

TABLE DES MATIERES

TABLE DES MATIERES	i
GLOSSAIRE	iii
LISTE DES ABREVIATIONS	iv
LISTE DES FIGURES	v
LISTE DES TABLEAUX	vi
LISTE DES PHOTOS	vi
LISTES DES PLANCHES	vi
LISTES DES ANNEXES	vi
INTRODUCTION	1
PARTIE I : GENERALITES	
I. Historique	4
II. Description botanique.....	4
III. Cycle de développement	5
IV. Systèmes de cultures de bananier sur les côtes Est de Madagascar	6
V. Culture in vitro.....	6
V.1.1. Micropropagation	7
V.1.2. Dominance apicale	7
V.1.3. Milieu de culture	7
PARTIE II : MATERIEL ET METHODES	
I. MATERIEL.....	10
I.1. Matériel végétal	10
I.1.1. <i>Musa sapientum</i> L. Variété Grande naine.....	10
a. Description	10
b. Classification botanique	10
I.1.2. <i>Musa esculenta</i> L. Variété Figue sucrée	11
a. Description	11
b. Classification botanique	11
I.2. Site de récolte des matériels végétales	12
II. METHODES	13
II.1. Stérilisation des matériels et équipements	13
II.2. Préparation et stérilisation des milieux de culture	13
II.3. Etablissement de la culture aseptique	14

TABLE DES MATIERES

II.4. Régénération in vitro des explants des variétés Grande naine et Figue sucrée.....	15
II.5. Micropropagation des deux variétés Grande naine et Figue sucrée	16
II.5.1 Traitement chimique par utilisation du Benzyle Adénine (BA)	16
II.5.2 Traitements physiques	17
II.5.2.1. Levée de dominance apicale par blessure de l'apex	17
II.5.2.2. Variation du régime lumineux	18
II.6. L'acclimatation.....	18
II.7. Analyses statistiques.....	19

PARTIE III : RESULTATS ET INTERPRETATIONS

I. Taux de contamination.....	21
II. Taux de régénération à partir de la culture d'apex.....	21
III. Micropropagation des deux variétés Grande naine et Figue sucrée	21
III.1. Effet de l'hormone BA sur la croissance en hauteur des vitroplants	21
III.2. Effet de l'hormone BA sur la production de feuilles des vitroplants.....	22
III.3. Effet de l'hormone BA sur la prolifération de pousses des vitroplants	23
III.4. Effet de l'hormone BA sur l'enracinement des vitroplants	25
IV. Les traitements physiques	26
IV.1. Effet de la levée de dominance apicale sur la prolifération des pousses	26
IV.2. Effet de la variation du régime lumineux sur la prolifération des pousses axillaires.....	28
V. Acclimatation.....	29

PARTIE IV : DISCUSSIONS

I. Stérilisation des matériels et établissement d'une culture aseptique	30
II. Traitements chimiques	30
II. Traitements physiques.....	31

CONCLUSION ET PERSPECTIVES	27
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	33
WEBOGRAPHIE.....	41
ANNEXES.....	I

GLOSSAIRE

Apex : Sommet du bourgeon, à l'origine des organes, constitué de méristème entouré d'ébauches foliaires.

Âpreté : Caractère de ce qui est âpre, rudesse.

Autoclave : Récipient à parois épaisses et à fermeture hermétique, destiné à réaliser sous pression soit une réaction industrielle, soit la cuisson ou la stérilisation à la vapeur.

Bunchy top : Une maladie très grave du bananier. Elle est due à un virus, qui en se multipliant dans la sève, entraîne des troubles de croissance du bananier.

Charançons : Un petit insecte de 2 à 4 mm, noir, parfois rouge, allongé, à dos plat.

Cercosporiose noire ou sigatoka noir : Une maladie foliaire du bananier causée par le champignon ascomycète *Mycosphaerella fijiensis* (Morelet).

Dominance apicale : Manifestation sous l'influence du bourgeon terminal par l'inhibition de la croissance des bourgeons latéraux chez les végétaux.

Explant : Toute partie d'une plante prélevée pour la culture de tissus.

In vitro : Réactions chimiques, physiques, immunologiques ou toutes les expériences et recherches pratiquées au laboratoire, en dehors d'un organisme vivant.

Méristème : Territoire localisé du végétal au niveau duquel s'effectue la prolifération des cellules.

Méristème apical caulinaire du bananier (MAC) : Point central à l'intérieur du dernier des cercles concentriques de la pseudo-tige.

Parthénocarpie : Développement spontané du fruit sans stimulation des fleurs par la fécondation.

Phytohormone : Hormone d'origine végétale, substance biologique hautement active qui régule la croissance et le développement des plantes.

Plantain : Variété de bananier produisant de fruit consommé cuit

Pousse : Jeune tige développée à partir d'un rameau d'un bourgeon terminal d'une plante qui se compose du méristème apical et des primordiaux foliaires.

Régime : Type d'inflorescence puis d'infrutescence en grappe particulière, propre à certaines familles de plante

Rejet : Pousse nouvelle qui apparaît sur une souche, un tronc ou une branche.

Vitroplants : Plantules issues de la culture *in vitro* cultivées dans des verreries (tube à essai, bocaux, boîtes de pétri) au laboratoire.

LISTE DES ABREVIATIONS

BA	: Benzyle Adénine
C.A.P.E.N	: Certificat d'Aptitude Pédagogique de l'Ecole Normale
CIDES	: Centre d'Information et de Développement Expérimental en Serriculture
CIRAD	: Centre de Coopération Internationale de Recherche Agronomique pour le Développement
FARM	: Fondation pour l'Agriculture et la Ruralité dans le Monde
FeEDTA	: Ethylènediaminetraacétiqueferrique
HCl	: Chlorure d'hydrogène
MAEP	: Ministère de l'Agriculture, de l'Elevage et de la Pêche
MS	: Milieu de culture de Murashige et Skoog
UV	: Ultra-Violet
Var	: Variété
FOFIFA	: Foibem-pirenena momba ny Fikarohana ampiharina amin'ny Fampandrosoana ny eny Ambanivohitra

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Représentation d'un bananier à la fructification.....	5
Figure 2 : Cycle de développement du bananier.	6
Figure 3 : Bulbe de bananier	7
Figure 4 : Hauteur moyenne des vitroplants selon les différentes concentrations de BA.....	22
Figure 5 : Nombre moyen de feuilles produites en fonction de la concentration de BA chez les variétés Grande naine et Figue sucrée	23
Figure 6 : Nombre moyen de pousses proliférées par <i>vitroplant</i> en fonction de la concentration en BA chez les deux variétés.....	24
Figure 7 : Nombre moyen de racines produites par <i>vitroplants</i> en fonction de la concentration en BA chez les variétés Grande naine et Figue sucrée.....	25
Figure 8 : Nombre moyen de pousses proliférées en fonction de la levée de dominance apicale après un mois de culture	26
Figure 9 : Nombre de pousses proliférées en fonction de la variation du régime lumineux après un mois de multiplication	28
Carte : Site de récolte de <i>Musa sapientum</i> L Var. Grande Naine et <i>Musa esculenta</i> L Var. Figue sucrée.....	13

LISTE DES TABLEAUX

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1: Les différentes concentrations en BA pour le traitement chimique.....	17
Tableau 2: Taux de régénération des <i>vitroplants</i> à partir de la culture de l'apex du rhizome des bananiers Grande naine et Figue sucrée.....	21
Tableau 3: Taux de survie des plantules de Grande naine et de Figue sucrée pendant l'acclimatation	29

LISTE DES PHOTOS

Photo 1 : Variété Grande naine au stade de fructification	12
Photo 2 : Variété Figue sucrée au stade de fructification	12
Photo 3: Levée de la dominance apicale par blessure du méristème apicale	18
Photo 4: Pousses issues de la variété Grande naine ayant subi la levée de dominance apicale après un mois de culture.	27
Photo 5: Pousses issues de la variété Figue sucrée ayant subi la levée de dominance apicale après un mois de culture.....	27
Photo 6 : Plantules acclimatées après un mois d'acclimatation	29

LISTES DES PLANCHES

Planche 1: Stérilisation et initiation de l'explant de bananier Grande naine et de Figue sucrée	16
Planche 2 : Etapes à suivre pour l'acclimatation des plantules	19

LISTES DES ANNEXES

Annexe I : Composition du milieu de base de MURASHIGE et SKOOG modifié (1962).I	
Annexe II: Composition des vitamines du milieu de base.....	I
Annexe III: Classification et répartition géographique de principales variétés.....	II
Annexe IV : Valeur nutritive de la banane dessert.....	III

RapportGratuit.com

A Madagascar, la banane est connue vers 500 ans après Jésus Christ, apportée avec les migrations humaines (<http://1>). Le bananier est rencontré dans tout Madagascar mais sa culture est essentiellement concentrée sur la Côte-Est, notamment dans les ex-provinces de Toamasina et de Fianarantsoa jusqu'à 800-900 m d'altitude (MAEP, 2004). En 2012, plus de 110 millions de tonnes de bananes ont été récoltées dans le monde dont 90 % de la production sont consommés sur place et essentiellement dans les pays les plus pauvres d'Afrique, d'Amérique latine et d'Asie (<http://2>).

La banane tient la troisième place dans la culture fruitière tropicale et quatrième dans la culture vivrière du monde. C'est un élément clé de l'alimentation du monde en développement (MICHELS, 2010). Près de 1 000 variétés de bananiers poussent à travers le monde (Annexe III), mais la grande majorité des bananes dessert d'exportation est de type Cavendish. Il existe aussi la banane Figue, la banane rose et la banane plantain (<http://3>). Le prix d'un kilo des bananes desserts a été de 1400Ar en 2017(<http://4>)..

Les bananes offrent des multiples usages. Elles sont consommées principalement sous forme de fruit frais ou comme légume cuit ou de friture, mais elles font également l'objet de nombreuses transformations : chips, beignets, purée, confiture, « ketchup », alcool, vin, bière, etc. D'autres parties de la plante sont utilisées comme fibre textile, pour la construction d'abris, la fabrication de couvertures ou comme emballages de cuisson (LASSOUDIERE, 2007).

Toutefois, à Madagascar, la faible productivité de bananier est due essentiellement aux techniques culturales non améliorées et à l'insuffisance du nombre de variétés améliorées (résistantes aux maladies, plus productives et ayant de bonne qualités organoleptiques) vulgarisées aux paysans (RAMAMONJISOA, et FRANÇOIS, 2005)

Par ailleurs, la plupart de la culture et de la conservation *in-situ* des bananiers sont attaquées par des ravageurs: les charançons ou *Cosmopolites sordidus*, la chenille, les nématodes... ; et par des maladies dues aux champignons: la maladie du Panama ou Fusariose, la Cercosporiose noire ou « Black-Sigatoka » ou *Mycosphaerella fijiensi* et la Cercosporiose jaune ou *Mycosphaerella musicola*). Il y a aussi les maladies virales comme « Cucumber Mosaic Virus » ou CMV causée par le virus mosaïque du concombre et « Banana Bunchy Top Virus » ou BBTV qui est un virus transmis par un insecte, l'aphide *Pentalonia nigronervosa* (TINDO et al, 2010). A Madagascar, la culture de bananier de la côte-Est est

attaquée par la maladie de Panama due aux champignons *Fusarium oxysporum F. sp. Cubense* (RAVELOMANANTSOA, 2008) et les principaux ravageurs sont des insectes tels que les charançons noirs (<http://5>).

D'un autre côté, le manque de matériel végétal de bonne qualité sanitaire est l'une des contraintes majeures de l'extension et de la pérennisation des plantations de bananiers tels les bananes dessert et les bananes à cuire ou plantains (MEMENTO DE L'AGRONOME, 1984 ; CIRFA, 1992).

L'utilisation de la culture *in vitro* plus précisément la micropropagation permet de lever, dans une certaine mesure, ces contraintes (YOUUMBI et al, 2004). Dès 1902, Haberland, un biologiste allemand observe les potentialités naturelles de la multiplication végétative dont le bouturage. Suite à ces travaux, il a énoncé le premier grand principe qui a ouvert la voie de la micropropagation des végétaux. Il s'agit du principe de la totipotence cellulaire.

Une bonne bananeraie nécessite un matériel de plantation de qualité. L'utilisation de rejets sains est nécessaire pour répondre aux attentes des producteurs, des transformateurs et des consommateurs (LOKOSSOU et al, 2010). La technique de la multiplication *in vitro* contribue à la production en masse et à l'obtention d'un nombre considérable de plantes génétiquement identiques à la plante mère. Généralement, le taux de multiplication *in vitro* peut atteindre 100 à 1000 fois (FERRY et al. 1998 ; SEMAL, 1998).

L'hypothèse de cette étude est que la levée de dominance apicale en détruisant le méristème apical par une blessure, et la stimulation du débourrement des bourgeons axillaires en utilisant des régulateurs de croissance, favoriseraient la prolifération des pousses et donc la multiplication rapide des clones. La présente étude se focalise sur les effets des traitements physiques et chimiques sur la micropropagation de deux variétés de bananier sélectionnées par le FOFIFA. « *Musa sapientum L.* Var. Grande naine (Batavia ou Ambo) et *Musa esculenta L* Var. Figue sucrée (ou Ranjaliha) ».

L'objectif général de ce travail est de produire des plantes saines et vigoureuses, disponibles pour une culture à grande échelle.

Les objectifs spécifiques de cette présente recherche sont :

- D'optimiser les concentrations de régulateur de croissance dont celles de Benzyle Adénine (BA) appropriées pour la micropropagation *in vitro* de ces deux variétés de banane.

- D'évaluer les effets des traitements physiques telles la levée de dominance apicale et la variation du régime lumineux sur la prolifération des pousses axillaires.

Ce travail se divisera en quatre parties dont la première partie se consacrera sur les généralités, la deuxième se basera sur le matériel et méthodes, la troisième partie traitera les résultats et les interprétations et en fin la dernière partie comportera les discussions suivie de la conclusion et perspectives.

GENERALITES

PARTIE I : GENERALITES

I. Historique

Le bananier est originaire de l'Asie du Sud-Est, particulièrement de la région située entre l'Inde et les Iles Pacifiques. Par l'intermédiaire des migrations indo-malaises, certains groupes de bananiers sont arrivés en Afrique. De l'Afrique, les bananes et plantains ont été amenés en Amérique Latine par les Espagnoles et les Portugais. (SWENNEN, R., 1998). Il fut introduit en Afrique de l'Est, en Chine, en Mélanésie, dans le pacifique sud à partir du commencement de l'ère chrétienne. Sa culture a commencé à Madagascar vers 500 (<http://6>).

Les sous-groupes de cultivars diploïdes AA (variété Figue sucrée), notés AACvs, dérivent de l'hybridation entre différentes sous-espèces de *M. acuminata* dans les îles de l'Asie du Sud-Est et l'Ouest de la Mélanésie, impliquant des mouvements de populations humaines durant l'Holocène (il y a environ 11000 ans). Puis, des méioses anormales ont pu, dans ces cultivars AA comestibles, créer occasionnellement des gamètes diploïdes. La fusion d'un gamète diploïde avec un gamète haploïde génère un génotype triploïde stérile. Des triploidisations spontanées, impliquant presque tous les cultivars AA ont conduit, à travers la propagation végétative de ces bananiers réalisée par l'homme, à la diversité actuelle des cultivars triploïdes il s'agit des groupes purs AAA (Variété Grande naine) ou interspécifiques AAB et ABB (<http://7>).

II. Description botanique

Le bananier est une plante herbacée de grande taille qui peut mesurer de 1,5 à 8 m selon les variétés (LASSOUDIERE, 2007).

Les bananes sont des fruits parthénocarpiques, charnues, sans aucune graine. Le faux tronc est en réalité constitué de gaines foliaires, étroitement imbriquées les unes dans les autres. Il ne possède pas de tige aérienne, la vraie tige ou rhizome est souterraine : un bulbe, à partir duquel sont issus les rejetons qui, en grandissant, deviennent des rejets, c'est-à-dire de nouveaux jeunes bananiers (Figure 1). Le rhizome de forme globuleuse est vivace et constitue le centre de développement du bananier. Le méristème terminal produit des feuilles au cours de la phase végétative puis se transforme en bourgeon floral pour initier la phase reproductive (DAMME, 2013).

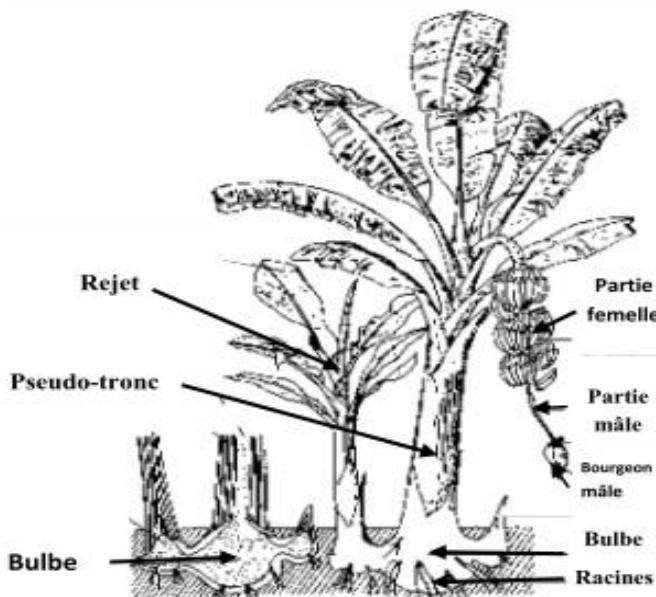


Figure 1 : Représentation d'un bananier à la fructification (CHAMPION ,1963)

III. Cycle de développement

La banane est présente en toutes saisons mais accuse une baisse de l'offre pendant la période hivernale (juin, juillet, août) (MAEP, 2004).

Le bananier se multiplie végétativement par le rhizome et les rejets. Le cycle de développement du bananier est caractérisé par trois phases (Figure 2). Pendant chaque phase, il y a la formation d'un nombre déterminé de feuilles. Cette formation de feuilles dépend de l'état physiologique de la plante et de la température. Si la température est comprise entre 28 à 30°C pendant le jour et 16°C pendant la nuit, il y aura la formation d'une feuille toutes les deux semaines (MAKAVELO, 2011). Les trois phases qui caractérisent le cycle de développement du bananier sont :

Phase végétative : C'est au début de la première phase que les potentialités de développement sont déterminées. C'est durant cette phase que la nutrition azotée et potassique est la plus importante par rapport aux autres phases. Elle dure 6 à 8 mois;

Phase de floraison ou phase reproductive : C'est dans cette deuxième phase que le pseudo- tronc ne grossit plus. Cette phase dure 3 à 4 mois;

Phase de fructification ou phase productive : Cette troisième phase dure 3 à 4 mois et se caractérise par la diminution de la surface foliaire en faveur du développement de

l'inflorescence. Le besoin en nutrition azotée diminue alors que celui en potassium augmente (<http://8>).

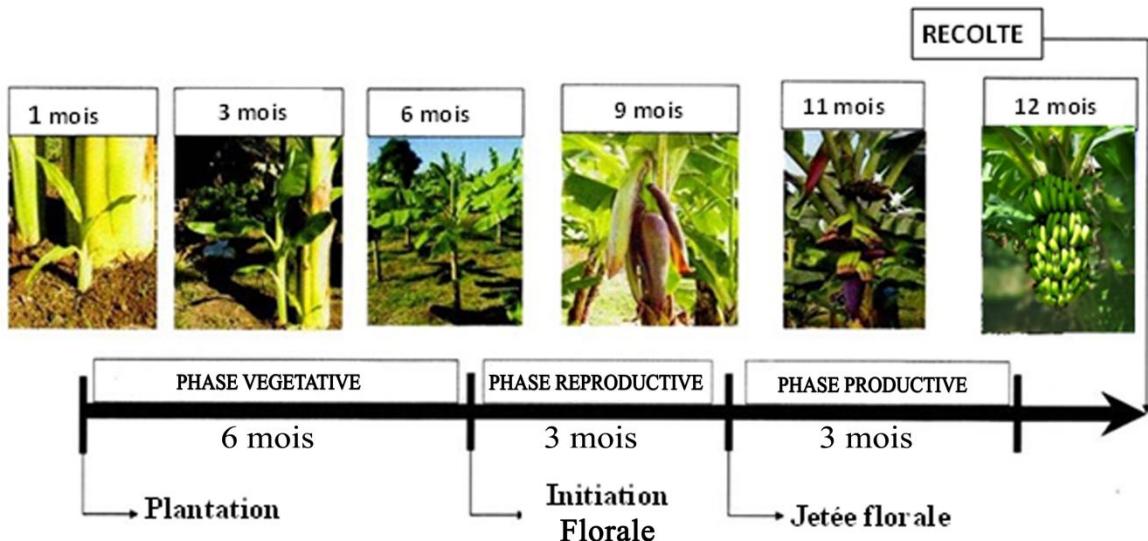


Figure 2 : Cycle de développement du bananier (source <http://8>).

IV. Systèmes de cultures de bananier sur les côtes-Est de Madagascar

On distingue trois systèmes de culture :

- **Culture villageoise** : comportant 10 à 60 pieds avec un mélange de plusieurs variétés de bananier. Les plants sont souvent de bonne présentation en bénéficiant de la matière organique apportée par les déchets ménagers ;
- **Culture extensive** : comportant un minimum de 50 pieds. Les plantes sont souvent associés à des cultures fruitières comme les letchis, du caféier, et à des cultures vivrières comme le manioc, la patate, la canne à sucre... ;
- **Culture semi-extensive** : les plantations ont des tailles plus importantes avec plus de 700 pieds. Elles sont constituées d'une seule variété et la production est principalement destinée à la vente (MAEP, 2004)

V. Culture *in vitro*

- La culture *in vitro* est un terme très général pour désigner la culture de cellules ou de tissus qui se développent dans un milieu nutritif et stérile en conditions d'asepsie pour une période de temps indéfinie (CIDES, 1999). C'est une technique de laboratoire qui permet de multiplier des plantes en grand nombre, dans un espace réduit (QUENNOZ, 2001).

V.1.1. Micropagation

La micropagation est une mode de reproduction asexuée (reproduction végétative). C'est une multiplication *in vitro* d'un individu donné à partir des fragments végétaux (tiges, feuilles, racines) appelés « *explants* » placés sur un milieu de culture synthétique, faisant intervenir des éléments d'asepsie et d'un environnement parfaitement contrôlé (milieu de culture, température, lumière, humidité). La base biologique de la méthode est le développement de bourgeons préexistants sur les fragments de plantes mis en culture, ou l'induction de nouveaux bourgeons dits « *adventifs* » (néoformation) sur les explants (CIDES, 1999).

V.1.2. Dominance apicale

Sur un végétal herbacé ou sur les jeunes pousses des végétaux ligneux, le bourgeon terminal inhibe en général la formation des ébauches axillaires qu'il a engendrées en même temps que les feuilles ou qui se sont formées peu après l'édification des feuilles. Les plus proches de lui sont les plus petites. Par la dominance apicale, il y a une action inhibitrice qu'exerce le méristème apical (Figure 3) d'une plante en pleine croissance sur l'initiation ou le développement d'un rejet (<http://9>).

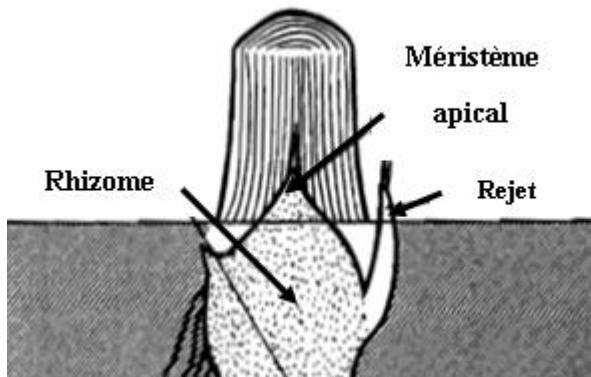


Figure 3 : Bulbe de bananier (BONTE et al, 1995)

V.1.3. Milieu de culture

Le milieu synthétique est adapté dans sa composition à la technique, l'explant, l'objectif et l'espèce étudiée. Il est en général composé d'eau, de macroéléments et de microéléments, de substances de croissance ou phytohormones, de vitamines, de sucre et d'un agent gélifiant (pour les milieux solides).

- **Les éléments minéraux**

Le milieu nutritif doit contenir des éléments minéraux car ceux-ci sont le support de molécules organiques indispensables au développement de la plante (BOULAY, 1993). Ces éléments sont au nombre de 6 et ils sont présents à forte concentration : l'azote, le calcium, le potassium, le souffre, le magnésium et le phosphore. Il y a également des microéléments ou oligoéléments présents en faible concentration, ce qui n'empêche leur rôle fondamental dans le développement de la plante. Ils sont composés de fer (Fe), cuivre (Cu), zinc (Zn), manganèse (Mn), molybdène (Mo), bore (B), chlore (Cl), cobalt (Co), nickel (Ni), iodé (I) (<http://10>).

- **Les éléments organiques**

- **Les sucres**

Dans le cas des tissus végétaux placés en culture *in vitro*, l'assimilation chlorophyllienne est nulle ou insuffisante pour assurer la survie et le développement de l'explant. Dès lors, des sucres sont ajoutés aux milieux de culture pour fournir à l'explant une source de carbone. Dans la nature, les sucres sont photosynthétisés à partir du gaz carbonique atmosphérique et de l'eau du sol. Les sucres utilisés en culture *in vitro* sont les sucres hydrosolubles tels le glucose, le fructose et le saccharose dont la concentration prescrite est en général de 30 g/l (KAHANE et RANCILLAC, 1996).

- **Les vitamines**

L'emploi de diverses vitamines favorise le développement des *vitroplants*. Les vitamines sont des substances organiques reconnues pour stimuler la croissance. Elles sont particulièrement utiles en micropropagation lorsqu'un fragment de la plante est utilisé pour générer des plantes entières car la synthèse endogène de vitamines risque d'être insuffisante et que le milieu devra y suppléer en conséquence (CIDES ,1999).

La thiamine, la pyridoxine, l'acide nicotinique et le myo-inositol sont les vitamines fréquemment utilisées dans les milieux de culture. En outre, la croissance des racines *in vitro* est impossible en l'absence des vitamines (<http://10>).

- **Les acides aminés**

Il a parfois été observé que l'apport d'acides aminés favorisait la prolifération. Les acides aminés peuvent être additionnés au milieu comme l'unique source d'azote

(<http://10>). Les aminoacides tels l'acide aspartique, l'asparagine, l'acide glutamique, la glutamine et l'arginine sont utilisés (<http://11>).

- **Les régulateurs de croissance**

Appelés généralement hormones végétales, ils induisent les phénomènes de croissance et de néoformation des organes. Ces substances de croissance se trouvent naturellement dans toutes les plantes. Cependant, des molécules possédant les mêmes propriétés peuvent être synthétisées artificiellement. Ces régulateurs de croissance sont ajoutés dans le milieu à des doses très faibles variant de 0,01 mg/l à 10 mg/l.

Les hormones les plus utilisées en culture *in vitro* sont principalement les auxines, les cytokinines. Les milieux ainsi constitués sont liquides. Il est nécessaire de les solidifier par l'ajout d'un gélifiant pour éviter que les *explants* ne tombent au fond des récipients et s'asphyxient (<http://12>).

- **L'agent gélifiant**

L'agent gélifiant tel que l'agar sert principalement à solidifier le milieu de culture mais peut aussi chez certaines espèces favoriser leur développement. Toutefois, d'autres espèces se développent mieux sur des milieux liquides (MURASHIGE, 1973 ; MILLER et MURASHIGE, 1976 ; <http://13>).

MATERIEL ET METHODES

PARTIE II : MATERIEL ET METHODES

I. MATERIEL

I.1. Matériel végétal

I.1.1. *Musa sapientum* L. Variété Grande naine

a. Description

La variété Grande naine ne dépasse pas les 2,75 m. C'est la banane commerciale par excellence. Elle a un cycle de production rapide. Les fruits sont courbés avec une peau assez fine et un bout bien pointu. Le pseudo-tronc est foncé (brun-noir). Le bananier porte des gros régimes cylindriques et réguliers dont la maturité est uniforme avec 10 mains ou plus, orientées vers le haut (Photo 1). Il est très sensible aux ravageurs comme le « bunchy top », les « charançons », et la « cercosporiose ». (<http://14>)

b. Classification botanique (<http://14>)

Règne	: PLANTAE
Classe	: LILIOPSIDA
Sous-classe	: ZINGIBERIDAE
Ordre	: ZINGIBERALES
Famille	: MUSACEAE
Groupe	: AAA (triploïdes)
Sous-groupe	: Cavendish
Genre	: <i>Musa</i>
Espèce	: <i>sapientum</i>
Variété	: Grande naine
Nom vernaculaire	: Batavia, Ambo

I.1.2. *Musa esculenta L.* Variété Figue sucrée

a. Description

C'est un bananier à feuillage caractéristique vert-jaune, aux fruits courts et très sucrés (Photo 2). Sa peau est de couleur jaune très clair, fine et délicate. Le pseudo tronc est de couleur verte. La variété Figue sucrée est connue par sa faible productivité; sinon c'est la banane-dessert par excellence. Présente sur les côtes africaines, elle est très sensible à la Cercosporiose (Martin, 1970).

b. Classification botanique (<http://14>)

Règne	: PLANTAE
Classe	: LILIOPSIDA
Sous-classe	: ZINGIBERIDAE
Ordre	: ZINGIBERALES
Famille	: MUSACEAE
Groupe	: AA (diploïdes)
Sous-groupe	: Sucrier
Genre	: <i>Musa</i>
Espèce	: <i>esculenta</i>
Variété	: Figue sucrée
Nom vernaculaire	: Ranjaliha



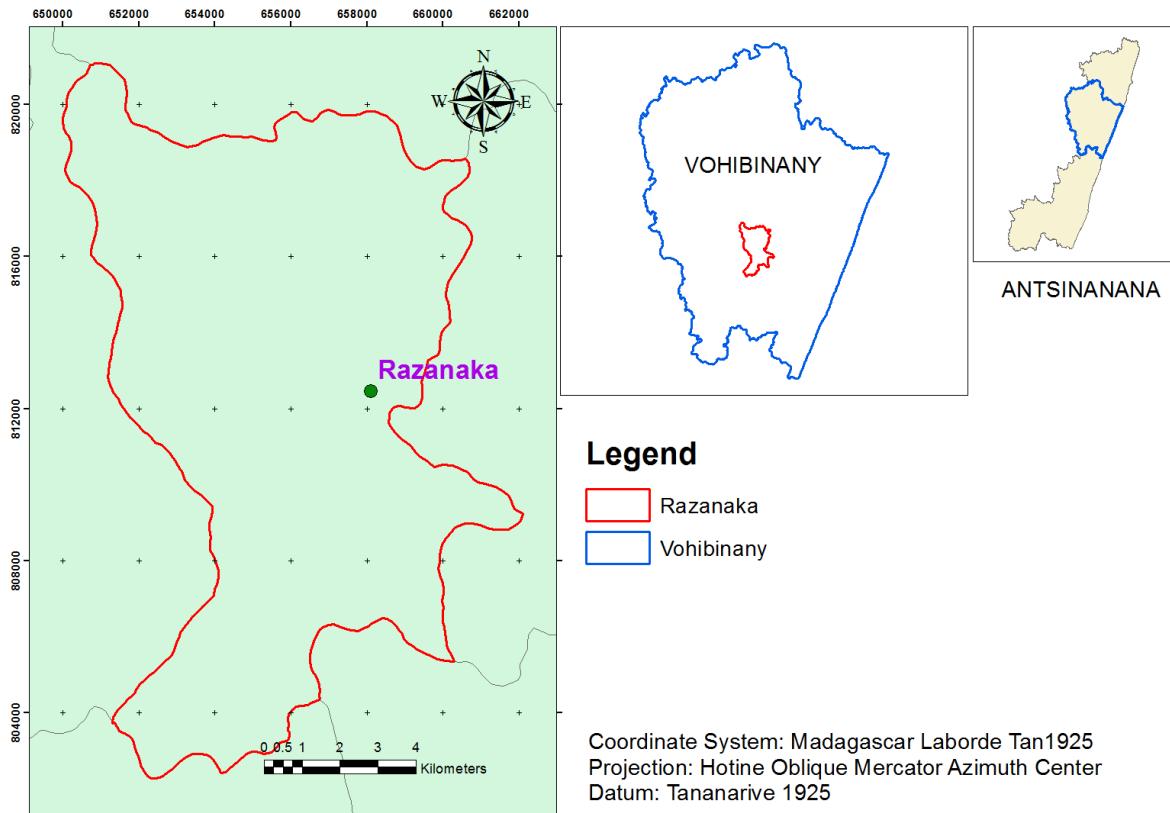
Photo 1 : Variété Grande naine au stade de fructification



Photo 2 : Variété Figue sucrée au stade de fructification

I.2. Site de récolte des matériels végétales

Les plantes mères ont été récoltées dans l'ancienne Province de Toamasina, Région Atsinanana, District de Vohibinany, Commune Razanaka. Le site de récolte est délimité par les coordonnées géographiques : 18°51'0.078'' Latitude Sud et 048°56'30.22'' Longitude Est (Carte).



Carte : Site de récolte de *Musa sapientum* L Var. Grande Naine et *Musa esculenta* L Var. Figue sucrée (BD100)

II. METHODES

II.1. Stérilisation des matériels et équipements

Les matériels de dissection, les milieux de culture et l'eau de rinçage sont stérilisés à 120° C pendant 20 mn à l'autoclave. Au cours de la manipulation, les instruments de dissection sont stérilisés dans un micro four à bille à 250° C. La culture, sous hotte à flux laminaire, s'est effectuée autour d'une flamme d'un bec bunsen.

La hotte à flux laminaire a été stérilisée avec les rayons UV pendant environ 1heure avant la manipulation.

II.2. Préparation et stérilisation des milieux de culture

L'explant doit trouver dans le milieu de culture tout ce dont il a besoin pour survivre, se multiplier et régénérer un nouvel individu.

Pour toutes les expérimentations, le milieu de base utilisé a été le milieu de Murashige et Skoog (MS, 1962) additionné de vitamines (thiamine-HCl, pyridoxine-HCl,

acide nicotinique et myo-inositol). Les tableaux relatifs à la proportion du milieu MS et la quantité des vitamines sont consignés en annexe I et annexe II.

Les solutions de macroéléments et de chélate de fer ou FeEDTA ont été séparément préparées à 50 fois plus concentrées. La solution mère des microéléments a été concentrée 100 fois et les vitamines ont été dissoutes dans de l'eau distillée à une concentration de 1mg/ml.

Le régulateur de croissance utilisé est le Benzyle adénine (BA) dont la dose varie suivant les objectifs de l'expérimentation.

Le pH du milieu de culture a été ajusté à 5,5 - 5,6. Trente (30) grammes par litre de saccharose et huit (8) grammes par litre d'agar ont été additionnés dans le milieu de culture puis chauffé sur une plaque chauffante jusqu'à ébullition. Par la suite, le milieu de culture a été distribué dans des boîtes de culture à raison de 10ml par boîte. Les boîtes de culture ont été fermées à l'aide de papier aluminium et celées avec du parafilm.

La stérilisation du milieu de culture a été effectuée par autoclavage en phase gazeuse à 120° C, avec une pression de 1 bar pendant 20 mn.

II.3. Etablissement de la culture aseptique

Les rejets de bananier ont été bien lavés avant d'être transportés à Antananarivo.

Une étape de stérilisation de surface doit précéder la culture des *explants* car dans le domaine de la culture *in vitro*, l'asepsie constitue l'un des clés de sa réussite. La planche 1 (a, b, c, d, e, f) montrent les différentes étapes pour la désinfection et la mise en culture des *explants*.

Ces rejets ont été découpés, puis des bulbes de 25 cm de haut et 10 cm de diamètre contenant le méristème apical ont été récupérés (Planche 1a).

✓ Des lavages à l'eau du robinet s'avéraient nécessaire en vue de débarrasser tous les organismes nuisibles à la culture *in vitro*.

✓ D'après une recherche préliminaire effectuée au laboratoire de régénération des plantes, un protocole de désinfection a été adopté : les bulbes ont été plongés dans une solution de fongicide composé de 1,0 % de Captan + 0,2% de Benlate pendant 10 mn.

✓ Ensuite, ils ont été coupés en cube de 5 cm³ (Planche 1b) avec le méristème apical.

D'après les expérimentations préliminaires sur la stérilisation de surface des explants de bananier, les traitements adéquats suivants ont été adoptés :

1. Immersion dans une solution d'hypochlorite de sodium de concentration 1 % pendant 5 mn, suivi des rinçages à l'eau distillée stérile pendant 5 mn;
2. Immersion dans la solution d'hypochlorite de sodium 2% pendant 90mn;
3. Immersion à l'eau distillée pendant 30 mn.

II.4. Régénération *in vitro* des *explants* des variétés Grande naine et Figue sucrée

Pour les deux variétés de bananier (Grande naine et Figue sucrée), il s'agit de la phase de régénération ou initiation de méristème apical, pendant laquelle un méristème donne une plantule. Les *explants* sont constitués des fragments de bulbes de rhizome munis de méristème apical issus de rejets de bananier.

Les bulbes de 5 cm³ ont été disséqués jusqu'à 1 cm³ (Planche 1d) afin d'enlever les tissus en contact avec les désinfectants. Chaque explant a été cultivé dans des bocaux contenant 10 ml de milieu MS solidifié et additionné de sucres et des vitamines. La concentration 5 mg/l a été adoptée car c'est la concentration optimale pour la plupart des cultivars de bananiers (VUYLSTEKE ; DE LANGHE, 1985; BAIRU et al, 2008). Pour chaque variété, 10 *explants* ont été cultivés à raison d'un explant par bocal. Les pousses nouvellement formées ont été transférées toutes les quatre semaines. Quatre transferts ont été effectués pendant cette phase de régénération. Le paramètre d'évaluation a été le taux de régénération de chaque explant.

Le taux de régénération a été pris comme paramètre d'évaluation. Il a été calculé selon la formule ci-dessous.

$$TR(\%) = \frac{ER}{EC} \times 100$$

TR : Taux de régénération

ER : nombre d'*explants* régénérés en plantules

EC : nombre d'explant cultivé



Planche 1 : Stérilisation et initiation de l’explant de bananier Grande naine et de Figue sucrée (auteur : FARASOA, 2016).

(a) *Bulbe*, (b) *désinfection de surface des bulbes*, (c) *Stérilisation des matériels de dissection*, (d) *extraction de l’apex du bulbe*, (e) *mis en culture*, (f) *Partie apicale du bulbe sur le milieu de culture contenant de 5mg/l de BA*.

II.5. Micropagation des deux variétés Grande naine et Figue sucrée

Toutes les manipulations ont été faites sous hotte à flux laminaire. Les cultures ont été placées dans une salle de culture à conditions contrôlées avec une température de 25°C, sous une intensité lumineuse de 3000 lux et une photopériode de 16 h de lumière et 8 h d’obscurité.

Après avoir établi la régénération, les pousses ayant une hauteur de 1 cm ont servis de matériel végétal pour la suite des expérimentations concernant les traitements chimiques et physiques.

II.5.1 Traitement chimique par utilisation du Benzyle Adénine (BA)

Trois transferts dont un transfert par mois dans un milieu contenant 5mg/l de BA ont été effectués pour avoir le nombre suffisant d’*explants* avant le traitement chimique.

Pour étudier l’effet du cytokinine (BA) sur la multiplication des pousses de ces deux variétés de bananier, quatre types de milieu nommés T, C1, C2, C3 qui diffèrent par

leurs concentrations en BA (0 à 10 mg/l) ont été testés. Chaque type de milieu a été répété 4 fois à raison d'un explant par bocal.

Tableau 1: Les différentes concentrations en BA pour le traitement chimique.

Traitements	T	C1	C2	C3
BA (mg /L)	0	0,5	5	10

BA : Benzyle Adenine

T : témoin ; C1 : +0,5 mg/l de BA ; C2 : +5 mg/l de BA ; C3 : +10 mg/l de BA

• **Suivis des *vitroplants***

Les suivis ont été effectués tous les quatre semaines. Des observations et des mesures ont été réalisées au cours de ces suivis. Pour chaque variété, les paramètres d'évaluation sont :

- La croissance en hauteur de chaque *vitroplant*;
- Le nombre moyen de pousses nouvellement formées;
- Le nombre moyen de feuilles sur le *vitroplant*;
- Le nombre moyen de racines formées.

II.5.2 Traitements physiques

Les traitements physiques consistent d'une part, à lever la dominance apicale des *vitroplants* en détruisant le méristème apicale et d'autre part, en variant le régime lumineux de la culture.

Pour les deux variétés *Musa sapientum L* et *Musa esculenta L*, le milieu approprié pour la prolifération des pousses axillaires pendant le traitement chimique a été utilisé pour la suite des expérimentations concernant la levée de dominance apicale et pour la variation du régime lumineux. Chaque traitement a été répété 4 fois.

II.5.2.1. Levée de dominance apicale par blessure de l'apex

L'objectif de cette expérimentation est de lever la dominance apicale des *explants* pour que leur croissance soit interrompue et que la prolifération des pousses axillaires soit favorisée. Pour se faire, à l'aide d'une seringue bien stérilisée, des blessures ont été provoquées en piquant le méristème apical caulinaire (MAC) (Photo 5).

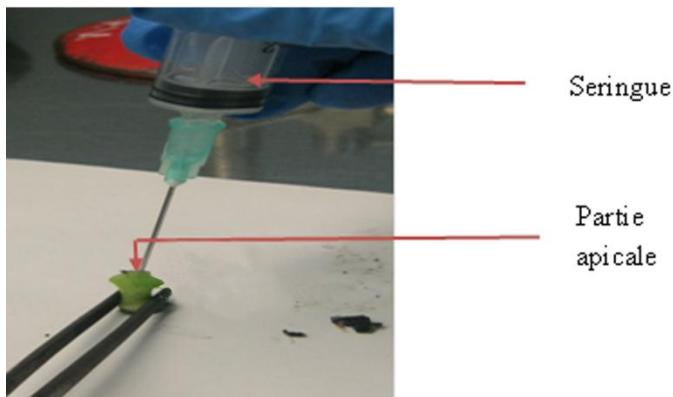


Photo 3: Levée de la dominance apicale par blessure du méristème apicale (FARASOA, 2016).

II.5.2.2. Variation du régime lumineux

Pour l'étude sur la multiplication par bourgeonnement axillaire, une partie de l'expérimentation a été placée dans un régime lumineux avec une Photopériode de 16 h de lumière et 8 h d'obscurité et l'autre partie a été menée à l'obscurité totale.

- **Suivis des *vitroplants***

A l'issu de chaque expérimentation, les suivis ont été effectués pendant trois mois. Quatre répétitions ont été faites pour chaque traitement. Pour chaque variété, le paramètre d'évaluation est le nombre moyen de pousses nouvellement formées.

II.6. L'acclimatation

C'est le passage de l'*in vitro* vers l'*ex vitro* c'est-à-dire le passage des conditions de laboratoire aux conditions de la serre. Il s'agit donc de la dernière étape qui consiste à adapter progressivement les microplantules aux conditions qui prévalent dans la serre ou à l'extérieur. Après avoir éliminé la gélose de la base des plants, ils sont transférés dans un substrat horticole (Photo 6). Les plantules sont ensuite recouvertes de manière à les maintenir dans un environnement qui avoisine les 100 % d'humidité relative (CIDES .1999).

Le substrat horticole utilisé a été un mélange de litière, terre rouge et sable dont les proportions ont été de 1/3 ; 1/3 ; 1/3.

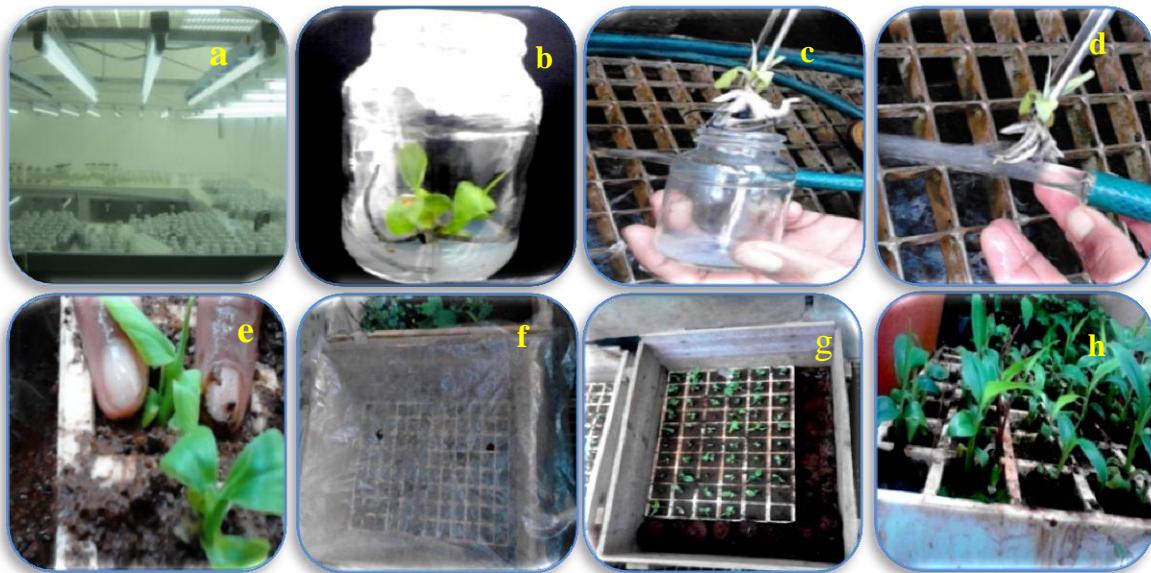


Planche 2 : Les étapes à suivre pour l'acclimatation des plantules (Source : FARASOA., 2016)

(a) *salle de culture* ; (b) *vitroplant* ; (c) *extraction du vitroplant* ; (d) *élimination de la gélose à la base de la plante* ; (e) *transfert des vitroplants dans un substrat horticole* ; (f) et (g) *les plantes sont recouvertes pour l'adaptation à l'environnement externe* ; (h) *enlèvement de la couverture après 5 jours*.

Le taux de réussite pendant l'acclimatation a été calculé comme suit :

$$\boxed{TR (\%) = \frac{PS \times 100}{PA}}$$

TR : le taux de réussite de l'acclimatation ;

PS : le nombre de plantules survivantes, vigoureuses présentant des racines ;

PA : le nombre total de plantules acclimatées.

II.7. Analyses statistiques

Toutes les données ont été analysées statistiquement moyennant le logiciel «XLSTAT » version 2015 avec lequel l'analyse de la variance (ANOVA) a été effectué et à chaque fois qu'il existe des différences significatives, les moyennes ont été séparées. Les résultats sont représentés par les moyennes \pm écarts types (SE).

MATERIEL ET METHODES

Le principe est basé sur le test de NEWMAN-KEULS au seuil de 5%. Tous les traitements ayant les mêmes paires de moyennes sont regroupés dans une même classe. La classe représente un caractère des *explants* dans des milieux de culture.

L'évolution de la culture est évaluée par un indice de probabilité P associé à deux facteurs étudiés qui sont le milieu de culture et l'espèce. Les résultats seront interprétés selon les considérations suivantes :

Si $P > 0,05$: il n'y a pas une différence significative entre les milieux de culture testés;

Si $0,01 < P < 0,05$: il y a une différence significative entre les milieux de culture testés;

Si $P < 0,01$: il y a une différence hautement significative entre les milieux de culture testés.

RESULTATS ET INTERPRETATIONS

PARTIE III : RESULTATS ET INTERPRETATIONS

I. Taux de contamination

Toutes les manipulations se sont déroulées dans les conditions d'asepsie, tous les matériels et milieu utilisés ont été stérilisés dans un autoclave en phase gazeuse à 120° C sous une pression de 1 bar.

Les taux de contamination de culture des deux variétés de Grande naine et Figue sucré sont de 0%. Ce qui montre l'efficacité de la méthode de désinfection effectuée. Les désinfections des *explants* avec les fongicides composés de 1 % de CAPTAN + 0,2 % de BENLATE et puis leur immersion dans des solutions d'hypochlorite de sodium à 1 % pendant 5 mn et à 2 % pendant 90 mn sont optimales pour la stérilisation de surface des *explants* de ces deux variétés.

II. Taux de régénération à partir de la culture d'apex

Le tableau 2 montre les taux de régénération des *explants* des variétés Grande naine et Figue sucrée après quatre semaines de culture.

Suite à la régénération des variétés Grande naine et Figue sucrée, tous les *explants* cultivés dans le milieu de régénération composé de milieu de base de MS additionné de 5 mg/l de BA ont régénéré chacun une plantule. Leurs taux de régénération sont donc 100 %.

Tableau 2: Taux de régénération des *vitroplants* à partir de la culture de l'apex du rhizome des bananiers Grande naine et Figue sucrée

Variété	Grande Naine	Figue sucrée
Nombre d'explant initial	10	10
Nombre de plantules régénérées	10	10
Taux de régénération (%)	100	100

III. Micropagation des deux variétés Grande naine et Figue sucrée

III.1. Effet de l'hormone BA sur la croissance en hauteur des *vitroplants*

La figure 4 montre les hauteurs moyennes des *vitroplants* des variétés Grande naine et Figue sucrée selon les différentes concentrations de BA après trois mois de culture.

La croissance des plantules des variétés Grande naine et de Figue sucrée est favorisée en absence de régulateur de croissance (BA). Dans le milieu témoin sans BA (C0), les tailles moyennes maximales *vitroplants* ont été respectivement de 4,43 cm et 3,8 cm. Les hauteurs des *vitroplants* ont diminué lorsque la concentration de BA dans le milieu de culture a augmenté. Les *vitroplants* les plus courts de Grande naine et de Figue sucrée ont été obtenus avec la concentration de BA élevée (10 mg/l) (C3). Ils ont respectivement en moyenne 1,7 cm et 1,8 cm de hauteur. Avec les traitements C1 (0,5 mg/l de BA) et C2 (5 mg/l de BA), la hauteur moyenne des plantules de ces deux variétés n'a pas dépassé de 3 cm.

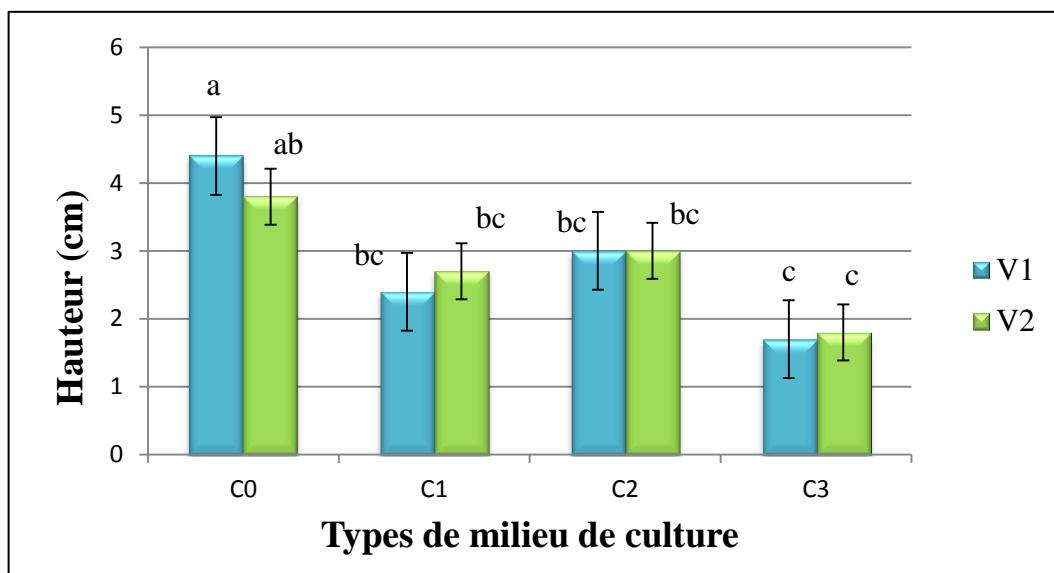


Figure 4 : Hauteur moyenne des *vitroplants* selon les différentes concentrations de BA

C0 : MS+0 mg/l de BA ; C1 : MS+0,5 mg/l de BA ; C2 : MS+5 mg/l de BA ;

C3 : MS+10 Mg/l, V1 : Variété Grande naine ; V2 : Variété Figue sucrée.

Les histogrammes couronnés d'une même lettre ne présentent aucune différence significative d'après le test de Newman et Keuls au seuil de 5 %.

III.2. Effet de l'hormone BA sur la production de feuilles des *vitroplants*

Les nombres moyens des feuilles produites par mois par les *vitroplants* des variétés Grande naine et Figue sucrée en fonction des différentes concentrations de BA sont représentés par la figure 5.

Chez la variété Grande naine, l'utilisation des différentes concentrations en BA n'a pas affecté la production de feuilles. Le traitement C1 affiche une valeur plus élevée ($> 3,5$), sans que la différence ait été significative par rapport aux autres traitements.

Concernant la variété Figue sucrée, la présence de BA dans le milieu de culture a une influence positive sur sa phyllogenèse. Les nombreuses feuilles (en moyenne de 4 feuilles par *vitroplant*) ont été observées dans le milieu de culture pourvu de 0,5 mg/l de BA (C2). Alors que dans le milieu témoin (T), l'absence de BA s'est traduite par une production de feuille plus faible qui a été en moyenne de 2,7 feuilles par *vitroplant*.

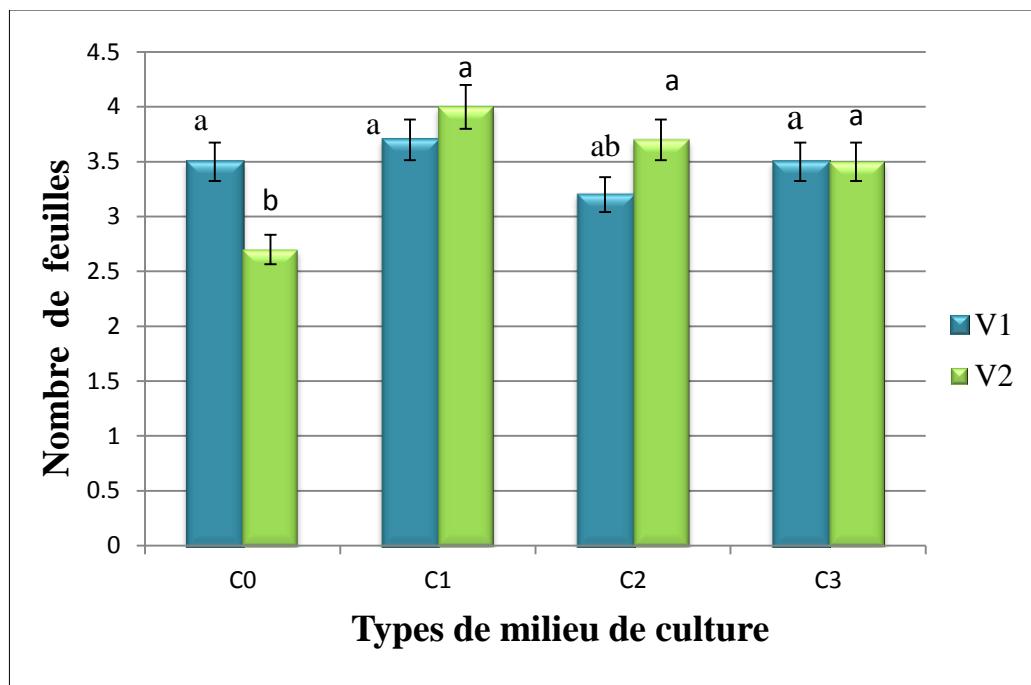


Figure 5 : Nombre moyen de feuilles produites en fonction de la concentration de BA chez les variétés Grande naine et Figue sucrée

C0 : MS+0 mg/l de BA ; C1 : MS+0,5 mg/l de BA ; C2 : MS+5 mg/l de BA ;

C3 : MS+10 Mg/l, V1 : Variété Grande naine ; V2 : Variété Figue sucrée

Les histogrammes couronnés d'une même lettre ne présentent aucune différence significative d'après le test de Newman et Keuls au seuil de 5 %.

III.3. Effet de l'hormone BA sur la prolifération de pousses des vitroplants

La figure 6 montre le nombre moyen de pousses proliférées par *vitroplant* par mois en fonction de la concentration en BA chez les variétés Grande naine et Figue sucrée

RESULTATS ET INTERPRETATIONS

Chez la variété Grande naine, le nombre de pousses observé a été nul c'est-à-dire aucune prolifération de pousse n'a été enregistrée dans le milieu témoin (T) dépourvu de régulateur de croissance (BA). La concentration optimale de BA pour la multiplication *in vitro* de cette variété a été de 5 mg/l car, en augmentant la concentration de BA jusqu'à 5 mg/l dans le milieu de culture, le nombre moyen de pousses nouvellement formées a augmenté à 2 par *vitroplant*. Par contre, en utilisant une concentration élevée de BA (10 mg/l) (C3), le nombre a diminué d'une pousse par *vitroplant* en moyenne.

Pour la variété Figue sucrée, en moyenne, seulement 0,25 pousse a été observée dans le milieu témoin (T) et dans le milieu où la concentration de BA est la plus faible (C1). Puis, lorsque la quantité de BA dans le milieu a été de 5 mg/l, une pousse en moyenne par *vitroplant* a été obtenue. Pour la multiplication de cette variété, elle nécessite une dose plus élevée de BA car avec le dernier traitement utilisant 10 mg/l de BA (C3), le nombre moyen le plus élevé de pousses a été obtenu (2 pousses par *vitroplant*).

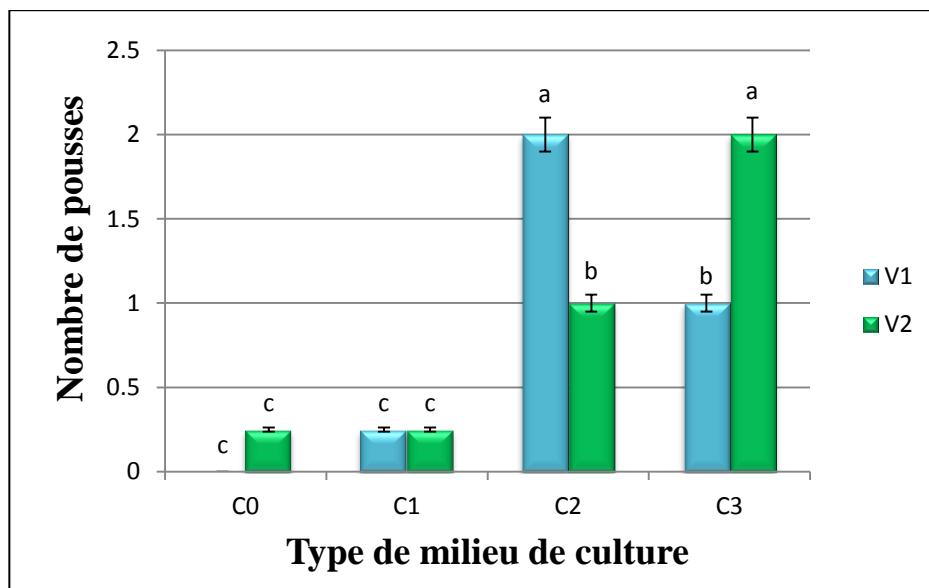


Figure 6 : Nombre moyen de pousses proliférées par *vitroplant* en fonction de la concentration en BA chez les deux variétés.

C0 : MS+0 mg/l de BA ; C1 : MS+0,5 mg/l de BA ; C2 : MS+5 mg/l de BA ;

C3 : MS+10 Mg/l, V1 : Variété Grande naine ; V2 : Variété Figue sucrée.

Les histogrammes couronnés d'une même lettre ne présentent aucune différence significative d'après le test de Newman et Keuls au seuil de 5 %.

III.4. Effet de l'hormone BA sur l'enracinement des *vitroplants*

La figure 7 montre le nombre moyen de racines produites par *vitroplants* en fonction de la concentration en BA chez les variétés Grande naine et Figue sucrée.

Chez la variété Grande naine, la présence de régulateur de croissance dans le milieu de culture n'est pas indispensable pour sa rhizogenèse. Dans le milieu dépourvu de BA, 4,5 racines en moyenne ont été observées. Le nombre moyen de racines formées a diminué à 3,7 et 4 chez les *vitroplants* cultivés respectivement dans le milieu à faible quantité de BA (C1 : 0,5 mg/l) et (C2 : 5 mg/l). Avec une concentration plus élevée de BA (10 mg/l) (C3), les *vitroplants* n'ont produit que 0,5 racine par mois.

Chez la variété Figue sucrée, la présence de BA dans le milieu de culture favorise sa rhizogenèse. En effet, même si les différences ne sont pas significatives, les valeurs obtenues sur les milieux additionnés de BA, montrent une tendance plus favorable par rapport au témoin (T). Quant à la rhizogenèse, 4 racines par *vitroplant* en moyenne ont été observées.

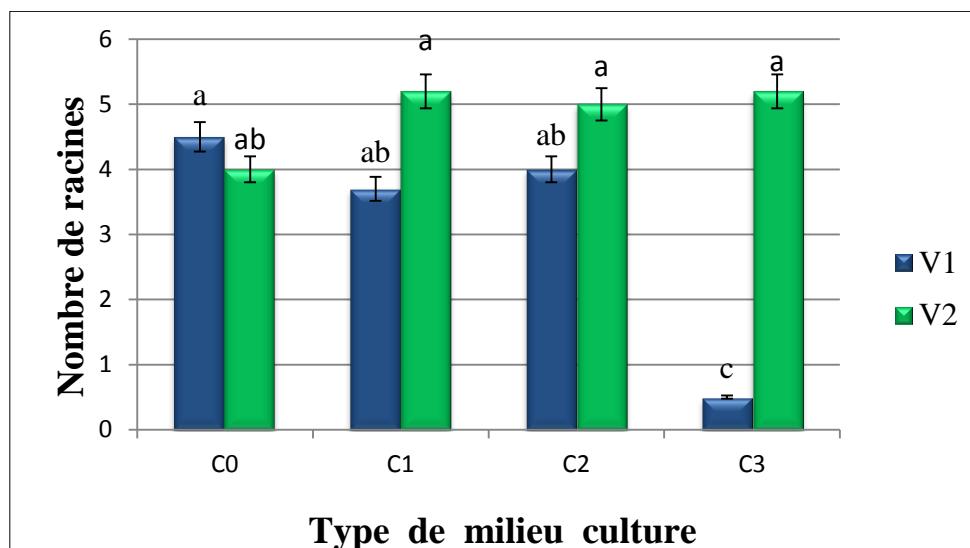


Figure 7 : Nombre moyen de racines produites par *vitroplants* en fonction de la concentration en BA chez les variétés Grande naine et Figue sucrée.

C0 : MS+0 mg/l de BA ; C1 : MS+0,5 mg/l de BA ; C2 : MS+5 mg/l de BA ;

C3 : MS+10Mg/l ; V1 : Variété Grande naine ; V2 : Variété Figue sucrée.

Les histogrammes couronnés d'une même lettre ne présentent aucune différence significative d'après le test de Newman et Keuls au seuil de 5 %.

IV. Les traitements physiques

IV.1. Effet de la levée de dominance apicale sur la prolifération des pousses

Le nombre de pousses axillaires proliférées par les *vitroplants* est représenté par la figure 8. Les photos 4 et 5 montrent la prolifération des pousses issues des *vitroplants* de Grande naine et Figue sucrée ayant subi la levée de dominance apicale après un mois de culture.

Pour les deux variétés Grande naine et Figue sucrée, les milieux les mieux adaptés pour la production de pousses durant le traitement chimique ont été adoptés. Il s'agit respectivement des milieux C2 (5 mg/l de BA) et C3 (10 mg/l de BA).

L'analyse statistique a montré une différence significative entre le traitement «levée de dominance apicale» et les témoins. La destruction du méristème caulinaire au niveau de l'apex des *vitroplants* a favorisé la prolifération des pousses axillaires. Dans ces deux milieux C2 et C3, les *vitroplants* dont les apex ont été détruits ont produit des pousses axillaires plus nombreuses qui ont été de 3,5 par *vitroplant* pour la variété Grande naine et de 3,7 par *vitroplant* pour Figue sucrée. Cependant, elles ont été seulement de 2 par *vitroplant* pour les témoins.

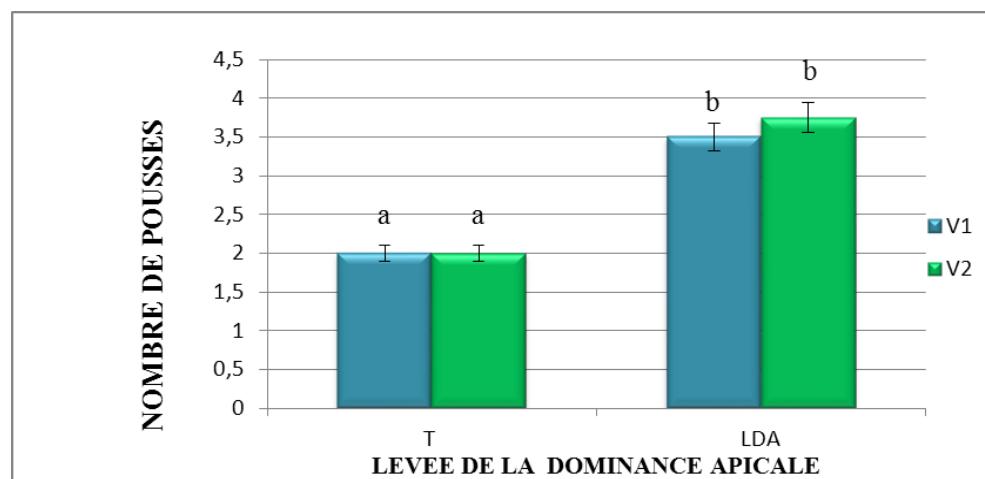


Figure 8 : Nombre moyen de pousses proliférées en fonction de la levée de dominance apicale après un mois de culture

T : Témoin, *LDA* : Levée de dominance apicale, *V1* : Variété Grande naine ; *V2* : Variété Figue sucrée.

Les histogrammes couronnés d'une même lettre ne présentent aucune différence significative d'après le test de Newman et Keuls au seuil de 5 %.



Pousses nouvellement formées

Photo 4: Pousses issues de la variété Grande naine ayant subi la levée de dominance apicale après un mois de culture.



Pousses nouvellement formées

Photo 5: Pousses issues de la variété Figue sucrée ayant subi la levée de dominance apicale après un mois de culture.

IV.2. Effet de la variation du régime lumineux sur la prolifération de pousses axillaires

La figure 9 montre le nombre moyen de pousses proliférées par mois en fonction de la variation du régime lumineux.

Les milieux utilisés sont le milieu C2 (MS+5 mg/l) pour la variété Grande naine et le milieu C3 (MS+10 mg /l) pour la variété Figue sucrée.

Chez les deux variétés, les plantules placées dans la lumière sous une photopériode 16h ont proliféré en moyenne de deux pousses par *vitroplant*.

Pour la variété Grande naine, une diminution non significative de pousses à 1,75 en moyenne, a été constatée chez les *vitroplants* cultivés à l'obscurité.

Pour la variété Figue sucrée, une différence significative a été constatée concernant la prolifération des pousses chez les *vitroplants* cultivés à l'obscurité. Le nombre moyen a diminué d'une pousse par *vitroplant* qui est la moitié de celui obtenu à la lumière.

En effet, la culture à l'obscurité totale des *vitroplants* a affecté la néoformation des pousses chez la variété Figue sucrée mais elle n'a pas d'influence chez la variété Grande naine.

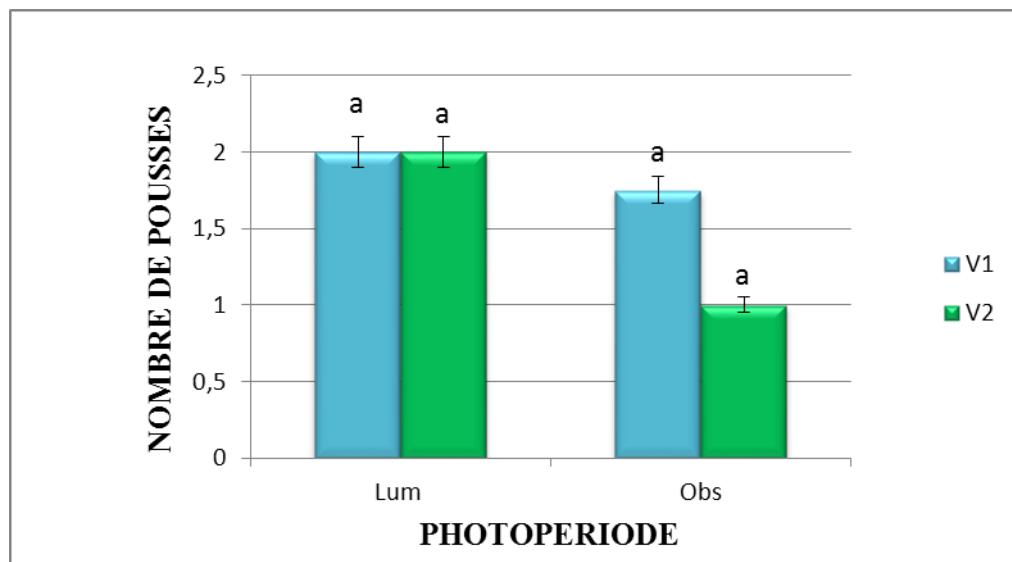


Figure 9 : Nombre de pousses proliférées en fonction de la variation du régime lumineux après un mois de multiplication

Obs : Obscurité ; *Lum* : Photopériode 16h/ 8h

Les histogrammes couronnés d'une même lettre ne présentent aucune différence significative d'après le test de Newman et Keuls au seuil de 5 %.

V. Acclimatation

Le tableau 3 montre le taux de survie des vitroplantules enracinées au cours de la phase d'acclimatation en serre.

Le protocole d'acclimatation a été optimisé car les meilleurs taux de réussite ont été obtenus. Les plantules ont pu s'adapter facilement aux conditions extérieures. En effet, un taux élevé de survie de 93,2 % a été enregistré pour la variété Grande naine et 88,4 % pour celui de la variété Figue sucrée.

Tableau 3: Taux de survie des plantules de Grande naine et de Figue sucrée pendant l'acclimatation

Variétés	Nombre total de vitroplants acclimatés	Nombre de plantules survivantes	Taux de survie (%)
Grande naine	20	18	93,2
Figue sucrée	20	17	88,4



Photo 6 : Plantules acclimatées après un mois d'acclimatation

DISCUSSIONS

PARTIE IV : DISCUSSIONS

I. Stérilisation des matériels et établissement d'une culture aseptique

Influence de la stérilisation et désinfection sur le taux de contamination des explants

Le taux de contamination de 0 % pourrait donc être relatif à l'utilisation simultanée de 1,0 % de Captan + 0,2 % de Benlate pendant 10 mn, suivi de l'immersion des *explants* dans une solution d'hypochlorite de sodium 1% pendant 5 mn, et puis une immersion dans la solution d'hypochlorite de sodium 2% pendant 90 mn. Ce résultat justifie celui de RAMAMONJIARISOA (2004) sur la multiplication *in vitro* de *Cinnamomum camphora* (L.), relevant que la destruction des microorganismes avec l'hypochlorite de sodium seul n'est pas totale. Par ailleurs, d'après STÄHLER (2017), les fongicides Benlate et Captan inhibent la germination des spores, la formation de mycélium de certains champignons pathogènes avant leur pénétration dans le tissu des feuilles.

II. Traitements chimiques

Effet du cytokinine Benzyle Adenine (BA) sur la croissance en hauteur des vitroplants

La hauteur moyenne la plus élevée (4,43 cm) a été observée dans le milieu dépourvu de BA alors qu'une diminution, allant jusqu'à 1,8 cm de hauteur moyenne pour la variété Figue sucré et de 1,7 cm chez la variété Grande naine, a été constatée au fur et à mesure que la concentration de cytokinine (BA) dans le milieu a augmentée.

Ces résultats pourraient s'expliquer par le fait que la dominance apicale exercée par la partie apicale de la tige intensifierait la croissance en hauteur de la plante ce qui est une des fonctions de l'auxine. La dominance est un phénomène par lequel l'axe principal d'une plante croît plus vite que ses ramifications (BIODEAU, 2018). L'auxine endogène c'est-à-dire la phytohormone synthétisée et sécrétée par les cellules du méristème terminal des tiges stimule leur élongation et inhibe le développement des bourgeons latéraux ou axillaires.

En effet, en absence de cytokinine (BA), la plante effectue une élongation cellulaire grâce à la fonction du méristème apical et à la présence de l'auxine endogène (<http://15>). La diminution de la hauteur de la tige pourrait être due à la présence de cytokinine (BA) dans le milieu et qui contrarierait la dominance apicale (EL HAMDOUNI, et al. 1999).

Effet du cytokinine Benzyle Adénine (BA) sur la prolifération des pousses des vitroplants

Chez la variété Grande naine, le milieu C2 additionné de 5 mg/l de BA a été le plus favorable pour les proliférations des pousses (deux pousses en moyenne par vitroplant). Ce résultat est en accord à ceux obtenus par VUYLSTEKE et DE LANGHE (1985) montrant que la concentration 5 mg/l de BA est la concentration optimale pour la plupart des cultivars des bananiers.

Cependant, chez la variété Figue sucrée, le milieu approprié pour la prolifération des pousses a été le milieu additionné de 10 mg/l de BA dans lequel, deux pousses en moyenne ont été proliférées par *vitroplant*. Le milieu favorable pour la production maximale de pousses a été différent pour les deux variétés. Ces résultats confirment ceux obtenus pendant les travaux de YOUMBI., et NGAHA., (2004) sur la capacité organogène des bourgeons axillaires du bananier plantain, il existerait une concentration optimale de BA permettant la prolifération des bourgeons pour chaque variété étudiée. L'addition du BA dans le milieu a permis la néoformation des pousses axillaires par rapport au milieu sans BA. Les cytokinines, sont donc capables de lever la dominance apicale à une dose spécifique (MATEILLE., et al. 1989).

Effet de l'hormone BA sur l'enracinement les vitroplants

Du point de vue enracinement, chez la variété Figue sucrée, la production racinaire moyenne maximale (5,25 racines par *vitroplant*) a été obtenue avec les milieux additionnés de Cytokinine BA de concentrations 0,5 mg/l, 5 mg/l et 10 mg/l alors que pour la variété Grande naine, l'enracinement enregistré dans le milieu dépourvu de BA pourrait être induit par l'auxine endogène du *vitroplant*. D'après les travaux de YOUMBI, et NGAHA, (2004) sur le bananier plantain (*Musa spp.*), l'auxine intervient sur la formation de la racine principale et l'initiation des racines latérales et des racines adventives.

III. Traitements physiques

Influence de la levée de dominance apicale sur la prolifération des pousses

Lors du traitement chimique, les doses de 5 mg/l et de 10 mg/l de BA ont favorisées la prolifération maximale des pousses axillaires respectivement des variétés Grande naine et Figue sucrée.

En ce qui concerne les traitements physiques, après avoir détruit la partie apicale, en moyenne 3,75 pousses par *vitroplant* ont été formées chez la variété Figue sucrée et 3,5 pousses chez la variété Grande naine. Cependant chez les témoins, seulement 2 pousses en moyenne par *vitroplant* ont été obtenues. La dominance apicale est une des nombreuses corrélations de croissance ayant leur siège dans la plante. Elle se manifeste sous l'influence du bourgeon terminal par l'inhibition de croissance des bourgeons latéraux.

D'après ces résultats, la destruction des méristèmes apicaux a provoqué la levée de la dominance apicale et a entraîné l'entrée en activité et le débourrement des bourgeons axillaires des *vitroplants*. Ces résultats corroborent à ceux obtenus par MASON et COLL, (2014) en révélant que lorsque le méristème est détruit, la majorité des bourgeons qui étaient dormants émergent. Ceci, est lié aux coupures des corrélations entre les différents organes et à la reprise de croissance des bourgeons qui étaient auparavant inhibés par le méristème apical. D'après KONE et al. (2011), la destruction du méristème apical des plants de bananier plantain a provoqué l'induction et la prolifération de nombreuses pousses conduisant ainsi à leur multiplication rapide.

Influence de la lumière sur la micropropagation des deux variétés

A l'obscurité, la prolifération a diminué à une pousse en moyenne par *vitroplant* chez la variété Figue sucrée et de à 1,75 pousses en moyenne par *vitroplant* chez la variété Grande naine. La photosynthèse est l'une des mécanismes biologiques les plus indispensables à la vie sur Terre. Cette réaction transforme l'énergie lumineuse provenant du soleil en sucres, nécessaires à la croissance des végétaux (KONE et al. 2010).

Pourtant, le milieu de base MS utilisé (MURASHIGE et SKOOG, 1962) a été additionné de 30 g/l de sucre comme source de carbone et donc de l'énergie pour le *vitroplant* afin de contrebalancer les conditions de culture sur le développement et pour maximiser la croissance des plantules *in vitro* (DUBUC, 2010). La recherche effectuée par KONE, et al (2010) sur le bananier plantain a montré que l'obscurité a amélioré de manière significative la prolifération *in vitro*, ce qui est en désaccord avec nos résultats. Le travail de MAZINGA, et al. (2014) a montré que le nombre de bourgeons ou pousses néoformées peuvent être liés aux différents facteurs externes qui les englobent et les milieux de culture, notamment leur composition en régulateurs de croissance et le sucre. De ce fait, nous pouvons en déduire que la diminution du nombre de pousses des *vitroplants* de bananier Grande naine et Figue sucrée semble être due à d'autres facteurs que l'obscurité.

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Faisant partie de la biotechnologie végétale, la technique de micropropagation *in vitro* des variétés Grande naine et Figue sucrée font l'objet de cette étude. Ces deux variétés ont été récoltées dans la Région Antsinanana, District de Brickaville et commune Razanaka. L'objectif général de cette étude a été de produire des plantes génétiquement identiques à la plante mère (clones), saines et vigoureuses, disponibles pour une culture à grande échelle. A l'issu de cette étude, des résultats prometteurs et palpables ont été obtenus.

La désinfection de surface des *explants* par immersion dans une solution de fongicide composé de 1,0 % de Captan + 0,2 % de Benlate pendant 10 mn, puis dans une solution d'hypochlorite de sodium de concentrations 1% pendant 5 mn, et 2% pendant 90mn, a permis d'obtenir un taux de contamination nul. Ainsi, les conditions de stérilisation des explants de ces deux variétés ont été optimisées.

Pendant la phase de régénération dans le milieu de culture renfermant de 5 mg /l de cytokinine Benzyle Adénine (BA), le taux de régénération des *explants* en plantules a été de 100%.

Concernant la micropropagation de ces deux variétés de bananier, après avoir utilisé des différentes concentrations de BA (0,5 mg /l, 5 mg /l et 10 mg/l) comme traitement chimique, il a été mis en exergue que :

- ✓ La croissance des plantules de Grande naine et de Figue sucrée est favorisée en absence de régulateur de croissance (BA). Les *vitroplants* y ont de tailles moyennes maximales, respectivement de 4,43 cm et 3 cm;
- ✓ La présence de BA dans le milieu de culture n'a pas affecté la production de feuilles pour la variété Grande naine. Le nombre moyen de feuilles y est toujours supérieur à 3 par *vitroplant*. Cependant, Chez la variété Figue sucrée, la présence de BA dans le milieu de culture a une influence positive sur sa phyllogenèse. La production moyenne maximale de feuilles, en moyenne 4 feuilles par *vitroplant*, a été observée dans le milieu de culture pourvu de 0,5 mg/l de BA;
- ✓ Chez la variété Grande naine, la concentration optimale de BA pour la prolifération des pousses de cette variété est de 5 mg/l. Le nombre moyen de pousses nouvellement formées par mois est de 2 par *vitroplant*. Pour la variété Figue sucrée, sa multiplication *in vitro* (en moyenne de 2 pousses par *vitroplant* par mois) nécessite une dose de 10 mg/l de BA;
- ✓ La rhizogenèse chez la variété Grande naine n'a pas besoin d'un apport en régulateur de croissance. Dans le milieu dépourvu de BA, 4,5 racines par *vitroplant* par mois en

moyenne ont été observées. Chez la variété Figue sucrée, la présence de BA dans le milieu de culture a favorisé sa rhizogenèse. La production maximale de racines (supérieure à 5 par *vitroplant*) a été enregistrée dans les milieux additionnés de BA;

- ✓ Quant aux traitements physiques, la destruction du méristème caulinaire au niveau de l'apex des *vitroplants* a induit la prolifération maximale des pousses axillaires qui ont été de 3,5 par *vitroplant* pour la variété Grande naine et de 3,7 par *vitroplant* pour Figue sucrée;
- ✓ L'étude de l'effet de la variation du régime lumineux sur la prolifération des pousses axillaires a montré que la culture à l'obscurité totale des *vitroplants* a affecté négativement la néoformation des pousses chez les deux variétés : seulement une pousse produite par *vitroplant* par mois pour la Figue sucrée, et 1,75 pour la Grande naine;
- ✓ Après un mois d'acclimatation, 93,2% des microplantules enracinées sorties de la salle de culture ont survécu pour la variété Grande naine et 88,4% pour la variété Figue sucrée.

Il a été posé au début comme hypothèse que la levée de dominance apicale par la destruction du méristème au niveau de l'apex, et l'utilisation de régulateur de croissance dans le milieu de culture, favoriseraient la prolifération des pousses axillaires de *Musa sapientum L.* (Grande naine) et de *Musa esculenta L.* (Figue sucrée). A l'issu de cette étude, cette hypothèse est vérifiée. Par ailleurs, grâce aux résultats obtenus, les objectifs spécifiques de cette étude sont atteints.

Les avantages de la production des *vitroplants* de ces espèces sont donc multiples tels que la possibilité de conserver leur ressource génétique, l'obtention de clones sélectionnés pour leur vigueur et leurs caractères intéressants ainsi que la production rapide et en masse à n'importe quel moment de l'année.

En perspectives, des études approfondies méritent d'être entreprises pour une production maximale de ces variétés:

- L'amélioration de la nutrition des plants *in vitro* par substitution de certains produits chimiques par des substances élaborées à partir des résidus des végétaux ou biologiques. Il s'agit d'étudier leurs effets inductifs sur l'organogenèse tout en contribuant à la réduction du coût économique d'une part et au recyclage et d'autre part, à la valorisation des produits locaux.

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

- La micropropagation des autres espèces de bananier pour leur multiplication en masse et rapide.
- Les luttes biologiques contre les maladies et les parasites restent à renforcer pour améliorer la culture et la production suffisante en matériels végétales sains;
- L'utilisation d'autres méthodes *in vitro* serait utile pour comparer les résultats sur la production de bananier.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. BAIRU, M-W., STRIK, W-A., DOLEZAL, K., and STADEN, J-V. 2008. *The role of topolins in micropropagation and somaclonal variation of banana cultivars 'Williams' and Grand Naine (Musa spp.AAA)*. *Plant Cell Tiss. Org. Cult.* 95:373-379.
2. BAKRY, F., 1997. Les bananiers. In: CHARRIER, A., HAMON, S., JACQUOT, M., et NICOLAS D., eds. L'amélioration des plantes tropicales. Montpellier, France : CIRAD/ORSTOM. Pp. 109-139.
3. BAKRY, F., CARREEL, F., HORRY, J-P., JENNY C et TOMEKPE K., 2005. La diversité génétique des bananiers cultivés : situation actuelle et perspectives .In : Le Sélectionneur Français. CIRAD-FLHOR. 34398 Montpellier CEDEX 5, France. (55): 33-41.
4. BELGUENDOUZ, A., 2012. Essai de substitution des milieux de culture en micropropagation et la physiologie de la microtubérisation de la pomme de terre (*Solanum tuberosum. L.*). Mém. Magister. Univ. Abou Bekr Belkaid de Tlemcen. Fac. Sciences de la Nature et de la Vie. Algérie. 184 p.
5. BILODEAU, G., 2018. La taille et la dominance apicale. Journée des producteurs en pépinière de l'IQDHO. 6 p.
6. BOULAY, J., 1993. La culture *in vitro* et ses applications à la culture des plantes Carnivores. Laboratoires de Biologie des ligneux.univ de Nancy. 8 p.
7. BONTE, E., VERDONCK, R., et GREGOIRE, L., 1995. La multiplication rapide du bananier et du plantain au Cameroun. Notes technique. In *Tropicultura* 13,3. Pp. 109-116.
8. CHAMPION, J., 1949. Classification, origine et répartition géographique des espèces du genre *Musa*. In *Fruit d'Outre-mer* .Vol 4.n°1. Pp. 22-26.
9. CHAMPION, J., 1963. Le bananier. Maisonneuve et Larose éd., Paris, France, 263 p.
10. CHAMPION, J., 1967. Notes et documents sur les bananiers et leur culture Tome 1 : Botanique et génétique des bananiers/ Institut Français de Recherches Fruitières Outre-Mer (I.F.A.C). 214 p.
11. CIDES, 1999. Micropropagation pour l'entreprise serricole. 43 p.

12. CIRAD, 1991. Illustration de quelques recherches, éd. DOMERGUE Régis. culture *in vitro*. Mise en évidence d'un bourgeonnement adventif chez le bananier Laboratoire BIOTROP-GEROAT. Pp. 8-9.
13. CIRAD, 2003. Banane forever. Fruitrop .n°99. Dossier du mois. 11 p.
14. CIRFA, 1992. Chambre d'Agriculture Réunion : La culture du Bananier à l'Ile de la Réunion.
15. DAMME, J-V., 2013. Analyse systémique des processus d'innovation dans les Systèmes agraires de la région des Grands Lacs basés sur la culture de la banane. Thèse de doctorat en sciences agronomiques et ingénierie biologique, Univ. Catholique de Louvain. 273 p.
16. DANIELIS, J., et SMITH, M., 1991. *Postflask management of tissue cultured bananas*. ACIAR. Technical Reports 18. 8 p.
17. DUBUC, J-F. 2010. Impact des conditions de culture *in vitro* et du saccharose exogène sur la régulation de l'expression génique et l'accumulation des protéines chez les plantules de tomate (*Solanum lycopersicum*). Thèse. Fac des études sup. Univ Laval. Biologie végétale. Québec. 150 p.
18. EL HAMDOUNI, E-M., et al. 1999. La régénération *in vitro* du fraisier (*Fragaria x ananassa* duch.) Laboratoire de Biotechnologie et d'Amélioration des plantes, Département de Biologie, Fac. Sci.Mhanach II. BP 2121 Tétouan, 93002 Maroc. 138. Pp. 19-48.
19. FARM, 2005. La Banane. 75015 Paris. 27 p.
20. FERRY, M., BOUGUEDOURA, N. et EL HADRAMI, I., 1998. Patrimoine génétique et technique de propagation *in-vitro* pour le développement de la culture du palmier dattier. Numéro spécial oasis. Sècheresse 9(2): 139-146 p.
21. GHOMARI, S., 2016. Recueil des travaux pratiques de la culture *in vitro*.
22. GURNANI, KUMAR V., MUKHIJA S., DHINGRA A., RAJPUROHIT S. et NARULA P., 2012. *In vitro* regeneration of brahmi (*Bacopa monneiri* L. penn.) – A threatened medical plant. Kathmandu University Journal of Science, Engineering and Technology 8(1). Pp. 97-99.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

23. KAHANE, R., et RANCILLAC, M. 1996. Les sucres chez l'oignon cultive *in vitro*. *In Acta Botanica Gallica*. Société botanique de France. 143 (213), 117-123.
24. KONE, T., KONE, M., KONE, D., KOUAKOU, T-H., TRAORE, S., KOUADIO, Y-J. 2010. Effet de la Photopériode et des vitamines sur la micropropagation du bananier plantain (Musa AAB) à partir de rejets écailles de rang1. *Journal of Applied Biosciences* 26: 1675 – 1686 p.
25. KONE, T. 2011. Multiplication rapide du bananier plantain (Musa Spp. AAB) *in situ*: une alternative pour la production en masse de rejets. Univ. Abobo-Adjamé .UFR des Sciences de la Nature. La Biologie et Amélioration des Productions Végétales. *In : Agronomie Africaine* 23 (1) : 21 – 31 p.
26. LASSOIS, L., BUSOGORO, J-P., JIJAKLI. H., 2009. La banane : de son origine à sa commercialisation. Univ. Liège - Gembloux Agro-Bio Tech. *Plant Pathology Unit*. Passage des Déportés, 2. B-5030 Gembloux (Belgium). Biotechnol. Agro. Soc. Environ. 13(4). Pp. 575-586.
27. LASSOUDIERE, A., 2007. Le bananier et sa culture. Versailles, France : Éds. Quæ. 384 p.
28. LOKOSSOU, B., TOSSOU, C-C., KPANOU D., 2010. Comment obtenir plus de dix rejets sains de bananiers en six mois à partir d'un seul rejet ? ISSN : 1840-5479 ; ISBN : 978-99919-380-5-9. PADSA/DANIDA. Bénin. INRAB. 7 p
29. MAEP. 2004. Filière Banane. Fiche n° 101. 9 p.
30. MAKAVELO, J-E., 2011. La banane et ses principales caractéristiques. Mém. CAPEN. Univ .Fianarantsoa. 71 p.
31. MANUEL, 2001. La croissance des cellules végétales et son contrôle .Chap7.*In : La morphogenèse des végétaux et l'établissement du phénotype*. 88-102 p
32. MARTIN, J-P., 1970. Le bananier. ORSTOM. Abidjan. 60 p.
33. MASON et COLL, 2014. *Sugar demand, not auxin, is the initial regulator of apical dominance*. PNAS. Vol 111.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

34. MATEILLE, T., et FONCELLE, B., 1989. Techniques de production de *vitro-plants* de bananier cv. 'Poyo'. P.H.M. Revue Horticole P no 294. O. R. S. T.O.M.O1 B.P. V 51, Abidjan O1 (Côte-d'Ivoire).
35. MAZINGA, K-M., MARIO, G-J., BABOY, L-L., USENI, S-Y., NYEMBO, K-L., KASONGO, L-M., et VAN, K-M., 2014. Effets des sources de carbone sur l'induction de la rhizogénèse chez l'hybride FHIA-01 du bananier en culture *in vitro*. In *Journal of Applied Biosciences* 73. Pp 5991– 6001. ISSN 1997–5902.
36. MEMENTO DE L'AGRONOME.1984. Nouvelle édition. République Française. Ministère de la Coopération. 298 p.
37. MICHELS, C., 2010, La banane, un fruit en sursis. Edts CHARLES, L- M, ISBN978-2-8477-150-7, CTB.147 rues Hautes, 1000 Bruxelles. 48 p.
38. MILLER, L. R., et MURASHIGE, T., 1976. *Tissue culture propagation of tropical foliage plants*. In *Vitro*, 12(12): 797-813 p.
39. MURASHIGE, T. et SKOOG, F., 1962. *A revised medium for rapid growth and bioassay with tobacco tissue cultures*. Physiol. Plant, 15: 473-497 p.
40. MURASHIGE, T., 1973. *Nutrition of plant cells and organs in vitro*. In *Vitro*, 9(2): 81-85 p.
41. NANEMA, K., 2004. La culture de la banane douce (*Musa accuminata* ss-esp *malaccensis* (n.w. simmonds) au Burkina Faso: les cultivars et leur système de culture dans les zones de Bama, Bazega, Dédougou, Tenasso et Fara. Mém d'Ingénierie .Univ polytechnique de Bobo-Dioulasso. 82 p.
42. QUENNOZ, M., 2001. La culture *in vitro* : premiers pas. Cactus Francophone.2 p.
43. REDDY, 2014. Effets de l'amino-purine 6-benzyle (6-BAP) sur la multiplication de flottage *in vitro* Grande naine (*musa spp*). Revue internationale de biotechnologie et de recherche avancée ISSN 0976-2612.Vol5. Issue1, Université SK, Anantapuram, Inde. Pp. 36-42.
44. RAKOTONDRAZIMBA, H-S., 2015. Mise au point de la réintroduction *in situ* (Ambatovy) de *Gravesia* sp nov. cf. *baronii* et *Helichrysum* sp nov. aff. *ambondrombeense*

issues de la culture *in vitro*. Mém. Master II. Physiologie et biotechnologie végétales. Univ .Antananarivo. Fac. Sci. 43 p.

45. RAMAMONJIARISOA, V., 2004. Etude phytochimique et multiplication *in vitro* de *Cinnamomum camphora* (L.) Nees. & Eberm. ou Ravintsara (Lauraceae). Fac. sci. DEA . Phys. Veg. 64 p

46. RAMAMONJISOA, M., et FRANÇOIS, S., 2005. FICHES HUBERT/BDPA Lycée Agricole Ambatobe. Banque de Données/SPRSE/DRDR/Antsiranana. 102 p.

47. RAVELOMANANTSOA, A-M., 2008. Etude microbiologique, essai de lutte biologique et conservation *ex situ* du bananier « Poyo » variété Batavia cavendish. Mém. DEA. Fac. Sci. Antananarivo. Physiologie végétale. 60 p.

48. RAZAFIARISON, N., 2010. Essai de vitropropagation de *Solanum tuberosum* (Solanaceae) Variétés *Meva*, *Jengy manga* et *Spunta*. Univ. Ant. Mém. C.A.P.E.N. 68 p.

49. SEMAL, J., 1998. Reproduire à l'identique : Mythe et réalité. Cahier Agriculture 7. Pp. 6-8.

50. STÄHLER, 2017. Captan swg, Fongicide de contact pour l'arboriculture. Infos. Tech. 3 p.

51. SWENNEN, R., 1998. La collection mondiale du bananier (*Musa spp*) au centre de transit de l'INBAP à la K.U. Leuven : stratégie de conservation et mode d'opération. Kardinaal Mercierlaan, 92.B-3001 Herverlee (Belgique). 36p.

52. TINDO, M., TAGNE, A., MPE, J. M., AYODELE, M., et NDIKONTAR, A., 2010. Les nuisibles du bananier plantain. In. Guide technique sur les nuisibles de la banane plantain, le maïs, le manioc et la tomate. Pp. 6-13.

53. VUYLSTEKE, D., DE LANGHE E., 1985. *Feasibility of in vitro propagation of bananas and plantains*, Trop. Agric. (Trinidad) 62: 323–328 p.

54. YOUMBI, E., NGAHA, D., 2004. Expression *in vitro* des capacités organogènes des bourgeons axillaires chez le bananier plantain (*Musa spp.*) .In *Fruits*, vol. 59, Cirad/EDP Sciences. BP 832, Douala, Cameroun. Pp. 241–248.

WEBOGRAPHIE

- 1- <http://www.balademalgache.com/la-banane/>
- 2- <https://www.planetoscope.com/fruits-legumes/1177-production-mondiale-de-bananes.html>
- 3- <http://www.newsmada.com/2017/01/16/nisondrotra-ny-vidinny-ppn>
- 4- <http://www.franceagroalimentaire.com/thematiques/produits-de-france/articles/fiche-technique-banane/>
- 5- <http://agir.avec.madagascar.over-blog.com/article-fruits-les-maladies-des-bananiers-persistent-115365060.html>
- 6- <https://fr.wikipedia.org/wiki/Banane>
- 7- <https://planet-vie.ens.fr/article/2521/mille-bananes#des-diploides-sauvages-aux-diploides-comestibles>
- 8- http://svt.ac-reunion.fr/ressources/regionales/site_apoi/croissancebananier/1.jpg
<http://www.biologievegetale.be/index.php>
- 9- http://culture_invitro_e_monsite.com
- 10- http://culture_invitro_e_monsite.com/pages/plan/quelles-sont-lesconditions-optimales-pour-une-bonne-culture-invitro_annexe-1-tp.html
- 11- http://www.eplantscience.com/botanical_biotechnology_biology_chemistry/biotech_intro.ph
- 12- <http://www.actu.orange.fr/environnement/wwf/biodiversite-madagascar.html>
- 13- <http://lyc89-larousse.ac-dijon.fr/.../>
- 14- <http://fr.wikipedia.org/wiki/classification>
- 15- <http://www.google.com/search?q=dominance+apicale+et+formaton+des+bourgeons+axillaires&client=firefox-b&>
- 16- <https://www.google.com/search?q=valeur+nutritive+pour+100g+de+banane+crue>

ANNEXES

ANNEXES

ANNEXES

Annexe I : Composition du milieu de base de MURASHIGE et SKOOG modifié (1962)

ELEMENTS DE BASE DU MILIEU	FORMULE CHIMIQUE	CONCENTRATION (g/l)
Nitrate d'ammonium	NH_4NO_3	66
Nitrate de potassium	KNO_3	76
Sulfate de magnésium	$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	14,8
Phosphate de potassium dibasique	KH_2PO_4	6,8
acide borique	H_3BO_3	6,2
sulfate de manganèse	$\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	22,3
sulfate de zinc	$\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	8,6
Molybdate de Sodium	$\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	0,25
Sulfate de cuivre	$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	0,025
Chloride de Cobalte	$\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	0,025
Iodure de Potassium	KI	0,83
Chloride de Calcium	CaCl ₂	150
Agents chélateurs	Na_2EDTA $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	3,73 2,7
Myo-inositol		0,05

Annexe II : composition des vitamines du milieu de base

Vitamines	CONCENTRATION EN SOLUTION STOCK (g/l)
Pyridoxine	1
Acide nicotinique	1
Thiamine	1
Glycine	1
Myo-inositol	0,1

ANNEXES

Annexe III : Classification et répartition géographique des principales variétés (Champion, 1963)

Groupe	sous-groupe	Cultivars	Types de fruit	Distribution
AA	Sucrier	Pisang Mas/Frayssinette/ Figue sucrée	dessert-sucré	tous continents
		Pisang Lilin	dessert	Indonésie/Malaisie
		Pisang Berangan/Lakatan	dessert	Indonésie/Malaisie/Philippines
AAA	Cavendish	Lacatan/Poyo/Williams/ Grande Naine/	dessert	tous continents, pays exportateurs
	Gros-Michel	Gros Michel/Highgate/Cocos	dessert	tous continents
	Figue-Rose	Figue-Rose rose/Figue-Rose verte	dessert	tous continents
	Lujugira	Intuntu/Mujuba	à bière/à cuire	Afrique de l'Est et Centrale, Colombie
	Ibota	Yangambi km5	dessert	Indonésie/Afrique
AB	Ney Poovan	Safet Velchi/Sukari	dessert-acidulé	Inde/Afrique de l'Est
AAB	Figue-Pomme	Maçà/Silk	dessert-acidulé	tous continents
	Pome	Prata	dessert-acidulé	Inde/Malaisie/Australie/
				Afrique de l'Ouest/Brésil
	Mysore	Pisang Ceylan	dessert-acidulé	Inde
	Pisang Kelat	Pisang Kelat	dessert	Inde/Malaisie
	Pisang Rajah	Pisang Rajah Bulu	à cuire	Malaisie/Indonésie
	Plantain	French/Corne/Faux Corne	à cuire	Afrique Centrale et de l'Ouest/ Amérique Latine/Caraïbes
	Popoulou	Popoulou	à cuire	Pacifique
	Laknao	Laknao	à cuire	Philippines
ABB	Pisang Nangka	Pisang Nangka	à cuire	Malaisie
	Bluggoe	Bluggoe/Matavia/Poteau/Cacambou	à cuire	tous continents
	Pelipita	Pelipita	à cuire	Philippines/Amérique Latine
	Pisang Awak	Fougamou	dessert	Inde/Thaïlande/Philippines/
				Afrique de l'Est
	Peyan		à cuire	Philippines/Thaïlande
	Saba	Saba	à cuire	Philippines/Indonésie/Malaisie

ANNEXES

Annexe IV : Valeur nutritive de la banane dessert (<http://15>)

BANANE			
Valeur nutritive pour 100 grammes de banane crue			
Eau : 74,94 g	Cendres totales : 0,82 g	Fibres : 2,6g	Valeur énergétique : 89kcal
Protéines : 1,09 g	Lipides : 0,33 g	Glucides : 22,84 g	Sucre simples : 12,23g
Oligo-éléments			
Potassium : 358 mg	Magnésium : 27 mg	Phosphore : 22 mg	Calcium : 5 mg
Sodium : 1mg	Cuivre : 78 µg	Fer : 26 µg	Zinc : 15 µg
Vitamines			
Vitamine C : 8,7mg	Vitamine B1 : 31µg	Vitamine B2 : 73 µg	Vitamine B3 : 665 µg
Vitamine B5 : 334 µg	Vitamine B6 : 367µg	Vitamine B9 : 0 µg	Vitamine B 12 : 0 µg
Vitamine A : 64 UI	Rétinol : 0 µg	Vitamine E : 0,10 µg	Vitamine K : 0,5 µg
Acide gras			
Saturés : 112 mg	Mono-insaturés : 32mg	Poly-insaturés : 73mg	Cholésterol : 0 mg

UNIVERSITY OF ANTANANARIVO
FACULTY OF SCIENCES

Domain: Science and Technology

Title: EFFECTS OF PHYSICO-CHEMICAL TREATMENTS ON BANANA

MICROPROPAGATION: *Musa sapientum* L var. Giant cavendish and *Musa esculenta* L var.

Sugary fig

Author : Mbolatiana FARASOA

Advisor : Prof. RAMANAMPAMONJY Nivohanintsoa née RAVONIARISON

ABSTRACT

In Madagascar, low productivity of banana, insufficient number of improved varieties, phytosanitary problems due to pest attacks; fungal and viral diseases are the major constraints of banana culture.

In vitro micropropagation was adopted in order to produce healthy seedlings of the two selected varieties of banana: *Musa sapientum* L. Var. Giant cavendish and *Musa esculenta* L Var. Sugary fig. The *explants* were sterilized successively with 1.0% Captan + 0.2% Benlate for 10 min, 1% for 5 min followed by 2% for 90 min of sodium hypochlorite. Their regeneration was carried out in the Murashige and Skoog medium supplemented with 5 mg / l of Benzyl Adenine. On their micropropagation, different concentrations of BA varying from 0.5 mg / l to 10 mg / l were used as chemical treatment and destruction of apical shoot meristem as well as variation of culture's light regime were used as physical treatments.

The disinfection treatments made it possible to obtain a total decontamination of the *explants*. All *explants* were regenerated in the presence of 5 mg / l BA. The growth of vitroplants is favored in the absence of BA; The BA doses of 5 mg / l and 10 mg / l are the most appropriate for the axillary shoots proliferation, respectively in the Giant cavendish and Sugar fig varieties. The suppression of apical dominance induced the maximal proliferation of axillary shoots: 3.5 per vitroplant for the Giant cavendish variety and 3.7 per vitroplant for Sugary fig. The culture to the total obscurity of the vitroplants affected the multiplication of the shoots negatively at these two varieties. The production of plants of these two species by micropropagation is a success through the obtained results and the high rates of survival during their acclimatization: 93.2% for the variety Giant cavendish and 88.4% for the variety Sugary fig.

Key words: Banana, Benzyl Adenine, apical dominance, Giant cavendish, Sugary fig,

micropropagation.

MEMORY OF MASTER II

Course: Plants Physiology and
Biotechnology

Université d'Antananarivo

Faculté des Sciences

Domaine : Sciences et Technologies

MEMOIRE DE MASTER II

Mention : Biologie et Ecologie Végétales

Parcours : Physiologie et Biotechnologie Végétales

Titre : EFFETS DES TRAITEMENTS PHYSICO-CHIMIQUES SUR LA MICROPROPAGATION DES BANANIERS : *Musa sapientum* L. var. Grande naine et *Musa esculenta* L. var. Figue sucrée.

Auteur : FARASOA Mbolatiana

Encadreur : Prof. RAMANAMPAMONJY Nivohanintsoa née RAVONIARISON

RESUME

À Madagascar, la faible productivité de bananier, l'insuffisance de nombre des variétés améliorées, les problèmes phytosanitaires dus aux attaques des ravageurs et aux maladies fongiques et virales constituent les contraintes majeures de la culture de bananier.

La micropropagation *in vitro* a été adoptée en vue de produire en grande quantité des plantules saines des deux variétés sélectionnées de bananier : *Musa sapientum* L. Var. Grande naine et *Musa esculenta* L Var. Figue sucrée. Les *explants* ont été stérilisés successivement avec 1,0 % de Captan + 0,2 % de Benlate pendant 10 mn, 1% pendant 5 mn suivi de 2% pendant 90 mn d'hypochlorite de sodium. Leur régénération a été effectuée dans le milieu de Murashige et Skoog additionné de 5 mg/l de Benzyle Adénine. Sur leur micropropagation, différentes concentrations de BA variant de 0,5 mg /l à 10 mg/l ont été utilisées comme traitement chimique et la destruction du méristème apical caulinaire ainsi que la variation du régime lumineux de la culture comme traitements physiques.

Les traitements de désinfection ont permis d'obtenir une décontamination totale des *explants*. Tous les *explants* ont été régénérés en présence de 5 mg/l de BA. La croissance des *vitroplants* a été favorisée en absence de BA ; les doses de BA : 5 mg/l et 10 mg/l ont été les plus appropriées pour la prolifération de pousses axillaires, respectivement chez les variétés Grande naine et Figue sucrée. La levée de la dominance apicale a induit la prolifération maximale des pousses axillaires : 3,5 par *vitroplant* pour la variété Grande naine et de 3,7 par *vitroplant* pour Figue sucrée. La culture à l'obscurité totale des *vitroplants* a affecté négativement la multiplication des pousses chez ces deux variétés. La production de plantules de ces deux espèces par la micropropagation est une réussite vu les résultats obtenus et les taux élevés de survie pendant leur acclimatation : 93,2% pour la variété Grande naine et 88,4% pour la variété Figue sucrée.

Mots clés : Bananier, Benzyle Adénine, dominance apicale, Grande naine, Figue sucrée, micropropagation.