

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي  
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE  
SCIENTIFIQUE

المدرسة الوطنية العليا للعلوم الفلاحية  
ECOLE NATIONALE SUPERIEURE AGRONOMIQUE EL-HARRACH-ALGER

## Mémoire

En vue de l'obtention du diplôme de Master

Département : Botanique

Spécialité : Interaction plantes – pathogènes et protection des plantes

## THEME

**Propagation sanitaire de boutures de**  
***Solanum tuberosum L. in-vitro***

Présenté par : DJELLALI Affaf

Soutenu le : 20 /12 / 2017

### Jury :

Présidente :	Mlle. LASSOUANE N.	MCB à l'ENSA
Promotrice :	Mme. BOUGHRAROU F.	MAA à l'ENSA
Examineurs :	Mr. TAOUTAOU A.	MCB à l'ENSA
	Mr. LEHAD A.	MAB à l'ENSA

Promotion : 2012/2017

# *Table des matières*

<b>liste des tableaux.....</b>	<b>I</b>
<b>Liste des figures .....</b>	<b>II</b>
<b>Liste des abréviations.....</b>	<b>III</b>
<b>Introduction :.....</b>	<b>1</b>
<b>Partie I : synthèse bibliographique.....</b>	<b>3</b>
<b>Chapitre I : généralité sur la culture de la pomme de terre.....</b>	<b>3</b>
I.1. Origine et historique de la pomme de terre :.....	3
I.2.La culture de la pomme de terre : .....	3
I.2.1.Dans le monde.....	3
I.2.2. En Algérie .....	4
I.3. Situation et importance économique :.....	<b>5</b>
I.3.1. Dans le monde : .....	5
I.3.2. En Algérie : .....	5
I.4.Description de la plante : .....	<b>6</b>
I.4.1.Représentation botanique :.....	6
I.4.2.Origine génétique :.....	7
I.4.3.Variabilité : .....	7
I.5.Aspect physiologique de la croissance et du développement :.....	<b>8</b>
I.5.1.Cycle végétative :.....	8
I.5.1.1. phase de repos végétatif :.....	8
I.5.1.2.phase de germination : .....	8
I.5.1.3.Phase de croissance :.....	8
I.5.1.4.Phase de tubérisation :.....	8
I.6.Les différents types de culture de la pomme de terre en Algérie :.....	<b>9</b>
I.6.1. Culture de primeur :.....	9
I.6.2.Culture de saison :.....	9
I.6.3.Culture d'arrière-saison : .....	9
I.7. Les différentes variétés de la pomme de terre cultivée :.....	<b>10</b>
I.8.1. Les maladies fongiques :.....	10
I.8.2. Les maladies bactériennes : .....	12

I.8.3. Les nématodes :.....	12
I.8.4. Les ravageurs :.....	13
I.8.5. Les maladies virales :.....	13
I.8.5.1. Virus de l'enroulement des feuilles de la pomme de terre (Potato Leaf Virus) :PLRV.....	13
I.8.5.2. Virus Y de la pomme de terre ou potato virus Y (PVY) :.....	13
I.8.5.4. Virus X de la pomme de terre ou potato virus X(PVX) :.....	14
<b>Chapitre II : lutte contre les maladies virales de la pomme de terre .....</b>	<b>16</b>
II.1. Les stratégies de lutte : .....	16
II.1.1. L'utilisation des semences certifiées : .....	16
II.1.2. La sélection sanitaire ou conservatrice : .....	16
II.1.3. Contrôle de vecteur : .....	17
II.1.4. pulvérisation des huiles minérales : .....	17
II.1.5. Amélioration génétique de la résistance aux virus : .....	17
<b>Chapitre III : la culture <i>in-vitro</i> .....</b>	<b>18</b>
III.1.Généralité : .....	18
III.2.Les catégories de la culture <i>in-vitro</i> : .....	18
III.2.1. La catégorie de la culture <i>in-vitro</i> non conforme :.....	18
III.2.1.1. Haploéthodes :.....	18
III.2.1.2. Variation somaclonale :.....	18
III.2.2. La catégorie de la culture <i>in-vitro</i> conforme :.....	19
III.2.2.1. La micropropagation : .....	19
III.2.2.2.La culture de méristèmes ou d'apex de tige : .....	19
III.2.2.3. Embryogenèse somatique :.....	20
III.2.2.4. La microtubérisation :.....	20
III.3. Les facteurs influençant la culture <i>in-vitro</i> : .....	21
III.3.1. Facteurs extrinsèques : .....	21
III.3.1.1. Photopériode :.....	21
III.3.1.2. lumière :.....	21
III.3.1.3. température :.....	21
III.3.1.4. potassium :.....	22
III.3.1.5. rapport azote / carbone :.....	22
III.3.1.6. saccharose :.....	22
III.3.1.7. nombre de nœuds par bouture : .....	22
III.3.1.8. type de milieu : .....	22

III.3.1.9. Facteurs de croissance : .....	23
III.3.2. Facteurs intrinsèques .....	23
III.3.2.1 Position de l'explant : .....	23
III.3.2.2. Age physiologique du tubercule mère : .....	23
III.3.2.3. Génotype : .....	23
III.3.2.4. Dormance : .....	23
III.4. Les avantages de la culture <i>in-vitro</i> : .....	24
III.5. Les inconvénients : .....	24
III.6. Diagnostique sérologique : .....	25
III.6.1. Définition : .....	25
III.6.2. Principe du test ELISA : .....	25
<b>PARTIE II : Matériels et méthodes</b> .....	<b>26</b>
I. La micropropagation : .....	26
I.1. Matériel : .....	26
I.1.1. Le matériel végétal utilisé dans notre expérimentation .....	26
I.2. Méthodes : .....	<b>30</b>
I.2.1. Germination des semences .....	30
I.2.3.1. Stérilisation du milieu de culture .....	34
I.2.3.2. La Stérilisation des instruments .....	34
I.2.3.3. Stérilisation du matériel végétal .....	34
I.2.3.4. Solutions stérilisantes .....	34
I.2.3.5. préparation des explants et leur mise en culture : .....	36
I.2.4. Culture proprement dite : .....	<b>36</b>
I.2.4.1. Conditions d'asepsie .....	36
I.2.4.2. Mise en culture .....	38
I.2.4.3. Les repiquages .....	38
II.1. Matériels : .....	38
II.1.1. Matériel végétal .....	38
II.1.2. les seras-tampons utilisés .....	39
II.1.3. Appareils utilisés : .....	39
II.2.1.3. Protocole expérimental en DAS-ELISA : .....	41
II.2.1.4. Test ELISA sur semence : .....	42
II.2.1.5. Test ELISA sur vitroplants : .....	44
II.2.1.6. Analyse statistique : .....	<b>44</b>

<b>Partie III : Résultats et discussion .....</b>	<b>45</b>
I.La micropropagation :.....	<b>45</b>
I.1. Taux de contamination :.....	45
I.2. Taux de reprise :.....	47
I.3. Morphologie des plantules :.....	49
I.3.1. La forme adulte :.....	49
I.3.2. La forme juvénile :.....	49
I.4. la morphogénèse .....	<b>54</b>
I.4.1. Nombre moyen de racines par vitroplant (NR/Vp).....	54
I.4.1.1. Influence du génotype .....	54
I.4.1.2. Influence de la génération .....	54
I.4.2.2. Influence de la génération .....	55
I.4.3.1. Influence de génotype .....	57
I.4.3.2. Influence de génération .....	57
I.4.4. Hauteur moyenne de la tige (HT/Vp) .....	57
I.4.4.1. Influence du génotype .....	57
I.4.4.2. Influence de génotype .....	58
II.Résultats du test sérologique (DAS-ELISA) .....	<b>60</b>
II.1. Sur semences avant micropropagation : .....	60
II.2. Sur vitroplants après micropropagation : .....	60
<b>Conclusion générale : .....</b>	<b>62</b>
<b>Références bibliographiques .....</b>	<b>64</b>
<b>Annexe .....</b>	<b>74</b>
<b>Résumé</b>	

**Résumé :**

Ce travail vise à étudier la multiplication *in-vitro* de la pomme de terre *Solanum tuberosum* L. par la technique de la micropropagation. Pour cela nous avons fait la multiplication de germes de huit variétés de pomme de terre dans un milieu dépourvu de régulateurs de croissance, après plusieurs repiquages sur ce milieu nous avons obtenu de manière intensive des plantules à l'état juvénile. Les résultats montrent qu'il y avait des comportements différents tout au long de la micropropagation.

Pour un diagnostic rapide des virus on a appliqué le test ELISA sur les tubercules-mères et les vitroplants, ce test a révélé la présence du virus (PLRV) sur les tubercules-mères des variétés Désirée, Diamant et Kuroda et le virus (PVX) sur la tubercule-mère de la variété Ultra, présumées indemnes de virus.

Le résultat du test sur les vitroplants obtenues par micropropagation *in-vitro* a révélé l'absence des virus préexistant dans les tubercules de départ.

**Mots clé :** *Solanum tuberosum* L., Micropropagation, Test ELISA.

**Abstract :**

This work aims to study the in-vitro propagation of potato *Solanum tuberosum* L. by the micropropagation technique. For this we multiplied the germs of eight varieties of potato in a medium without growth regulators, after several subcultures on this medium we intensively obtained seedlings in the juvenile state. The results show that there were different behaviors throughout the micropropagation..

For a rapid diagnosis of the viruses, the ELISA test was applied to the mother tubers and tissue culture plants. This test revealed the presence of the virus (PLRV) on the mother tubers of Desiree, Diamond and Kuroda varieties and the virus (PVX) on the mother tuber of the Ultra variety, presumed free from viruses.

The result of the in vitro micropropagation test revealed the absence of pre-existing viruses in the starting tubers.

**Key words:** *Solanum tuberosum* L., Micropropagation, ELISA test.

## ملخص

يهدف هذا العمل إلى دراسة طرق التضاعف الانبوبي في المختبر عند البطاطس *Solanum tuberosum* L. بواسطة تقنية التكاثر الدقيق. لهذا الغرض، قمنا بإجراء اختبار لثماني أنواع من البطاطس في وسط خال من هرمونات النمو وبعد العديد من الزراعات تحصلنا على نباتات فتية. النتائج التي تم الحصول عليها اظهرت سلوكيات مختلفة. من أجل التشخيص السريع للفيروسات تم تطبيق الاختبار المصلي (ELISA) على الدرناات الأم والنباتات الفتية، وكشف هذا الاختبار عن وجود الفيروس (PLRV) في الدرناات الأم للأنواع Diamant ، Désirée و Kuroda والفيروس (PVX) عند النوع Ultra المفترض انها خالية من الفيروسات. وكشفت نتيجة الاختبار المصلي على النباتات الفتية عدم وجود الفيروسات الموجودة مسبقا في الدرناات الام. **الكلمات المفتاحية:** البطاطا، الافتسال الدقيق، الاختبار المصلي.