

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
UNIVERSITE BADJI MOKHTAR_ANNABA

Faculté des Sciences

Département de Biologie

Licence : Biotechnologies Végétales et Amélioration

Matière : Multiplication végétative et biotechnologies



Présentée par : Mme Zerari L.

Année Universitaire : 2019-2020

OBJECTIF :

Le principal objectif de cette matière est d'acquérir les connaissances de base nécessaires à la production d'un individu clone à partir d'un fragment végétatifs ou encore de cal cellulaire de l'individu mère tout en préservant sa fertilité et sa conformité génétique ; ainsi de maîtriser les différentes techniques in vitro et de connaître leurs domaines d'application.

Plan du cour 1

Introduction

définition de la culture in vitro

Application de la culture in vitro

Facteurs influençant

Avantages

Limites de la technique

Chapitre 1

Chapitre 2

Chapitre 3

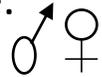


Introduction

La reproduction chez les végétaux supérieurs

Sexuée

Intervention des gamètes male et femelle.



Asexuée (végétative)

- Marcottage
 - Bouturage
 - Greffage
 - Multiplication par stolons
 - Les phénomènes de viviparité
 - La multiplication des plantes bulbeuses..
 - **Culture in vitro**
- Naturelle
 - artificielle

.....les années 80 introduction de la culture in vitro dans l'agriculture !



- ✓ L'élaboration de nouvelles variétés (**horticulture**).
- ✓ La production des plants (**culture des conifères**).
- ✓ Résistance aux différentes maladies et pathogènes (**cultures de la tomate et de la vigne**).
- ✓ Acclimatation aux différents environnements (**culture des bananiers et des cacaotiers**).
- ✓ Préserver les espèces menacées ou en voie de disparition (**orchidées**).



Pourquoi la culture in vitro?

Plus de 300 espèces de plantes sont multipliées in vitro de manière industrielle, dont certaines sont multipliées uniquement par voie in vitro.

- ✓ De nombreuses variétés de plantes horticoles et maraîchères de grand intérêt, anciennes ou nouvelles, ont été sauvées de la menace de disparition, car virosées, par culture de méristèmes.
- ✓ La commercialisation des plantes carnivores protégées et des orchidées.
- ✓ Création des banques de conservation des variétés anciennes et menacées de disparition.
- ✓ Sauvegarder la diversité des espèces sauvages et les espèces rares ou difficiles à multiplier naturellement.
- ✓ Mettre plus rapidement sur le marché les plants certifiés.

Définition de la culture in vitro

La technique **in vitro** est un mode de **multiplication végétative artificielle** qui permet la régénération d'une plante entière autonome et fertile à partir de **fragments** de plante ou des **cellules** sur des **milieux nutritifs artificiels**.

Les premiers essais de culture in vitro datent de la fin du 19^{ème} siècle grâce aux travaux du botaniste autrichien G. Haberlandt qui en 1902 formule les premières idées sur lesquelles reposent les cultures de tissus.

Elle repose sur le concept de la totipotence cellulaire défini selon **Haberlandt** comme suit « la cellule, unité morphologique et physiologique de l'être vivant, est capable d'autonomie. Elle possède toute l'information génétique nécessaire pour régénérer la plante entière, à condition de créer les conditions convenables».

➔ Cette technique de multiplication est par ailleurs défini comme étant la culture d'explants de plantes, sur un **milieu nutritif artificiel**, en conditions **stériles**, dans un environnement **contrôlé** et dans un espace **réduit**. Elle fait intervenir d'une part l'asepsie (stérilisation du matériel, désinfection des explants) et d'autre part des **conditions de culture particulières** (milieux de culture contrôlés et bien définis, température, lumière, humidité,...).



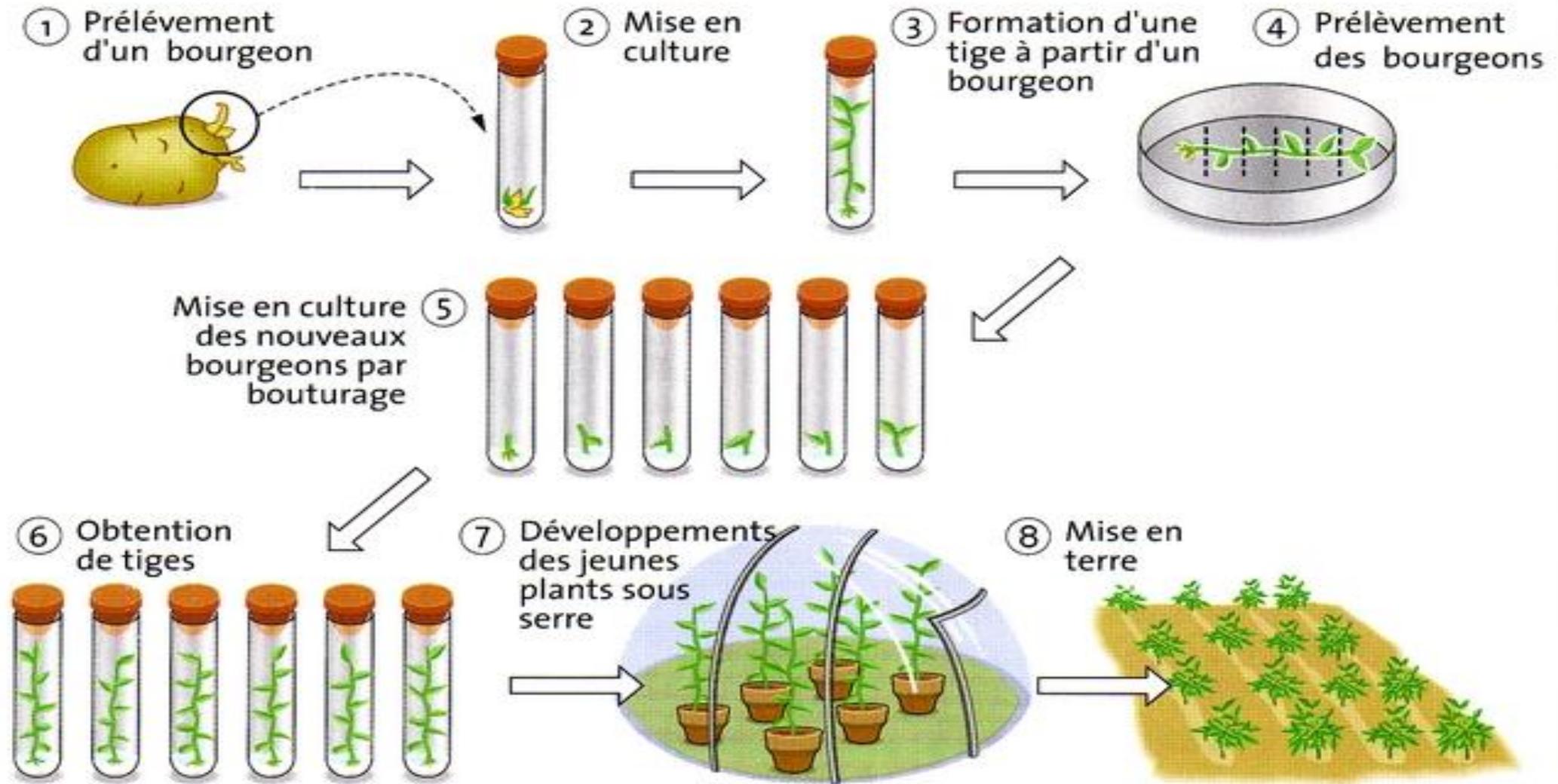
Application de la culture in vitro

Par micropropagation, par embryogénèse somatiques, par la culture des protoplastes

➔ Elle s'applique sur des organes entiers (tige, feuille, racine, fleurs, etc.),

➔ ou à des fragments d'organes appelés les explants (graine immature, embryon, ovule, pollen, bourgeon terminal, bourgeon axillaire, morceau de tige, morceau de feuille, pétales de fleur, Etc...).

Exemple:



Facteurs influençant

1. Lumière et Photopériode

- Indispensable à certains processus morphogénétiques.
- Importante au développement, prolifération et croissance des cals.
- Puissance lumineuse → la durée de l'éclairement + la qualité spectrale.
- une faible intensité lumineuse avec **12 à 16** heures de photopériodes avec une  lors du repotage.

2. Température

- Importante et indispensable.
- Constante et régulée entre **20 et 25° c** en continu.

3. Hygrométrie

- elle doit atteindre les **100%** d'humidité relative dans les flacons.
- **!!** il faut veiller à ne pas noyer les explants par un excès de condensation.

4. Milieu de culture



Constitués de sels minéraux, de substances organiques, de phytohormones et d'extraits naturels :

Les éléments minéraux

- Les macroéléments (N, P, K, S, Mg et Ca) absorbés sous forme d'ions.
- Les microéléments ou oligo-éléments (B, Mn, Zn, Cu, Ni, Co, Mo, Al, I, Fe), nécessaires à la plante qu'en faibles concentrations.

Les éléments organiques

- Le saccharose (source d'énergie).

Les vitamines

- Tel que la thiamine, l'acide nicotinique, la pyridoxine.

Les phytohormones ou régulateurs de croissance

Indispensables au bon démarrage et à l'entretien des tissus végétaux des cultures in vitro: Auxines, Cytokinines, Gibbérellines, Acides abscissiques, Ethylènes (peuvent agir en synergie ou en antagonisme).

Avantages



- La possibilité de conservation de ressources végétales.
- La production de substances biochimiques intéressantes pour l'industrie, et les secteurs agroalimentaires.
- L'obtention de clones sélectionnés pour leur vigueur, leurs caractères intéressants (Chrysanthème, Fraisier, Bananier), leur rareté (Orchidées).
- La possibilité de propagation de plantes réfractaires au bouturage.
- L'assainissement des végétaux et l'amélioration des conditions sanitaires par la possibilité d'éradication des viroses par exemple.
- La production rapide et en masse à n'importe quel moment de l'année et le raccourcissement des cycles de vie des végétaux.
- La facilité de stockage et conservation sur de très petites surfaces, mais aussi du transport des plantes produites d'une région à une autre.

Limites de la technique



- L'exigence d'une main d'œuvre qualifiée et d'une technicité élevée.
- Possibilité de perte de caractères intéressants : la production répétée de grands nombres de clones peut entraîner la perte des gènes intéressants tels que les gènes de la résistance à certaines maladies.
- Le problème de contamination : ce problème peut être dû selon Casselle, (1987) soit à l'explant ou à la technique, en effet, la présence de micro-organismes, bactéries, champignons, virus, qui, s'ils ne sont pas totalement éliminés, peuvent contaminer la culture.