La Chine est devenue le premier producteur mondial de pommes de terre, et quasiment un tiers de tous les Tubercules sont désormais récoltés en Chine et en Inde. (Anonyme, 2007), comme il est indiqué dans le tableau III suivant :

**Tableau II :** Apport nutritionnel moyen de la pomme de terre pour 100 g cuites à l'eau (Anonyme, 2001).

Élément	Quantités
Valeur énergétique	86 KCAL
Glucides	19g
Protéines	2g
Lipides	0.1g
<b>Vitamines</b>	
B1	0.11mg
B2	0.04mg
B3	1.2mg
B6	0.2mg
C	13mg
<b>Minéraux</b>	
Potassium	410mg
Magnésium	27mg
Fer	0.8mg
Manganèse	0.17mg
Cuivre	0.16mg

**Tableau III :** La production mondiale de pomme de terre, 1990-2006(FAO ,2007)

	1990	1992	1994	1996	1998	2000	2002	2004	2006
Pays	Millions de tonnes								
Développés	195,22	184,64	168,69	193,59	69,25	182,04	163,58	171,79	155,25
En voie de développement	84,09	93,44	102,38	117,71	131,41	146,51	152,41	157,77	159,12
MONDE	279,32	278,09	271,07	311,31	300,67	328,55	315,98	329,56	314,37

- **Production de la pomme de terre en Algérie :**

Après que *Solanum tuberosum* .L fut introduite en Algérie au milieu XVI<sup>ème</sup> siècle, l'essentiel de la production était expédié en France. En 1962, lorsque le pays acquit son indépendance, il produisait 250 000 tonnes par an et en exportait environ le tiers.

Depuis, la pomme de terre est devenue une des principales cultures destinées à la consommation domestique et en 2006 la production a atteint le chiffre record de 2,18 millions de tonnes. La superficie cultivée est de 100 000 ha, et la pomme de terre peut être plantée et récoltée dans n'importe quelle région, en fonction des saisons.

La pomme de terre est surtout cultivée sur la côte méditerranéenne, qui jouit d'un climat tempéré propice à sa culture tout au long de l'année. On en trouve aussi à 500 mètres, sur les montagnes et les vallées entre la côte et les monts Atlas ainsi que sur les hauts plateaux. La consommation annuelle, qui était de 35 kg/par habitant en 1990, est passée à 57 kg en 2005. (Anonyme.2007a). Ainsi entre 1990-2006 la production a plus que doublée comme on le voit dans le tableau IV.

**Tableau IV:** la production de la pomme de terre en Algérie  
(Statistique de pomme de terre, 2006 : Direction des services Agricoles de wilaya de Mila).

Années	Production en quintaux
1990	8085410
1992	11 575 250
1994	7 159 360
1996	11 500 000
1998	11 000 000
2000	12 076 900
2002	761 800
2004	21 765 000
2006	21 809 610

PARTIE II

OLIVIER

### **1- Historique :**

A l'olivier est attachée une image forte, celle de paysages méditerranéens, cet arbre accompagne les mythes fondateurs des cultures méditerranéennes, bible, coran , grands textes classiques grecs, arbres des dieux symbole de force , de longévité de paix ( Breton *et al* .,2006).

Selon la bible, les graines de l'olivier viennent du paradis, elles ont été placées dans la bouche d'Adam jusqu'à sa mort (Ingrid et Schofelder ,1988).

En quelque temps plus tard c'était un rameau d'olivier qui a été rapporté à Noé sur son arche, la colombe expédiée pour observer la décrète des eaux, les vertus de cet arbre sont mentionnés par le Coran où il est dit «Dieu est la lumière des cieux et de la terre. Sa lumière est comparable à une niche ou se trouve une lampe. La lampe est dans un verre; le verre est semblable à une étoile brillante. Cette lampe est allumée à un arbre béni : l'olivier qui ne provient ni de l'orient ni de l'occident et dont l'huile est prés d'éclairer sana que le feu la touche» (Sourate, la lumière 35).

### **2 - Origine géographique :**

L'origine géographique de l'olivier semble être le croissant fertile (Rugini *et al* ., 1998 ; Loumon et Giourage ,2003). Son introduction en méditerranée occidentale est à porter au crédit des phéniciens (Loussert et Bousse, 1978).

Quelques historiens ont démontré que l'olivier était connu dans notre pays bien avant VII siècle avant C.J.

### **3 - Taxonomie et origine génétique :**

L'olivier appartient à la famille des Oleacéaes, genre Olea, le nombre chromosomique de  $2n= 46$  chromosomes.

L'origine génétique de l'olivier est jusqu'à présent mal connue, l'oléastre a toujours été considéré comme l'ancêtre de l'olivier cultivé.

L'étude de la diversité moléculaire de cultivars et d'oléastres, révélée que les cultivars s'apparentent aux oléastres (Breton *et al* .,2006a ;breton *et al* .,2006b ;besnardet *al*.,2001 ;Brozined de Garaffa *et al* .,2002).

Les relations entre l'olivier et l'oléastre sont discutées depuis l'Antique, les grecs dont Théophraste s'interrogeaient sur la façon de passer de l'un à l'autre (Amigues, 1993) et aussi l'olivier et l'oléastre sont considérés comme très proche botaniquement, les botanistes en ont fait deux variétés de la même sous espèce *europaea* de l'espèce *Olea europaea* (Terral *et al.* , 2004), (Breton *et al.*, 2006) vue que l'olivier et l'oléastre sont génétiquement très proches.

#### **4 - Botanique :**

Olivier est un arbre vivace au feuilles persistantes, dur, gris-vert et ayant une forme allongée, elles sont utilisées pour l'alimentation de bétail (Metzidatis ,1997). Les fleurs sont déposées en grappes sur une longue tige, l'olivier produit deux sortes de fleurs, une parfaite qui contient les deux sexes male et femelle et une staminée (Bernie *et al.*, 2006).

Le tronc est gris-vert et lisse jusqu'à sa dixième année, il devient moneux et prend un teint gris foncé (Rugini *et al.*, 1998). Pour le système racinaire, il s'adapte à la structure des sols, le système racinaire reste à une profondeur de 500 à 700 cm et se localise principalement sous le tronc, mais ces racines forment une souche ligneuse très importante, dans laquelle s'accumulent des réserves, dans les mêmes conditions d'alimentation (Maillard, 1975 ; Lousert *et Brousse* ,1978).

#### **5 - Cycle de développement de l'olivier :**

Après le repos hivernal de Novembre à février, la végétation démarre à partir de Mars - Avril, les pousses terminales s'allongent, les bourgeons axillaires se développent après s'être différenciés en boutons floraux ou en yeux à bois, les bourgeons végétatifs débourrent vers la fin du mois de Mars un peu après les bourgeons floraux, la floraison se déroule entre Mai et Juin, l'endocarpe (noyau) se scerifie en Juillet - Août. La pousse de printemps la plus importante dans la croissance annuelle, dure jusqu'à mi-Juillet environ, une deuxième pousse peut avoir lieu entre Septembre et mi-octobre, si les conditions le permettent.

Chez les arbres qui ne portent pas de fruits (années moins) une croissance continue mais irrégulière peut être observée pendant toute la période de Mars à Octobre. L'ampleur à la croissance des rameaux est très affectée par la quantité de fruits portés par l'arbre.

Les feuilles de troisième année jaunissent puis chutent à un âge compris entre 28 et 30 mois en moyenne. L'arbre rentre enfin en repos hivernal.

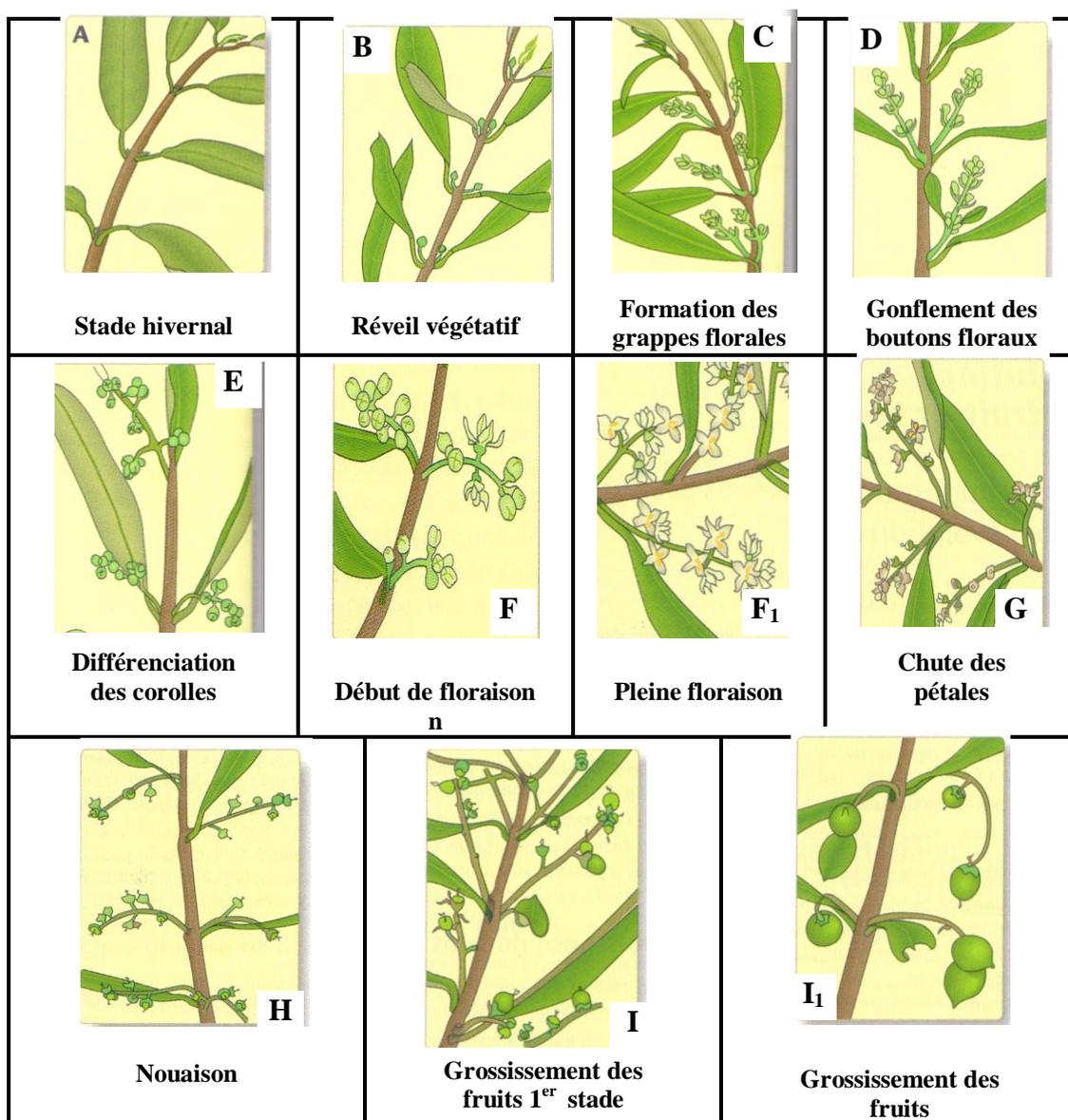
La floraison s'effectue sur la pousse de l'année précédente et sur la pousse de deuxième année qui n'a pas fleuri l'année première.

La production interviendra donc sur du bois en deuxième année de croissance.

L'induction florale est déjà intervenue 90 à 100 jours avant le début de la floraison et vraisemblablement antérieurement à une période où aucune évolution n'est visible, ce caractère traduit une exigence pour oléiculture, celle de ne tailler l'olivier qu'après le bon déroulement de cette induction florale. Une taille d'automne va automatiquement conduire l'olivier à privilégier une pousse à bois au détriment d'une croissance florale.

La régularité d'une pousse annuelle est par conséquent une condition « sine qua non » pour obtenir une fructification annuelle (Argenson *et al.*, 1999).

Et on peut résumer le cycle de vie de l'olivier dans la figure 3 :



**Figure 3 :** Le cycle de vie de l'olivier (Argenson *et al.* ; 1999)

## 6 – Les maladies de l’olivier :

**Tableau V** : Les principales maladies de l’olivier (Argenson *et al.* , 1999 ).

Les maladies	La cause	Les symptômes et dégâts
Noire et évitable fumagine <i>Capnodium oleaginum</i>	La fumagine (complexe des champignons)	-L’ensemble de végétales recouvert d’une sorte de poussières noire -La fonction de chlorophyllienne des feuilles peut être stoppée.
Œil de paon. ( <i>Cycloconium oleaginum</i> )	Entraînées par le vent et la pluie, les conidies (organes microscopiques qui permettent la diffusion de la maladie) émettent des zoospores qui provoquent la maladie	-La défoliation peut compromettre non seulement la récolte de l’année mais également la vie de l’arbre. -Provoque la chute des feuilles. -Provoque la chute des fruits.
Cochenille noire <i>Saissetia oleae</i> <b>Bern</b>	Forte population de Cochenilles	Affaiblit l’arbre.
La Teigne de l’olivier <i>Prays oleae</i> <b>Bern</b>	La teigne	-La consommation des organes floraux rend toute la fécondation impossible Pour les fruits les dégâts se manifestent par deux chutes successives. Alors la teigne provoque 30-40% des pertes d’olive
La mouche de l’olivier <i>Bactrocera oleae</i> <b>Gmel</b>	La mouche de l’olivier	-Perte de récolte par la chute des fruits -Diminution du rendement en huile et détérioration de la qualité de l’huile par augmentation de son acidité.

## 7 - La valeur nutritionnelle :

On connaît actuellement plus de variétés d’olives cultivées pour la consommation de table vert ou noir, mais surtout pour son huile riche en acides gras insaturés.

Les feuilles d’olivier ont des propriétés Hypotensives, vasodilatatrices, hypoglycémiantes et d’autres utilisations médicinales (Meslaycet.2007). A part les valeurs médicinales, l’olive contient d’autres éléments comme on le voit dans le tableau IV :

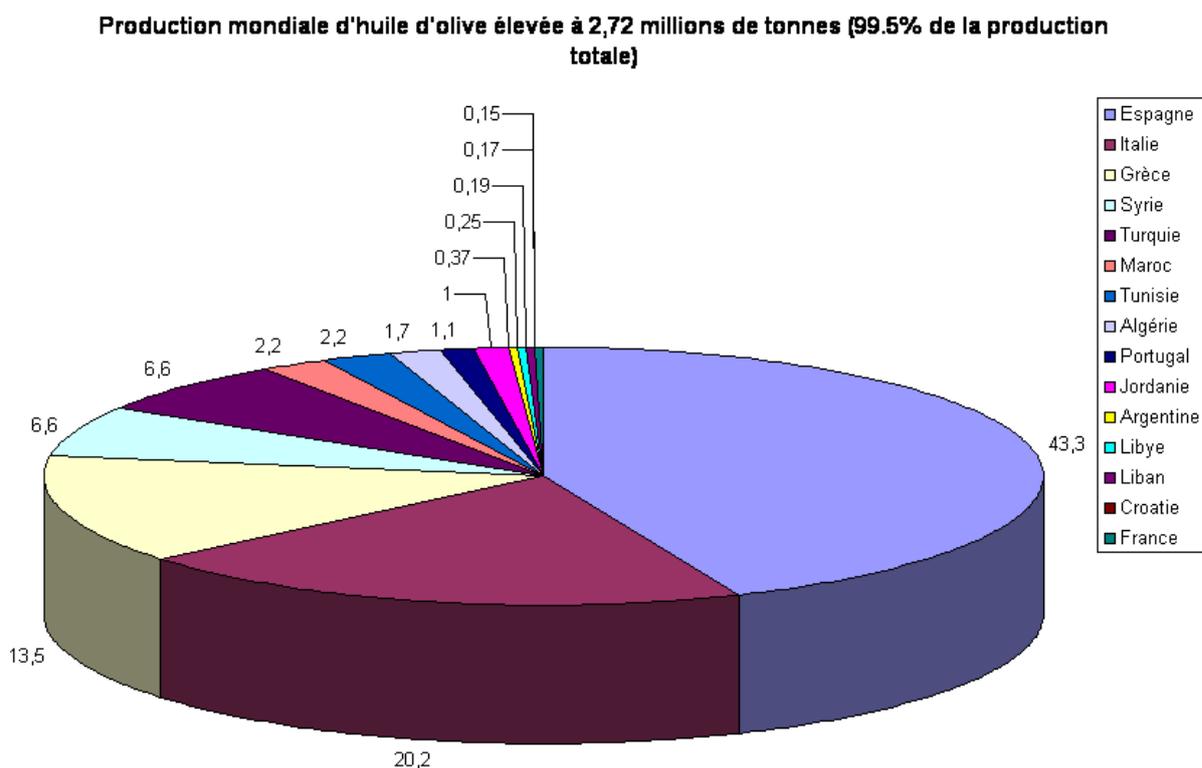
**Tableau VI : Apport nutritionnel moyen de 100 g d'olive noir (Simpson et Orgozaly,2001)**

L'élément	La concentration
Eau	77%
Calories	103 calories
Protéines	0.9g
Acides Gras	11g
Carbohydrates	0
Vitamine A	180 mg
Vitamines C	0

### 8 - Production algérienne et mondiale de l'olivier :

L'Algérie fait partie des pays du pourtour méditerranéen dont le climat est des plus propices à la culture de l'olivier. Elle se positionne après l'Espagne, l'Italie, la Grèce et la Tunisie qui sont, par ordre d'importance, les plus gros producteurs au monde d'huile d'olive.

La figure 4 montre la production mondiale d'huile d'olive dans la période 2006-2007



**Figure 4 : La production mondiale d'huiles d'olive (2006-2007)**

# PARTIE III

## LA MULTIPLICATION DES VÉGÉTAUX

**1- La multiplication sexuée :**

Pour (Maarouf, 2000) la multiplication sexuée est une expression incorrecte, pour lui le terme exacte c'est la reproduction ; et selon (Tourte et *al.*, 2005) tous les événements qui concernent cette première modalité de reproduction se réalisent au niveau d'un organe, souvent éphémère mise en place au début de ce que l'on considère comme l'état adulte : La fleur, celle-ci porte souvent les deux types d'organes reproducteurs, male et femelle et est par conséquent bisexuée.

**2 - La multiplication végétative :**

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 est commune chez les végétaux supérieurs, elle s'effectue naturellement et artificiellement (Camble *et al.*, 2004).

**2 -1- La multiplication végétative naturelle :**

❖ **Le marcottage naturel :**

C'est la multiplication végétative à partir d'organes spécialisés (Robert et *al.*, 1998). Dans ce type de multiplication des nouveaux individus sont formés à partir de portions d'un végétale, qu'au moment de leur séparation de la plante mère possèdent déjà tous les organes nécessaires à une vie autonome de ces individus (tiges, racines, feuilles ....). Ce marcottage est très rare chez les espèces arborescentes (Maarouf, 2000).

❖ **Le bouturage naturel :**

Dans ce cas un rameau se détache de la plante puis s'enracine, la formation des racines succède à l'isolement nouvel individu comme dans le cas des *Opuntia* (Camefort et Boué, 1979 ; Robert *et al.*, 1998).

Pour améliorer les plantes propagées, les arbres fruitiers et les plantes ornementales, l'homme a mis au point diverses méthodes de multiplication végétatives artificielles, La plupart se fondent sur la capacité des plantes de former des racines et des pousses adventives (Peyru et *al.*, 2007).

## **2-2 - La multiplication artificielle :**

### **2-2-1- Les anciennes méthodes :**

- ✓ **Bouturage** : Consiste à mettre en terre un fragment de plante dépourvu de racines, la bouture est capable de régénérer une plante entière par la formation des racines adventives (Robert et *al.*, 1998), Selon Peyeru et *al.*, (2007), le bouturage consiste à couper un fragment ou bouture d'une pousse ou d'une tige, une masse cellulaire indifférenciée, appelée cal se forme sur la cicatrice, émet des racines adventives et produit des pousses.
- ✓ **Marcottage** : C'est un type particulier de bouturage dans lequel la bouture reste reliée à la plante mère jusqu'à la formation de ses propres racines comme les fraisiers (Robert et *al.*, 1998).
- ✓ **Le greffage** : C'est une pratique agronomique qui consiste à implanter dans les tissus d'une végétale un greffon, dans lequel le porte greffe fournit les racines et le greffon donne le système aérien (Robert et *al.*, 1998).
- ✓ **Le drageonnage** : Est un procédé de multiplication végétative permettant à certaines espèces, arborescentes ou non, de se propager, voire de coloniser le milieu par la formation des tiges adventives à partir du système racinaire. Cette néoformation de pousses à partir de racines, généralement traçantes ou superficielles, différencie le drageon du rejet de souche. Ce dernier se développe sur une structure anatomique de tige. Ce peut être la partie aérienne, voire souterraine du tronc, en étant conscient de l'ambiguïté qui peut subsister pour les pousses apparaissant au niveau du collet. A l'inverse du drageon, la marcotte provient de la néoformation de racines à partir de tiges au contact du sol, voire de branches encore reliées au pie-mère, et dont la fonction première n'est pas d'assurer la multiplication végétative, contrairement aux stolons. (Bellfontain et Monteus, 2006).

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

#### **2-2-2-1 Historique :**

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

La culture indéfinie des tissus des végétaux à été réalisée il y a 70 ans, c'est en effet au printemps 1937 qui fut isolée la première souche tissulaire dans l'activité c'est maintenue jusqu'à présent grâce à des repiquages réguliers;

Dés, 1941, on savait obtenir des plantes entières à partir de petits fragments d'organes ou colonies tissulaires ; leur enracinement ne posait aucun problème grâce aux auxines rhizogènes dont le maniement était connu depuis assez longtemps (Margara ,1989).

En 1944, 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, 1989).

En 1966, Guha et Maheswari en Inde obtenaient des plantes haploïdes de *Datura innoxia* M.LL à partir de culture d'anthères ;

En 1971, au Japon, Takebe et Col régénéraient des plantes entières de *Nicotina tabacum* à partir de protoplaste (Anonyme, 1996).

#### **2-2-2-2- Les catégories de la culture in vitro :**

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

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

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

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

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

- **La lumière et la photopériode :**

La lumière est un facteur déterminant pour la culture in vitro des plantes, elle à une grande influence de part la durée d'exposition (photopériode), selon Hussey *et al.* ,(1981) d'autre part la longueur de jour qui affecte la vigueur et le développement des proliférations et la croissance des cals, cette dernière pourrait aussi contribuer à la formation des cals (Briggs, 1964), de façon général le début de croissance nécessite une faible intensité lumineuse (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 ,1989).

- **La température :**

La température de beaucoup de chambres à culture est constante de l'ordre de 22° à 25° C (Margara ,1989) mais selon LÊ, (1994) des faibles températures de 15° à 20° C stimulant la microtubérisation chez la pomme de terre, selon Walali, (1993) pour l'olivier (27° à 28° C) c'est la température optimale.

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

Les six macroéléments nécessaires à la croissance (N, P, S, K, Mg, Ca) sont absorbés sous forme d'ions (Margara ,1989). Le potassium occupe la première position, il existe dans le milieu sous forme de nitrate ou chlorure avec une concentration de 20 – 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 1-30Mm, il augmente la densité des racines. Pour le calcium, les besoins en cet élément varient de 1-3 mM, le rôle du calcium, est le maintien de la structure cellulaire. Le magnésium à un rôle de construction de la molécule de chlorophylle et finalement les composés azotiques qui représentent la principale source d'alimentation azotée (Yves, 1984).

- **Le saccharose :**

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

- **Les vitamines :**

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

- **Les 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,(1989). 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.

#### 2-2-2-4 Les techniques à appliquer :

- **La culture de méristème :**

Dès 1952, George Morel de INRA de Versailles réussit à obtenir une plante entière à partir d'un méristème (Ochett et *al.* , 2005), et selon Téoulé, (1993)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 mèristématiques 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).

➤ **La micro propagation :**

Les plantes se multiplient par semi ou par multiplication végétative, ce dernier est indispensable quand on veut conserver les caractères d'une variété donnée. La micropropagation *in vitro* apporte un progrès considérable par rapport aux méthodes traditionnelles avec un taux de multiplication de 100 à 1000 fois plus élevé (Ochatte *et al.*, 2005). La micropropagation consiste en une prolifération des bourgeons axillaires préexistants sur l'explant mère. Ceci offre une bonne garantie de conformité génétique et une bonne stabilité des caractères au cours de repiquages successifs (Zhyd, 1988).

L'application de la technique de la micropropagation des plantes ligneuses, fruitiers forestiers, permet l'amélioration de leurs capacités d'enracinement notamment sur le porte greffe reconnue difficile (LÊ *et al.*, 2005).

Cette technique permet la multiplication végétative de plusieurs plantes alimentaires, médicinales, horticoles, agroforesteries,..... (Bretaud, 2006).

➤ **L'embryogenèse Somatique :**

Un apport important de la technique de culture *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, 1989 ; Boccon –Gibod *et al.*, 1989 ; Gray *et al.*, 1995).

Une revue fait mention d'une vingtaine d'espèces ligneuses capables de révéler une potentialité embryogène souvent décelée à partir d'embryons zygotique (Williams *et al.*, 1986).

➤ **La culture de protoplaste :**

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 protoplaste est très fortement inductrice de variabilité porte souvent sur le nombre chromosomique; cela a été montré chez la pomme de terre (Sheparid, 1982 ; Karp *et al* ., 1982).

**2-2-2-5 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 géotypes 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.

**2-2-2-6 Les inconvénients :**

Le problème de contamination et selon Casselle, (1987) il est dû à deux causes :

Le premier c'est l'explant et le deuxième c'est la technique;

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

**MATERIELS ET  
METHODES**

L'étude a été menée dans le laboratoire de Développement et Valorisation des ressources phytogénétiques de l'université Mentouri Constantine au cours de la période 2006-2007 et 2007-2008.

### 1- Le matériel végétal :

Le matériel végétal utilisé provient de deux espèces de pomme de terre et d'olivier.

#### 1-1 La pomme de terre :

Deux variétés ont été utilisées : Ce sont des variétés utilisées par nos agriculteurs dans la production de pomme de terre de consommation.

**Tableau VI** : Caractéristique des variétés de pomme de terre (Anonyme ,2001 b)

Variétés	Caractéristiques
Mondial	<ul style="list-style-type: none"> <li>-Origine génétique : S puntaxSVP.</li> <li>-Tardive.</li> <li>-Rendement excellent.</li> <li>Tubercule oblong jaune, a germes allongés de couleur violet – claire à la base, avec 2-3 germes /tubercule.</li> <li>-Calibre de tubercules : 35/55mm.</li> <li>-Origine d'importation : Hollande.</li> </ul>
Désirée	<ul style="list-style-type: none"> <li>-origine génétique : UrgentaX Depesche.</li> <li>-Moyenne a demi tardive</li> <li>-Rendement bon</li> <li>-Tubercules oblongs assez réguliers, peau rouge, chair jaune.</li> <li>-Origine d'importation : Z.P.C (Pays Bas).</li> </ul>

#### 1-2 Olivier :

Pour cette espèce nous avons utilisé la variété Sigoise. La variété Sigoise, connue aussi sous le nom d'olive de Tlemcen, de Zitoun beldi et de picholine marocaine est originaire de la région de Sig d'où elle tire son nom. Elle constitue 20% de l'oliverie algérienne. C'est une variété à double fins (conserve et huile) possédant un fruit assez gros, très riche en huile, c'est une variété auto fertile.

## 2-Les milieux de culture :

Afin de déterminer les conditions nutritives les plus favorables à la croissance des explants nous avons choisi les milieux : MS (Murashige et Skoog, 1962), B5 (Ganborg et al ., 1968), KNOP et WHITE.

Les constituants principaux de ces milieux 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 et dans ces milieux, on trouve les vitamines, les acides aminés, les régulateurs de croissance et on réalise la solidification à l'aide de l'Agar.

**Tableau VIII : Constituants du milieu MS (Murashige et Skoog, 1962).**

	Ingrédients	Solution mère Mg/l	Volume de prélèvement	
Macroéléments	NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub> KNO <sub>3</sub> CaCl <sub>2</sub> .2H <sub>2</sub> O MgSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	1650 1900 440 370 170	50ml	A
Micro-éléments	MnSO <sub>4</sub> .H <sub>2</sub> O ZnSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub> KI Na <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub> .2H <sub>2</sub> O CuSO <sub>4</sub> .5H <sub>2</sub> O CoCl <sub>2</sub> .6H <sub>2</sub> O	22.3 8.6 6.2 0.83 0.25 0.025 0.025	10ml	B
Fe -EDTA	Na <sub>2</sub> EDTA FeSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	37.3 27.8	10ml	C
	Ingrédients	Solution mère Mg/100ml	Volume de prélèvement	
Vitamines et acides amines	Glycine Acide Nicotinique Pyridoxine.HCl Thiamine HCl Myo-inositol	0.2 0.5 0.5 0.1 100	10ml	D
Sucre	Saccharose	30000Mg/L	30000mg	E
Agar	Agar	8g/l	8g	F

**Tableau IX : Constituants du milieu B5 (Gamborg et al 1968).**

	Ingrédients	Solution mère Mg/l	Volume de prélèvement	
Macroéléments	KNO <sub>3</sub> CaCl <sub>2</sub> .2H <sub>2</sub> O (NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> .SO <sub>4</sub> MgSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> .H <sub>2</sub> O	2500 150 134 250 150	50ml	A
Micro-éléments	MnSO <sub>4</sub> .H <sub>2</sub> O ZnSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub> KI Na <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub> .2H <sub>2</sub> O CuSO <sub>4</sub> .5H <sub>2</sub> O CoCl <sub>2</sub> .6H <sub>2</sub> O	10 2 3 0.75 0.25 0.025 0.0125	5ml	B
Fe -EDTA	Na <sub>2</sub> EDTA FeSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	37.3 27.8	5ml	C
	Ingrédients	Solution mère Mg/100ml	Volume de prélèvement	
Vitamines et acides amines	Acide Nicotinique Pyridoxine.HCl Thiamine HCl Myo-inositol	1 1 10 100 1	5ml	D
Sucre	Saccharose	20000Mg/L	30000mg	E
Agar	Agar	8g/l	8mg	F

**Tableau X : Les constituants du milieu WHITE (Gautheret ,1959).**

	Ingrédients	Solution mère Mg/l	Volume de prélèvement	
Macroéléments	Ca (No <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> .4H <sub>2</sub> O KNO <sub>3</sub> MgSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> KCl	288 80 737 19 200 645	100ml	A
Micro-éléments	Fe <sub>2</sub> (SO <sub>4</sub> ) <sub>3</sub> H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub> KI ZnSO <sub>4</sub> .4H <sub>2</sub> O MnSO <sub>4</sub> .4H <sub>2</sub> O	2.5 1.5 0.75 2.2 6.7	10ml	B
	Ingrédients	Solution mère Mg/100ml	Volume de prélèvement	
Vitamines et acides amines	Glycine Acide nicotinique Pyridoxine-HCl Thiamine-HCl Myo-inositol	20 5 5 1 1	10ml	D
Sucre	Saccharose	30000mg	30.000mg	E
Agar	Agar	08g	8g	F

**Tableau XI:** Composition du milieu KNOP (Gautheret ,1957).

	Ingrédients	Solution mère Mg/l	Volume de prélèvement	
Macroéléments	Ca (NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> .4H <sub>2</sub> O	1000	100ml	A
	KNO <sub>3</sub>	250		
	MgSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	250		
	KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	250		
Micro-éléments	H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	1	10ml	B
	KI	0.01		
	ZnSO <sub>4</sub> .4H <sub>2</sub> O	1		
	MnSO <sub>4</sub> .4H <sub>2</sub> O	0.1		
	Cu SO <sub>4</sub> .H <sub>2</sub> O	0.03		
	Ingrédients	Solution mère Mg/100ml	Volume de prélèvement	
Vitamines et acides amines	Glycine	20	10ml	D
	Acide nicotinique	5		
	Pyridoxine-HCL	5		
	Thiamine-HCL	1		
	Myo-inositol	1		
Sucre	Saccharose	30000mg	30.000mg	E
Agar	Agar	08g	8g	F

## 2-1 Préparation des solutions mères des milieux de culture :

### 2-1-1 Préparation de la solution mère de macro-éléments :

Elle consiste a :

- 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 1litre et compléter à 1litre avec l'eau distillée;
- Identifier le flacon puis le ranger au réfrigérateur.

### 2-1-2 Préparation de la solution mère de micro-éléments :

La préparation de la solution mère consiste à :

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

### 2-1-3 Préparation de la solution mère de Fe-EDTA :

Elle consiste à :

- Verser 600 ml d'eau dé ionisée dans un bécher de 1L;
- Ajouter quelques gouttes de NaOH et chauffer jusqu'à ébullition;
- Couper la source de chaleur;
- Ajouter le Na<sub>2</sub> EDTA et mélanger jusqu'à dissolution;
- Ajouter FeSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O;
- 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.

### 2-1-4 Préparation de la solution mère des vitamines :

La préparation de la solution mère consiste à :

- Verser 70ml d'eau dé ionisée dans un bécher de 100ml;
- Peser et dissoudre les vitamines indiquées (D);
- Transférer la solution dans un flacon de 100ml et compléter à 100ml avec l'eau distillée;
- Identifier le flacon puis le ranger au réfrigérateur.

### 2-1-5 Préparation de la solution mère des hormones :

- Peser les régulateurs de croissance désirés et les dissoudre dans quelques gouttes 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 (Tableau XII).

**Tableau XII:** Type de régulateurs de croissance et leur solubilité (Anonyme ,1999)

Les régulateurs	Les solvants
Auxine (AIA)	Et OH ou NaOH
Cytokinine (Kinitine)	1N NaOH
Gibbérelline (GA3)	Et OH

## **2-2 - Stérilisation 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 dé ionisée dans un bécher de 1l;
- Peser et dissoudre le saccharose en chauffant légèrement au besoin;
- Ajouter le volume nécessaire de macroéléments, microéléments, FE-EDTA;
- Ajuster le PH à  $5.7 \pm 0.1$  avec HCl (1N) ou NaOH (1N);
- Compléter à 1litre avec l'eau distillée;
- Chauffer puis ajouter l'Agar graduellement jusqu'à ce que le milieu devienne clair;
- -Verser dans des flacons pour faire la stérilisation.

La stérilisation de milieu de culture, est assurée par l'autoclave à une température de 120° C, et une pression de 15 psi 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.

## **3 - La Stérilisation des instruments :**

Tous les instruments métalliques (pinces, pointes, bistouris ...) ou verreries (Béchers, tubes de culture, boîtes de Petris ...) sont enrobés avec du papier aluminium, et sont mis à l'étuve à une température de 170° à 200° C pendant 2 heures de temps.

Au cours des manipulations les instruments métalliques sont plongés dans l'alcool à 70%, puis passés aux flammes du bec Benzen afin de brûler l'alcool.

## **4 - 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 calcium à 1% pour la pomme de terre, HgCl<sub>2</sub> à 1% aussi pour l'olivier et l'éthanol à 70%.

### **4 - 1 - Stérilisation des explants de pomme de terre :**

Les explants sont des germes de tubercules de 0.5 à 1cm qui sont stockés dans l'obscurité pendant un mois, la stérilisation de ces explants se fait selon le protocole suivant :

- Mettre les explants dans l'éthanol à 70% pendant 30 secondes;
- Mettre ces explants dans une solution d'hypochlorite de calcium à 1% pendant 15 minutes;

- Rincer avec l'eau stérile 3 à 4 fois pendant 3 minutes ;
- Laisser les explants dans l'eau stérile jusqu'au repiquage dans les tubes.(Nowbuth et LÊ ,2004)

#### **4 - 2 - La stérilisation d'olivier :**

Les explants proviennent d'une plante adulte. Se sont des microboutures de 1 cm, la stérilisation de ces explants est réalisée selon le protocole suivant :

- Mettre les explants dans l'éthanol à 70% pendant 20 minutes;
- Mettre ces explants dans une solution de HgCl<sub>2</sub> à 1% pendant 5 minutes;
- Rincer avec l'eau stérile 3 à 4 fois pendant 3 minutes;
- Laisser les explants dans l'eau stérile jusqu'au repiquage dans les tubes.(Haïchour,2002).

#### **5 - Ensemencement des explants :**

Avant de commencer la manipulation, 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 l'ensemencement des explants.

On ajoute les vitamines et les hormones filtrées au milieu de culture autoclavée, puis on le coule dans les tubes de culture. On fait la stérilisation des explants sous la hotte selon la nature de l'explant; on réduit la taille de chaque explant pour la pomme de terre (0.5 cm à 0.8 cm); pour l'olivier (1cm).

Le repiquage des explants sur les milieux de culture est effectué à l'aide de pince stérilisée et près de la flamme du bec bensen, tout en flambant l'ouverture du tube avant et après l'opération sous la hotte.

#### **6 - Incubation des explants :**

##### **6 - 1 - Dans les tubes :**

Les conditions environnementales fréquemment utilisées sont 20 à 28° C, sous la lumière fluorescente à raison de 16 heures jour /8 heures nuit pour une intensité utilisée de l'ordre de 300 lux.

## **6 - 2 Acclimatation :**

Les vitro plants développés sur les milieux ont réussi à avoir un développement important de la partie aérienne et la partie racinaire. Ils ont été transférés dans des pots contenant de la vermiculite et du sable stérile.

Le premier arrosage est assuré par une solution nutritive stérile.

Les pots sont posés par la suite dans un dessiccateur ou l'on met dans sa partie inférieure une quantité d'eau de robinet, pour créer une atmosphère humide, car les stomates des jeunes vitro plants sont ouverts pendant la phase d'incubation.

L'arrosage est réalisé avec de l'eau de robinet régulièrement dès la deuxième semaine.

## **7 - Mesures et notation effectuées:**

Les mesures effectuées sont de l'ordre morphologique, on mesure la taille de la tige, le nombre de feuilles, le nombre de racines, la longueur des racines aussi le taux de contamination; et des mesures chimiques (le taux de protéines totales) par la technique de l'électrophorèse.

### **7 - 1 - Extraction des protéines totales :**

L'extraction des protéines est réalisée à partir des feuilles fraîches des deux variétés multipliées par les méthodes de multiplication (in vitro et in vivo) avec la technique d'extraction suivante :

- prendre 20 mg des feuilles fraîches, les écraser dans un mortier, puis dans un eppendorf.
- Mettre 300µl de la solution d'extraction (solution A annexe 2), les vortex
- Mettre les eppendorfs dans une étuve pendant 2 heures à 60C°
- Centrifuger pendant 5 minutes à 8000 tours/minute
- déposer 40µl par échantillon
- Séparation sur gel de polyacrylamide selon la technique de Laemmli SDS-PAGE ayant pour caractéristiques :T=12% ,C =1.3%.
- fixation des protéines au TCA à 60%.

### **7-1-2 - Electrophorèse :**

Il s'agit d'une électrophorèse monodimensionnelle en présence du sodium Dodécyl-Sulfate sur gel polycrylamide (SDS-PAGE) selon la méthode de Laemmli (1970) .

#### **7-1-2-1- Préparation des gels :**

Dans la méthode de séparation par SDS-PAGE nous devons préparer deux types de gels : Un gel de séparation qui permet de fractionner les différentes protéines et les sous unités protéiques selon leurs poids moléculaires et un gel de concentration permettant de retenir les impuretés et de tasser les protéines.

Avant de préparer les gels on doit procéder au montage des cassettes après les avoir nettoyées à l'éthanol. On les place l'une contre l'autre en les séparant avec deux espaceurs dont la largeur est choisie.

❖ **Le gel de séparation (running gel) :**

Le gel est à T = 12.8% et C = 0.9%. Ces dimensions sont de 180 x 160 x 1.5 mm. Il est constitué d'acrylamide à 35% (P/V), de N-N'-Méthylen –Bisacrylamide à 2%(p/v), de Tris HCL à PH = 8.8, de SDS à 10% et d'eau distillée. La réaction de polymérisation est catalysée par l'Ammonium persulfate (APS) à 1% (p/v) et le TEMED. Une fois tout les constituants mélangés (les catalyseurs sont ajoutés en dernier lieu), il est coulé entre les cassettes (montées auparavant) doucement pour ne pas faire de bulles jusqu'à un niveau délimité sur la plaque pour laisser la place au gel de concentration (à 4 cm de l'encoche). Ensuite, on coule une fine couche de butanol pour égaliser la surface du gel et pour éviter son contact avec l'air (pour faciliter la polymérisation). Au bout de 30 à 45 minutes le gel prend, on se débarrasse du butanol et on rince à l'eau distillée.

❖ **Le gel de concentration (Stacking gel) :**

Le gel est à T = 2.8% et C = 1.4%, il à les dimensions de 180 x 40 x 1.5 mm, il est constitué de la même façon que le gel de séparation avec une seule différence au niveau du Tris HCL qui a un PH de 6.8. Le gel est coulé sur le gel de séparation, les peignes sont posés bien centrées entre les cassettes et sans faire de bulles. Le gel prend après 45 à 60 minutes, les peignes sont retirés soigneusement pour ne pas casser les puits. Enfin, on verse du tampon dans les puits est on fait les dépôts.

❖ **Le tampon d'électrophorèse :**

Le tampon de migration est constitué de glycine à 1.41% (p/v), de Tris à 0.3% (p/v) et de SDS à 0.1%.(p/v)

❖ **La migration :**

Après le dépôt des différents échantillons; la cuve d'électrophorèse (bac inférieur) est remplie à un niveau suffisant avec le tampon d'électrophorèse.

Ensuite, le bac supérieur situé entre les deux plaques (bien serrées contre les joints pour éviter les fuites) est rempli lui aussi avec le tampon jusqu'a ce que les faces supérieures des gels immergées. Ensuite, ce dernier est placé dans la cuve d'électrophorèse pour que les faces inférieures des gels plongent dans le passage du courant électrique. La migration est menée à une intensité constante de 40 mA/gel.

❖ **Fixation et coloration :**

Après la sortie du front de migration (coloré en bleu), la migration est arrêtée. Les gels sont démoulés et récupérés dans des bacs en plastique puis recouverts avec une solution de coloration. La solution de coloration est constituée d'un fixateur des protéines. Le TCA (acide trichloroacétique) à 60% et d'une coloration, le bleu de coomassie R250. Les gels doivent être

maintenus en agitation pendant 24 heures pour éviter le dépôt du colorant. Après ils sont décolorés dans de l'eau.

❖ **La lecture :**

La lecture consiste à révéler la mobilité de chaque bande décelable, dans le gel .

**8 - Analyse statistique :**

Pour le traitement de nos résultats, nous avons utilisé des méthodes statistiques à savoir :

- ❖ Analyse de la variance (ANOVA).
- ❖ Tests de Newman et Keuls (ppas).
- ❖ Test T student.

Le programme informatique utilisé est le logiciel Minitab 13 et xlstat2008.

# RESULTATS ET DISCUSSIONS

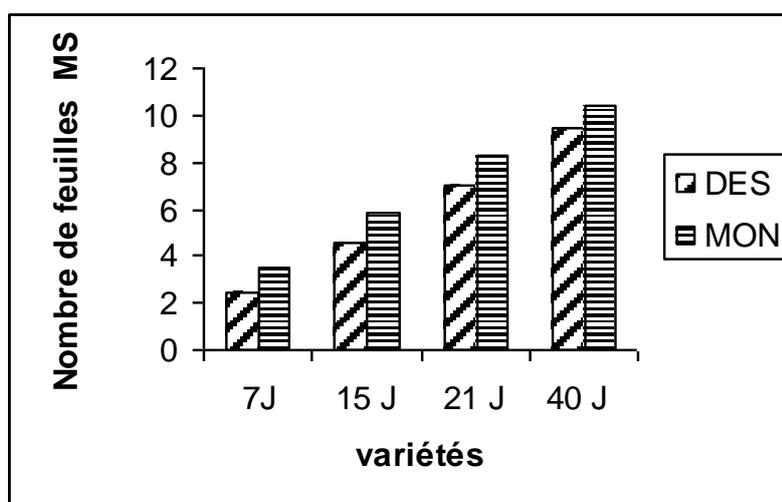
## I - La régénération des vitro plants de pomme de terre :

### 1.1 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.

#### 1-1-1 Effet du milieu MS sur le nombre de feuilles des deux variétés :



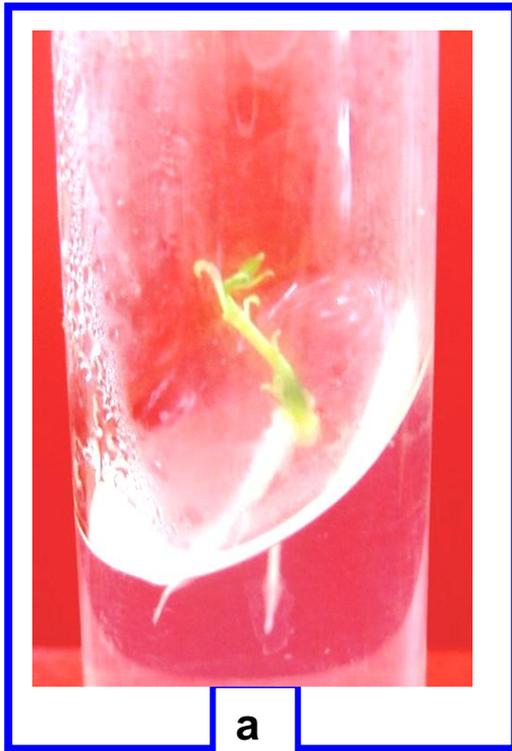
**Figure 6 :** Effet du milieu MS sur le nombre de feuilles des deux variétés.

L'effet du milieu MS se manifeste par l'augmentation du nombre de feuilles chez les deux variétés durant la période d'essai (figure 6).

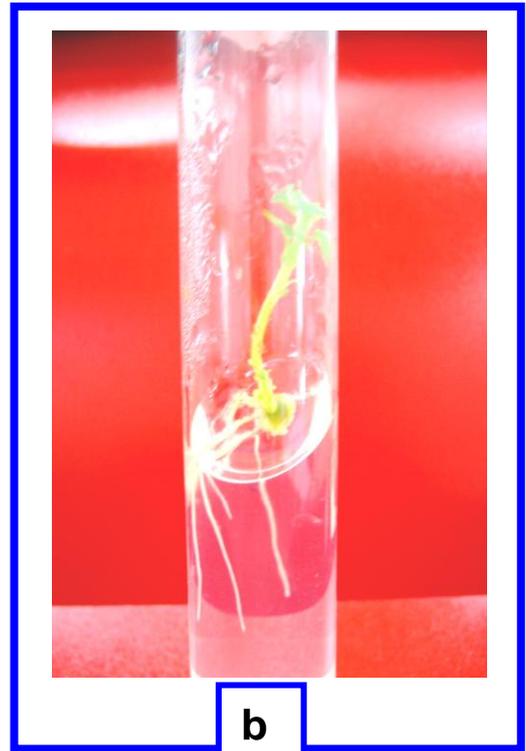
En effet, le nombre de feuilles enregistré après 7 jours, est en moyenne de 2.4 et 3.5 feuilles respectivement pour la variété Désirée et Mondial (planche 1<sub>a,b</sub>).

Après 15 jours, on remarque une augmentation importante de formation de feuilles de plus de 65% pour la variété Mondial et 91% pour la variété Désirée (planche 1<sub>c, d</sub>).

Après 21 jours, le nombre de feuilles augmente encore (planche 1<sub>e, f</sub>) et atteint après 40 jours 9.4 et 10.37 feuilles pour la variété Désirée et Mondial respectivement (planche 1<sub>g, h</sub>).



**a**



**b**



**c**



**d**

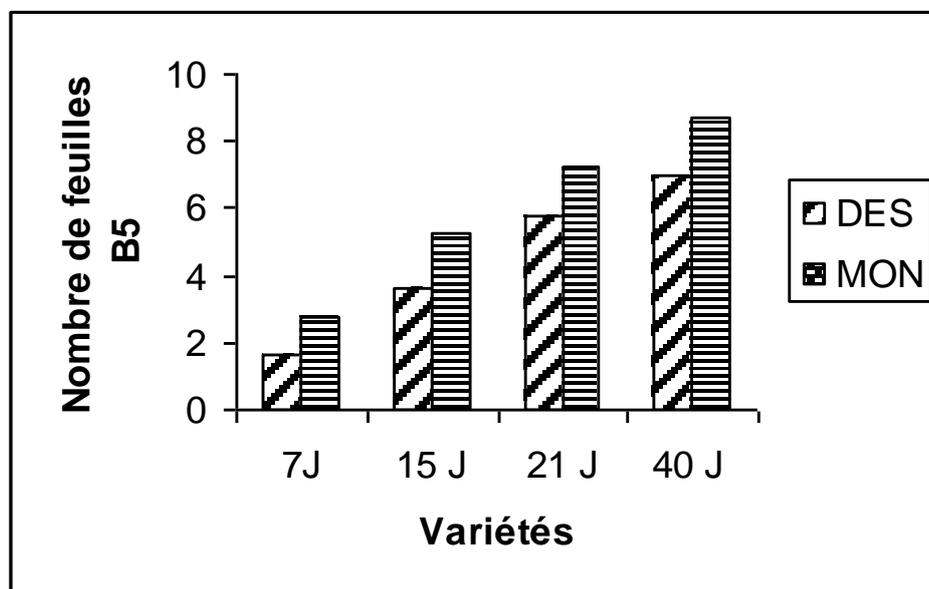
**Planche 1.1- :** la croissance de vitro plants de pomme de terre (Mondial et Désirée) durant toute la période d'essai dans le milieu MS  
« a MON 7 J , b DES 7J, c MON 15 J , d DES 15 J»

On remarque alors que la variété Mondial produit plus de feuilles que la variété Désirée. Ceci est confirmé par le test T student à deux échantillons; Il se dégage alors une différence significative dans la formation de feuilles chez les deux variétés (tableau XIII).

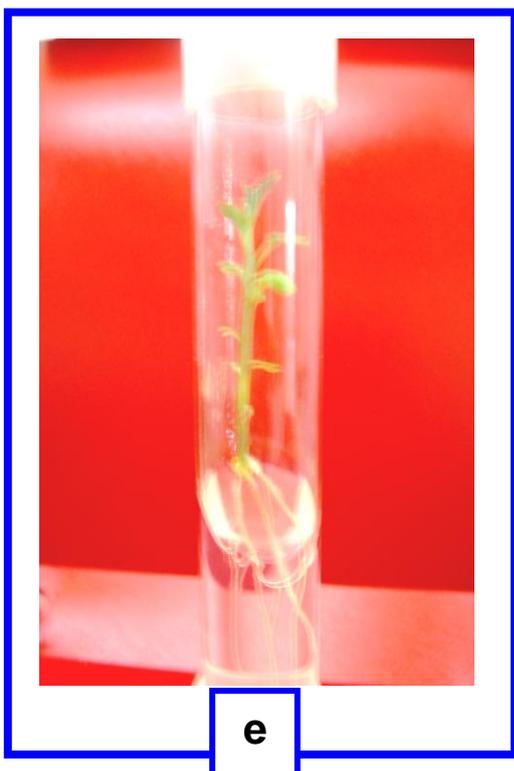
**Tableau XIII** : Effet du test T de Student à deux échantillons sur le nombre de feuilles des deux variétés dans le milieu MS.

Variables	Variétés	Moyennes	T obs	p
MS 7J	Mondial	03.50	2.49	0.055 **
	Désirée	02.40		
MS 15J	Mondial	05.87	1.91	0.115 *
	Désirée	04.60		
MS 21 J	Mondial	08.25	1.84	0.125 *
	Désirée	07.00		
MS 40J	Mondial	10.38	1.60	0.141 *
	Désirée	09.40		

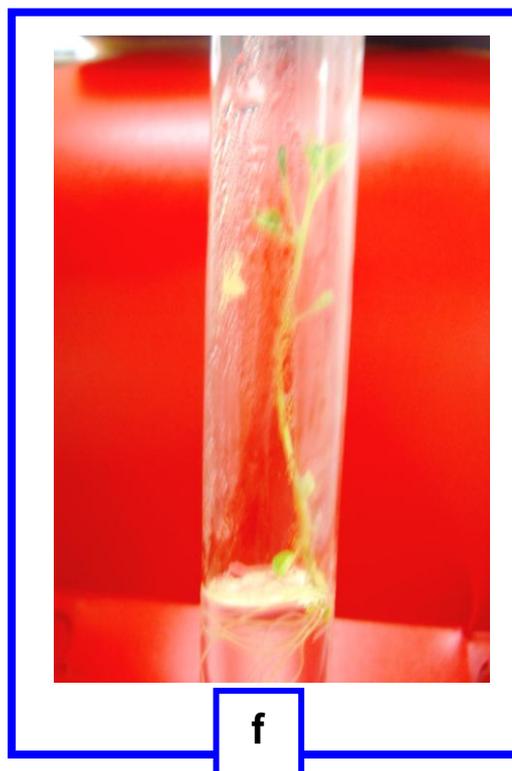
**1-1-2 : Effet du milieu B5 sur le nombre de feuilles des deux variétés :**



**Figure 6** : Effet du milieu B5 sur le nombre de feuilles des deux variétés.



e



f



g



h

**Planche 1.2 :** la croissance de vitro plants de pomme de terre (Mondial et Désirée) durant toute la période d'essai dans le milieu MS  
« e MON 21 J, f DES 21J, g MON 40 J, h DES 40J »

La réponse des deux variétés au milieu B5 obéit à la même réaction qu'en milieu MS, c'est-à-dire une augmentation du nombre de feuilles durant les quatre périodes d'essai (figure 7). Nous avons enregistré les moyennes suivantes :

Après 7 jours, le nombre de feuilles compté est de 1.60 et 2.75 feuilles respectivement pour la variété Désirée et Mondial (planche 2<sub>a, b</sub>).

Le nombre de feuilles enregistré après 15 jours, est de 3.6 et 5.25 feuilles pour la variété Désirée et Mondial respectivement (planche 2<sub>c, d</sub>).

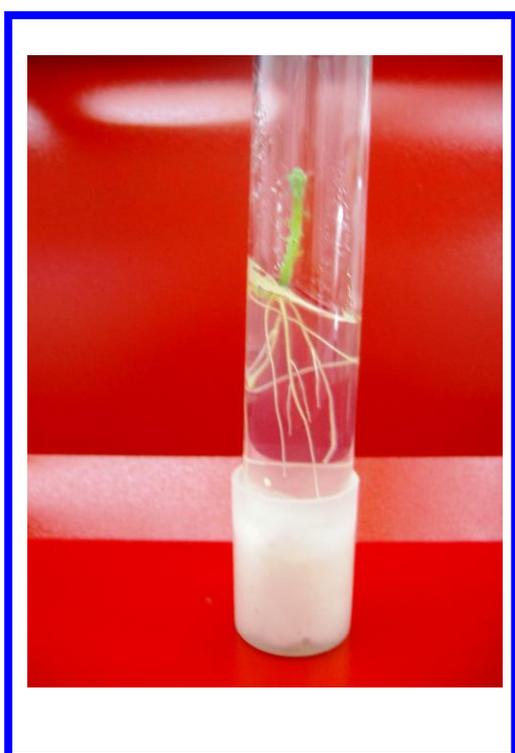
Après 21 jours, l'augmentation du nombre de feuilles atteint 5.85 et 7.25 feuilles pour la variété Désirée et Mondial (planche 2<sub>e, f</sub>).

Après 40 jours les moyennes touchent 7 et 8.57 feuilles respectivement pour la variété Désirée et Mondial (planche 2<sub>g, h</sub>).

La variété Mondial a accusé les meilleures valeurs (nombre de feuilles) par rapport à la variété Désirée. Le test T de Student montre que ces différences entre les deux variétés sont hautement significatives (tableau XIV).

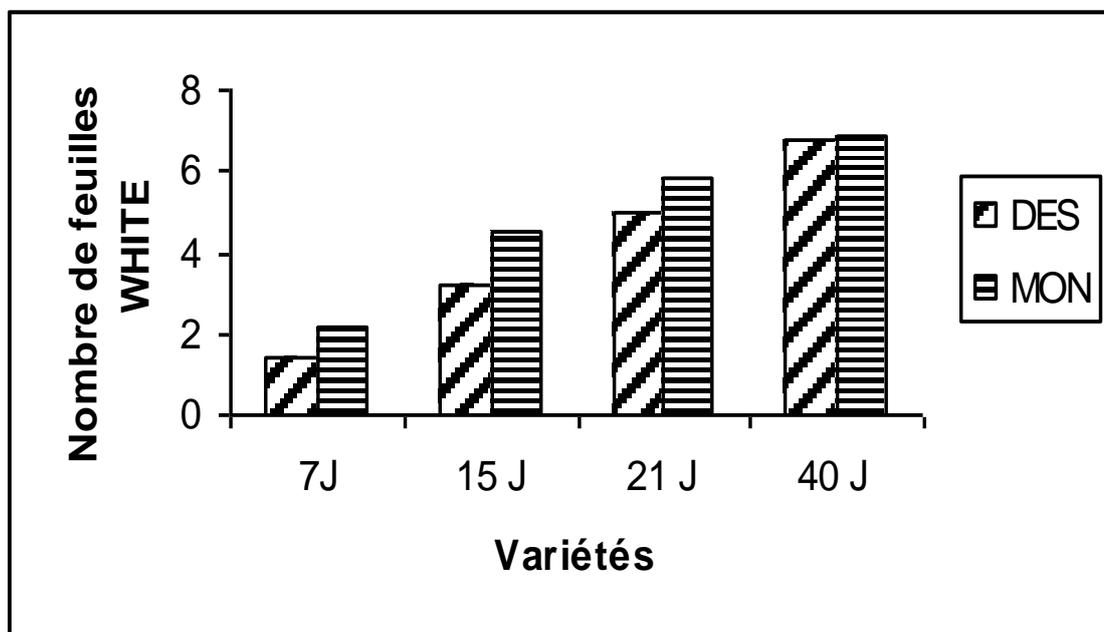
**Tableau XIV:** Effet du test T de Student à deux échantillons sur le nombre de feuilles des deux variétés dans le milieu B5.

<b>Variables</b>	<b>Variétés</b>	<b>Moyennes</b>	<b>T obs</b>	<b>p</b>
<b>B5 7J</b>	<b>Mondial</b>	02.75	2.89	0.016**
	<b>Désirée</b>	01.60		
<b>B5 15J</b>	<b>Mondial</b>	05.25	2.87	0.017**
	<b>Désirée</b>	03.60		
<b>B5 21J</b>	<b>Mondial</b>	07.25	2.61	0.026**
	<b>Désirée</b>	05.80		
<b>B5 40J</b>	<b>Mondial</b>	08.75	3.93	0.003**
	<b>Désirée</b>	07.00		



**Planche 2.1- :** la croissance de vitro plants de pomme de terre (Mondial et Désirée) durant toute la période d'essai dans le milieu B5  
« a MON 7 J , b DES 7J, c MON 15 J , d DES 15 J»

1-1-3 : Effet du milieu WHITE sur le nombre de feuilles des deux variétés :



**Figure 8** : Effet du milieu WHITE sur le nombre de feuilles des deux variétés.

Quand au milieu WHITE, il provoque l'augmentation, presque semblable qu'aux deux milieux précédents pour les trois périodes 7,15 et 21 jours.

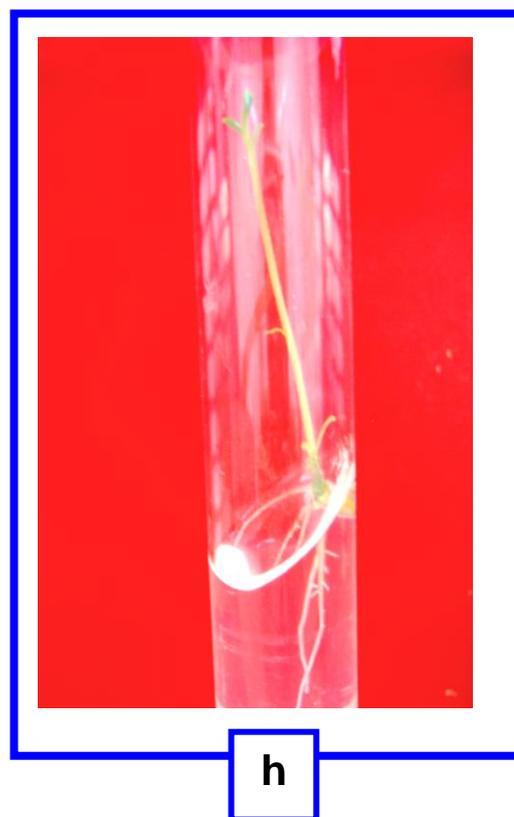
Cependant, les deux variétés se rejoignent, pendant la quatrième période (figure 8).

Le nombre de feuilles des deux variétés atteint après 7 jours 1.4 et 2.12 feuilles pour la variété Désirée et Mondial respectivement (planche 3<sub>a, b</sub>).

Après 15 jours le nombre de feuilles augmente et atteint 3.2 et 4.5 feuilles pour la variété Désirée et Mondial (planche 3<sub>c, d</sub>).

Après 21 jours, le nombre de feuilles augmente encore (planche 3<sub>e, f</sub>), et atteint après 40 jours 6.87 et 6.80 feuilles pour la variété Désirée et Mondial respectivement (planche 3<sub>e, g</sub>).

Le test T de Student à deux échantillons dégage alors une différence hautement significative dans la formation de feuilles chez les deux variétés exceptées après 40 jours où l'on n'observe pas de différence entre la formation de feuilles chez deux variétés (tableau XIV).

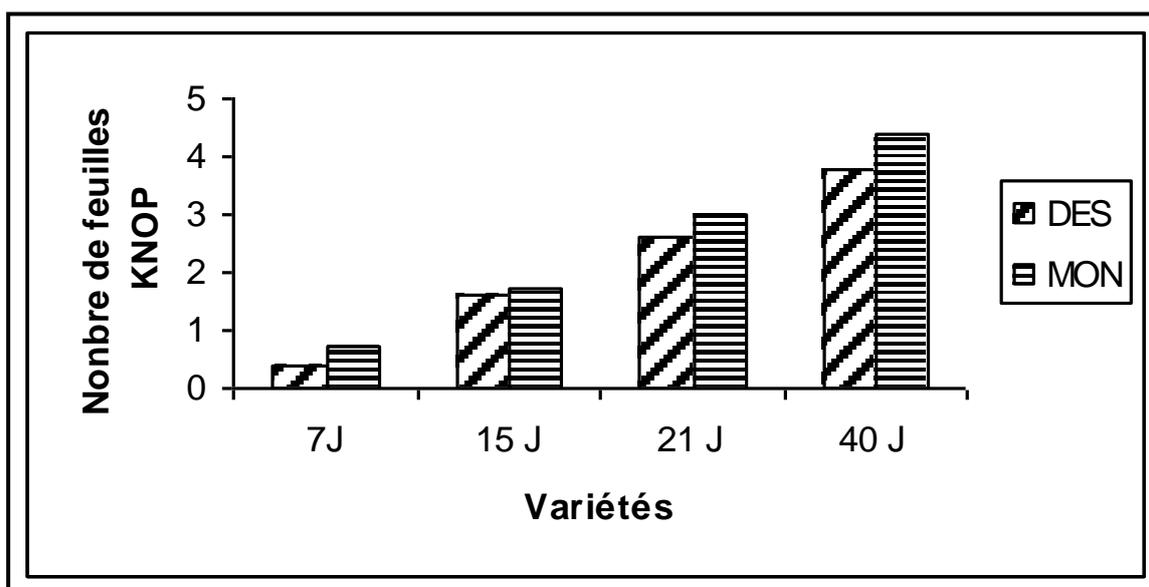


**Planche 2.2 :** la croissance de vitro plants de pomme de terre (Mondial et Désirée) durant toute la période d'essai dans le milieu B5  
« e MON 21 J, f DES 21J, g MON 40 J, h DES 40J »

**Tableau XV :** Effet de test T de Student à deux échantillons sur le nombre de feuilles des deux variétés dans le milieu WHITE.

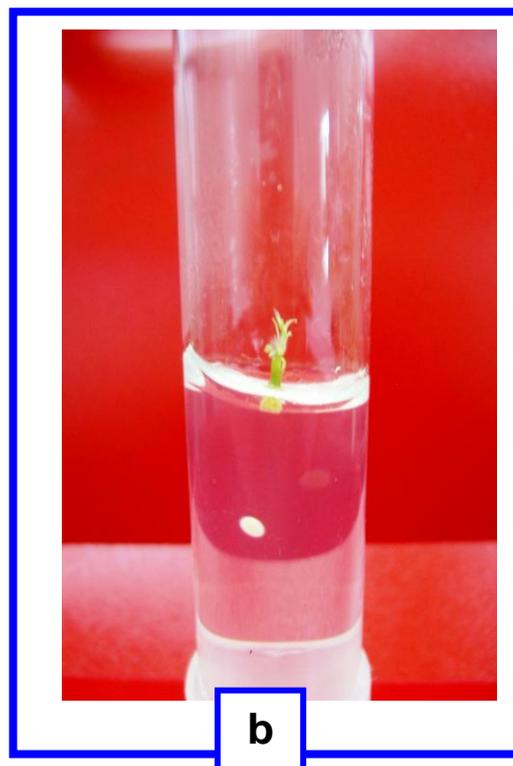
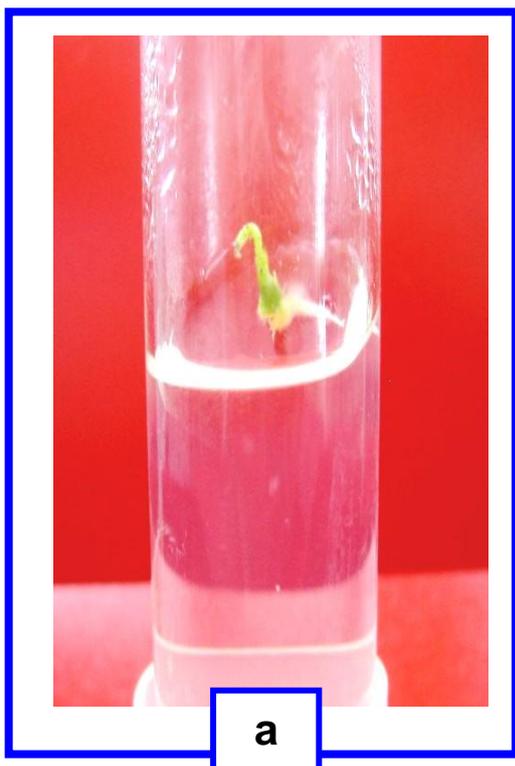
Variables	Variétés	Moyennes	T obs.	p
WHITE 7J	Mondial	2.12	2.64	0.039**
	Désirée	1.40		
WHITE 15J	Mondial	4.50	2.83	0.026**
	Désirée	3.20		
WHITE 21J	Mondial	5.87	2.69	0.052**
	Désirée	5.00		
WHITE 40J	Mondial	6.87	-0.29	0.779
	Désirée	6.80		

**1-1-4 : Effet du milieu KNOP sur le nombre de feuilles des deux variétés :**



**Figure 9:** Effet du milieu KNOP sur le nombre de feuilles des deux variétés.

Enfin, le milieu KNOP à l'exception de la deuxième phase entraîne un effet semblable aux autres milieux, c'est-à-dire une augmentation progressive du nombre de feuilles à la fin d'essai (figure 9).



**Planche 3.1- :** la croissance de vitro plants de pomme de terre (Mondial et Désirée) durant toute la période d'essai dans le milieu WHITE  
« a MON 7 J , b DES 7J, c MON 15 J , d DES 15 J »

Le nombre de feuilles le plus élevé est obtenu avec la variété Mondial avec un nombre de 0.75 feuilles après 7 jours, 1.75, 3.00 et 4.37 feuilles pendant les périodes 15, 21 et 40 jours respectivement. Avec la variété Désirée nous avons enregistré les valeurs suivantes : 0.40, 1.60, 2.6 et 3.8 feuilles pendant 7, 15, 21 et 40 jours respectivement (planche 4). La variété Mondiale a accusé les meilleures valeurs de nombre de feuilles par rapport au Désirée. Le test T de Student montre que ces différences de nombre de feuilles entre les deux variétés sont pas significatives à part dans 7 jours (tableau XVI).

**Tableau XVI** : Effet de test T de student à deux échantillons sur le nombre de feuilles des deux variétés dans le milieu KNOP.

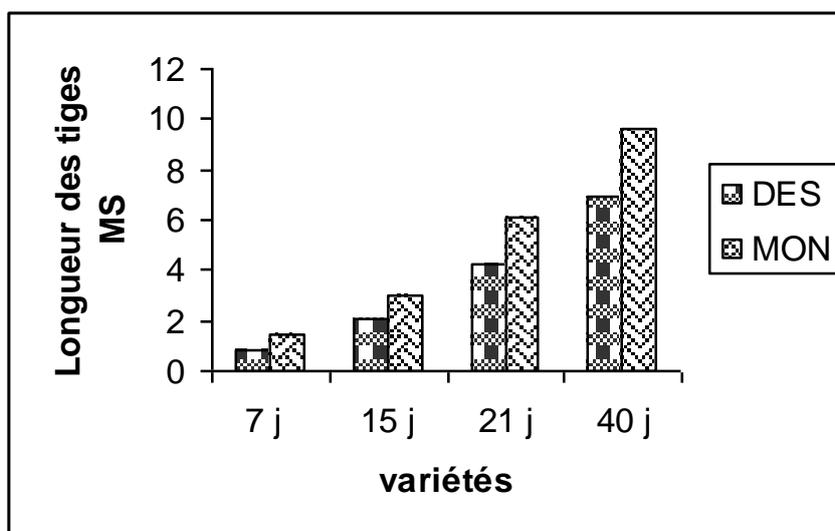
Variables	Variétés	Moyennes	T obs	p
KNOP 7J	Mondial	0.75	1	0.341*
	Désirée	0.40		
KNOP 15J	Mondial	1.75	0.51	0.626
	Désirée	1.60		
KNOP 21J	Mondial	3.00	0.77	0.665
	Désirée	2.60		
KNOP 40J	Mondial	4.375	1.38	0.670
	Désirée	3.80		

## 1.2 La longueur des tiges :

Une des réponses des microboutures de pomme de terre au milieu de culture est l'élongation des tiges. Cette dernière est variable selon la variété et le milieu.

Il faut remarquer que la longueur initiale ( $l_0$ ) des explants est composéé dans les mesures qui suivent.

### 1-2-1- Effet du milieu MS sur la longueur des tiges des deux variétés :



**Figure 10** : Effet du milieu MS sur la longueur des tiges des deux variétés.

Il se traduit par l'élongation des tiges des deux variétés durant la période d'essai (figure 10).

La longueur des tiges comptée après 7 jours est de 0.82 et 1.34 cm pour la variété Désirée et Mondial respectivement (Planche 1<sub>a,b</sub>).

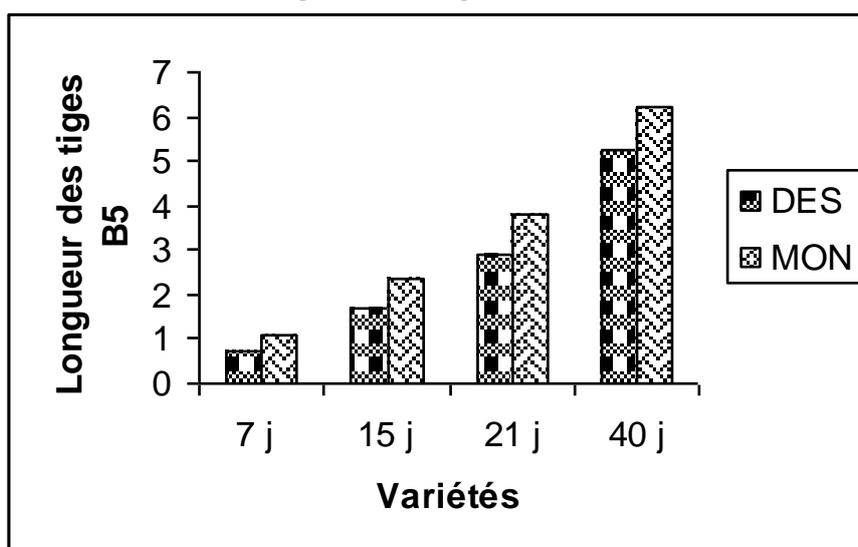
Après 15 jours la longueur des tiges atteint 2.06 et 3.02 cm dans l'ordre pour les deux variétés Désirée et Mondial (Planche 1<sub>c, d</sub>). Cette croissance est arrêtée après 40 jours à des longueurs de 6.96 et 9.57 cm pour les deux variétés Désirée et Mondial (Planche 1<sub>g,h</sub>).

La longueur des tiges la plus élevée est obtenue avec la variété Mondial. Le test T de Student montre que les différences d'élongation des tiges des deux variétés sont très hautement significatives (tableau XVII).

**Tableau XVII:** Effet de test T de Student à deux échantillons sur la longueur des tiges des deux variétés dans le milieu MS.

Variables	Variétés	Moyenne	T obs	p
MS 7J	Mondial	1.38	4.51	0.001***
	Désirée	0.82		
MS 15J	Mondial	3.02	4.34	0.005***
	Désirée	2.06		
MS 21 J	Mondial	6.12	4.44	0.001***
	Désirée	4.24		
MS 40J	Mondial	9.575	6.22	0.000***
	Désirée	6.960		

### 1-2-2-Effet du milieu B5 sur la longueur des tiges des deux variétés :



**Figure 11:** Effet du milieu B5 sur la longueur des tiges des deux variétés.



e



f



**Planche 3.2 :** la croissance de vitro plants de pomme de terre (Mondial et Désirée) durant toute la période d'essai dans le milieu WHITE  
« e MON 21 J, f DES 21J, g MON 40 J, h DES 40J »

La même observation est faite pour les deux variétés c'est-à-dire : élongation des tiges durant la période d'essai, avec des valeurs moins importantes qu'avec le milieu MS (figure 11).

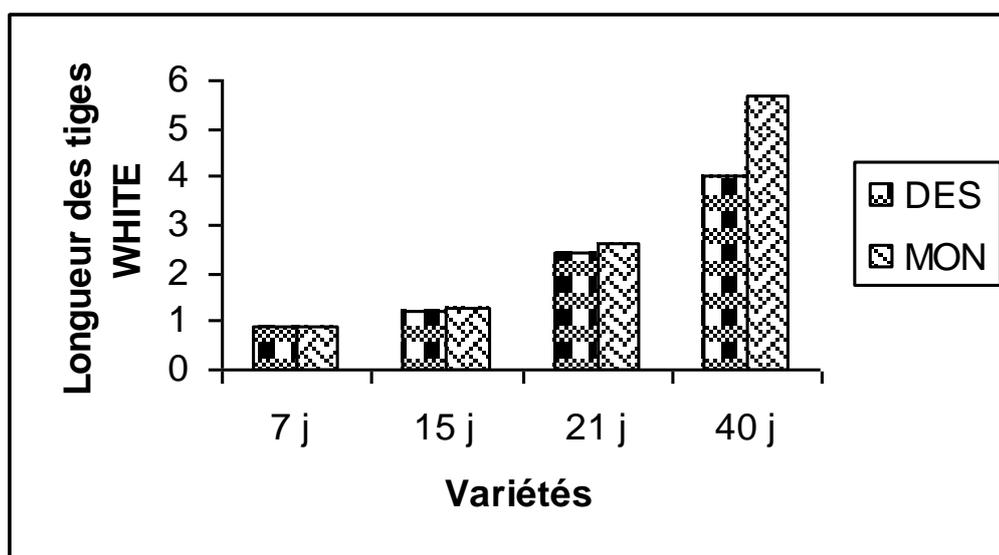
Les longueurs des tiges les plus élevées sont obtenues avec la variété Mondial et elles sont de 1.06 cm après 7 jours 2.36 cm après 15 jours, 3.82 cm après 21 jours et finalement de 6.23 cm après 40 jours. Chez la variété Désirée ces longueurs sont : 0.74, 1.68, 2.9 et 5.24 cm pour les périodes 7 – 15 – 21 – 40 Jours (planche 2).

L'analyse statistique par le test T de Student à deux échantillons a révélé qu'il y a des différences hautement significatives entre les deux variétés dans l'élongation des tiges (tableau XVIII).

**Tableau XVIII** : Effet de test T de Student à deux échantillons sur la longueur des tiges des deux variétés dans le milieu B5.

Variables	Variétés	Moyenne	T obs	p
B5 7J	Mondial	1.06	2.16	0.056**
	Désirée	0.74		
B515J	Mondial	2.36	2.26	0.065**
	Désirée	1.68		
B521J	Mondial	3.82	4.34	0.051**
	Désirée	2.90		
B5 40J	Mondial	6.23	2.57	0.028**
	Désirée	5.24		

### 1-2-3 - Effet du milieu WHITE sur la longueur des tiges des deux variétés :



**Figure 12** : Effet de milieu WHITE sur la longueur des tiges des deux variétés.



a



b



c



d

**Planche 4.1- :** la croissance de vitro plants de pomme de terre (Mondial et Désirée) durant toute la période d'essai dans le milieu KNOP a MON 7 J , b DES 7J, c MON 15 J , d DES 15

La figure (12) montre que pour le milieu WHITE les deux variétés répondent de la même manière au 7 jours. Cette réponse est légèrement en faveur de la variété Mondial avec les valeurs suivantes 1.30 et 1.22 cm respectivement.

Au 21 jours la différence d'élongation des tiges se creuse toujours en faveur de la variété Mondial.

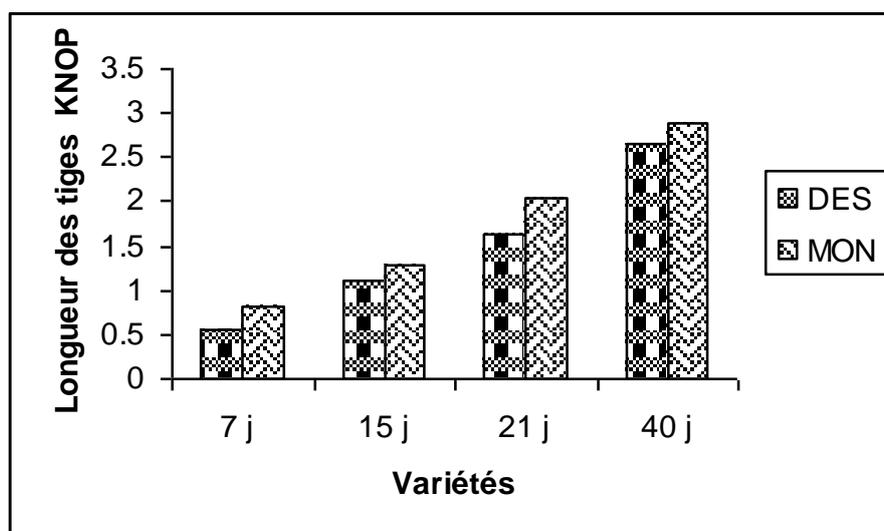
Les différences les plus grandes entre les deux variétés sont enregistrées après 40 jours dans ce milieu par rapport aux autres milieux, malgré que les longueurs atteintes sont moins importantes que dans les deux milieux (MS et B5) (planche 3).

On remarque alors que la taille de la variété Mondiale est plus développée que celle de la variété Désirée. Ceci est confirmé par le test T de Student à deux échantillons, il se dégage alors une différence hautement significative dans la longueur de tige des vitro plants chez les deux variétés à 40 jours (tableau XIX).

**Tableau XIX** : Effet de test T de Student à deux échantillons sur la longueur des tiges des deux variétés dans le milieu WHITE.

Variables	Variétés	Moyenne	T obs	p
WHITE 7J	Mondial	0.87	-0.07	0.946
	Désirée	0.88		
WHITE 15J	Mondial	1.30	0.59	0.571
	Désirée	1.22		
WHITE 21J	Mondial	2.60	0.87	0.514
	Désirée	1.44		
WHITE 40J	Mondial	5.70	4.98	0.002***
	Désirée	4.020		

#### 1-2-4 -Effet de milieu KNOP sur la longueur des tiges des deux variétés



**Figure 13:** Effet du milieu KNOP sur la longueur des tiges des deux variétés.



e



f



g



h

**Planche 4.2- :** la croissance de vitro plantes de pomme de terre (Mondial et Désirée) durant toute la période d'essai dans le milieu KNOP e MON 21 J, f DES 21J, g MON 40 J, h DES 40

Le milieu KNOP est le moins favorable au développement des explants. Il a donné des valeurs trois et deux fois moins importantes que les milieux (MS et B5) (figure 13).

La longueur des tiges notée après 7 jours est de 0.54 et 0.81 cm pour les deux variétés Désirée et Mondial (planche 4 a,b).

Après 15 jours nous avons enregistré une augmentation d'élongation relativement très importante et la taille des tiges atteinte est de 1.10 et 1.27 cm respectivement pour la variété Désirée et Mondial (planche 4 c,d).

Après 21 jours, la taille des vitro plantes comptée est de 1.62 et 2.07 cm pour la variété Désirée et Mondial dans l'ordre (planche 4 e,f).

Finalement la longueur des tiges des deux variétés atteintes 2.66 cm pour la variété Désirée et 2.9 cm pour la variété Mondial (planche 4 g,h). La variété Mondial est plus productive que la variété Désirée, la différence entre les deux variétés est expliquée par le test T de Student à deux échantillons, le test T a signalé des différences significatives et hautement significatives entre la variété Mondial et Désirée (tableau XX).

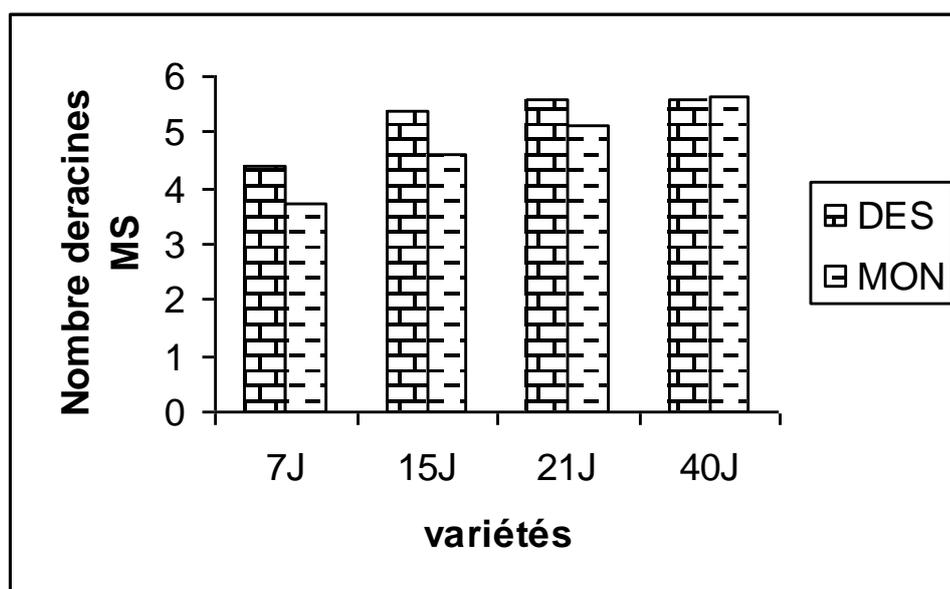
**Tableau XX** : Effet de test T de Student à deux échantillons sur la longueur des tiges de deux variétés dans le milieu KNOP.

<b>Variables</b>	<b>Variétés</b>	<b>Moyenne</b>	<b>T obs</b>	<b>p</b>
<b>KNOP 7J</b>	<b>Mondial</b>	0.813	1.12	0.289*
	<b>Désirée</b>	0.54		
<b>KNOP 15J</b>	<b>Mondial</b>	1.27	1.12	0.289*
	<b>Désirée</b>	1.10		
<b>KNOP 21J</b>	<b>Mondial</b>	2.07	3.44	0.018**
	<b>Désirée</b>	1.62		
<b>KNOP 40J</b>	<b>Mondial</b>	2.90	1.53	0.165*
	<b>Désirée</b>	2.66		

### 1.3 Nombre de racines :

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

### 1-3-1-L'effet du milieu MS sur le nombre de racines des deux variétés :



**Figure 14 :** Effet du milieu MS sur le nombre de racines des deux variétés.

L'analyse de l'histogramme (figure 14) montre que la variété Désirée produit plus des racines que la variété Mondial, jusqu'à 21 jours, après 40 jours, les deux variétés se rattrapent et on a enregistré les valeurs suivantes :

Après 7 jours le nombre de racines est de 3.75 et 4.40 racines pour les deux variétés Mondial et Désirée et respectivement.

Après 15 jours nous avons enregistré une augmentation et le nombre atteint 4.62 et 5.40 racines respectivement pour la variété Mondial et Désirée.

Après 21 jours, le nombre de racines des vitro plants compté est 5.12 et 5.60 racines pour la variété Mondial et Désirée dans l'ordre.

Après 40 jours nous n'avons pas remarqué de changement dans le nombre de racines de la variété Désirée; La variété Mondial forme 6.62 racines (planche 1).

La différence entre les deux variétés est expliquée par le test T de Student à deux échantillons (tableau XXI), il a signalée des différences significatives entre les deux variétés, après 40 jours on n'observe pas des différences entre les deux variétés.

e



**Planche 05 : La chambre de culture**

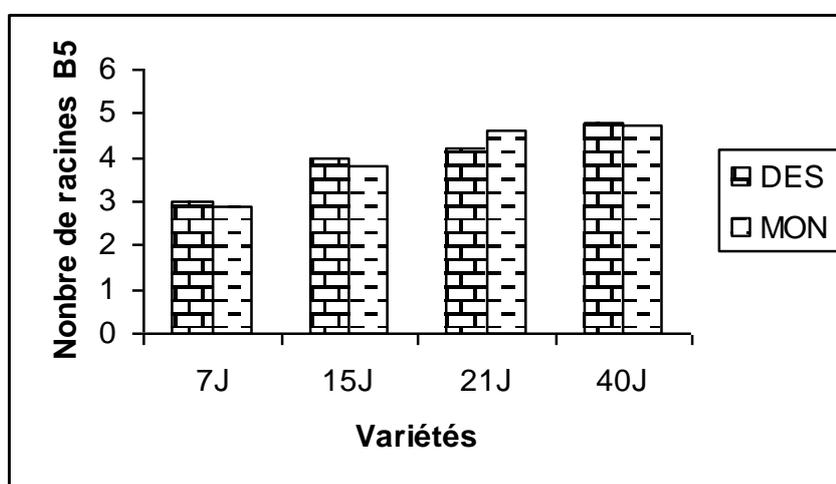


**Planche 06 : la multiplication des vitro plants**

**Tableau XXI** : Effet de test T de Student à deux échantillons sur le nombre de racines des deux variétés dans le milieu MS.

Variables	Variétés	Moyenne	T obs	p
MS 7J	Mondial	3.75	-1.48	0.171*
	Désirée	4.40		
MS 15J	Mondial	4.62	-1.35	0.225*
	Désirée	5.40		
MS 21 J	Mondial	5.12	-0.96	0.367*
	Désirée	5.60		
MS 40J	Mondial	5.62	0.05	0.962
	Désirée	5.60		

### 1.3.2 Effet du milieu B5 sur le nombre de racines des deux variétés :



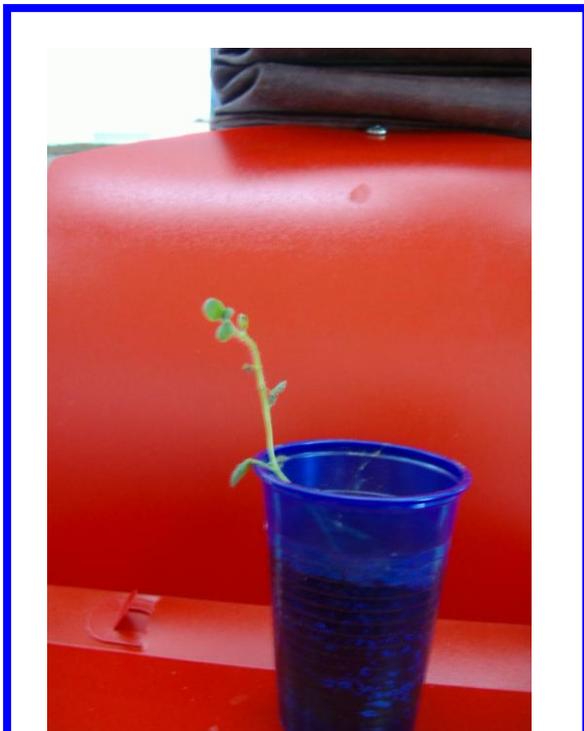
**Figure 15** : Effet du milieu B5 sur le nombre de racines des deux variétés.

Les résultats illustrés dans la figure 15 montrent que la variété Désirée forme plus des racines que la variété Mondial pendant les deux périodes 7 et 15 jours, ainsi que le nombre de racines formées est de 3.00 et 4.00 racines chez la variété Désirée et 2.88 et 3.88 racines chez la variété Mondial.

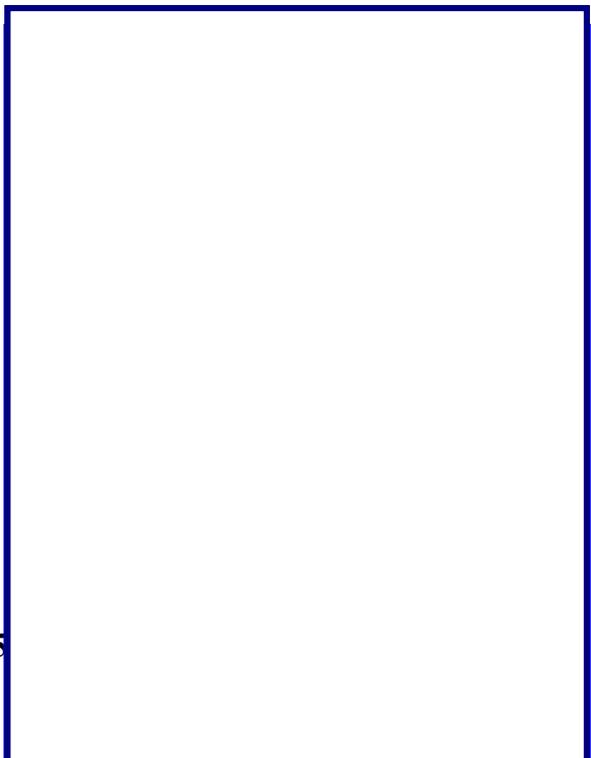
Après 21 jours on remarque une augmentation importante du nombre de racines chez les deux variétés. Les valeurs enregistrées sont respectivement de 4.63 et 4.2 racines chez la variété Mondial et Désirée. Les deux variétés se rejoignent après 40 jours avec les valeurs suivantes : 4.75 et 4.8 racines.

Le test T de Student montre que ces différences de nombre de racines entre les deux variétés ne sont pas significatives excepté à 21 jours (tableau XXII).

MS



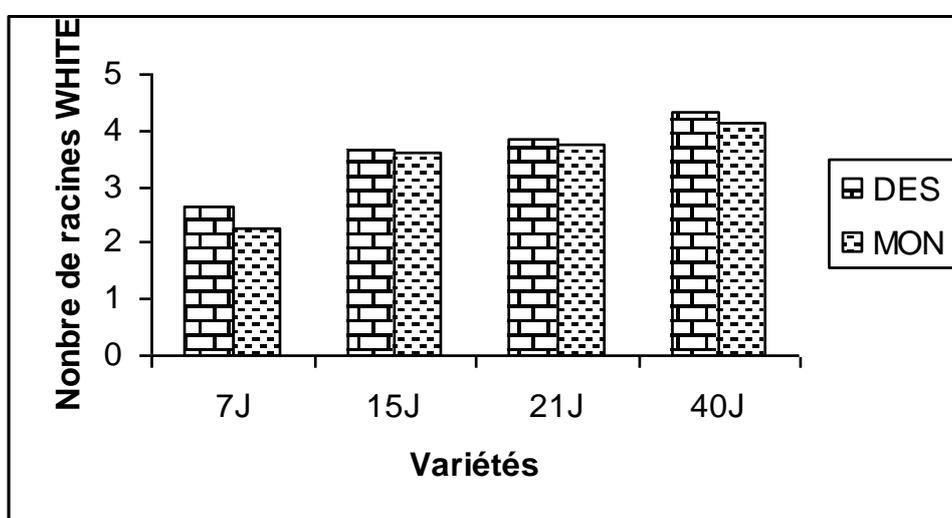
B5



**Tableau XXII:** Effet de test T de Student à deux échantillons sur le nombre de racines des deux variétés dans le milieu B5.

Variabes	Variétés	Moyenne	T obs	p
B5 7J	Mondial	2.88	-0.25	0.811
	Désirée	3.00		
B515J	Mondial	3.88	-0.22	0.832
	Désirée	4.00		
B5 21J	Mondial	4.63	0.79	0.449*
	Désirée	4.20		
B5 40J	Mondial	4.75	-0.11	0.915
	Désirée	4.80		

### 1.3.3 Effet du milieu WHITE sur le nombre de racines des deux variétés :



**Figure 16 :** Effet du milieu WHITE sur le nombre de racines des deux variétés.

Avec le milieu WHITE le comportement des deux variétés est le suivant : (figure 16) : Après 7 jours, le nombre de racines compté est de 2.25 et 2.40 racines pour la variété Mondial et Désirée.

Après 15 jours, les deux variétés se rejoignent avec un nombre de 3.40 et 3.63 racines pour la variété Mondial et Désirée.

A 21 jours, les résultats obtenus sont voisins chez les deux variétés. Le nombre de racines noté après 40 jours est de 4.13 et 4.67 racines pour la variété Mondial et Désirée (planche 3).

On remarque alors que la variété Désirée produit plus de racines que la variété Mondial dans ce milieu bien que le test T de Student ne donne pas de différences (Tableau XXIII).



MS



B5



WHITE



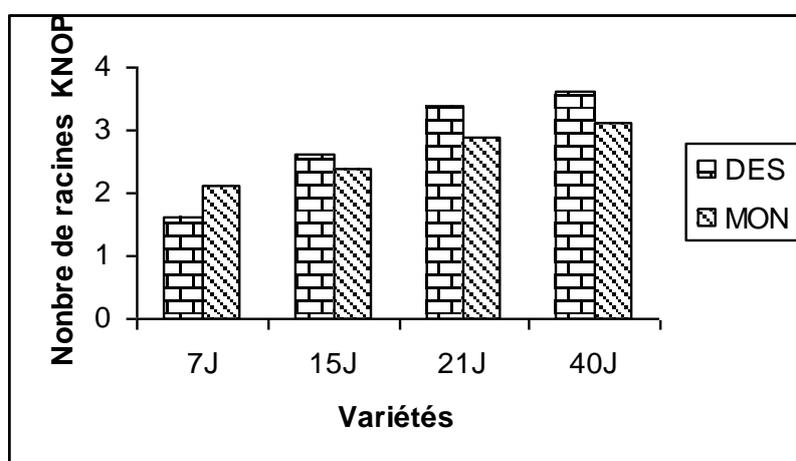
KNOP

Planche 08 : L'acclimatation de la variété Mondial

**Tableau XXIII :** Effet test T de Student à deux échantillons sur le nombre de racines des deux variétés dans le milieu WHITE.

Variabes	Variétés	Moyenne	T obs	p
WHITE 7J	Mondial	2.25	-0.34	0.740
	Désirée	2.40		
WHITE 15J	Mondial	3.63	0.36	0.731
	Désirée	3.40		
WHITE 21J	Mondial	3.75	-0.11	0.914
	Désirée	3.83		
WHITE 40J	Mondial	4.13	-0.83	0.431
	Désirée	4.67		

### 1.3.4 Effet du milieu KNOP sur le nombre de racines des deux variétés :



**Figure 17 :** Effet du milieu KNOP sur le nombre de racines des deux variétés.

Les résultats illustrés dans la figure (17) montrent que le nombre de racines augmente durant les 40 jours et que la variété Désirée est plus productive que la variété Mondiale exceptée à 7 jours.

En effet, après 7 jours les vitro plants sur le milieu KNOP produisent 1.60 et 2.12 racines pour la variété Désirée et Mondial.

Après le nombre augmente et atteint 2.37 et 2.6 racines pour la variété Mondial et Désirée. Le nombre de racines atteint après 40 jours 3.12 et 3.6 racines respectivement pour les deux variétés Mondial et Désirée (planche 4).

Le test T de Student a révélé qu'il y a des différences significatives entre le nombre de racines dans le milieu KNOP (tableau XXIV).

**Tableau XXIV :** Effet de test T de student à deux échantillons sur le nombre de racines des deux variétés dans le milieu KNOP.

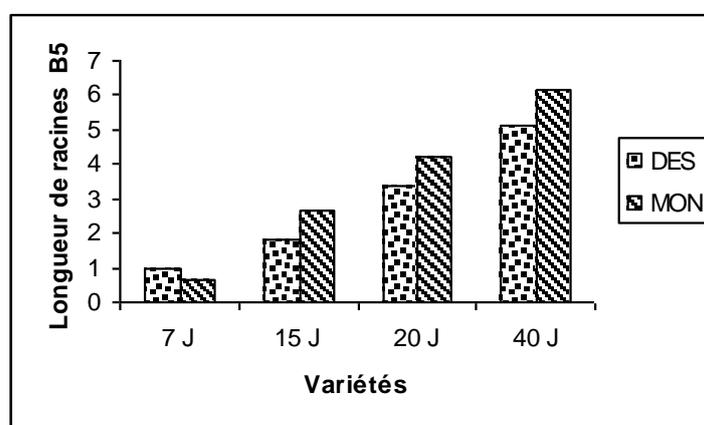
Variabes	Variétés	Moyenne	T obs	p
KNOP 7J	Mondial	2.12	1.37	0.201*
	Désirée	1.60		
KNOP 15J	Mondial	2.375	-0.55	0.492*
	Désirée	2.60		
KNOP 21J	Mondial	2.75	-1.86	0.193*
	Désirée	3.40		
KNOP 40J	Mondial	3.12	-1.42	0.188*
	Désirée	3.60		

#### 1.4 Longueur des racines :

La longueur des racines des deux variétés varie selon la variété d'une part et le milieu de culture d'autre part.

Cette variation explique l'effet de milieu et du génotype sur la longueur des racines qui assurent la bonne alimentation des vitro plants.

##### 1.4.1 Effet du milieu MS sur la longueur des racines des deux variétés :



**Figure 18 :** Effet du milieu MS sur la longueur des racines des deux variétés.

L'examen des résultats exprimés à la figure 18 montre que la longueur des racines se développe durant les 40 jours et que les meilleures longueurs de racines sont obtenues :

Dans 7 jours avec la variété Désirée à une moyenne de 1.16 cm, mais après 15 jours nous avons remarqué un vrai développement de la longueur des racines de la variété Mondial et ce dernier atteint 3.11 et 2.1 cm pour la variété Désirée.

Après 21 jours la variété Mondial enregistre la plus grande croissance avec 6.18 et 4.16 cm pour la variété Mondial et Désirée dans l'ordre.

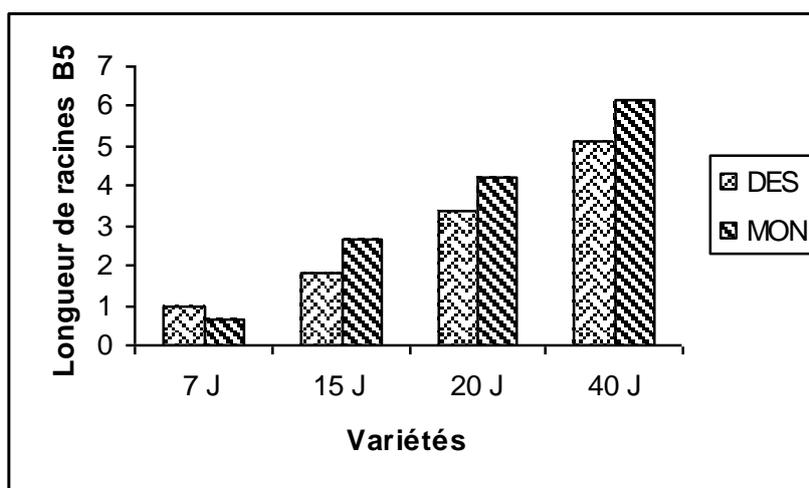
Après 40 jours les longueurs des racines sont arrivées à 7.08 et 6.00 cm pour la variété Mondial et Désirée.

L'analyse de la différence entre les deux variétés par le test T de Student indique un effet très hautement significatif du milieu sur la longueur des racines des deux variétés durant toutes les période d'étude. (Tableau XXV).

**Tableau XXV** : Effet de test T de Student à deux échantillons sur la longueur des racines des deux variétés dans le milieu MS.

Variables	Variétés	Moyenne	T obs	p
MS 7J	Mondial	0.875	-1.91	0.005***
	Désirée	1.16		
MS 15J	Mondial	3.11	4.86	0.002***
	Désirée	2.10		
MS 21 J	Mondial	6.18	9.56	0.000***
	Désirée	4.16		
MS 40J	Mondial	7.08	3.34	0.029***
	Désirée	6.00		

#### 1.4.2 Effet du milieu B5 sur la longueur des racines des deux variétés .:



**Figure 19** : Effet du milieu B5 sur la longueur des racines des deux variétés.

Le même phénomène est observé en milieu B5 qu'en milieu MS c'est-à-dire qu'au démarrage la variété Désirée développe une longueur légèrement importante que Mondial; Par suite c'est la variété Mondial qui enregistre les longueurs les plus grandes (figure 19).

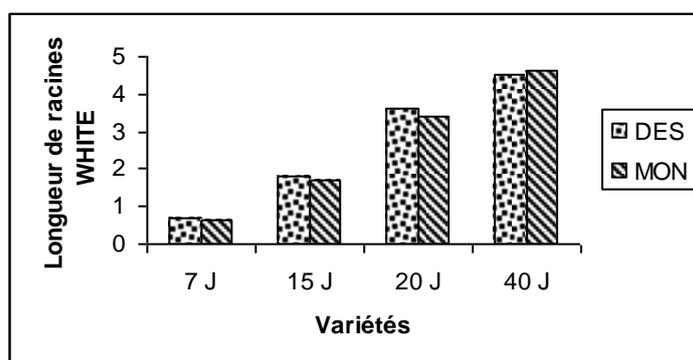
On peut dire qu'il y a un meilleur repris de la variété Désirée par apport à la variété Mondial.

Le test T de Student à deux échantillons, montre des différences hautement significatives entre les deux variétés cultivées dans le milieu B5 (Tableau XXVI)

**Tableau XXVI :** Effet de test T student à deux échantillons sur la longueur des racines des deux variétés dans le ce milieu.

Variables	Variétés	Moyenne	T obs	p
<b>B57J</b>	<b>Mondial</b>	0.67	-2.94	0.022**
	<b>Désirée</b>	0.96		
<b>B5 15J</b>	<b>Mondial</b>	2.68	3.18	0.019**
	<b>Désirée</b>	1.80		
<b>B521J</b>	<b>Mondial</b>	4.20	1.40	0.025**
	<b>Désirée</b>	3.38		
<b>B540J</b>	<b>Mondial</b>	6.13	3.29	0.009***
	<b>Désirée</b>	5.10		

### 1.4.3 Effet du milieu WHITE sur la longueur des racines des deux variétés :



**Figure20 :** Effet du milieu WHITE sur la longueur des racines des deux variétés.

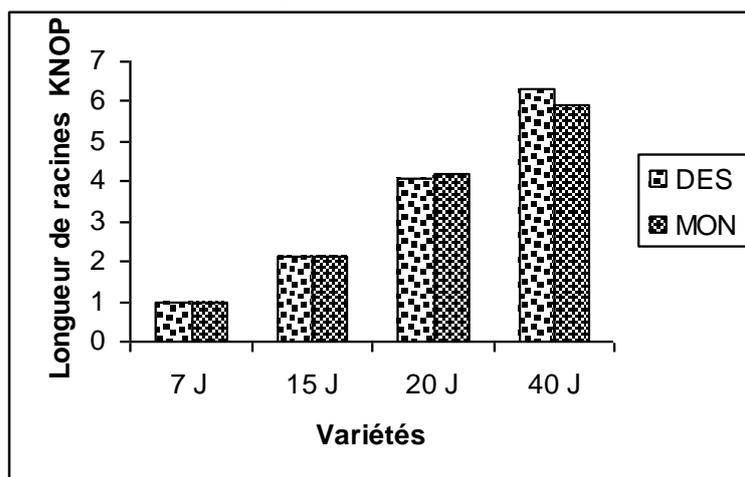
La culture des explants dans le milieu WHITE se traduit par une élongation des racines, cette élongation presque la même chez les deux variétés sauf après 21 jours ou la variété Désirée dépasse légèrement l'autre variété et les valeurs enregistrées sont indiquées dans les tableau (XXVII).

Le développement des racines de la variété Désirée est plus important que celui de la variété Mondial, mais le test T de Student a signalé que ces différences ne sont pas significatives (tableau XXVII).

**Tableau XXVI :** Effet de test T de Student à deux échantillons sur la longueur des racines des deux variétés dans le milieu WHITE.

Variables	Variétés	Moyenne	T obs	p
<b>WHITE 7J</b>	<b>Mondial</b>	0.638	-0.44	0.671
	<b>Désirée</b>	0.68		
<b>WHITE 15J</b>	<b>Mondial</b>	1.713	-0.34	0.745
	<b>Désirée</b>	1.800		
<b>WHITE 21J</b>	<b>Mondial</b>	3.387	-0.97	0.561
	<b>Désirée</b>	3.600		
<b>WHITE 40J</b>	<b>Mondial</b>	4.625	0.29	0.777
	<b>Désirée</b>	4.54		

#### 1.4.4 Effet de milieu KNOP sur la longueur des racines des deux variétés :



**Figure 21** : Effet de milieu KNOP sur la longueur des racines des deux variétés.

La figure (21) montre que la longueur des racines ne diffère pas d'une variété à l'autre à part après 40 jours où on remarque une légère différence en faveur de la variété Désirée et les valeurs enregistrées sont au tableau (XXVIII) .

L'analyse de différence entre les deux variétés par le test T de student indique un effet non significatif des variétés sur la longueur des racines dans le milieu KNOP durant toute la période d'étude. (Tableau XXVIII).

**Tableau XXVIII** : Effet de test T de Student à deux échantillons sur la longueur des racines des deux variétés dans le milieu KNOP.

Variables	Variétés	Moyenne	T obs	p
KNOP 7J	Mondial	0.96	0.06	0.956
	Désirée	0.95		
KNOP 15J	Mondial	2.10	-0.06	0.951
	Désirée	2.13		
KNOP 21J	Mondial	4.20	0.12	0.903
	Désirée	4.08		
KNOP 40J	Mondial	5.93	-0.36	0.726
	Désirée			

## 2 - La contamination de la pomme de terre :

Il faut remarquer qu'un certain nombre d'explants sont contaminés juste après leur culture. On observe des colonies de différentes couleurs s'installer autour des explants à la surface des milieux de culture dans les tubes, les colonies de couleur blanche dominent, suivies par celles de couleur rose, ensuite les colonies de couleur bleu-vert ressemblants au Penicillium.

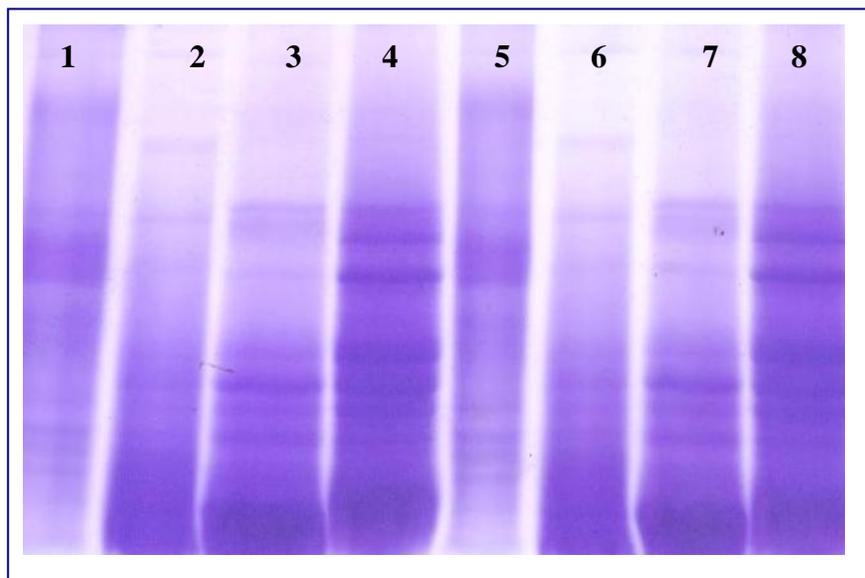
Nous avons pu déterminer un pourcentage de 15 % pour la variété Mondial et 20% pour la variété Désirée.

### 3 - Acclimatation :

La méthode d'acclimatation appliquée dans notre étude n'a pas donné de résultats satisfaisants. En effet, les vitro plants meurent après une semaine à dix jours après leur transplantation; On remarque un affaiblissement de la tige particulièrement au niveau du sol, puis le vitro plant verse et flétrit progressivement avant de mourir (planches 7,8).

Les plants développés dans le milieu MS semble résister mieux que celles développées dans les autres milieux et on particulier le milieu KNOP.

### 4. L'électrophorèse des protéines totales :



**Figure 22 :** Electrophoregramme des protéines totales des deux variétés de pomme de terre.

1 D In vivo 2 : M In vivo 3 : D In vitro 4 : M In vitro

**Tableau XXIX:** diagramme type des variétés de pomme de terre in vitro et in vivo.

N° bandes	Mobilité / cm	D In vivo	M In vivo	D In vitro	M In vitro
01	0.5	1	1	1	1
02	1	1	1	1	1
03	1.2	1	0	1	0
04	1.4	1	1	1	1
05	1.8	1	1	1	1
06	2.6	1	1	0	0
07	2.8	1	1	1	1
08	3	1	0	0	0
09	3.1	1	0	1	0
10	4.2	1	1	1	1
11	4.5	1	1	1	1
12	4.8	1	0	0	0
13	5.1	1	1	0	0
14	5.5	1	1	1	1
15	5.6	1	0	0	0
16	5.8	1	0	1	0
17	6	1	1	1	1
18	6.1	1	1	1	1

❖ **Calcul de l'indice de similarité IRS des groupes obtenus :**

Afin d'évaluer la différence ou analogie entre les profils électrophorétiques des deux variétés de différents origines et issus des deux méthodes de multiplication , IRS a été calculé pour deux variétés cultivées pour les deux méthodes in vitro et in vivo.

L'indice de similarité a été calculé selon la méthode de Didio *et al* .,(1969) , en rapportant l'indice de similarité absolu (IAS) au nombre total N des bandes.

L'IAS présente l'ensemble des bandes qui ne sont pas significativement différentes d'une autre lorsqu'elles sont de même mobilité.

$$\text{IRS} = \text{IAS} / N \times 100$$

Les valeurs de l'IRS sont rassemblées dans le tableau XXX.

**Tableau XXX :** Indices de ressemblance entre les diagrammes électrophorétiques des protéines totales des deux variétés de pomme de terre (exprimés en %).

<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	
<b>100</b>	<b>66</b>	<b>72</b>	<b>50</b>	<b>1</b>
	<b>100</b>	<b>72</b>	<b>83</b>	<b>2</b>
		<b>100</b>	<b>77</b>	<b>3</b>
			<b>100</b>	<b>4</b>



**MS**



**B5**



**WHITE**

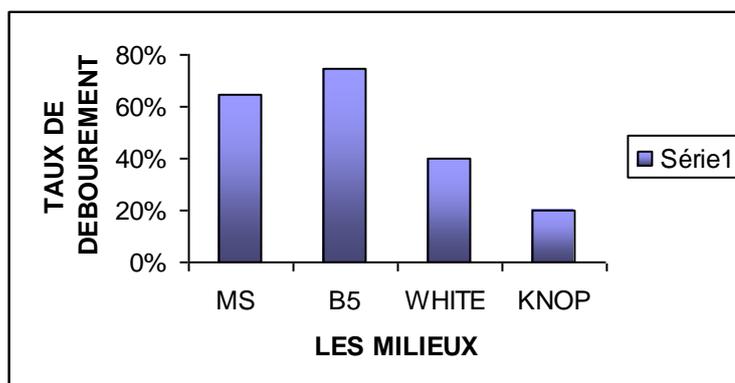


**KNOP**

**Planche 09 : Le débourement de la variété Sigoise dans les quatre milieux**

## 5 - La régénération des vitro plants d'olivier :

### 5 – 1 - Phase de caulogénèse :



**Figure 23 :** Effet des différents milieux de prolifération sur le taux de débourrement des explants d'olivier.

Les résultats obtenus (figure 23) montrent des réactions différentes du comportement des explants suivant les milieux de proliférations.

En effet, pour l'entrée en activité des bourgeons axillaires les milieux MS et B5 se sont montrés globalement les plus réactifs par rapport aux deux autres milieux WHITE et KNOP qui car le débourrement des bourgeons dans les milieux MS et B5 a été observé pendant la troisième semaine avec un pourcentage de 65 - 75% et après 5 semaines pour les milieux KNOP et WHITE avec un pourcentage de 20- 40% respectivement (Planche9).

Après six semaines les bourgeons se développent en jeunes pousses feuillées sur les milieux B5 et MS additionnées de kinétine (2 mg/l) (planche 10).

### 5-2-Phase de rhizogénèse :

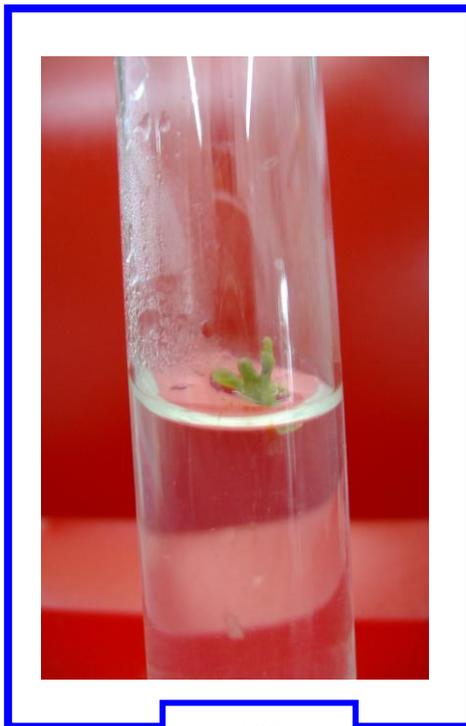
On n'a pas obtenu des résultats dans cette phase à cause de la difficulté d'enracinement de microboutures d'olivier.

## 6- La contamination d'explant d'olivier :

Malgré la désinfection du matériel végétal avec l'Ethanol, HgCl<sub>2</sub> et l'eau stérile le taux de contamination était très élevé de 32%.



**B5**



**MS**

Planche 10 : La formation de deux feuilles de la variété Sigoise dans les milieux B5 et MS

Le suivi de la croissance de vitro plants de pomme de terre, des deux variétés Désirée et Mondial sur les quatre milieux de prolifération MS, WHITE, B5 et KNOP a révélé des différences relativement importantes entre les longueurs des tiges ( $P \leq 0.001$ ) de ces variétés dans ces milieux de culture (annexe 1 cd).

La reprise dans le milieu MS est très réussie, la majorité des explants ont marqué une reprise importante dans toutes les périodes et surtout entre 15 à 21 jours, avec une croissance de 0.36 à 0.51 cm/jour pour la variété Désirée et Mondial (tableau XXXI), les meilleurs valeurs de longueur des tiges sont obtenues après 40 jours et elles sont de 6.96 et 9.75 cm respectivement pour les deux variétés. Ces valeurs rejoignent les résultats de Nowbuth *et al.* (2005) qui ont trouvé que la taille des vitro plants atteint  $8.9 \pm 5$ cm après 40 jours de culture.

Les mêmes remarques sont observées pour les trois autres milieux (B5, WHITE et KNOP). Nous avons enregistré une bonne croissance dans la période de 15 à 21 (tableau XXXI).

**Tableau XXXI** : la vitesse de croissance des tiges des deux variétés dans les quatre milieux.

Milieux	variétés	0J		7J		15J		21J		40J	
		NB	Cm/j	NB	Cm/j	NB	Cm/j	NB	Cm/j	NB	Cm/j
MS	Mondial	0.5	\	1.38	0.125	3.02	0.20	6.12	0.51	9.57	0.19
	Désirée	0.5	\	0.82	0.04	2.06	0.15	4.24	0.36	6.96	0.14
B5	Mondial	0.5	\	1.06	0.08	2.36	0.16	3.82	0.24	6.23	0.12
	Désirée	0.5	\	0.74	0.03	1.68	0.11	2.90	0.20	5.24	0.12
WHITE	Mondial	0.5	\	0.87	0.05	1.30	0.05	2.60	0.21	5.70	0.16
	Désirée	0.5	\	0.88	0.05	1.28	0.04	1.44	0.20	4.02	0.15
KNOP	Mondial	0.5	\	0.81	0.04	1.27	0.05	2.07	0.12	2.90	0.04
	Désirée	0.5	\	0.54	0.005	1.10	0.05	1.62	0.08	2.66	0.07

La différence entre la longueur des tiges de la même variété dans les quatre 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 élévation des tiges dans le milieu MS 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'élévation des tiges et la production des matières vivantes comme il est signalé par Skirfdj,(2007).

Cabeche (1987), a évoqué le rôle très important du rapport azote/hydrate de carbone dans le contrôle de la biosynthèse des régulateurs de croissance dans les tissus indifférenciés chez *Nicotiana plumbaginifolia* (Viviani) et a signalé que les nitrates assurent d'autres fonctions encore inconnues dans la morphogénèse et comme nous avons assuré le carbone avec les mêmes

concentrations dans les quatre milieux, on peut dire que c'est la concentration du nitrate qui a donné cette différence.

La diminution de N et K dans les autres milieux et surtout KNOP se traduit par une faible élongation des tiges des deux variétés.

L'élongation la moins importante des tiges a été observée avec le milieu KNOP, se résultats ressemblent à ceux obtenues chez le Fraisier par Daniano, (1981), Zuccherelli, (1979) et Shoemaker *et al.*, (1985), pour augmenter la taille des explants Daniano, (1981) ont ajouté à la solution de KNOP du Nitrate de potassium avec des concentrations du 2 à 14 mM, de même Zuccherelli, (1979) ont augmenté la concentration du nitrate de potassium jusqu'à 1000mg/l. Shoemaker *et al.*, (1985) lors de leur étude sur la susceptibilité des plantes issues de la micropropagation des variétés de fraisier 'Tribute' et 'Raritan' au *Phytophthora fragariae* Hick. Et *Verticillium albo-atrum* Reinke et Berthold, ont utilisé la solution minérale de KNOP additionnée de 1900 mg/l de nitrate d'ammonium. Skirfdj, (2007) a signalé que le manque d'azote présente une végétation chétive, rabougrie, naine et retardée et un manque de  $K^+$  provoque une réduction de la taille et un raccourcissement des entre-nœuds des tiges.

Sur le plan physiologique l'élongation des tiges est assurée grâce à la présence de Gibbérelline, et comme nous avons assuré la GA exogène avec la même concentration, on peut dire que c'est la différence entre la concentration de Gibbérelline endogène qui est à l'origine du faible développement des tiges parce que la déficience en  $N^+$  provoque la diminution de GA et Horst ,(1987) a expliqué la diminution de la tailles des vitro plants cultivés dans le milieu KNOP par la déficience en  $N^+$  qui augmente la concentration de l'hormone ABA dans les tiges. Chez la pomme de terre Chahet ,(2000) a signalé que le manque de  $N^+$  provoque la diminution de GA et l'augmentation de ABA au même moment. Ceci explique la taille des tiges des deux variétés dans les milieux WHITE et KNOP par rapport au milieux MS et B5.

Dans notre expérimentation le test T de Studette a révélé 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 Désirée a toujours donné les mauvaises longueurs. A ce moment, nos résultats confirment 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 se qui explique le retard de croissance de cette variété. L'électrophorèse mono dimensionnelle sur gel de polyacrylamide en présence de Sodium Dodécyl Sulfate (SDS -PAGE) des deux variétés a révélé des différences entre les génotypes, le calcul de IRS a indiqué un pourcentage de similarité de 77 %, donc une différence de 23 %, on peut dire que cette différence est due à la

différence des origines génétiques, parce que l'origine de la variété Mondial est Spunta X SVP et la variété Désirée est Urgenta X Depesche. Autran, (1973) signale qu'il y a une relation entre l'hétérogénéité électrophorétique des protéines et l'origine génétique. L'origine géographique également joue un rôle dans cette différence.

Une des réponses aussi des explants dans les quatre milieux est la formation de feuilles avec leur nombre, nous avons trouvé qu'il y a des différences hautement significatives entre les quatre milieux durant les quatre périodes de culture des deux variétés (tableaux a,b annexe1).

Les meilleures valeurs sont obtenues avec le milieu MS suivie par celle de B5, WHITE et finalement KNOP, les meilleurs pourcentages de formation de feuilles sont obtenus dans la période 07 à 15 jours pour les deux variétés (tableau XXXII).

**Tableau XXXII:** le pourcentage de nombre de feuilles des deux variétés dans les quatre milieux.

Milieux	variétés	0J		7J		15J		21J		40J	
		NB	%	NB	%	NB	%	NB	%	NB	%
MS	Mondial	0	\	3.50	\	5.87	67.71	8.25	40.00	10.38	25.69
	Désirée	0	\	2.40	\	4.60	91.66	7.00	52.17	9.40	34.28
B5	Mondial	0	\	2.75	\	5.25	90.00	7.25	38.09	8.75	20.08
	Désirée	0	\	1.60	\	3.60	125.00	5.80	61.00	7.00	20.65
WHITE	Mondial	0	\	2.12	\	4.50	112.12	5.87	30.44	6.87	17.03
	Désirée	0	\	1.40	\	3.20	128.00	5.00	56.25	6.80	36.00
KNOP	Mondial	0	\	0.75	\	1.75	133.00	3.00	71.42	4.37	45.66
	Désirée	0	\	0.40	\	1.60	300.00	2.60	62.00	3.80	46.15

Bhadda *et al.*, (2003a) a étudié la corrélation entre la concentration des macro-éléments avec le nombre de feuilles d'olivier, qui a donné une corrélation hautement significative positive (0.94 et 0.95) avec les concentrations de N<sup>+</sup> et K<sup>+</sup> dans l'ordre, ce qui explique nos résultats .

Pennell, (1987) ont étudié chez la variété Pantaguilla de fraisier l'effet des milieux de culture MS, KNOP, B5 et HELLER, ils ont remarqué que si le milieu KNOP favorise l'apparition des bourgeons le milieu MS donne au contraire un bon développement des bourgeons axillaires, ce qui favorise la formation des feuilles. .

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 07 à 15 jours dans tous les milieux, ce qui favorise la photosynthèse qui assure le bon développement des vitro plants, ce qui explique l'augmentation de la vitesse de croissance des tiges et racines des deux variétés dans la période 15 à 21 jours.

La différence entre les deux variétés est due toujours à la différence génétique des deux variétés.

Concernant le nombre de racines nous avons remarqué que c'est dans la première période que la plante forme un nombre important des racines avec tous les milieux (tableau XXXIII).

**Tableau XXXIII** : le pourcentage de nombre de racines des deux variétés dans les quatre milieux.

Milieux	variétés	0J		7J		15J		21J		40J	
		NB	%	NB	%	NB	%	NB	%	NB	%
MS	Mondial	0	\	3.75	\	4.62	23.20	5.12	10.82	5.62	9.76
	Désirée	0	\	4.40	\	5.40	22.70	5.60	30.73	5.60	0.00
B5	Mondial	0	\	2.88	\	3.88	32.40	4.63	21.57	4.75	2.00
	Désirée	0	\	3.00	\	4.00	33.33	4.20	5.00	4.80	14.22
WHITE	Mondial	0	\	2.25	\	3.63	60.08	3.75	4.16	4.13	9.86
	Désirée	0	\	2.40	\	3.40	37.59	3.83	4.64	4.67	13.05
KNOP	Mondial	0	\	2.12	\	2.37	11.79	2.75	21.09	3.12	8.71
	Désirée	0	\	1.60	\	2.60	62.00	3.40	30.07	3.60	5.80

L'analyse de la variance de l'effet des milieux de culture sur le nombre de racine a montré qu'il y a des différences très hautement significatives entre le nombre de racine des deux variétés dans ces milieux.

La domination de milieu MS est un résultat de présence de N et K avec des concentrations importantes, nos résultats rejoignent ceux de Angebert *et al.*, (2001) qui ont trouvé que le manque de N et K<sup>+</sup> donne des racines blanches et faibles avec un nombre réduit chez le cerisier.

Nous avons observé qu'il n'y a pas une différence entre les longueurs des racines de la variété Désirée, ceci est confirmé par l'analyse de la variance (tableau h annexe 1), et que la vitesse de croissance était importante dans la période de 15 à 21 jours (tableau XXXIV).

**Tableau XXXIV** : la vitesse de croissance des racines des deux variétés dans les quatre milieux.

Milieux	variétés	0J		7J		15J		21J		40J	
		NB	Cm/j	NB	Cm/j	NB	Cm/j	NB	Cm/j	NB	Cm/j
MS	Mondial	0	\	0.87	0.12	3.11	0.28	6.18	0.51	7.08	0.05
	Désirée	0	\	1.16	0.16	2.10	0.11	4.16	0.34	6.00	0.09
B5	Mondial	0	\	0.67	0.09	2.68	0.25	4.20	0.25	6.13	0.10
	Désirée	0	\	0.96	0.13	1.80	0.10	3.38	0.26	5.10	0.09
WHITE	Mondial	0	\	0.63	0.09	1.71	0.13	3.38	0.27	4.62	0.06
	Désirée	0	\	0.68	0.09	1.80	0.14	3.60	0.30	4.50	0.04
KNOP	Mondial	0	\	0.96	0.13	2.10	0.14	4.20	0.68	5.00	0.09
	Désirée	0	\	0.95	0.13	2.30	0.14	4.80	0.30	5.00	0.10

Ce comportement est dû à la nature de la variété c'est-à-dire la variété Désirée a un système racinaire bien développé de nature même si les éléments minéraux ne sont pas

suffisants, par contre l'analyse de la variance de l'effet des milieux sur la longueur des racine de la variété Mondial a révélé une différence significative et nous avons déjà montré la différence génétique entre les deux variétés; Aussi lorsque on fait la différence entre la longueur des racines des variétés dans les deux milieux MS et KNOP on trouve qu'elle est moins importante que la longueur des tiges ceci peut être expliqué par la présence de phosphore P qui favorise la bonne croissance des racines. Nos résultats rejoignent ceux de Margara, (1987) qui explique la taille proche des racines dans les milieux MS et KNOP par la présence de P avec une quantité importante dans le dernier milieu et la présence de N et K dans le milieu MS.

Aussi le milieu MS est caractérisé par le présence des teneurs élevées en ions K Mg comparativement aux autres milieux testés, l'effet bénéfique de ces ions a signalé par certains auteurs ( David *et al.* , 1978 ; Bormmau ,1983 et Margara,,1978). Ces ions sont connus pour favoriser la croissance des plants.

Après 40 jours nous avons fait la multiplication des vitro plants dans le but d'avoir un nombre important de plantules. Ainsi la fragmentation d'un vitro plant nous a permis d'obtenir cinq nouveaux vitro plants, cette étape assure aussi l'augmentation de la taille des vitro plants et la production de fortes plantules vigoureuses qui résistent à l'acclimatation. Nos résultats sont dans le même sens que ceux de Nawbuth *et al.* ,(2005) qui ont observé une augmentation de la taille des vitro plants qui est passée de  $8,9 \pm 5\text{cm}$  à  $12 \pm 5\text{cm}$  après 15 jours de croissance. Hennerty *et al.* , (1987), Hunter *et al.* , (1983) et Zuccherelli,(1979) font le repiquage de fraisiers chaque trois semaines pour les même raisons.

Après avoir obtenu un nombre important des vitro plants nous avons essayé de les acclimatés, mais cette opération n'a pas donné les résultats escomptés, car tous les vitro plants transférés meurent après une certaine durée, cette dernière semble liée à la variété, en effet la variété Mondial vit plus longtemps que la variété Désirée dans les conditions d'acclimatation en raison probablement de la vigueur de sa partie aérienne qui constitue le lieu de photosynthèse, la réussite de l'acclimatation semble également liée au milieu de culture dans la mesure où les vitro plants multipliés dans le milieu MS vivent plus longtemps que ceux obtenus dans les autre milieux. Ceci peut être expliqué par l'effet des milieux sur la formation des feuilles qui assurent la photosynthèse des vitro plants et la continuation de la vie.

Le problème d'acclimatation a été déjà signalé pour la pomme de terre par Schwärzel *et al.* ,(1999) et Duong *et al.* ,(2006) l'olivier Reimund *et al.* ,(2004) et Merton *et al.* ,(2007), le pommier LÊ et Collet, (1991) et finalement le châtaignier Abdelhamid et Kûpfer ,(2004). Pour tous ces chercheurs la cause de la perte de plantules au cours de l'acclimatation est la faible photosynthèse d'une part, d'autre part, Short, (1990) montre que la perte de vitro plants durant la période d'acclimatation est due au flétrissement rapide de l'appareil végétatif, ce qui explique le flétrissement de nos plantules. Ce flétrissement est imputé d'une part à un manque de formation de cire cuticulaire et épicuticulaire d'après Fuchigami *et al.* ,(1981) ,Sutter et

Langhans ,(1982) et Sutter ,'1988) et d'autre part, à un fonctionnement stomatique défaillant, ne permettant pas la fermeture correcte des cellules de garde selon Brainerd et Fuchigami ,(1982) et Wardle et Short , (1983).

Sur le plan anatomique Donnelly *et al.* , (1985) montrent que le collenchyme et le sclérenchyme, sont moins importants que ceux des plants de serre. Pour faire face à ce problème d'acclimatation Anderson, (1981) et Pennell, (1981) ont proposé d'augmenter la durée jusqu'à quatre semaines dans les dissicateurs. Alors que Shoemaker *et al.*, (1985) et Zuccherelli,(1979) préfèrent prolonger la période d'acclimatation jusqu'à 6 ou 7 semaines.

L'utilisation des protéines totale comme marqueurs biochimique pour marquer la sainteté des plantes cultivées par voie *in vitro*, on les compare avec les même variétés *in vivo* a été également réalisée pour le pommier (Collet *et al.* ,1991),Manganaris et Aiston ,(1993) et pour la pomme de terre LË(1994). Cette étude est basée sur la nature des Micro-organismes ,selon Maidigan et Mastinko ,(2007 ) les cellules des microorganismes sont constituée principalement des protéines

IRS calculé a indiqué une similarité de 72% chez la variété Mondial et 83% chez la variété Désirée .Le tableau (XXIX) a montré la présence des bandes (6, 8, 13,15) dans Mondial *in vivo* absent chez la même variété *in vitro*, et les bandes (6,13) dans la Désirée *in vivo* absent dans la variété *in vitro* et nous supposons que ces bandes correspondant aux protéines provenant de micro-organismes exogènes.

Pour l'olivier les résultats obtenus dans la phase de caullogénèse montrent des réactions différentes de comportement des explants suivant les milieux de proliférations utilisés. La réponse des bourgeons est hétérogène; En effet de nombreux auteurs ont constatés que certains bourgeons sont plus productifs que d'autre, et que la variabilité des réponses peut être du à la l'endroit et la période des prélèvements Collet et LE, (1987) ; Rugini et Caricato ., (1995) sur de différents cultivars d'olivier ; Abousalime *et al.* , (1993) sur la variété Picholine ; Gracia *et al.* , (2007) sur différents génotypes.

En effet pour l'entrée en activité des bourgeons axillaires les milieux MS et B5, se sont montrés globalement les plus actifs par rapport aux deux autres milieux WHITE et KNOP car le débourrement des bourgeons dans les milieux B5 et MS s'est réalisé dans la troisième semaine les mêmes résultats sont obtenus par Yakoub *et al.* ,(2000) avec la variété Chemlale ; Conciecaô *et al.* ,(2002) avec la variété Maderensis, par contre dans les autre milieux WHITE et KNOP le débourrement s'est effectué après cinq semaines. Ces résultats confirment ceux de Brhadda *et al.* , (2003) avec le classement suivant OM>MS >Miller>Knop.

La composition du milieu de mise en culture joue un rôle très important dans l'organogenèse. L'effet d'un milieu de culture résulte de l'ensemble des interactions des différents éléments qui le composent. Certains d'entre eux stimulent les processus du

développement *in vitro*, d'autres, par contre, ont peu d'influence sur le débourrement (Thorpe, 1980 ; Rugini, 1986 ; Rugini, Caricato, 1995 ; Grigoriadou *et al.*, 2002 ; Brhadda *et al.*, 2003).

Après six semaines les bourgeons se développent en jeunes pousses feuillées sur les milieux B5 et MS additionnées de kinétine (2 mg/l) , Peixe *et al.* ,(2007) ont obtenu ces résultats mais dans trois semaines de culture, cette vitesse de multiplication est due au BAP et l'utilisation de coconut water qui remplace la zeatine qui est la meilleure cytokinine pour l'olivier. La croissance des microboutures c'est arrêté à ce stade.

Quand à la deuxième phase rhizogénèse, nous n'avons pas pu obtenu des résultats favorables, pour des raisons inconnues, mais il semble d'après (Walali, 1993) que l'enracinement *in vitro* de matériels végétales adulte est difficile et ce phénomène est commun à d'autres espèces ligneuses, fruitières et forestières.

Il faut noté que dans l'étude présenté par Abousalim *et al.*,(2005) le matériel adulte n'a pas développé de racines, quelles que soient l'auxine et la concentration utilisée.

Dans le cas de la nature de matériel juvénile, Rugini (1984) a rapporté que l'ANA à 1 mg/l est le plus efficace pour l'enracinement.

Dans notre étude nous avons utilisé l'AIA comme auxine, cette hormone a marqué l'effet le plus faible d'enracinement dans les travaux de (Abousalim *et al.*, 2005) même avec un matériel très jeune.

CONCLUSION

## *Conclusion*

La grande importance des deux espèces dans l'alimentation a suscité leur étude par l'utilisation de nouvelles techniques biotechnologique. Ainsi , les résultats obtenues dans notre cas montrent que le milieu MS présente un taux de régénération très élevé, après 40 jours par rapport aux autres milieux étudiés; Le milieu KNOP a présenté les valeurs les plus faibles .

En effet, la croissance est assurée par la présence de tous les sels minéraux et beaucoup plus par les éléments de N<sup>-</sup> K<sup>+</sup> et P.

En outre, la variété Mondial a donné le meilleur développement de la partie aérienne et la variété Désirée la bonne croissance de la partie racinaire.

Les résultats d'acclimatation ne sont pas satisfaisants et la durée de vie la plus longue de vie a été observée avec la variété Mondial dans le milieu MS. Donc c'est le milieu MS qui a donné la meilleure croissance avec la variété Mondial.

Dans le but de confirmer la sainteté des vitro plants, l'utilisation de l'électrophorèse mono dimensionnelle a révélé des différences entre les protéines totales des plants in vitro et in vivo et nous avons supposé que les bandes en plus correspondent aux protéines de microorganismes exogènes ce qui nous laisse penser à une production de plants sains.

Avec olivier les meilleures croissances sont obtenues avec les milieux MS et B5.

Suite à ces divers résultats il serait intéressant :

- D'améliorer la nutrition des plants in vitro et in vivo.
- De maîtriser les conditions d'acclimatation.

**REFERENCES**  
**BIBLIOGRAPHIQUES**

**Abdelhamid S, et Küpfer P., 2004.** Identification moléculaire des variétés de châtaignier en suisse. Revue suisse Vitic .Arboric, Hortic .Vol 36 (6) :349-354

**Abousalim A, Brhadda N, Walali Loudiyi D.,2005.** Essais de prolifération et d'enracinement de matériel issu de rajeunissement par bouturage d'oliviers adultes (*Olea europaea* L.) et de germination *in vitro* : effets de cytokinine et d'auxines. *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.* **9** (4), 237–240.

**Abousalim A., Walali LDM., Slaoui K., 1993.** Effet du stade phénologique sur l'enracinement des boutures semi ligneuses de l'olivier en tablettes chauffantes. *Olivae* 46, p. 30–37.

**Amugues S., 1993.** héophraste, Recherches sur les plantes .Trad .Coll.Université de France .Paris : Les Belles Lettres, In : De l'olivier à L'oléastre : Origine et domestication de l'*Olea europaea* L. dans le Bassin méditerranéen Breton C, Medial F, Pinatel C, Berville A., 2006.

**Anderson H.M., 1981.** Strawberry propagation. Field behaviour of tissue culture plants - *Grower*, 96(8), 66,68.

**Angebert C, Belhassan I, Braincon A., 2001.** Quelle est l'influence de la composition chimique du milieu sur la croissance des racines des plantes ? .[www.TPE.htm.com](http://www.TPE.htm.com).

**Anonyme, 1996.** Kitchen culture .Kits: <http://www.kitchenculturekit.com> .

**Anonyme.,1999.** Cahier technique .Micropropagation pour l'entreprise sericole : <http://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](http://www.fpptq.aq.ca) .

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

**Anonyme.,2001 a .**Variété .Le jardin naturel .Festival des variétés de pomme de terre:<http://www.elboura.ma/pg>.

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

**Anonyme.,2007 a .** Pomme de Terre au monde <http://www.potato2008.org/fr/monde/index.html>

**Argenson .C., Regis, S., Jourdain, J.M.,Vaysse, P. ,1999.**L'olivier.Eds .Centre technique interprofessionnel des fruits et légume (Ctifl), Paris, 204 pages

**Auge D., 1992 .**La culture in vitro et ses applications horticoles, Lavoisier .France .

**Autran J.C., 1973.**L'identification des variétés de blé .Bulletin des anciens élèves de l'école française de meunerie 256 :163.

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

**Bellfontain R,Monteuus O. ,2006 .** Le drageonnage des arbres hors forêt : un moyen pour revégétaliser partiellement les zones arides et semiarides sahéniennes ?. <http://www.cirad.fr>

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

**Bernie G ,Forrester S, Grey D ., 2006.** Botanica. Encyclopedie de botanique et d'horticulture plus de 1000 plants de monde entière .édition place victoires 1020P .

**Besnard G, Breton C, Baradat P, Khadari B, Bervillé A., 2001.** Cultivar identification in the olive (*Olea europaea* L.) based on RAPDS. *J Amer Hort Science* 2001b; 126:668-75.

**Beukema H.P,Van Der Zaag D.E .,1990 .** **The potato plant ,25-31.**In La pomme de terre production, Amélioration, Ennemis et Maladies. Utilisation .Edt INVUFLEC.

**Boccon –Gibod J,Jalouzot R ., 1989.** Les biotechnologies en horticulture, possibilités et perspectives .In La culture in vitro et ces application horticoles .Augé R ,Beauchene G, Boccon-Gibod J et al . ,1989.Edt .JB Bailliéte pp 91-131.

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

- Bornmun CH ., 1983.** Possibilities and constraints in the regeneration of trees from cotyledonary needles of *Picea abies in vitro*. *Physiol. Plant.* 57, p. 5–16.
- Brainerd K.E, and Fuchigami L.H., 1982.** Stomatal functioning of in vitro and greenhouse apple leaves in darkness mannitol, ABA and CO<sub>2</sub>. in Micropropagation de porte-greffe de pommier .Acclimatation de *Malus pumila*. Mill.(M26,Mac9) et de *Malus domestica* Borkh .cv.Golden Delicious , 1991 . Revue suisse Vitic .Arboric ,Hortic .Vol 2 3(3) :201-204
- Bretauudeau A., 2006.** Les techniques de culture in vitro et la micropropagation des espèces végétales .,IPR/Kolibougou Koulikoro B P 06.
- Breton C , Medial F , Pinatel C , Berville A ., 2006 .** De l'olivier à L 'oleastre :Origine et domestication de l'Olea europaea L. dans le Bassin méditerranéen .Cahiers agricultures vol.15,n°4, juillet –août 2006.
- Breton C, Besnard G, Bervillé A., 2006a.** Using multiple types of molecular markers to understand olive phylogeography. In : De l'olivier à L 'oleastre :Origine et domestication de l'Olea europaea L. dans le Bassin méditerranéen ., 2006. Cahiers agricultures vol.15,n°4, juillet –août 2006.
- Breton C,Tersac M , et Berville A.,2006 b .**Genetic diversity and gene flow between the wild olive (*Oleastre , Olea Europea* .L) and the olive . In : De l'olivier à L 'oleastre :Origine et domestication de l'Olea europaea L. dans le Bassin méditerranéen ., 2006. Cahiers agricultures vol.15,n°4, juillet –août 2006.
- 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 MarocaineBiotechnol. Agron. Soc. Environ. 7 (3–4), 177–182.
- Brhadda N., Abousalim A., Walali LDM ., 2003a .**Effets du milieu de culture et de la lumière sur l'embryogenèse somatique de l'olivier (*Olea europaea* L.) cv Picholine marocaine. Fruit 85 (3), p. 1–14.
- Briggs W B ., 1964.**phototropis; in higher plants in physiology academic press :1; 223-271.
- Bronzini de Caraffa V, Maury J, Gambotti C, Breton C, Bervillé A, Giannettini J., 2002 .** Mitochondrial DNA variation and RAPD mark oleasters, olive and feral olive fromWestern and Eastern Mediterranean. *Theor Appl Genet*; 104: 1209-16.
- Bruton W.G.,1989.**The potato in La pomme de terre production, Amélioration, Ennemis et Maladies. Utilisation édition

- C a b e c h e M ., 1987.** Nitrogène carbohydate and zinc requirements for the efficient induction of shoot morphogenesis from protoplast-derived colonies of *Nicotiana glauca*. *Plant Cell. Tissue Org. Cult.* 8, p. 197–206.
- Camefort H , Boué , H .,1979.**Reproduction et Biologie des végétaux supérieurs (Bryophytes, Ptéridophytes, Spermatophytes) .Edt.doin .
- Campbell N.A, Reec J.B., 2004.**Biologie .Edt de Renouveau Pédagogique Inc .834P.
- Casselle A.C., 1987.**In vitro induction of free-virus potatoes by chemotherapy .In *biotechnology and forestry* Pp: 40-50.
- Chahet, N.A., 2000.**Les hormones végétales et ses applications agronomiques.
- 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.
- Collet G.F et LE C.L .,1987.**Micro propagation de porte-greffes de pommier et de poirier .Etablissement et multiplication in vitro de *Pyrus malus* L.(M25,M26,M27,MM106 ,M9 type jork ) et *Cydonia oblonga* Mill.(A) .Revue suisse Vitic .Arboric ,Hortic .Vol 19(4) :253-259.
- Collet G.F et 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.
- Collet G.F,LE C.L ,NOWBUTH I , 1991.**Isozyme characterisation of apple rootstock M9.Abstract Cost 87/Shoot régénération –Biochemical marker .In Régénération de la pomme de terre cultivée (*Solanum tuberosum* L.).Revue suisse Agric .29 (3) :143-150.
- Conceição V.S ,Brito G.Fonseca H.M.A.C.,2002.**In vitro plantlet régénératin of *Olea europaea* ssp *maderensis* .Sientica. Horticultirae 97 :83-87.
- Dalma J., 1967.** Recherche sur la nutrition minérale de la vigne INRA 1967.
- Damiano C., 1981 .**Strawberry micropropagation. - In Proceedings of the conference on nursery production of fruit plants through tissue culture : Applications and feasibility. Beltsville, Maryland, USDASEA, Agricultural Research Results, ARR-NE-11, p 11-22.
- Darboux R et Delelly .,1967.**Les plantes sarclées .Edition J.B.Baillière France.Collection d'enseignement Agricole.307p.
- David HK. Isemukali K., David A., 1978.** Obtention de plants de pin maritim (*Pinus*

pinaster Soland.) à partir de brachyblastes ou d'apex caulinaires de très jeunes sujets cultivés in vitro. C. R. Acad. Sci. 287, p. 245–248.

**Didio W, Kaltsikes P .J , Larter E.N . , 1969.** Numerical chemotaxonomy in the genus *Secale* .Can .J.Bot . 1175-1180.

**Donnelly D.J, Skelton F.E. 1987 .** Hydathode structure of micropropagated plantlets and greenhouse-grown 'Totem' strawberry plants. - *J. Am. Soc. Hortic. Sci.*, , **112**(5), 755-759.

**Doré .C, Varoquaux F, Coordinateur ., 2006 .**Histoire et amélioration de cinquante plantes cultivées –INRA.

**Duong T.N, Nguyen H Nguyen, D,Thi ., 2006** A novel in vitro hydroponic culture system for potato (*Solanum tuberosum* L.) microtuber production 2006 D.T. Nhut et al. / *Scientia Horticulturae* 110 :230–234

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

**Fuchigami L.H, Chen T.Y, et Soldner A., 1981.** Abaxial transpiration and water loss in aseptically cultured plum .in Micropropagation de porte-greffe de pommier .Acclimatation de *Malus pumila*. Mill.(M26,Mac9) et de *Malus domestica* Borkh .cv.Golden Delicious , 1991 . *Revue suisse Vitic .Arboric ,Hortic* .Vol 2 3(3) :201-204

**Gamborg Ol, Miller R, Ojama K .,1968 .**Nutrient requirements of suspension cultures of soybean root cells .*Exp Cell Res* ; 50 :151\_158.

**García-Férriz L.1, Ghorbel R.1, Ybarra M.1, Marí A.1, Belaj A. and Trujillo I. ., 2007.**Micropropagation de olivos adultos .*Revue Oli* -08.

**Gautheret R.J.,1959 .** La culture des tissus végétaux technique et réalisation .Maison et cie .884p.

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

**Gray DG, Compton N.F, Harell R .C, Cantliffe D.J., 1995.**Stomatic 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 L K ., 2001.*Plant cell report* (2001) 20 .175-182

**Grigoriadou K, Vasilakakis M, Eleftheriou E.P. ,2002.** *In vitro* propagation of the Greek olive cultivar *Chondrolia Chalkidikis*. *Plant Cell, Tissue Org. Cult.* **71**( 1 ) , p. 47–54.

- Haïcour R .,2002 .** Biotechnologies végérales , Techniques de laboratoire .Edt Lavoisier .Londre-Paris –New Yourk ,305P.
- Hawkes J.G., 1990.** The potato, Evolution, Biodiversity and genetic resources .London, Belhaven Press, 259p.
- Hennerty M.J, Hunter S.A, Foxe M.J., 1987 -** Field performance of tissue cultured strawberry plants. - In Boxus (P.), Larvor (P.) In vitro culture of strawberry plants. - Comm. Eur. Communities, Rep. EUR 10871 EN-FR , 41-46.
- Horst, M., 1987.**Nutrition in higher plant .academic press .England .p477.
- 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.
- Hunter S.A, Foxe M.J, Hennerty M.J., 1983 -** The influence of temperature and light intensity on the in vitro propagation of the strawberry (*Fragaria Xananassa* Duch.) cv. Cambridge Favourite. - Acta Hortic., (131), 153-161.
- Hussey,G et Stacey ,N J .,1981.**In vitro propagation of potato (*Solanum teberosum* of potato of photoperiod on in vitro tuberisation of potato- *S tubrerosum*- .JEA Seabrook shirlyn m CD. levey .1993 .plant cell m tissue and organe culture .1993.34; 43-51.
- Ingrid et Shofelder .P.,1988** RNA and protein metabolism during adventitious root formation in stem cutting of phaseolus aureus .physiol.plant, 64,53\_59.
- Iwanga, M, Peloquiun S, j .,1982 .**Origin and evolution of cultivated tetraploid Potato's via 2n gametes .Theor Appl.Genet., 61,161-169.
- 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.
- Karp A, Nelson R.S, Thomas E, Bright S.W.J., 1982.** Chromosome variation protoplast derived potato plants .Theor .Appl.Génét .,63,265-272.
- Laberche J.C., 2004.**Biologie végétale .Edt.Dinod .P270
- Laemml, U.K., 1970 .**Cleavage of structural protéines during the assembly of the head of bacteriophage T4 .Nature 227:680\_685.
- 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,

Nowbuth, L., 2002

**LÊ C, L, Thomas, D, Nowbuth, L., 2002.** Conservation des pommes de terre in vitro et caractérisation des variétés cultivées en Suisse. *Suisse Agric* 34(3):133-136.

**LÊ C.L., 1994.** Apport de l'électrophorèse dans l'identification des variétés de pomme de terre saines en Suisse. *Revue suisse Agric* 26(6):373-379.

**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, Collet G.F., 1991.** Micropropagation de porte-greffe de pommier. Acclimatation de *Malus pumila* Mill. (M26, Mac9) et de *Malus domestica* Borkh. cv. Golden Delicious\*. *Revue suisse Vitic. Arboric., Horticult.* Vol 23(3) :201-204.

**LÊ C.L, Julmi C, Nowbuth L., Manière M, Thomas D, Joffrey J.P., Tschuy F., 2005.** Agroscope RAC Changins : 25 ans de culture in vitro. *Revue suisse Agric* 37(3) :133-136.

**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.

**Loumon A, Giourga C., 2003.** Olive groves: "The life and the identity of the Mediterranean". *Agriculture and Human Values*; 20:87-95.

**Loussert R. et Brousse G., 1978.** L'olivier. Ed. Maisonneuve et Larose, Paris. 447p.

**Maarouf A., 2000.** Dictionnaire de botanique. 54 P.

**Madigan M, et Martinko J., 2007.** Brock. Biologie des micro organismes. Edt. Pearson Education p 03.

**Maillard R., 1975.** L'olivier. Maison des agriculteurs. Ed. In viflec. Paris, 147 P.

**Manganaris A.G et Aiston F.H., 1993.** Peroxydase isoenzyme genes in the identification of apple cultivars and Malus species. *Journal of Horticultural Science* 68(5), 775-781.

**Margara J., 1978.** Mise au point d'une gamme de milieux minéraux pour les conditions de la culture in vitro. *C. R. Acad. Sci.* 8, p. 654-661.

**Margara J., 1989.** Base de la multiplication végétative. Les méristèmes et l'organogénèse. Institut National de la recherche Agronomique.

**Merton J.S, Vermeulen Z.L., Otter T., Mullaart E., Ruigh L., Hasler J.F., 2007.** Carbon-activated gas filtration during in vitro culture increased pregnancy

- rate following transfer of in vitro-produced bovine embryos .Theriogenology :67; 1233–1238.
- Meslaycet MF., 2007.** Herbiere méditerranéenne .Edt .Edisud, p 9.
- Metzidatis I T, 1997.** Proceedings of the third international symposium on Olive growing: Volume 1. Acta Horticulture no 474, Crete, Chania & Greece.
- Meziane D., 1991.** Histoire de la pomme de terre .Detitique n°25 pp:29.
- Murashigue ,T . and F Skoog ., 1962 .** A Revised Medium for Rapid Growth and Bioassays with Tobacco Tissue Cultures .Physiologia Plantarum, 15:473\_497.
- Nowbuth et CL 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.
- Nowbuth L&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.
- 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.
- Ochette C., 2005** growth, quality and biotechnology, WFP publisher .Finland.
- Peixe , A. Raposo, R. Lourenc\_o, H. Cardoso, E. Macedo.,2007.** Coconut water and BAP successfully replaced zeatin in olive (*Olea europaea* L.) micro propagation. A. Peixe et al. / Scientia Horticulturae HORTI-2655;
- Pennell D., 1981 -** Strawberry review: Micropropagation, the pros and cons. - Grower., 95(17), 58-62.
- Pennell D., -1987** Strawberry micropropagation within the UK. - In Boxus (P.) Larvor (P.) In vitro Culture of Strawberry Plants. - Comm. Eur. Communities, Rep. EUR 10871. EN-ER., 27-34.
- Peyeru P, Baehr J.C, Cariou F, Grandperrin D, Perrier C ., 2007.** Biologie tout en un 2<sup>ème</sup> année BCPSI .Edt. Dunod –Paris .P110.
- Quézel P. Santa .S., 1963-** Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales .Ed .C.N.R.S. Paris, 1
- Reimund J.M,Scheer O, Muller C.D,Pinna G, Duclos B , Baumann R.,2004.** In vitro

modulation of inflammatory cytokine production by three emulsions with different fatty acid compositions .Clinical Nutrition :23,1324-1332.

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

**Rousselle P, Robert Y, Grossuer J.C, ed ., 1996** .La pomme de terre production, Amélioration, Ennemis et Maladies. Utilisation édition – Doun P278.

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

**Rugini E .,R. Biasi M. Rosario .,1998.** Olive (*Olea europaea* var *sativa*) transformation .In Proceeding seminar on Molecular biology of woody plants .Editors jain ; S.M.,S.C . Minocha.,245\_279.

**Rugini E ., 1984.**In vitro propagation of some olive (*Olea europaea* L.)cultivars with different root –ability and medium development using analytical data from developing shoot and embryo .in Effets du milieu de culture et de la lumière sur l’embryogenèse somatique de l’olivier (*Olea europaea* L.) cv Picholine marocaine. Fruit 85 (3), p. 1–14 (2003).

**Rugini E .,1986.** Olive (*Olea europaea* L.). In Bajaj YPS. (ed.). *Biotechnology in agriculture and forestry. Vol 5. Trees I.* Berlin: Springer-Verlag, p. 253–267.

**Rugini E., 1998** Somatic embryogenesis and plant regeneration in olive (*Olea europaea* L.). Plant Cell Tiss. Org. Cult. 14, p. 207–214.

**Rugini E., Caricato G., 1995.** Somatic embryogenesis and recovery from mature tissues of olive cultivars (*Olea europaea* L.) “Canino” and “Moraiole”. Plant Cell Rep. 14, p. 257–260.

**Schwärzel H.J, Lindstrom J.T, Fiola J.A., 1999.**The use of tissue culture propagation of strawberry in the United States. - In Boxus (P.), Larvor (P.) In Vitro Culture of Strawberry Plants. - Comm. Eur. Communities, Rep. EUR 10871. EN-ER, 79-100.

**Shepard J. ,1982.** La régénération in vitro de plantes de pomme de terre pour la science, Juillet .34-47.

**Shoemaker N.P., Swartz H.J., Galletta G.J.,1985-** Cultivar dependent variation in pathogen resistance due to tissue culture propagation of strawberries. – HortScience, 20(2), 253-254.

**Short K.C., 1990.** Application of in vitro techniques for the production and the improvement of horticultural plants in Micropropagation de porte-greffe de

- pommier .Acclimatation de *Malus pumila*. Mill.(M26,Mac9) et de *Malus domestica* Borkh .cv.Golden Delicious , 1991 . Revue suisse Vitic .Arboric ,Hortic .Vol 2 3(3) :201-204
- 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 –Sud, Orsay, 280 p.
- Simpson BB, Ogorzaly MM., 2001.** Economic Botany: Plants in our world. 3<sup>ième</sup> édition. McGraw-Hill Inc., New York. 60-62, 237-238.
- 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.
- Soltener .D ., 2005.**Les grandes productions végétales .Collection Scientifiques des technologie Agricoles 20eme édition 472P.
- Sourate la lumière n° 35**, essai d'interprétation du coran : inimitable 1985, traduction par : Dr Masson, revue par Sobhi el\_saleh ; Dar el Kitab el misri & Dar el\_Kitab el\_lunnani \_892 pages
- Sutter E , 1988.** Stomatal and cuticular water loss from apple , cherry and sweetgum plants after removal from in vitro culture in Micropropagation de porte-greffe de pommier .Acclimatation de *Malus pumila*. Mill.(M26,Mac9) et de *Malus domestica* Borkh .cv.Golden Delicious , 1991 . Revue suisse Vitic .Arboric, Hortic .Vol 2 3(3) :201-204.
- Sutter E .and Langhans R.W.,1982.** Formation of epicutular wax and its effect on water loss in cabbage plants regenerated from shoot-tip culture in Micropropagation de porte-greffe de pommier .Acclimatation de *Malus pumila*. Mill.(M26,Mac9) et de *Malus domestica* Borkh .cv.Golden Delicious , 1991 . Revue suisse Vitic .Arboric, Hortic .Vol 2 3(3) :201-204
- T h o r p e T.A. ,1980.** Organogenesis *i n v i t r o*: structural physiological and biochemical aspects. In Vasil IK. (ed) *International review of cytology*. Suppl. II, p. 71–111.
- Téoulé E .,1999.** Biotechnologie et Amélioration des plantes in Biotechnologie Seriban R. EdT TEC &DOC p 565-589.
- Terral JF,Alonso N ,Capdevila RBI et al. , 2004.**Historical biogeography of olive domestication (*Olea europea* .L ) as revealed by geometrical morphometry applied to biological and archeological material .J Biogeor ;31:63-77
- Tourte Y, Bordonneau M , henry M. , 2005.**Le monde des végétaux, organization, physiology et génétique .édition Dunod .p 384.

- Walali Loudyi D .,1993.** La multiplication in vitro des espèces ligneuses : état actuel et perspectives de développement .Edt AUPELF-UREF .John Libbey Eurotext , Paris , pp 399-409.
- Wardle K, and Short K.C., 1983.** Stomatal responses of in vitro cultured plantlet .I. Responses in epidermal stripes of Chrysanthemum to environmental factors and growth regulators. in Micropropagation de porte-greffe de pommier .Acclimatation de *Malus pumila*. Mill.(M26,Mac9) et de *Malus domestica* Borkh .cv.Golden Delicious , 1991 .Revue suisse Vitic .Arboric ,Hortic .Vol 2 3(3) :201-204
- Williams E.G,Maheshuan G .,1986.**Somatic embryogenesis :factors influencing coordinator behaviour of cell as an embryonic group .Ann .Botany ;57:443-52
- Yakoub –Boughlal S, Semadi A, Hamlat M, Louerguioui A .,2000.** Rhizogénèse des micro boutures de l’olivier (*Olea europaea* L., var Chemlal) .Sciences & Technologie : 14 ; 129-133.
- Yves C. ,1984** .La culture sans sol .in science et vie, hor série (la nouvelle botanique) mars 1984, 146:68-75.
- Zryd JP., 1988.** Culture de cellules, tissus et organes végétaux. Fondements théoriques et utilisations p r a t i q u e s. Lausanne, Suisse : Presses Polytechnique Romandes, 305 p.
- Zuccherelli G ., 1979** Technique di propagazione industriale Delle piantine difragola da coltura in vitro per il vivaio. - In Sansavini (S.) Societa Orticola Italiane Incontro Nazionale Sulla Coltura della Fragola. S.O.I. Ferrara, p 169-178.

# ANNEXES

## Liste des annexes

**Annexe 1** : L'analyse de la variance de croissance des deux variétés Mondiale et Désirée en fonction des milieux.

**Tableau 1a** : L'analyse de la variance de la longueur de tige de la variété Mondial en fonction des milieux

Sources	DL	SC	CM	F	P
LT dans 7 jours	3	1.8984	0.6328	8.35	0.000***
LT dans 15 jours	3	17.578	5.859	46.76	0.000***
LT dans 21 jours	3	77.914	25.971	88.63	0.000***
LT dans 40 jours	3	179.956	59.985	103.72	0.000***

**Tableau (1b)** : L'analyse de la variance de la longueur de tige de la variété Désirée en fonction des milieux

Sources	DL	SC	CM	F	P
LT dans 7 jours	3	0,3295	0,1098	5,17	0,011**
LT dans 15 jours	3	2.918	0.973	6.41	0.005***
LT dans 21 jours	3	18.028	6.009	36.81	0.000***
LT dans 40 jours	3	179.956	59.985	103.72	0.000***

**Tableau 1c** : L'analyse de la variance du nombre des feuilles de la variété Mondiale en fonction des milieux

Sources	DL	SC	CM	F	P
NF dans 7 jours	3	32,594	10,865	25,62	0,000***
NF dans 15 jours	3	79.344	26.448	37.26	0.000***
NF dans 21 jours	3	124.844	41.615	48.8	0.000***
NF dans 40 jours	3	159.594	53.198	61.74	0.000***

**Tableau 1d** : L'analyse de la variance du nombre des feuilles de la variété Désirée en fonction des milieux

Sources	DL	SC	CM	F	P
NF dans 7 jours	3	10.150	3.383	7.96	0.002***
NF dans 15 jours	3	23.350	7.783	8.65	0.001***
NF dans 21 jours	3	51.80	17.27	17.27	0.000***
NF dans 40 jours	3	79.200	26.400	42.24	0.000***

**Tableau (1e)** : L'analyse de la variance du nombre des racines de la variété Mondiale en fonction des milieux.

Sources	DL	SC	CM	F	P
NR dans 7 jours	3	13.25	4.42	4.30	0.013**
NR dans 15 jours	3	21.00	7.00	6.43	0.002**
NR dans 21 jours	3	26.13	8.71	7.22	0.001**
NR dans 40 jours	3	26.59	8.86	8.52	0.000***

**Tableau (1f)** : L'analyse de la variance du nombre des racines de la variété Désirée en fonction des milieux.

Sources	DL	SC	CM	F	P
NR dans 7 jours	3	20.95	6.983	19.95	0.000
NR dans 15 jours	3	20.950	6.983	8.22	0.002
NR dans 21 jours	3	13.776	4.592	4.87	0.013
NR dans 40 jours	3	10.133	3.378	4.58	0.016

**Tableau (1g)** : L'analyse de la variance de la longueur des racines de la variété Mondiale en fonction des milieux.

Sources	DL	SC	CM	F	P
LR dans 7 jours	3	0.5875	0.1958	4.33	0.013
LR dans 15 jours	3	9.223	3.074	10.44	0.000
LR dans 21 jours	3	34.12	11.37	10.16	0.000
LR dans 40 jours	3	21.83	7.28	5.12	0.006

**Tableau 1h)** : L'analyse de la variance du nombre des racines de la variété Désirée en fonction des milieux.

Sources	DL	SC	CM	F	P
LR dans 7 jours	3	0.583	0.194	1.93	0.562
LR dans 15 jours	3	0.533	0.178	0.36	0.785
LR dans 21 jours	3	2.20	0.73	0.63	0.606
LR dans 40 jours	3	10.33	3.44	3.14	0.542

## **Annexe 2 : les solution utilisées pour la SDS-PAGE**

### **Solution d'extraction des protéines totales (solution A )**

Tris Hcl pH 6.8	<b>1M</b>
Glycérol	<b>0.1M</b>
Bromophénol 5%SDS	<b>0.01M</b>
Bétamercaptoéanol	<b>2%</b>

### **Tampon d'électrophorèse**

Glycine	70.55g
Tris (hydroxyméthyl amino Ethan )	15g
SDS	5g
Eau distillée	qsp 5000ml

### **Solution de coloration (pour deux gels )**

TCA 60%	100ml
Solution mère de Bleu de coomassie	25ml
Eau distillée	qsp 500ml

### **Solution mère de bleu de coomassie**

Bleu de coomassie R250	10G
Ethanol 95°	qsp 1000ml

L'éthanol doit être mis en agitation dans l'éprouvette, avec un barreau aimanté. Le bleu de coomassie est ensuite ajouté (sinon le bleu prend en masse au fond du contenant). Laisser en agitation au moins deux heures, puis filtrer la solution

## **Résumé :**

Pour démontrer le meilleur milieu de culture de microbouturage , des germes des tubercules des deux variétés (Mondial et Désirée) et des microboutures d'olivier de la variété Sigoise, Ont été incubé sur quatre milieux MS, B5, WHITE et KNOP avec utilisation des mêmes concentrations des hormones selon l'espèce.

Nous avons enregistré des différences très nettes dans aussi bien d'olivier que de la pomme de terre, des différences sont également enregistrées entre les deux variétés de pomme de terre.

Nous avons observé que la variété Mondial a enregistré les meilleures valeurs de croissance dans tous les milieux de culture avec tous les paramètres étudiés (longueur des tiges, nombre de feuilles, longueur des racines, nombre de racines) et pendant toute les périodes.

Nous avons également noté que le meilleur milieu de culture c'est le milieu MS suivie par B5 ensuite WHITE et finalement KNOP qui vient dans la dernière position .Il faut remarquer que ce dernier milieu donne des résultats aussi bon que les autre milieux sur le plans rhizogénèse surtout pour la variété Désirée.

Les différences de croissance dans les quatre milieux sont dues aux différences de concentration des sels minéraux principalement les macro éléments.

Par ailleurs, nous avons cherché à tester la pureté du matériel in vitro par comparaison de ce matériel avec du matériel obtenus dans les conditions in vivo en utilisant la technique d'électrophorèse mono dimensionnel

Nous avons remarqué la présence de bandes protéiniques dans les échantillons in vivo absentes dans les plants in vitro et nous supposons que ces bandes correspondent aux protéines provenant de micro-organismes contaminants.

Mots clés : *Solanum tuberosum* L, *Olea europaea* , in vitro, nutrition , électrophorèse.

## Abstract

To demonstrate the best growing medium for micropropagation of seed tubers of both varieties (Mondial and Désirée) and microboutures olive variety of Sigoise, were incubated in four mediums MS, B5, WHITE KNOP with using the same concentrations of hormones depending on the species.

We have made very clear differences in both olives as the potato; differences were also recorded between the two varieties of potatoes.

We observed that the variety Mondial recorded the best values of growth in all spheres of culture with all parameters studied (stem length, number of leaves, root length, number of roots) and during the periods.

We have also noted that the best growing medium is the MS medium followed by B5 and then WHITE finally KNOP just in the last position. The best medium gives the results as good as the other medium on the plants rhizogenesis especially for the variety Désirée

The differences in growth in four medium due to differences in concentration of minerals mainly macro elements.

In addition, we searched to test the sanctity of equipment in vitro by comparing this material with material obtained in the in vivo using the technique of mono dimensional electrophoresis

We noticed the presence of protein bands in the samples in vivo absent in plants in vitro and we assume that these bands correspond to proteins from micro-organisms.

*Keywords:* *Solanum tuberosum* L, *Olea europaea*, in vitro, nutrition, electrophoresis.

Nom	HIMOUR	Date de soutenance :
Prénom	SARA	
<b>Titre</b> : Etude comparée de régénération de plants par voie végétative en culture in vitro		
<b>Nature de diplôme</b> : Magister en biodiversité et production végétale		
<b>Résumé</b> :		
<p>Pour démontrer le meilleur milieu de culture de microbouturage , des germe des tubercules des deux variétés (Mondial et Désirée) et des microboutures d'olivier de la variété Sigoise, Ont été incubés sur quatre milieux MS, B5, WHITE et KNOP avec utilisation des mêmes concentrations des hormones selon l'espèce.</p> <p>Nous avons enregistré des différences très nettes dans aussi bien d'olivier que de la pomme de terre, des différences sont également enregistrées entre les deux variétés de pomme de terre.</p> <p>Nous avons observé que la variété Mondial a enregistré les meilleures valeurs de croissance dans tous les milieux de culture avec tous les paramètres étudiés (longueur des tiges, nombre de feuilles, longueur des racines, nombre de racines) et pendant toutes les périodes.</p> <p>Nous avons également noté que le meilleur milieu de culture c'est le milieu MS suivie par B5 ensuite WHITE et finalement KNOP qui vient dans la dernière position .Il faut remarquer que ce dernier milieu donne des résultats aussi bon que les autre milieux sur le plans rhizogénèse surtout pour la variété Désirée.</p> <p>Les différences de croissance dans les quatre milieux sont dues aux différences de concentration des sels minéraux principalement les macro éléments.</p> <p>Par ailleurs, nous avons cherché à testé la sainteté du matériel in vitro par comparaison de ce matériel avec du matériel obtenus dans les conditions in vivo en utilisant la technique d'électrophorèse mono dimensionnel</p> <p>Nous avons remarqué la présence de bandes protéiniques dans les échantillons in vivo absentes dans les plants in vitro et nous supposons que ces bandes correspondent aux protéines provenant de micro-organismes contaminants.</p>		
<b>Mots clés</b> : <i>Solanum tuberosum</i> L, <i>Olea europaea</i> , in vitro, nutrition , électrophorèse.		
Laboratoire de développement et valorisation des ressources phytogénétique. Département de biologie et écologie végétale .Faculté de biologie .université Mentouri Constantine.		
<b>Directeur de recherche</b> : BENLARIBI Mostafa		
<b>Membre de jury</b> :		
<b>Président</b> :	Prof R .MERGHEM	
<b>Rapporteur</b> :	Prof M .BENLARIBI	
<b>Examineurs</b> :	Prof M .M. BENTCHIKOU	
	Prof D .KHELIFI	