

**UNIVERSITE DE KISANGANI
FACULTE DES SCIENCES**

**DEPARTEMENT DES SCIENCES
BIOTECHNOLOGIQUES**



**ETUDE DU POTENTIEL EMBRYOGENE CHEZ TROIS
CULTIVARS DE BANANIERS PLANTAINS (*Musa* AAB)
A KISANGANI**

Par

Gracia MAVE DHED'ASI

MEMOIRE

Présenté en vue de l'obtention du titre de
Licenciée en Sciences

Option : Biologie

Orientation : Sciences Biotechnologiques

Directeur: Prof DHED'A DJAILO

Co-directeur: Prof. ADHEKA GIRIA

ANNEE ACADEMIQUE : 2015-2016

A nos parents Benoit Dhed'a et Anne-Marie Amisi

Nos frères Willy Ngabu, Daniel Maki, Olivier Basa, Junior Lokana et Lawrence Ngave,

Nos sœurs Gloria Makisi et Bénédicte Chusi

Nos cousins et cousines

Nos amis

Je dédie ce travail

AVANT PROPOS

Au terme de ce travail de fin d'études universitaires, il serait ingrat de notre part de ne pas remercier tous ceux qui de près ou de loin y ont participé d'une manière ou d'une autre.

En premier lieu, qu'il soit permis de rendre grâce à notre Dieu Tout Puissant, Maître de temps et de circonstance.

En second lieu, nos remerciements les plus distingués s'adressent au Professeur DHED'A DJAILO qui a accepté de diriger ce travail malgré ses multiples occupations tant académiques qu'administratives. Il en va de même pour le Professeur ADHEKA GIRIA co-directeur de ce travail.

Nous remercions aussi le Chef de travaux TSHIDIBI TSHIMBILA qui nous a suivi et nous a aidé dans la réalisation des analyses statistiques. Qu'il nous soit également permis de remercier tous les enseignants de la Faculté de Sciences pour le savoir, le savoir faire et le savoir être que nous avons reçu d'eux. Qu'ils trouvent à travers ce travail notre profonde reconnaissance.

Nous remercions nos techniciens de laboratoire Sabine YASENGE et Germain BATSI pour leur encadrement avec dévouement et abnégation.

Nous remercions aussi notre très cher ami Fiston NGONGO pour tout le soutien apporté à notre égard.

Enfin nous remercions nos camarades de lutte : Yolande ADIPEPE, Winnie LIKILO, Charlotte MBOLIPATYANI, Rose MOKILI, Vincent MONGENGO, Rajack NYAMAIFOFE, Gloria OLEKO, Antoinette OTAY, Jules TONGANGA, Charlie TCHATCHAMBE et TSHINKULU.

Gracia MAVE DHED'ASI

RESUME

ETUDE DU POTENTIEL EMBRYOGENE CHEZ TROIS CULTIVARS DE BANANIERS PLANTAINS (*Musa* AAB) A KISANGANI

Dans ce travail, il a été question d'étudier le potentiel embryogène de 3 cultivars des bananiers plantains (*Musa* AAB) à partir d'un tissu somatique. Pour atteindre cet objectif, le matériel utilisé a été un tissu végétatif non embryogénique (scalp), un explant prélevé sur le bourgeon meristématique en prolifération après trois subcultures chez les trois cultivars dont les observations se sont faites sur 5 tubes par cultivar. Les observations sur le nombre de bourgeons meristématiques, de globules meristématiques et de globules embryogènes produites *in vitro* ont été faites pendant 8 semaines à partir des apex proliférés sur 100µM de BAP et par la suite additionnés de 5µM 2, 4-D.

Les résultats obtenus ont montré que Bosakaraka I a produit en moyenne 12 bourgeons meristématiques à la troisième subculture, cette moyenne pour la production des globules meristématiques et globules embryogènes a été 2,2 et 22,2 respectivement. Libanga Likale a produit en moyenne 11 bourgeons meristématiques à la troisième subculture. Le nombre moyen des globules meristématiques et globules embryogènes a été 10 et 20,8 respectivement. Tala Lola a induit en moyenne après trois subcultures 17,6 bourgeons meristématiques. La moyenne de globules meristématiques et globules embryogènes a été 7 et 31,6 respectivement.

L'ANOVA appliquée à ces résultats a montré l'existence des différences significatives entre les trois cultivars. La comparaison des moyennes par le test de DUNCAN montre qu'il existe une différence significative entre Tala Lola et Libanga Likale et entre Bosakaraka I et Tala Lola. Par ailleurs, il n'existe pas de différences significatives entre Bosakaraka I et Libanga Likale et entre Bosakaraka I et Tala Lola à la troisième subculture. En ce qui concerne les globules meristématiques et les globules embryogènes, il n'existe pas de différence significative entre les cultivars mais il existe une corrélation entre la prolifération des bourgeons meristématiques et la production des globules meristématiques d'une part et entre le nombre des bourgeons meristématiques et l'induction des globules embryogènes d'autres part. Cependant, une très grande attention doit être accordée à la qualité de la prolifération des

bourgeons et de l'homogénéité de l'explant afin d'exprimer le maximum de potentiel embryogène des cultivars étudiés.

L'ensemble de ces résultats montre que les cultivars utilisés possèdent un potentiel embryogènes dont la variation reste à confirmer sur un plus grand nombre d'essai.

ABSTRACT

STUDY OF EMBRYOGENIC POTENTIAL AT THREE CULTIVAR PLANTAINS BANANA (*Musa* AAB) IN KISANGANI

In this work, it was matter of studying the embryogenic potential in 3 cultivars of plantains (*Musa* AAB) from somatic tissue. To achieve this goal, the material used was a non-embryonic vegetative tissue, scalp, an explant taken from the meristematic bud proliferation after three subcultures in three cultivars whose observation was made on 5 tubes. The cultivar observations on the number of embryogenic callus and meristematic cells produced *in vitro* were made for 8 weeks from the buds proliferated about 100 μ M BAP. The results showed Bosakaraka I Libanga Likale and Tala Lola produced an average of 2.2; 10 and 7 respectively meristematic cells. These cultivars have produced respectively 22,2; 20,8 and 31,6 embryogenic callus on average. ANOVA applied to these results showed the existence of significant differences between the three cultivars. The comparison of means by DUNCAN test shows that there is a significant difference between Tala Lola and Libanga Likale and between Bosakaraka I and Tala Lola. There is not yet significant difference between Bosakaraka I and Libanga likale and between Bosakaraka I and Tala Lola. Regarding the meristematic cells and embryogenic callus there is no significant difference between cultivars. Moreover, one can note the existence of correlation between the bud proliferation and induction of embryogenic calli on the one hand and between the production of meristematic cells and the number of buds other hand.

However, a great attention should be made in terms of bud proliferation quality and the homogeneity of the explant for allowing the maximum expression of the embryogenic potential within the studied cultivars. Whole these results show that the used cultivars possess an embryogenic potential of which the variation needs to be confirmed with great trial.

TABLE DES MATIERES

Dédicace	
Avant – Propos	
Résumé	
Abstract	
INTRODUCTION	1
1. PROBLEMATIQUE.....	1
2. HYPOTHESES	2
3. OBJECTIFS	2
3.1. Objectif général.....	2
3.2. Objectifs spécifiques.....	2
4. INTERET DU TRAVAIL	3
6. SUBDIVISION DU TRAVAIL.....	3
7. TRAVAUX ANTERIEURS SUR LA MULTIPLICATION RAPIDE DES BANANIERS (<i>MUSA Spp.</i>) A KISANGANI.....	3
CHAPITRE PREMIER : CONNAISSANCE GENERALE DU BANANIER.....	5
1.1. ORIGINE ET DIVERSIFICATION.....	5
1.2. DESCRIPTION BOTANIQUE	5
1.3. SYSTEMATIQUE ET CLASSIFICATION	7
1.4. IMPORTANCE ET USAGE DU BANANIER.....	9
1.5. VALEUR NUTRITIONNELLE.....	10
1.6. MALADIES ET RAVAGEURS	11
1.7. LES REGULATEURS DE CROISSANCE	11
1.7.1. Les auxines	12
1.7.2. Les cytokinines	12
1.7.3. Les gibbérellines	12
1.7.4. L'acide abscissique	12
1.7.5. L'éthylène	13

1.8. NOUVEAUX REGULATEURS DE CROISSANCE.....	13
1.8.1. Les polyamines	13
1.8.2. Les stérols	13
1.8.3. Les oligopeptides	13
1.8.4. Les Jasmonates	13
1.8.5. Les Salicilates	14
1.9. PROBLEME D'AMELIORATION GENETIQUE DE BANANIER.....	14
1.9. MULTIPLICATION.....	15
1.9.1. Multiplication normale	15
1.9.2. Multiplication <i>in vitro</i>	16
CHAPITRE DEUXIEME : MATERIEL ET METHODES.....	17
2.1 MILIEU D'ETUDE	17
2.1.1. Matériel végétal	17
2.2. Méthodes.....	18
2.2.1. Mise en culture <i>in vitro</i>	18
a) Composition des milieux de cultures.....	19
b) Réalisation	20
3.1. TAUX DE REPRISE <i>IN VITRO</i> OBTENUS CHEZ DIFFERENTS CULTIVARS.	23
3.2. EVOLUTION DE NOMBRE DE BOURGEONS MÉRISTÉMATIQUES PRODUITS <i>IN VITRO</i> PAR DIFFERENTS CULTIVARS POUR TROIS SUBCULTURES	25
3.3. EVOLUTION DES CELLULES EMBRYOGÈNES CHEZ DIFFERENTS CULTIVARS	28
3.4. OBSERVATION MICROSCOPIQUE DES CELLULES EMBRYOGENIQUES.	30
3.5. CORRELATION ENTRE LES BOURGEONS MERISTEMATiques PRODUITS <i>IN VITRO</i> , LES GLOBULES MÉRISTÉMATIQUES ET LES GLOBULES EMBRYOGENES EMIS <i>IN VITRO</i>	32
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	41

LISTE DES FIGURES

<i>Figure 1: Représentation schématique d'un bananier à maturité avec ses rejets suivant CHAMPION(1963) (DHED'A et al.2011).....</i>	<i>6</i>
<i>Figure 2: Différents types de plantains suivant le niveau de dégénérescence florale (DHED'A et al., 2011).....</i>	<i>8</i>
<i>Figure 3: Bananier et plantain hybrides tétraploïdes introduits dans la collection de la Faculté des Sciences de l'UNIKIS (Photos DHED'A)</i>	<i>14</i>
<i>Figure 4: Macropropagation par décapitation ex situ (photos Joseph KOMOY)</i>	<i>15</i>
<i>Figure 5: Jardin de collection Site Faculté des Sciences</i>	<i>17</i>
<i>Figure 6: Laboratoire de culture in vitro Faculté des Sciences.....</i>	<i>17</i>
<i>Figure 7: Photos de cultivars de bananiers plantains (Musa AAB) utilisés comme matériel biologique</i>	<i>18</i>
<i>Figure 8: Hotte à flux d'air laminaire.....</i>	<i>22</i>
<i>Figure 9: Microscope stéréoscopique</i>	<i>22</i>
<i>Figure 10: Microscope biologique avec caméra numérique couplé à un ordinateur</i>	<i>22</i>
<i>Figure 11: Chambre de culture aseptique.....</i>	<i>22</i>
<i>Figure 12: Moyenne des bourgeons meristématiques produits par Bosakaraka après trois subcultures.....</i>	<i>25</i>
<i>Figure 13: Moyenne des bourgeons meristématiques produits par Libanga Likale après trois subcultures.....</i>	<i>26</i>
<i>Figure 14: Moyenne de bourgeons meristématiques produits par Tala Lola après trois subcultures.....</i>	<i>26</i>
<i>Figure 15: Moyenne de bourgeons meristématiques produits par trois cultivars à la troisième subculture.....</i>	<i>27</i>
<i>Figure 16: Moyenne des globules méristématiques produits chez différents cultivars.....</i>	<i>29</i>
<i>Figure 17: Globules meristématiques évolués en globules embryogènes</i>	<i>29</i>
<i>Figure 18: Moyenne de globules embryogènes dans les cals produites chez différents cultivars.</i>	<i>30</i>
<i>Figure 19: Embryons somatiques</i>	<i>31</i>
<i>Figure 20: groupes de cellules embryogènes</i>	<i>31</i>
<i>Figure 21: Corrélation entre la production des bourgeons meristématiques et l'émission des globules méristématiques chez trois cultivars.....</i>	<i>32</i>

<i>Figure 22: Corrélation entre la production des bourgeons meristématiques et l'émission des globules embryogènes chez différents cultivars.</i>	33
<i>Figure 23: Corrélation entre la production des globules meristématiques et l'émission des globules embryogènes chez différents cultivars.....</i>	33
<i>Figure 24: Corrélation entre le nombre de bourgeons meristématiques et globules meristématiques chez Bosakaraka I.....</i>	34
<i>Figure 25: Corrélation entre le nombre des bourgeons meristématiques et globules meristématiques chez Libanga Likale.....</i>	35
<i>Figure 26: Corrélation entre le nombre de bourgeons meristématiques et globules meristématiques produits par Tala Lola.....</i>	35
<i>Figure 27: Corrélation entre le nombre des bourgeons meristématiques et globules embryogènes.</i>	36
<i>Figure 28: Corrélation entre la production des bourgeons meristématiques et l'émission des globules embryogènes chez Libanga Likale.....</i>	36
<i>Figure 29: Corrélation entre la production des bourgeons meristématiques et l'induction des globules embryogènes chez Tala Lola.....</i>	37

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1: Noms, types, génotypes, et usage de cultivars de bananiers plantains utilisés comme matériel végétal dans ce travail. 18

Tableau 2: Tableau 2 : Composition détaillée du milieu de Murashige et Skoog 19

Tableau 3: Taux de reprise *in vitro* chez Bosakaraka I au cours de trois subcultures. 23

Tableau 4: Taux de reprise *in vitro* chez Libanga Likale au cours de trois subcultures. 24

Tableau 5: Taux de reprise *in vitro* chez Tala Lola au cours de trois subcultures. 24

Tableau 6: Présence ou absence des cals hydriques 28

INTRODUCTION

1. PROBLEMATIQUE

Le bananier et bananier plantain jouent un rôle important sur le plan économique, culturel et nutritionnel dans le monde entier et particulièrement dans les pays en voie de développement dont fait partie la République Démocratique du Congo (RDC). Ils occupent la 2^{ème} position comme culture d'autoconsommation qui concoure grandement à la sécurité alimentaire de cette contrée en majorité pauvre. Ils constituent en RDC, une des principales cultures d'autoconsommation de la population surtout dans la Province Orientale démembrée (ONAUTSHU, 2013). En plus, comme le manioc, le riz ou le maïs et l'huile de palme, ils sont une importante source de revenu pour les ménages.

Cependant, les bananiers cultivés sont dans la plupart triploïdes et ne produisent pas de graines ; ce qui limite leur multiplication, malgré de nombreuses recherches effectuées pour augmenter le taux de rejetonnage (DHED'A *et al.*, 2011). De plus, il se pose un problème de disponibilité de matériel de plantations à cause du phénomène de dominance apicale qui inhibe le développement des bourgeons latéraux jusqu'au fleurissement du pied mère et de l'insuffisance de connaissances de techniques pour la multiplication de matériel sain.

Il se pose aussi un problème d'amélioration génétique du bananier et bananier plantain à cause du niveau élevé de stérilité due à la polyploïdie (PERSLEY and DE LANGHE, 1987), la fluctuation saisonnière dans la formation des graines (SWENNEN *et al.*, 1991) et un long cycle végétatif de la plante (DHED'A, 1992).

Pour résoudre ce problème, la multiplication *in vitro* a été proposée. En effet, non seulement le taux de multiplication par celle-ci est de loin supérieur à celui qu'on peut obtenir au champ, mais encore, les plantules issues de la culture *in vitro* sont saines, exemptes de charançons, de nématodes et des champignons et sont très homogènes (DHED'A, 1992). Ceci montre l'importance d'application des techniques de multiplication *in vitro* aux bananiers et celle d'étudier le potentiel embryogène des différentes variétés

afin de produire du matériel de plantation de qualité en masse par embryogenèse somatique. Afin d'aborder ce problème, nous nous sommes posés les questions suivantes :

- Le taux de prolifération *in vitro* varie-t-il avec les cultivars ?
- Le nombre des globules meristématiques et globules embryogènes varient-ils avec les cultivars ?
- Existe-t-il une corrélation entre le taux de prolifération *in vitro* et le potentiel embryogène des cultivars ?

2. HYPOTHESES

Afin de répondre à ces questions, nous nous sommes basées sur les hypothèses selon lesquelles :

- Le taux de prolifération *in vitro* des bourgeons varierait d'un cultivar à l'autre.
- Le nombre des globules meristématiques et globules embryogènes produits varieraient d'un cultivar à l'autre.
- Il y aurait une corrélation entre le nombre des bourgeons produits et le potentiel embryogène des cultivars.

3. OBJECTIFS

3.1. Objectif général

Cette étude a pour objectif général l'étude du potentiel embryogène chez trois cultivars de bananiers plantains (*Musa* AAB) dans les conditions de Kisangani.

3.2. Objectifs spécifiques

Ses objectifs spécifiques sont :

- Déterminer le taux de prolifération *in vitro* de trois cultivars de bananiers plantains
- Déterminer le potentiel embryogène de ces trois cultivars.
- Etudier la corrélation entre la prolifération *in vitro* des bourgeons et le potentiel embryogène de ces différents cultivars.

4. INTERET DU TRAVAIL

L'intérêt de ce travail réside dans sa contribution à la mise au point des techniques de multiplication en masse des bananiers pouvant permettre la mise en disponibilité de matériel de plantation en quantité et en qualité. Ceci aura comme conséquence une augmentation de la production ; ce qui conduira à une amélioration non seulement de la sécurité alimentaire de la contrée, mais aussi ; à l'augmentation du revenu agricole et à la réduction de la pauvreté. Le travail permet aussi d'initier des travaux d'amélioration des bananiers plantains.

6. SUBDIVISION DU TRAVAIL

Hormis l'introduction et la conclusion, le travail comprend trois chapitres dont le premier concerne la connaissance sur le bananier, le deuxième sera consacré au matériel et méthodes et le troisième chapitre concerne les résultats et la discussion. Quelques suggestions et perspectives vont clore ce travail.

7. TRAVAUX ANTERIEURS SUR LA MULTIPLICATION RAPIDE DES BANANIERS (*MUSA Spp.*) A KISANGANI

Pour essayer d'augmenter la capacité d'avoir un taux de multiplication rapide des bananiers au champ, par décapitation *ex situ* et *in vitro*, différentes études ont été menées dans la région de Kisangani en RDC.

Ces études ont concerné par le passé la multiplication du bananier plantain Bosua (*Musa* AAB) (De Langhe, 1961) ; la multiplication rapide *ex situ* par décapitation simple chez French géant (*Musa* AAB) et Gros Michel (*Musa* AAA)(MUSUMBU,1997) et chez Bluggoe (*Musa* ABB) et Cardaba (*Musa* ABB), FHIA-01(*Musa* AAAB), FHIA-02 (*Musa* AAAB), FHIA-03(*Musa* AABB) et FHIA-017(*Musa* AAAA) (KAY, 2002).

D'autres essais par décapitation *ex situ* ont été effectués avec un traitement hormonal en utilisant les noix de coco chez Litete (*Musa* AAB), Libanga Likale (*Musa* AAB) et Tala Lola (*Musa* AAB) (MUKONO, 2013). Pour ce qui est de la multiplication *in vitro* on peut

citer les travaux effectués sur l'essai de multiplication en utilisant le lait de noix de coco chez la Grande Naine (*Musa AAA*) et Libanga Noir (*Musa AAB*) (LISSINGI, 1999).

ADHEKA, (2007) avait travaillé sur l'effet de la micro décapitation sur la prolifération *in vitro* des bourgeons chez Bosakaraka , Libanga Noir et Tala Lola (*Musa AAB*). MAVE, (2014) a comparé le taux de prolifération *in situ* et *in vitro* chez Litete, Libanga Likale et Tala Lola (*Musa AAB*).

Quant à ce qui concerne l'embryogenèse Somatique, Les premières études ont été réalisées par GATIN, (1908) et WHITE, (1928). Des embryons somatiques adventives typiques ont été obtenus chez les espèces sauvages *Musa acuminata* et *Musa balbisiana* à partir des embryons zygotiques immatures par ESCALANT et TEISSON (1988,1989). Des embryons somatiques en cultures de suspensions cellulaires ont été rapportés par NOVAK *et al.*, (1989), DHED'A, (1992) chez les bananiers diploïdes et triploïd

CHAPITRE PREMIER : CONNAISSANCE GENERALE DU BANANIER

1.1. ORIGINE ET DIVERSIFICATION

Le bananier et le bananier plantain sont originaires d'Asie du Sud-est, plus précisément dans une région limitée à l'Ouest par l'Inde et à l'Est par l'amont de l'océan pacifique. C'est dans cette zone que se retrouvent les deux espèces (*Musa acuminata* et *Musa balbisiana*) qui sont principalement à l'origine de toutes les variétés de bananiers et bananiers plantains cultivées actuellement à travers le monde. Ce sont les migrations humaines et les échanges de matériel végétal qui ont permis aux bananiers et aux bananiers plantains de se répandre à travers tous les continents. Ils n'atteignent le bassin méditerranéen qu'avec les conquêtes de Mohamed à l'an 650. Transportés par les marchands arabes, ils arrivent sur la côte Est de l'Afrique vers le milieu du premier millénaire de notre ère, puis se sont répandus à travers tout le Nord de ce continent jusqu'à la côte Ouest (BAKRY, 1984).

A cause de la longue histoire de la mise en culture des bananiers en Afrique, les mutations ont provoqué une importante augmentation de la variabilité dans ce continent. Cette variabilité ne peut pas être la conséquence des croisements car les bananiers arrivés en Afrique étaient stériles. Ces centres de diversité secondaires sont l'Afrique de l'Est pour les bananiers d'altitude et l'Afrique Centrale et de l'Ouest pour les bananiers plantains (DE LANGHE *et al.*, 1994 ; DHED'A *et al.*, 2011).

1.2. DESCRIPTION BOTANIQUE

Le bananier est une herbe géante monocotylédone de grande taille sans tige végétative aérienne. La tige, souterraine, est le centre vital du bananier, lieu de formation des racines, des feuilles et de l'inflorescence. C'est à ce niveau que se différencient les rejets assurant la pérennité de l'espèce. Le système racinaire est de type fasciculé (LASSOUDIERE, 2007).

L'inflorescence qui est annoncée par l'apparition des bractées, se présente comme un cône violacé. Celui-ci se dirige d'abord vers le haut puis, suite à la croissance du

rachis, se dirige vers le bas (géotropisme positif), tout en déployant des gaines violacées, des bractées portant à leurs aisselles des doubles rangées de fleurs femelles. Chacune de ces fleurs, après développement parthénogénique de son ovaire donnera un « doigt » ou banane qui, à la chute de la bractée, se recourbe vers le haut (géotropisme négatif). Chaque nœud ou double rangée de doigts constitue une main. Quant aux fleurs mâles, elles restent regroupées sur le cône violacé à l'extrémité basale de l'inflorescence (SKIREDJ *et al.*, 2005 ; LASSOUDIÈRE, 2007). La description schématique du bananier à maturité est donnée par la figure 1.

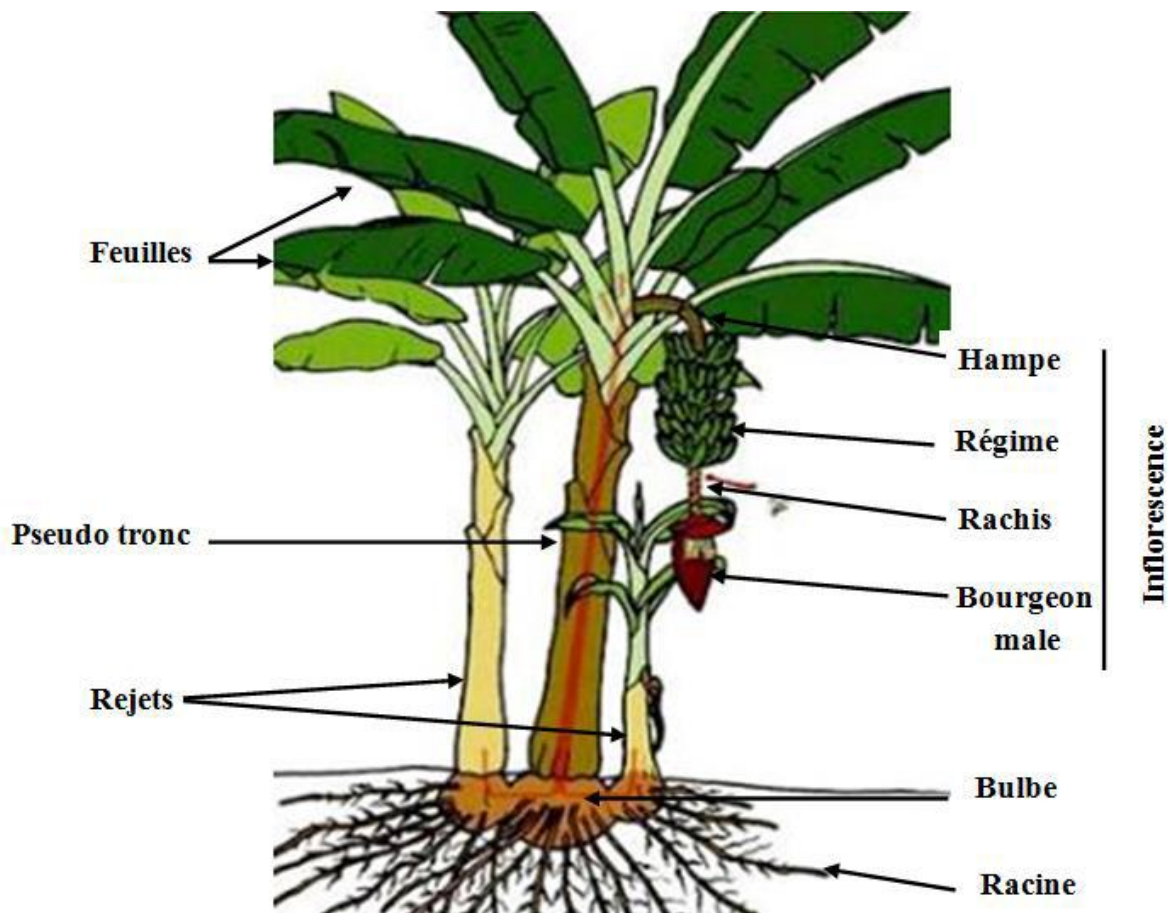


Figure 1: Représentation schématique d'un bananier à maturité avec ses rejets suivant CHAMPION(1963) (DHED'A *et al.* 2011)

1.3. SYSTEMATIQUE ET CLASSIFICATION

Les bananiers appartiennent à l'ordre des scitaminales, ou zingibérales (SIMMONDS, 1966), avec *Ravenala madagascariensis*, *Strelitzia reginae*, *Heliconia sp.* Monocotylédones à fleurs asymétriques zygomorphes, ils forment la famille des musacées, ou Musaceae : cotylédon unique, pièces florales par 3 ou multiples de 3, nervation secondaire des limbes parallèles, absence de formations vasculaires secondaires dans la tige et les racines.

La famille des Musaceae comporte trois genres : *Musella*, *Ensete*, *Musa*. Dans ce dernier, seuls les *Eumusa* ont donné des espèces parthénocarpiques (LASSOUDIÈRE, 2007).

Le genre *Musa* est divisé en quatre sections : *Australimusa*, *callimusa*, *rhodochlamys* et *Eumusa*. Pratiquement tous les bananiers et bananiers plantains cultivés pour l'alimentation appartiennent à la section *Eumusa*. C'est le genre le plus diversifié avec plus de 1000 variétés. Les espèces qui forment cette section sont : *Musa basjoo*, *Musa itinerans*, *Musa schizocarpa*, *Musa acuminata* et *Musa balbisiana*. (INIBAP, 2001).

La plupart des bananiers comestibles proviennent de croisement entre les sous espèces de *Musa acuminata* (A) seule ou du croisement entre les espèces *Musa acuminata* (A) et *Musa balbisiana* (B) et sont donc codés AA, AB, AAA, AAB, ABB,... Le nombre de lettres traduit le niveau de ploïdie du génome. Ces regroupements forment des groupes et à l'intérieurs de ces groupes, des cultivars ayant beaucoup de caractères en commun forment des sous-groupes (DHED'A *et al.*, 2011). Dans le groupe de bananiers AAB, les plantains africains constituent un sous-groupe assez homogène (SWENNEN, 1984 ; ADHEKA, 2014).

L'homogénéité, du point de vue botanique de bananiers plantains est accompagnée d'une extraordinaire variabilité morphologique. Ainsi, DE LANGHE (1961) avait identifié 56 cultivars de bananiers plantains dans la région de Yangambi en se basant sur la taille du pseudo tronc, sa couleur, le développement de l'axe mâle, l'orientation du régime et celui des doigts, les formes de l'acumen, la persistance du stylet et/ou des staminoïdes charnus.

Des récents travaux sur la caractérisation et la classification des bananiers plantains du bassin du Congo ont permis d'identifier 97 différents cultivars installés dans la collection de l'Université de Kisangani (ADHEKA, 2014).

Les bananiers plantains sont regroupés en trois grands types suivant le modèle de dégénérescence de l'inflorescence :

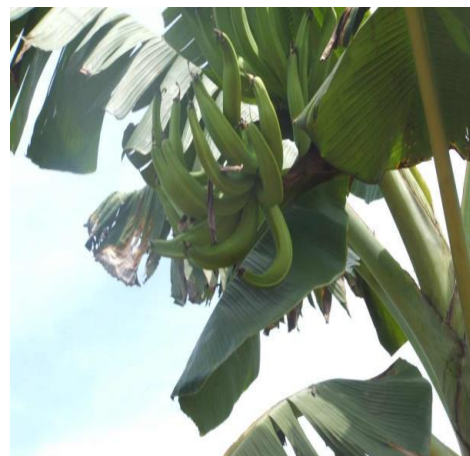
- Le type 'French', ayant une inflorescence complète et le bourgeon mâle étant présent à maturité ;
- Le type 'Faux Corne', dont l'inflorescence est incomplète, le bourgeon mâle disparaît en maturité et l'on note la présence des fleurs hermaphrodites et des reliques de bractées ;
- Le type 'Vrai Corne', avec une inflorescence incomplète et l'axe florale s'arrête juste après la dernière main femelle (TEZENAS du MONTCEL *et al.* 1983).



Plantain type French : Inflorescence mâle persiste à maturité



Plantain type Faux corne : Inflorescence mâle disparaît à maturité



Plantain type Vrai corne : Sans inflorescence à maturité

Figure 2: Différents types de plantains suivant le niveau de dégénérescence florale (DHED'A et al., 2011)

1.4. IMPORTANCE ET USAGE DU BANANIER

Les bananes et les bananes plantains constituent une ration importante dans l'alimentation des populations des pays tropicaux et subtropicaux (INIBAP, 2001; SWENNEN et VUYSLTEKE, 1991).

Elles viennent en quatrième position comme produit agricole après le blé, le riz et le maïs en termes de production mondiale. Elles occupaient le premier rang de la production fruitière (100 millions de tonnes) en 2003 (LASSOUDIÈRE, 2007). Elles constituent des cultures de base et sources de revenus aux fermiers ruraux qui les produisent dans différentes zones agro écologiques de la RDC.

Dans le monde, la production des bananes, en particulier les bananes plantains en RDC occupait la 10^{ème} position (2.267.600 tonnes de plantains et 408.380 tonnes de bananes en 1996). Dans cette production, la Province Orientale démembrée tenait la première place nationale (674.133 tonnes) (SNSA, 1996). Par rapport aux autres produits vivriers, la production de bananes et plantains en RDC vient en second lieu après le manioc dont la production s'élevait à 17.100.000 tonnes en 1999 (JANSSENS, 2001).

La banane a été considérée depuis longtemps comme un fruit de luxe mais sa consommation est devenue courante depuis quelques années (GAUDY, 1965). Elle constitue à la fois un aliment de base et un produit important pour le commerce local et international (PANIS et THINH, 2001). La composition du fruit du bananier peut être comparée à celle de la pomme de terre (DHED'A *et al.*, 2011).

Pour le bananier et particulièrement pour les bananiers plantains, les produits utiles ne se limitent pas seulement aux fruits mais aussi aux autres organes de la plante :

- Les feuilles sont utilisées comme emballage et comme matériaux de toiture des habitations.
- Les feuilles sèches sont utilisées dans la pharmacopée locale et enroulées en forme de cerceaux, elles servent dans la fabrication des nids des oiseaux de la basse-cour.
- Les gaines petiolaires sont utilisées pour produire des cordes.

- En Inde, le pseudo tronc est un produit de consommation. En Afrique, il est utilisé dans la fabrication d'une éponge servant à pétrir les cases. Les fibres du pseudo tronc sont également utilisées dans la pharmacopée locale comme bandage.
- La vraie tige et la base du pseudo tronc contiennent des teneurs élevés d'eau et d'amidon. Cet amidon est extrait, fermenté et conservé dans un trou jusqu'à la consommation.
- Alors que les variétés sauvages produisent 5 à 6 gr de fruits sans pulpe mais avec graine non parthénocarpique et non stérile, les variétés comestibles produisent 100 à 200 gr de fruits avec pulpe sans graines.

D'après ISSOLIWEI (2016), en Equateur, les bananiers entrent même dans les cérémonies culturelles. Par exemple, les feuilles sèches ou fraîches sont cousues comme chapeau et ceinture pour accueillir un chef. A la présentation des jumeaux, les feuilles accompagnent la cérémonie, alors la fausse tige représente un homme mort en dehors de son toit familial et on enterre. Avant d'aller au combat, un test est fait. L'homme combattant est installé sur les feuilles fraîches et d'autres le couvrent, un couteau est retiré vif au feu et on coupe, il y aura victoire si les feuilles ne sont pas endommagées et l'homme n'est pas blessé. Un morceau de pseudo tronc retrouverait un cadavre avec un courant d'eau, s'il est jeté à l'endroit où l'homme était noyé.

1.5. VALEUR NUTRITIONNELLE

Le bananier contient plus d'amidon mais moins d'eau et seulement la moitié des teneurs en protéines de la patate douce. Il est riche en vitamines et éléments nutritifs, spécialement le potassium. Le plantain est surtout riche en provitamine A.

La banane peut être mangée crue et à un goût doux quand elle a une couleur jaune. Ceci concerne la banane douce, la banane dessert ou celle destinée à l'exportation. Selon les variétés, les bananes riches en amidon sont à cuire, à frire dans l'huile, à rôtir. Ce sont les plantains. Les bananes d'altitudes, sont différentes des plantains et sont aussi bien à cuire qu'à boire (appelées bananes à bière) (DHED'A *et al.*, 2011).

1.6. MALADIES ET RAVAGEURS

Les agents pathogènes des bananiers sont nombreux et particulièrement virulents dans des conditions de culture intertropicales. Ce sont les insectes (dont le charançon *Cosmopolites sordidus*), les nématodes (*Radophulus similis* et autres), les champignons (les cercoporioses dues à *Mycosphaerella musicola*, *M. fijensis* et *Musae*. ; la maladie de Panama due à *Fusarium oxysporum*), les bactéries (maladie de Moko causée par *Pseudomonas solanacearum* dénommé actuellement *Ralstonia*, le flétrissement bactérien due à *Xanthomonas campestris*) et les virus, principalement le Bunchy top virus (BBTV), mais aussi le virus de la mosaïque du concombre (CMV) et la mosaïque à tiret du bananier (BSV) (DHED'A *et al.*, 2011).

1.7. LES REGULATEURS DE CROISSANCE

Le processus de la régénération de la plante *in vitro* est contrôlé par des substances particulières, les régulateurs de croissance anciennement appelés hormones végétales (BOSERET, 2000). Un régulateur de croissance est une substance synthétisée dans la plante et activée à des très faibles doses et portée vers des cellules cibles dans lesquelles elle va déclencher une réaction précise (QUENNOZ, 2007). Ces substances peuvent être classées en cinq groupes différents : les auxines, les cytokinines, les gibbérellines, l'acide abscissique et l'éthylène. Le choix de ces régulateurs de croissance et de leurs concentrations est de toute importance en culture *in vitro*. Il dépend du but poursuivi, de la nature de l'explant, de l'espèce et du stade de la culture (ZRYD, 1988).

Ainsi, un mélange d'auxine et de cytokinine paraît indispensable dans la culture de méristème, l'auxine favoriserait le maintien de la vigueur de l'explant et la cytokinine, en concentration correctement ajoutée induirait et maintiendrait la prolifération cellulaire et par conséquent le développement des bourgeons axillaires (KRIKORIAN *et al.*, 1988).

1.7.1. Les auxines

Les auxines sont des substances comprenant un noyau indole acétique et des composés chimiques apparentés. Leur biosynthèse se déroule dans les extrémités des bourgeons d'où elles migrent vers les racines. Leurs effets s'exercent sur l'accroissement cellulaire, les mitoses dans le cambium, la croissance des fruits, l'inhibition des bourgeons axillaires et sur la rhizogénèse adventive (HELLER, 1990). Les plus utilisées sont l'acide β -indole acétique (AIA), l'acide β -indole butyrique (AIB), l'acide 2,4-dichlorophenoxyacétique (2,4-D) (ZRYD *et al*, 1998).

1.7.2. Les cytokinines

Elles interviennent dans la régulation de l'activité mitotique en étroite relation avec l'auxine (cicatrisation des blessures, grossissement des tubercules ...). Elles favorisent la ramification des pousses herbacées. Les cytokinines s'opposeraient à la dominance exercée par le bourgeon apical sur les méristèmes axillaires. Les teneurs élevées en cytokinines favorisent la néoformation des bourgeons. Elles exercent un effet anti-sénescence par la stimulation des synthèses des protéines et le ralentissement de leur dégradation. Les plus utilisées sont : le 6-Benzylaminopurine(BAP), le 2-Isopentyladenine (2IP) et la Zéatine (ZEA) (HELLER, 1990).

1.7.3. Les gibbérellines

Les gibbérellines (GA3) sont des régulateurs dont les effets sont l'élongation des entrenœuds, la levée de dormance des embryons, l'induction de la floraison ainsi que l'inhibition de la formation des bourgeons. Leur action est souvent simultanée à celle des auxines. De ce fait, elles semblent avoir une action sur la dominance apicale (HELLER, 1990). Elles sont produites dans les jeunes feuilles et les racines.

1.7.4. L'acide abscissique

L'acide abscissique (ABA) est très souvent considéré comme un inhibiteur de croissance des cals. Cette substance de croissance naturelle est synthétisée dans les feuilles matures et véhiculée vers les racines par le phloème et de là peut retourner vers la tige par le xylème.

En embryogenèse somatique, il peut provoquer et maintenir la dormance à haute concentration, et par contre favoriser la germination à faible concentration. Il joue aussi le rôle dans la synthèse des protéines de stockage (HELLER, 1990).

1.7.5. L'éthylène

C'est la seule hormone végétale sous forme gazeuse. Il inhibe la croissance et est associé à plusieurs processus de vieillissement (chute des feuilles, maturation des fruits) (QUENNOZ, 2007). En culture *in vitro* des méristèmes, seuls les trois premiers groupes de régulateurs de croissance sont les plus utilisés (QUENNOZ, 2007)

1.8. NOUVEAUX REGULATEURS DE CROISSANCE

1.8.1. Les polyamines

Les polyamines sont impliquées dans des divisions cellulaires et l'élongation (ZRYD *et al*, 1998).

1.8.2. Les stérols

Parmi ces composés, les vitamines D2 et D3, entre autres augmentent l'enracinement en présence d'IBA chez le peuplier (BUCHALA et SCHMID, 1979).

1.8.3. Les oligopeptides

Certains peuvent avoir des réactions de type auxinique *in vitro* et d'autres peuvent intervenir dans la synthèse de système de défense. (GASPAR, 1994).

1.8.4. Les Jasmonates

Ces substances sont responsables de la formation *in vitro* des tubercules et des bulbes (GASPAR, 1994).

1.8.5. Les Salicilates

Les Salicilates interviennent de manière moins active que les Jasmonates dans le processus de tubérisation. Ils sont surtout actifs dans les mécanismes de germination, floraison et de résistance aux maladies.

1.9. PROBLEME D'AMELIORATION GENETIQUE DE BANANIER

Les méthodes d'amélioration de bananiers et bananiers plantains ont été sans grand succès jusqu'à ces jours. Les raisons probables de cette difficulté d'amélioration par les méthodes conventionnelles sont un haut niveau de stérilité, la polyploïdie (PERSLEY and DE LANGHE, 1987), le taux faible de germination de graines hybrides, la fluctuation saisonnière dans la formation de graines (SWENNEN *et al.*, 1991) et un long cycle végétatif de la plante. Malgré ces difficultés, quelques nouvelles lignées ont été obtenues grâce aux techniques conventionnelles (Figure 3).



Hybride FHIA-03 (*Musa* AABB) à Kisangani Hybride PITA-23 (*Musa* AAAB) à Kisangani

Figure 3: Bananier et plantain hybrides tétraploïdes introduits dans la collection de la Faculté des Sciences de l'UNIKIS (Photos DHED'A)

1.9. MULTIPLICATION

1.9.1. Multiplication normale

La multiplication normale du bananier s'effectue par le rejetonnage naturel. Celle-ci consiste dans la séparation des rejets du rhizome mère avant de le replanter ailleurs. Ici le taux de multiplication est très bas, surtout pour les plantains qui produisent moins rapidement des rejets que les bananiers (BONTE *et al.*, 1995). Afin d'augmenter le taux de multiplication, plusieurs techniques ont été mises au point. Il s'agit des techniques de multiplication *in situ* (buttage, pliage du pseudo-tronc, fausse décapitation et décapitation) et des techniques de macropropagation *ex situ*, toutes basées sur le principe de la suppression de la dominance apicale par décapitation (BARKER, 1959 ; DE LANGHE, 1961 ; DHED'A *et al.*, 2011). Parmi ces techniques, la macropropagation *ex situ* apparenté à la technique PIF (plants issus de fragments de tiges) permet d'augmenter considérablement le taux de multiplication (DHED'A *et al.*, 2011).



Figure 4: Macropropagation par décapitation *ex situ* (photos Joseph KOMOY)

1.9.2. Multiplication *in vitro*

Cette multiplication permet d'envisager l'extension de la propagation végétative à un très grand nombre d'espèces souvent difficile à multiplication élevée à un stade précoce du développement. Le taux de multiplication est de loin supérieur à celui qu'on peut obtenir au champ. Elle est associée à la lutte phytosanitaire (DHED'A, 1992).

CHAPITRE DEUXIEME : MATERIEL ET METHODES

2.1 MILIEU D'ETUDE

Les rejets vigoureux ont été récoltés dans le jardin de collection des ressources génétiques de la Faculté des sciences de l'université de Kisangani (Figure 5). L'initiation des explants s'est effectué au laboratoire de culture *in vitro* et amélioration des plantes de la dite Faculté (Figure 6).



Figure 5: Jardin de collection Site de la Faculté des Sciences



Figure 6: Laboratoire de culture *in vitro* Faculté des Sciences

2.1.1. Matériel végétal

Matériel végétal utilisé pour notre expérimentation est constitué de 3cultivars de bananiers plantains. Les noms, les types de régime, le génotype et l'usage de ces variétés sont présentées dans le tableau 1 alors que les images correspondantes à ces variétés sont données par la figure 7.

Tableau 1: Noms, types, génotypes, et usage de cultivars de bananiers plantains utilisés comme matériel végétal dans ce travail.

N°	Cultivars	Type	génotype	Usage
1	Bosakaraka	French	AAB	A cuire
2	Libanga Likale	Faux corne	AAB	A cuire
3	Tala Lola	Vrai corne	AAB	A cuire



a) Bosakaraka I



b) Libanga Likale



c) Tala Lola

Figure 7: Photos de cultivars d bananiers plantains (*Musa AAB*) utilisés comme matériel biologique (Photos DHED'A)

2.2. Méthodes

2.2.1. Mise en culture *in vitro*

Les méthodes générales de culture *in vitro* utilisé dans ce travail est basée sur les techniques décrites par BARNERJEE et DE LANGHE (1985) ; BARNEJEE *et al* (1986) et VUYLSTEKE (1989): milieux de culture de base, mise en culture *in vitro* de l'apex caulinaire (apex méristématique), pour la culture de prolifération, conservation du stock de culture. Cette étape est importante car, la culture de prolifération servira de matériel de départ pour l'initiation des suspensions cellulaires embryogènes chez les bananiers et bananiers plantains. (DHED'A, 1992).

a) Composition des milieux de cultures.

Le milieu de base est celui de Murashige et Skoog (1962). Ce milieu est enrichi de 2mg/l de glycine, 0,5 mg/l de thiamine, 0,5 mg/l d'acide nicotinique, 0,4 mg/l de pyridoxine, 30g/l de saccharose et solidifié avec 2g/l de gelrite. Il est enrichi suivant les étapes de culture en AIA (acide β indole acétique) ou 2, 4-D (2,4-Dichlorophenoxyacétique) comme auxine et en BAP (6-benzylaminopurine) comme cytokinine à des concentrations différentes (DHED'A, 1992). L'acide ascorbique est ajouté pour réduire le noircissement causé par l'oxydation enzymatique causé par les composés phénoliques (PALMER, 1963). Le pH du milieu est ajusté à 5,8 à l'aide de NaOH 0,1N. La composition détaillée de la solution nutritive (Milieu de Murashige et Skoog) avec les deux phytohormones (AIA et BAP) utilisées est reprise dans le tableau 2.

Tableau 2: Tableau 2 : Composition détaillée du milieu de Murashige et Skoog

Eléments	Composants	Concentration	
		Solution mère (X20) mg/l	Solution finale
Macroélément	NH ₄ NO ₃	33000	1650
	KNO ₃	38000	1900
	CaCl ₂ .2H ₂ O	8800	440
	MgSO ₄ .7H ₂ O	7400	370
	KH ₂ PO ₄	3400	170
	H ₃ BO ₃	6200	6,2
	MnSO ₄ .4H ₂ O	2330	23,3
	ZnSO ₄ .4H ₂ O	860	8,6
Microélément	KI	83	0,83
	Na ₂ MnO ₄ .2H ₂	25	0,25
	CuSO ₄ .5H ₂ O	25	0,25
	CaCl ₂ .6H ₂ O	2,5	0,025
Fe-EDTA	FeSO ₄	2780	27,8
	Na ₂ EDTA	3730	37,3
Régulateurs de croissances	AIA	-	0,172
	BAP	-	2,25
Gélifiant	Gelrite	4000	-

b) Réalisation

Le point de départ de la multiplication végétative du bananier est le cormus contenant des méristèmes (DHED'A *et al*, 2011).

Dans cette technique, les rejetons débarrassés de gaines foliaires sont lavés soigneusement à l'eau courante et coupés jusqu'à l'obtention d'un morceau réduit. Le travail de la mise en culture se fait dans des conditions aseptiques sous le flux laminaire préalablement désinfecté à l'alcool. Les explants seront plongés dans l'éthanol à 70% pendant 20 secondes et ensuite immergés pendant 20 minutes dans la solution d'hypochlorite de sodium 30%.

Les explants ainsi désinfectés seront lavés trois fois à l'eau distillée stérile avant la dissection. Cette dernière se fait en enlevant progressivement les différentes ébauches foliaires, en excisant soigneusement l'apex méristématique. Il est ensuite introduit sur le milieu Murashige et skoog (MS) semi-solide additionné de $1\mu\text{M}$ d'AIA et $10\mu\text{M}$ de BAP contenu dans un tube à essai. Tout ceci se passe en présence de la flamme et en utilisant un scalpel et une pince pour tenir l'explant sur une boîte de Pétri stérile sous une hotte à flux d'air laminaire (Figure 8).

L'incubation se fait sous éclairage continu de $5,6\text{W/m}^2$ d'irradiation (2000 lux) fourni par des tubes fluorescents à $28\pm 2^\circ\text{C}$ à 80% d'humidité relative (Figure 11). En cas de noircissement important, l'apex est transféré après deux semaines sur un milieu frais. Les bourgeons à prolifération sont subcultivés lorsque les bourgeons recouvrent $2/3$ de la surface du milieu (10 semaine). Cette culture de prolifération peut servir pour la régénération ou la conservation du stock de culture en faisant un repiquage régulier d'une culture de prolifération sur du milieu frais. Cette étape est importante car la culture de prolifération servira de matériel pour l'initiation des suspensions cellulaires chez le bananier et bananier plantain (DHED'A, 1992).

Pour notre part, nous sommes partis des explants en prolifération sur du milieu de MS enrichi avec $1\mu\text{M}$ de AIA et $10\mu\text{M}$ de BAP et nous les avons repiqués dans du milieu de MS contenant $1\mu\text{M}$ de AIA et $100\mu\text{M}$ de BAP afin de permettre une prolifération plus rapides des bourgeons.

2.2.2. Embryogénèse somatique

L'explant utilisé est un fragment prélevé sur les bourgeons méristématiques en prolifération.

Pour prélever les scalps, les bourgeons méristématiques obtenus après prolifération sur un milieu avec 1µM de AIA et 10µM de BAP initial ont été mis en prolifération rapide sur un milieu contenant 1µM de AIA et 100µM de BAP pour l'induction rapide de cals. Le milieu de culture utilisé ici est celui de MS enrichi en 2,4D 5µM et BAP 1µM. Cette composition hormonale permet la production des globules blanches appelés proembryons (SANNASGALA, 1989).

En effet ces structures se forment à partir des cellules de la région périvasculaire à l'intérieur du scalp. Ces cellules au départ non embryogéniques le deviennent sous l'effet du 2,4-D. Le rôle du 2,4-D a été par ailleurs reconnu dans la désorganisation du tissu et, en combinaison avec les cytokinines dans la division cellulaire organisée, aboutissant à la formation de ces structures (DHED'A, 1992).

Les observations ont été effectuées après 8 semaines dont les principales ont été :

- Comptage direct des bourgeons meristématiques par tube après deux semaines de cultures pour chaque subculture
- Comptage direct des tubes avec cals embryogènes et globules meristématiques produits par les scalps chez les différents cultivars en utilisant le microscope stéréoscopique du type OLYMPUS (figure 9).
- L'observation à l'état frais à l'aide d'un microscope biologique avec caméra numérique attachable de type AXIO Lab.AL ZEISS (figure10) après coloration au bleu de méthylène.

L'analyse de variance a été appliqué aux résultats obtenus pour :

- Tester si les moyennes des bourgeons induits chez les trois cultivars pendant les trois subcultures successives présentaient des différences significatives. Dans le cas où il existait de différences statistiques le test de Duncan a été effectué pour voir quelle est la moyenne ou les moyennes qui sont à la base de cette différence.
- Voir s'il existe de différences significatives entre les moyennes des cals induits chez différents cultivars et une corrélation a été établie entre les nombre des

bourgeons produits *in vitro* et le nombre de globules meristématiques d'une part et d'autre part entre le nombre des bourgeons meristématiques et globules embryogènes.



Figure 8: Hotte à flux d'air laminaire



Figure 9: Microscope stéréoscopique



Figure 10: Microscope biologique avec caméra numérique couplé à un ordinateur



Figure 11: Chambre de culture aseptique

CHAPITRE TROISIEME : RESULTATS ET DISCUSSION

Cette étude s'est effectuée sur trois cultivars de bananiers plantains. Les résultats sur le taux de reprise après inoculation sont présentés dans les tableaux 3 à 5. Ceux de prolifération des bourgeons meristématiques sont illustrés par les figures 11 à 13 ; la moyenne de trois cultivars à la troisième subculture est reprise par la figure 14 et les résultats sur le potentiel embryogène des cultivars sont repris dans les tableaux 7 à 9 en annexe et illustrés par les figures 15 à 16.

3.1. TAUX DE REPRISE *IN VITRO* OBTENUS CHEZ DIFFERENTS CULTIVARS.

Les résultats détaillés de taux de reprise chez différents cultivars à la première, deuxième et troisième subculture sont donnés dans les tableaux de 3 à 5.

Tableau 3: Taux de reprise in vitro chez Bosakaraka I au cours de trois subcultures.

Taux de reprise chez Bosakaraka I			
Subcultures	Nombre de tubes repiqués	Nombre des tubes repris	% taux de reprise
1ère subculture	12	8	66
2ème Subculture	10	10	100
3ème subculture	10	10	100
Total	32	28	87

Il ressort des résultats du tableau 4 que le taux de reprise a été de 100% à la deuxième et à la troisième subculture alors qu'à la première subculture ce taux a été de 66%. Ce taux exprime une bonne maîtrise de la technique de travail aseptique au cours de ces deux dernières subcultures.

Tableau 4: Taux de reprise in vitro chez Libanga Likale au cours de trois subcultures.

Taux de reprise chez Libanga Likale			
Subculture	Nombre de tubes repiqués	Nombre des tubes repris	% taux de reprise
1ere subculture	8	7	87
2ème Subculture	12	12	100
3ème subculture	10	10	100
Total	30	29	96

Les résultats de tableau 5 montrent que le taux de reprise sans infection chez le cultivar Libanga Likale est de 87% à la première subculture, alors que pour la deuxième et la troisième subculture, ce taux est de 100% comme précédemment.

Tableau 5: Taux de reprise in vitro chez Tala Lola au cours de trois subcultures.

Taux de reprise chez Tala Lola			
Subculture	Nombre de tubes repiqués	Nombre des tubes repris	% taux de reprise
1ere subculture	15	12	80
2èmeSubculture	10	10	100
3ème subculture	12	12	100
Total	37	34	91

A la lumière des résultats du tableau 5, il ressort que les taux de reprise sont respectivement 80% à la première subculture et 100% à la deuxième et troisième subculture.

L'ensemble de ces résultats sur le taux de reprise sans infection montre que le taux le plus faible est observé à la première subculture et cela pour tous les cultivars. Toute fois ce taux n'est pas en dessous de 50 %. Au cours de la deuxième et de la troisième subculture ce taux a été remonté à 100%. Ce taux de reprise est justifié, comme indiqué plus haut, par une grande maîtrise de la technique de travail aseptique. Par ailleurs, certains tissus de l'explant peuvent héberger des parasites internes qui ne sont pas éliminés par les

techniques classiques de désinfection. Après la mise en culture de l'explant ces microorganismes peuvent coloniser le milieu de culture, conduisant ainsi à la contamination de celui-ci (ZYRD, 1988). C'est ce qui justifie le taux de contamination qu'on observe à la première subculture.

3.2. EVOLUTION DE NOMBRE DE BOURGEONS MÉRISTÉMATIQUES PRODUITS *IN VITRO* PAR DIFFERENTS CULTIVARS POUR TROIS SUBCULTURES

Les résultats détaillés de l'évolution de nombre de bourgeons meristématiques produits chez différents cultivars de bananiers plantains à la première, deuxième et troisième subculture sont donnés en annexe (tableau 7 à 9). La moyenne des bourgeons meristématiques produits à chaque subculture par ces cultivars sont illustrés par les figures 12 à 14

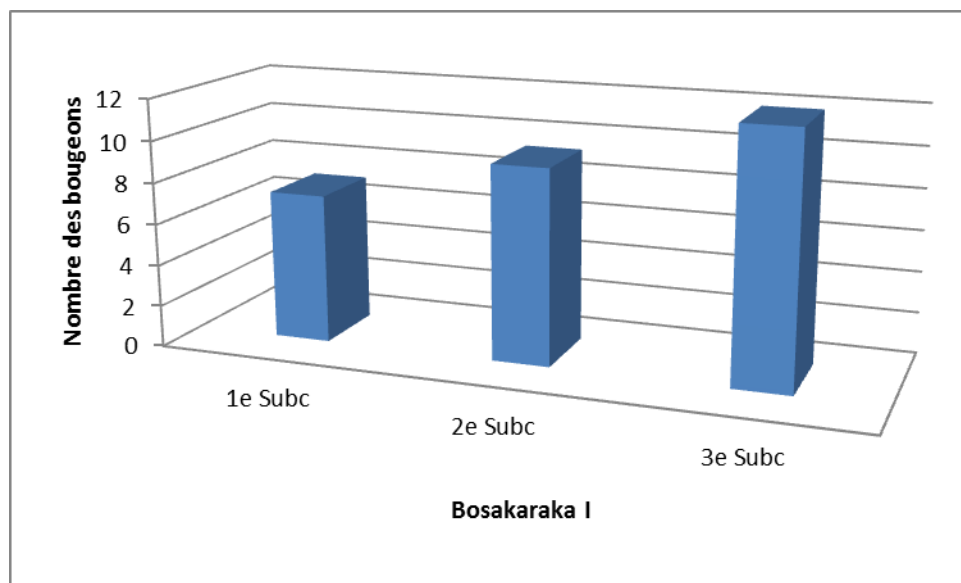


Figure 12: Moyenne des bourgeons meristématiques produits par Bosakaraka après trois subcultures.

Cette figure nous montre que Bosakaraka I a émis 7,2 bourgeons à la première subculture, à la deuxième subculture, ce cultivar a induit en moyenne 9,4 bourgeons et à la dernière subculture le nombre moyen des bourgeons a été de 12.

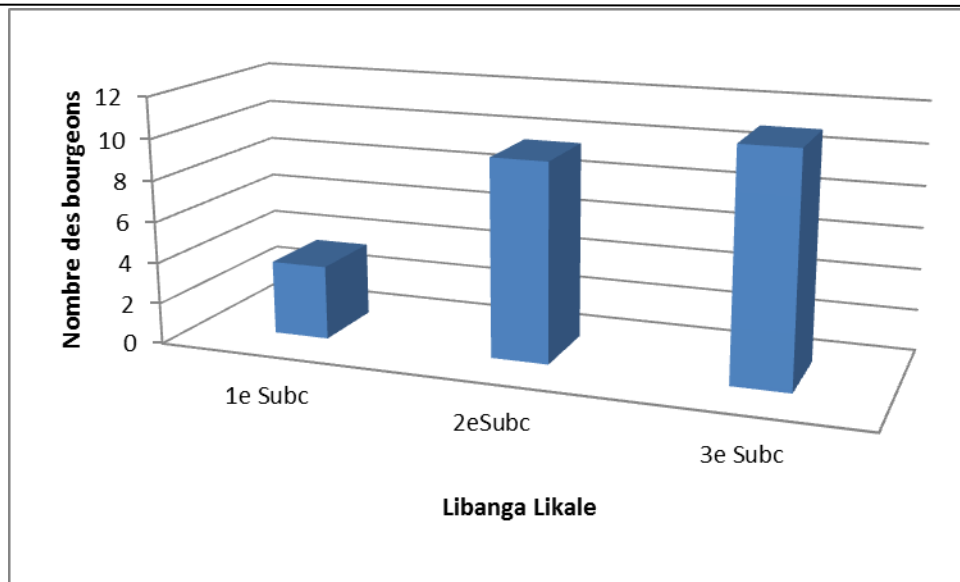


Figure 13: Moyenne des bourgeons meristématiques produits par Libanga Likale après trois subcultures

Eu égard des résultats de la figure 13, Libanga Likale a émis en moyenne 3,6 bourgeons à la première subculture. Cette moyenne des bourgeons a été 9,6 et 11 à la deuxième et troisième subculture respectivement.

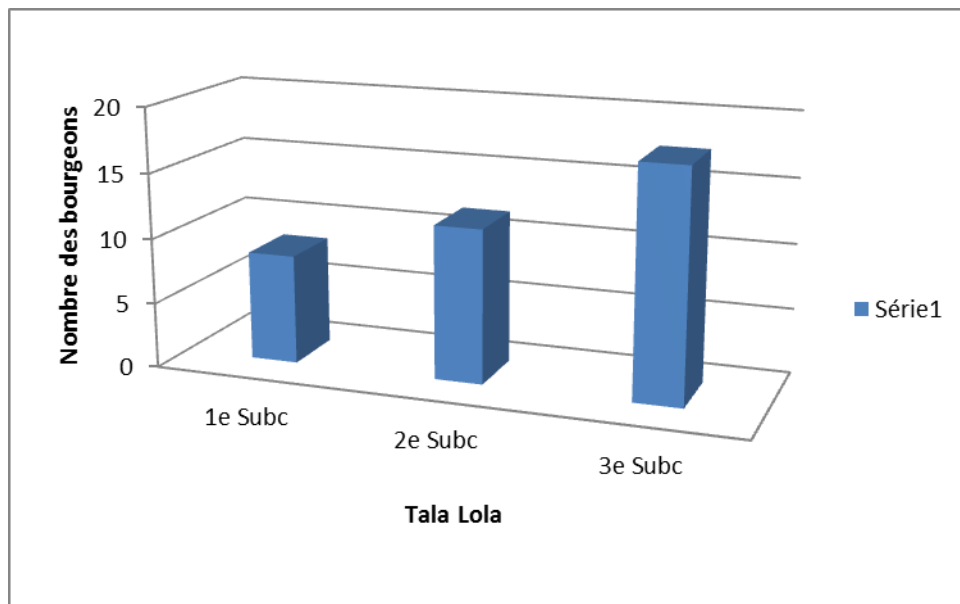


Figure 14: Moyenne de bourgeons meristématiques produits par Tala Lola après trois subcultures.

Partant de résultats de la figure 14, Tala Lola a émis en moyenne 8,4 bourgeons à la première subculture. Cette moyenne a été 11,8 et 17,6 à la deuxième et à la troisième subculture respectivement.

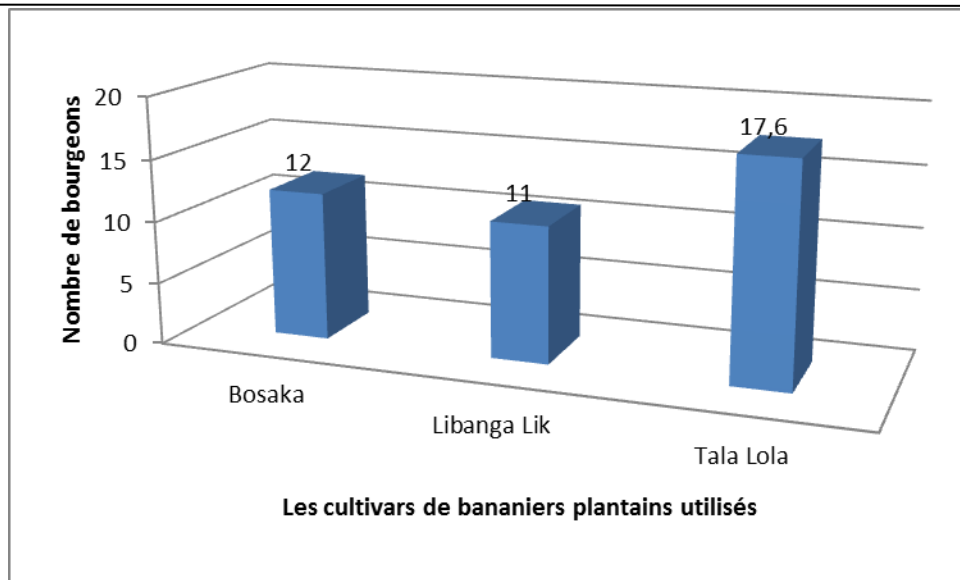


Figure 15: Moyenne de bourgeons meristématiques produits par trois cultivars à la troisième subculture.

Eu égard des résultats de la figure 15, Tala Lola a produit en moyenne 17,6 bourgeons meristématiques à la troisième subculture. Libanga Likale et Bosakaraka I ont produit en moyenne 11 et 12 bourgeons méristématiques respectivement. Tala Lola a produit un nombre élevé des bourgeons meristématiques à la troisième subculture par rapport à Libanga Likale et Bosakaraka I.

Le test d'ANOVA appliqué sur les moyennes de 3 cultivars à la première subculture a montré qu'il existe une différence significative entre les cultivars car $p\text{-value}=0,014 < 0,05$. En appliquant le Test de DUNCAN aux résultats obtenus, il n'y a pas de différences significatives entre Bosakaraka I et Libanga Likale ($p\text{-value}=0,064 > 0,05$) et entre Bosakaraka I et Tala Lola ($p\text{-value}=0,68 > 0,05$). (Annexe 6)

A la deuxième subculture le test d'ANOVA montre qu'il n'existe pas de différences significatives car $p\text{-value}=0,28 > 0,05$. (Annexe 7). En ce qui concerne la troisième subculture en appliquant le test d'ANOVA sur les moyennes obtenus chez les différents cultivars, il existe de différences très significatives entre les 3 cultivars ($p\text{-value}=0,002 < 0,01$). La comparaison des moyennes par le test de DUNCAN montre qu'il existe une différence significative entre Tala Lola et Libanga Likale ($p\text{-value}=0,003 < 0,01$) et entre Bosakaraka I et Tala Lola ($p\text{-value}=0,01 < 0,05$), cependant il n'y a pas de différences significatives entre Bosakaraka I et Libanga Likale ($p\text{-value}=0,8 > 0,05$) et entre Bosakaraka I et Tala Lola car $p\text{-value}=0,68 > 0,05$. (Annexe 8).

3.3. EVOLUTION DES CELLULES EMBRYOGÈNES CHEZ DIFFERENTS CULTIVARS

Les résultats obtenus sur la présence ou l'absence des cals hydriques sont repris dans le tableau 6. Le nombre de globules méristématiques induits chez différents cultivars sont repris en annexe (Tableau 10) et la moyenne illustré par la figure 16. Le nombre de globules embryogènes produits chez les différents cultivars sont présentés par le tableau 11 en annexe et illustrés par la figure 18.

Tableau 6: Présence ou absence des cals hydriques

N° Tube	Présence ou absence des cals hydriques		
	Bosakaraka	Libanga Likale	Tala Lola
1	+	+	-
2	-	-	+
3	-	-	-
4	-	+	+
5	+	+	+
Total	2	3	4
%	40	60	80

Légende :

+ : Présence de cal hydrique

- : Absence de cal hydrique.

Eu égard des résultats du tableau 6, sur cinq tubes pour chaque cultivar, il y a eu présence de cals hydriques dans deux tubes chez Bosakaraka I, soit 40%, Libanga Likale a produit des cals hydriques dans trois tubes, soit 60% et chez Tala Lola, la présence de cals a été observée dans quatre tubes, soit 80%.

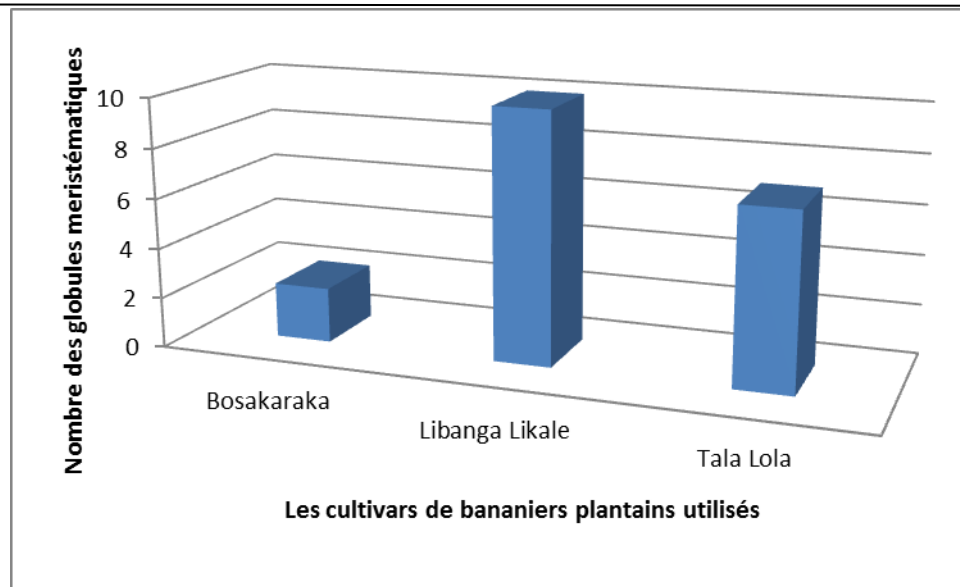


Figure 16: Moyenne des globules méristématiques produits chez différents cultivars.

Eu égard des résultats de la figure 16, Bosakaraka a produit 2,2 globules méristématiques en moyenne. Libanga Likale et Tala Lola ont produit 10 et 7 globules méristématiques en moyenne respectivement après 4 semaines. Beaucoup de ces globules meristématiques ont évolué en une multitude des cals contenant des globules embryogènes (Figure 17).

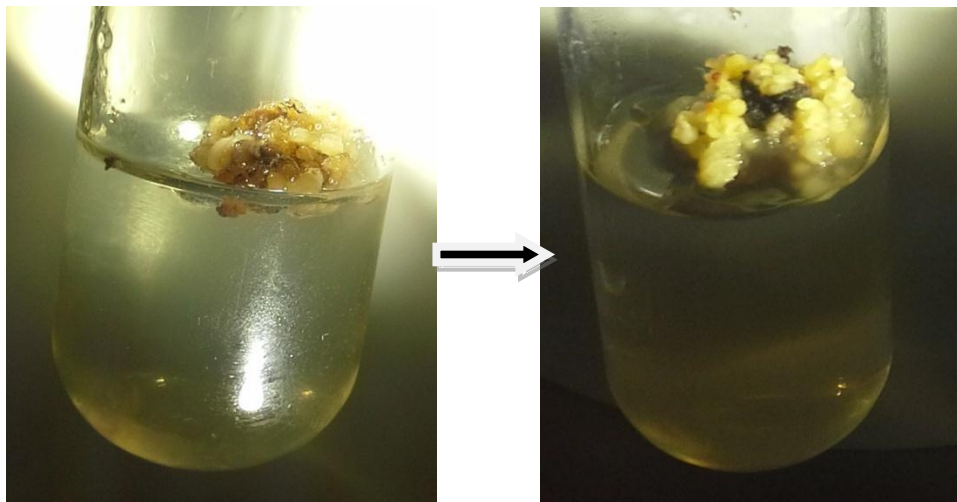


Figure 17: Globules méristématiques évolués en globules embryogènes

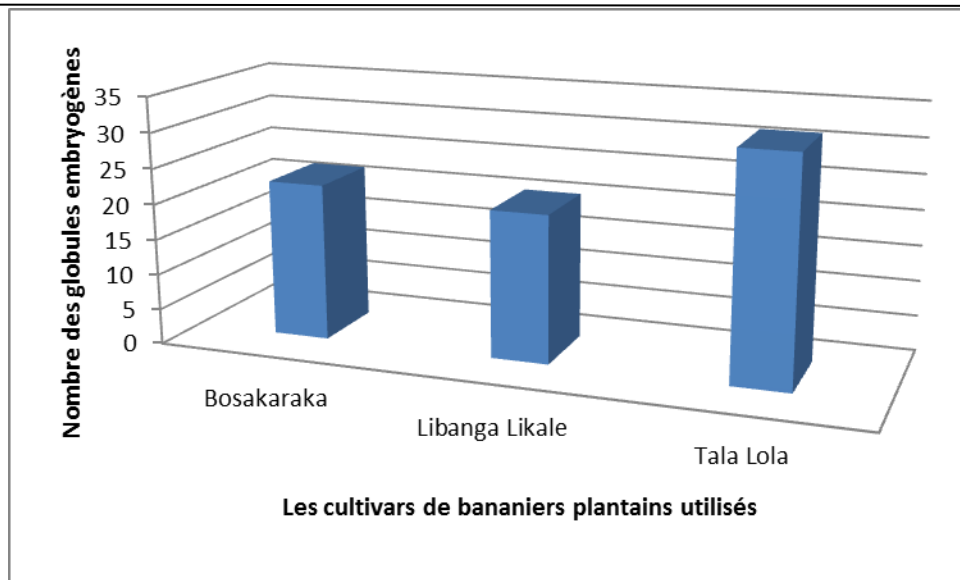


Figure 18: Moyenne de globules embryogènes dans les cals produites chez différents cultivars.

Les résultats de la figure 18 montrent que Bosakaraka I a produit en moyenne 22,2 globules embryogènes. La moyenne a été 20,8 chez Libanga Likale et Tala Lola a produit en moyenne 31,6 calcs embryogènes.

3.4. OBSERVATION MICROSCOPIQUE DES CELLULES EMBRYOGENIQUES

Dans le but de vérifier si les cals obtenus contenaient réellement des cellules embryogéniques capables de produire des embryons somatiques régénérables en plantules, des observations microscopique à l'état frais coloré au bleu de méthylène ont été effectuées. Les résultats de celles-ci sont illustrés par la figure 20. La figure 19 montre une vue microscopique des embryons somatiques à l'état frais. Ces embryons ont une ouverture cotylédonaire.

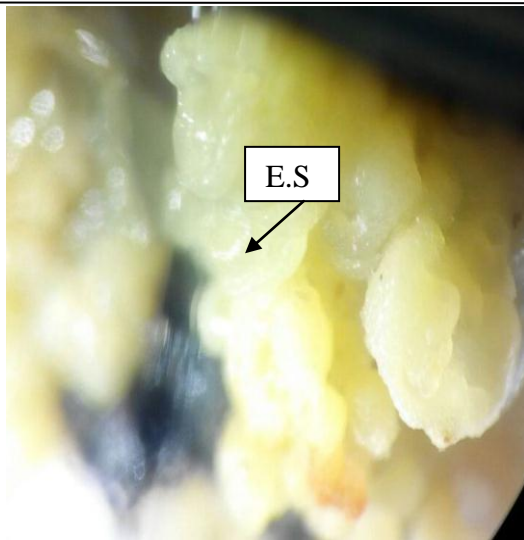


Figure 19: Embryons somatiques

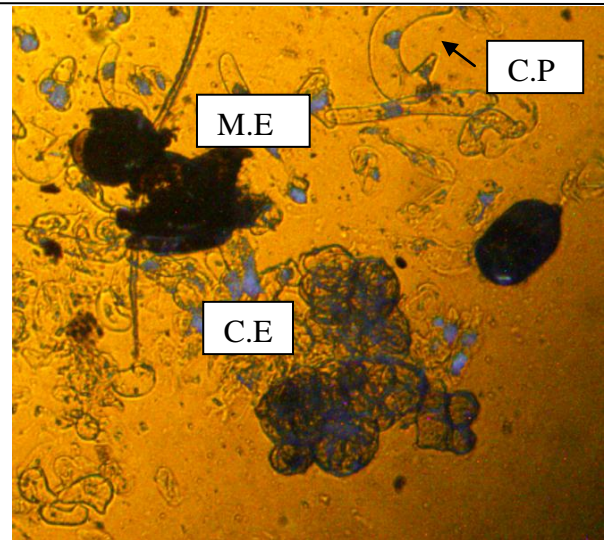


Figure 20: groupes de cellules embryogènes

Légende :

- E.S : Embryons somatiques
- C.E : Cellules embryogéniques
- M.E : Masse embryogénique
- C.P : Cellule parenchymateuse non embryogénique

La figure 20 montre qu'il y a trois types de cellules que compose une suspension cellulaire embryogénique. Ce sont les cellules parenchymateuses non embryogéniques lesquelles sont allongées, les masses embryogéniques ceux colorés en noir et les cellules embryogéniques sont ceux formant des groupes. Ces dernières contiennent des cellules intimement liés au cytoplasme très dense et très brillantes colorées en bleu justifiant la viabilité de ces cellules.

En analysant les moyennes des cultivars sur la production des globules meristématiques, le test d'ANOVA montre qu'il n'y a pas de différences significatives entre les cultivars vu que $p\text{-value}=0,28 > 0,05$. Il n'existe pas aussi de différences significatives entre les globules embryogènes produits chez différents cultivars car $p\text{-value}=0,50 > 0,05$. (Annexe 9-10)

3.5. CORRELATION ENTRE LES BOURGEONS MERISTEMATIQUES PRODUITS *IN VITRO*, LES GLOBULES MÉRISTÉMATIQUES ET LES GLOBULES EMBRYOGENES EMIS *IN VITRO*

La figure 21 donne la relation qui existe entre la production de bourgeons meristématiques *in vitro* et l'émission des globules méristématiques chez les cultivars étudiés. Les figures 22 et 23 donnent la corrélation existant d'une part entre la production des globules embryogènes et l'induction des bourgeons meristématiques et d'autre part entre la production des globules meristématiques et l'émission des globules embryogènes.

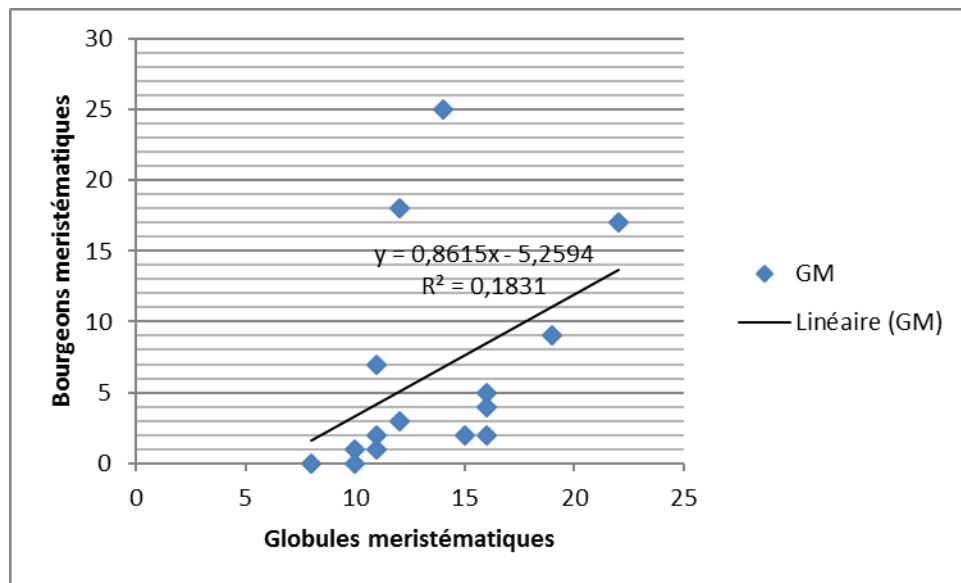


Figure 21: Corrélation entre la production des bourgeons meristématiques et l'émission des globules méristématiques chez trois cultivars.

Eu regard des résultats de la figure 21, il n'existe pas de corrélation entre les bourgeons produits *in vitro* et les globules méristématiques émis *in vitro* chez différents cultivars étudiés.

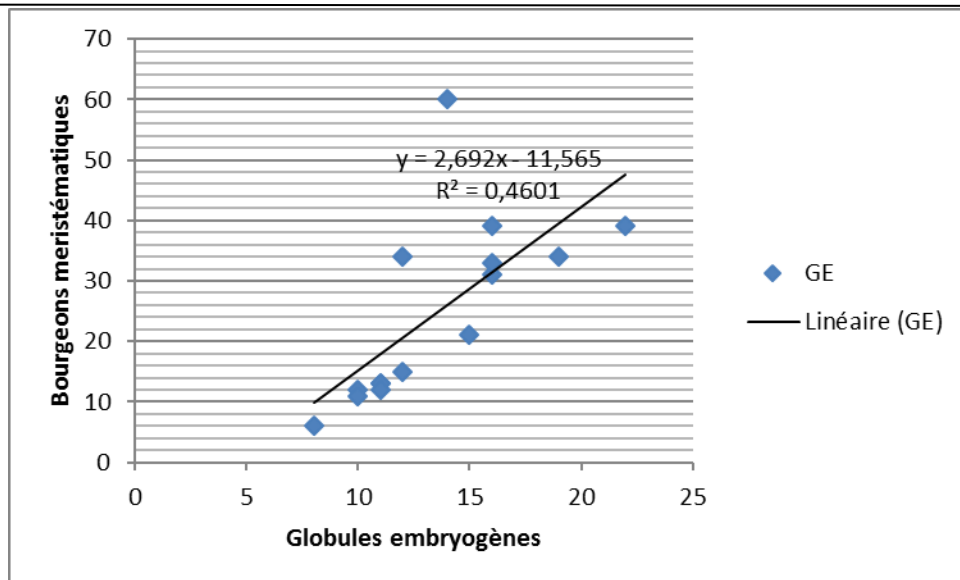


Figure 22: Corrélation entre la production des bourgeons meristématiques et l'émission des globules embryogènes chez différents cultivars.

Les résultats de la figure 22 montrent qu'il existe une très faible corrélation entre la production des bourgeons meristématiques et l'induction des globules meristématiques chez différents cultivars.

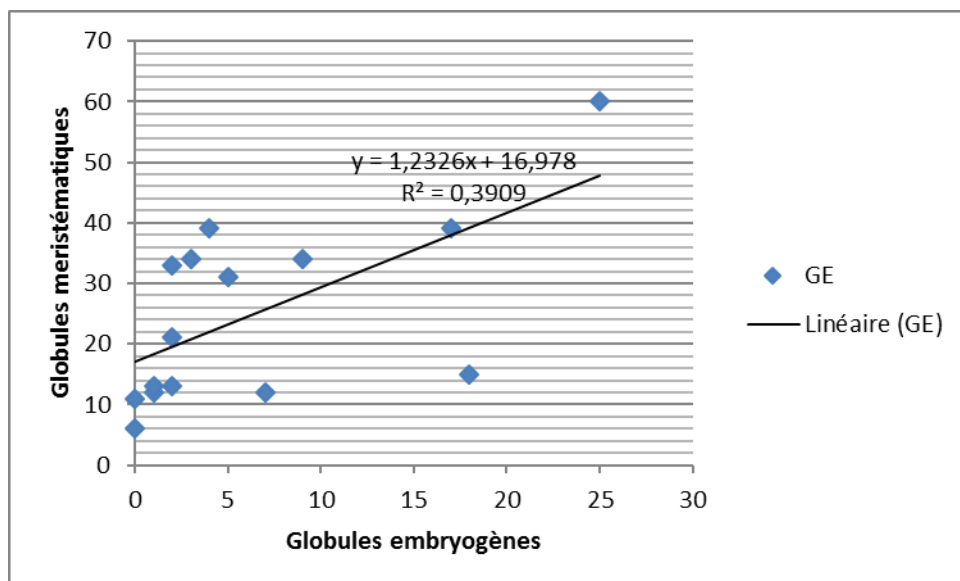


Figure 23: Corrélation entre la production des globules meristématiques et l'émission des globules embryogènes chez différents cultivars.

Partant des résultats de la figure 23, il n'existe pas de corrélation entre le nombre des globules meristématiques produits chez les différents cultivars et le nombre des globules embryogènes.

D'une manière générale, partant des résultats obtenus, il n'existe pas de corrélation entre le nombre de bourgeons meristématiques et les globules meristématiques. Il en est de même pour la relation entre le nombre de bourgeons meristématiques et celui de globules embryogènes d'une part et entre le nombre de globules meristématiques et celui de globules embryogènes d'autre part. Ces résultats nous ont poussés alors d'étudier la corrélation au sein d'un même cultivar pour les trois cultivars.

Toutefois, il existe une grande variation entre les explants prélevés au sein d'un même cultivar. Les figures présentant la corrélation entre le nombre des bourgeons meristématiques et globules meristématiques chez chaque cultivar sont présentées par les figures 24 à 26.

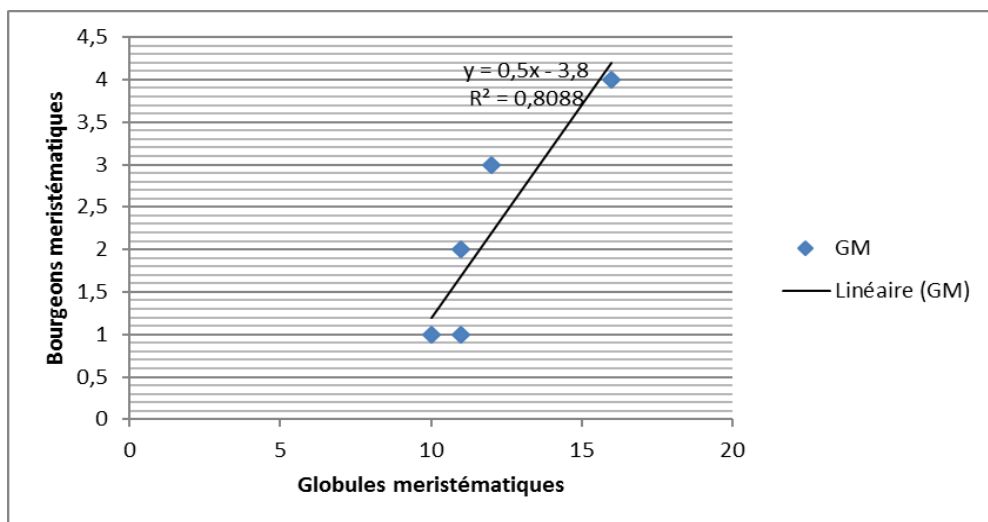


Figure 24: Corrélation entre le nombre de bourgeons meristématiques et globules meristématiques chez Bosakaraka I

Les résultats de la figure montrent qu'il existe une corrélation entre le nombre de bourgeons meristématiques et le nombre des globules meristématiques produits par Bosakaraka I.

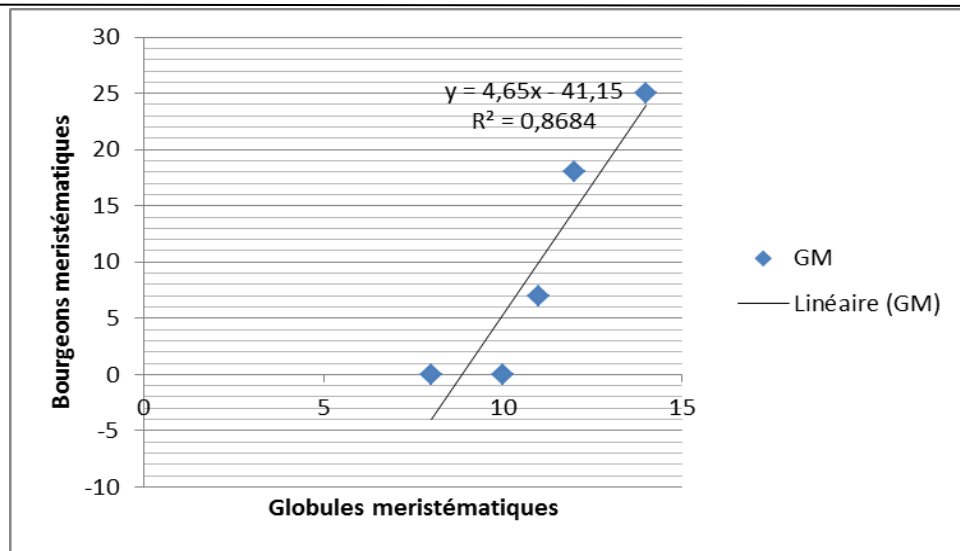


Figure 25: Corrélation entre le nombre des bourgeons meristématiques et globules meristématiques chez Libanga Likale

Eu égard des résultats de la figure 25, le nombre de bourgeons meristématiques corréle avec la production des globules meristématiques chez Libanga Likale.

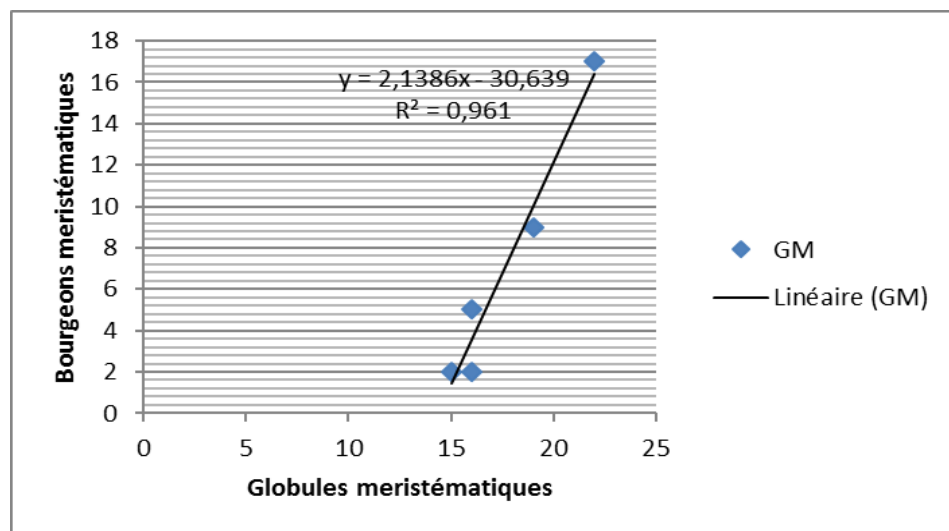


Figure 26: Corrélation entre le nombre de bourgeons meristématiques et globules meristématiques produits par Tala Lola.

Les résultats de la figure 26 montrent qu'il existe une corrélation entre la prolifération des bourgeons meristématiques et l'induction des globules embryogènes chez Tala Lola.

Les figures 27 à 29 illustrent la corrélation existant entre le nombre de bourgeons meristématiques et globules embryogènes au sein de chaque cultivar.

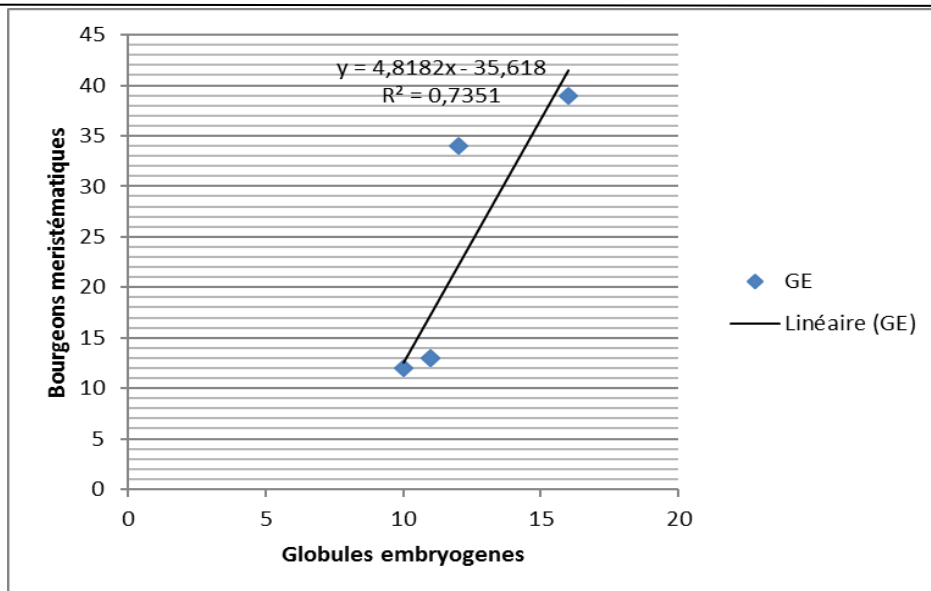


Figure 27: Corrélation entre le nombre des bourgeons meristématiques et globules embryogènes chez Bosakaraka I.

Les résultats de la figure 28 montrent qu'il existe une corrélation entre le taux de prolifération des bourgeons et l'induction des globules embryogènes.

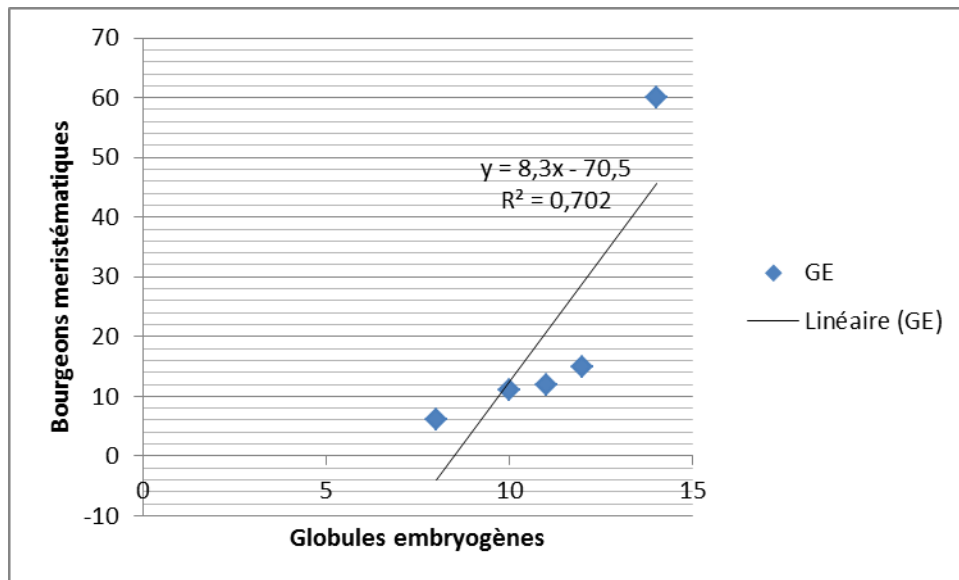


Figure 28: Corrélation entre la production des bourgeons meristématiques et l'émission des globules embryogènes chez Libanga Likale

Eu égard des résultats de la figure 28, la production des bourgeons meristématiques chez Libanga Likale corrèle avec celle de globules embryogènes.

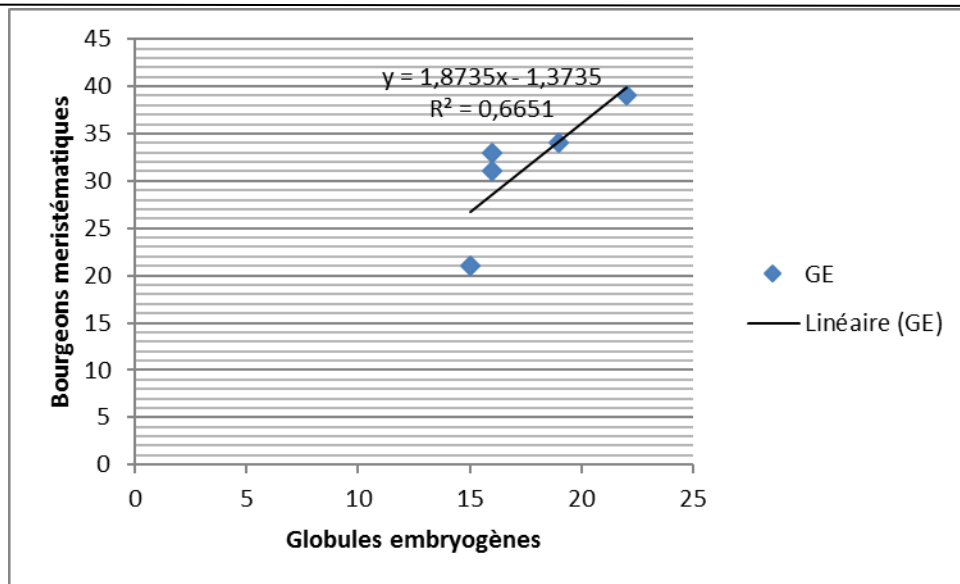


Figure 29: Corrélation entre la production des bourgeons meristématiques et l'induction des globules embryogènes chez Tala Lola.

Partant des résultats de la figure 29, la production des bourgeons et l'induction des globules embryogènes corrént chez Tala Lola.

Les résultats obtenus dans ce travail se rapprochent de ceux d'autres travaux effectués dans ce sens. Toutefois il faut noter le fait que le taux de prolifération au cours de trois subcultures successives sur 100µM de BAP est variable au sein des mêmes variétés et qu'il y a évolution du taux de prolifération des bourgeons de la première subculture à la troisième subculture.

Pour les trois subcultures, Tala Lola a fourni le taux de prolifération significativement élevé suivi de Bosakaraka. Libanga Likale a eu un taux de prolifération le moins élevé.

Les études antérieures montrent que le taux moyen de prolifération peut varier entre 1,4 et 21,4 sur un milieu de prolifération contenant 10µM de BAP. Mais l'augmentation de la concentration à 100µM de BAP tel que utilisé dans ce travail permet d'augmenter aussi le taux de prolifération. L'initiation des suspensions cellulaires à partir de 100µM de BAP permet d'obtenir des nouvelles suspensions cellulaires après au minimum 10 à 18 semaines. (DHED'A, 1992).

En étudiant l'action combinée de la décapitation et de différents régulateurs de croissance, les résultats suivants ont été obtenus : LOSINU (1998) a obtenu en moyenne 6,6 à 7,4 bourgeons avec 1,9 à 2,2 rejets développés chez French géant (*Musa AAB*) et Gros Michel

(*Musa* AAA) en utilisant la cytokinine en macropropagation. En traitant les variétés Cardaba (*Musa* ABB), FHIA-01 (*Musa* AAAB), FHIA-02 (*Musa* AAAB), FHIA-03 (*Musa* AABB) et FHIA-017 (*Musa* AAAA) avec 18 μ M de BAP, DECHUVI (2004) a obtenu un taux de prolifération allant de 1,7 à 5,2.

En culture *in vitro*, LISINGI (1999) dans ses études sur l'effet de noix de coco sur la prolifération chez la Grande Naine (*Musa* AAA) et Libanga Noir (*Musa* AAB) a obtenu un taux allant de 1,3 à 1,5. ADHEKA (2007) a étudié l'effet de la micro décapitation sur la prolifération chez Bosakaraka (*Musa* AAB), Libanga Noir (*Musa* AAB) et Tala Lola (*Musa* AAB) et a obtenu un taux de prolifération allant de 39,78 à 42, 67. MAVÉ(2014) en comparant le taux de prolifération entre le rejetonnage *in situ* et *in vitro* chez Litete(*Musa* AAB), Libanga Likale(*Musa* AAB) et Tala Lola(*Musa* AAB) et a obtenu une moyenne *in vitro* allant de 25,2 à 40,8.

Pour ce qui est de ce travail, l'analyse des résultats montre que le nombre des bourgeons meristématiques initiés en moyenne est de 63 pour Tala Lola (*Musa* AAB), 40,3 pour Libanga Likale (*Musa* AAB) et 47,7 pour Bosakaraka I (*Musa* AAB). Ce taux de prolifération élevé en deux semaines seulement est justifié par le taux élevé de la concentration en BAP.

Les résultats des observations des globules meristématiques et globules embryogènes résumés par les annexes 4 et 5 montrent que la production des globules meristématiques ainsi que des globules embryogènes est variable suivant les variétés.

Il est à noter que Tala Lola a produit un nombre élevé des cals hydriques suivi de Libanga Likale et Bosakaraka I. Libanga Likale a induit en moyenne 10 globules méristématiques, Tala Lola et Bosakaraka I ont induit 7 et 2,2 globules meristématiques respectivement. Libanga Likale a produit un nombre élevé des globules meristématiques. Par ailleurs Tala Lola a induit en moyenne 31,6 globules embryogènes. Bosakaraka I a induit en moyenne 22,2 globules embryogènes et Libanga Likale a induit 20,8 globules embryogènes. Tala Lola a induit un nombre élevé des globules embryogènes. En considérant les résultats des figures 12 à 14 présentant les moyennes de prolifération des bourgeons meristématiques chez différents cultivars et ceux des figures 16 et 18 présentant le nombre moyen de

globules meristématiques et globules embryogènes respectivement il n'existe pas de corrélation.

DHED'A(1992) en étudiant la culture des suspensions cellulaires et régénération en plantules par embryogenèse somatique chez le bananier a montré que l'initiation des suspensions cellulaires à partir du matériel proliféré sur 100 μ M permet d'obtenir des nouvelles suspensions cellulaires embryogéniques chez le bananier avec une fréquence de 20 à 100% et après un minimum de 10 à 18 semaines.

ESCALANT et TEISSON (1989) en étudiant les embryons somatiques obtenus à partir des embryons zygotiques immatures des bananiers sauvages ont observé que l'embryon somatique avait une ouverture cotylédonaire comme celui décrit dans ce travail.

En ce qui concerne ce travail, la production de globules meristématiques est de 22,2 pour Bosakaraka I, 20,8 pour Libanga Likale et 31,6 pour Tala Lola. La moyenne obtenue pour la production des globules embryogènes est de 2,2 ; 10 et 7 pour Bosakaraka I, Libanga Likale et Tala Lola respectivement.

L'originalité de ce travail par rapport aux autres travaux dans ce domaine réside dans le fait que 3 cultivars locaux de bananier plantain appartenant aux 3 types différents de ce sous-groupe ont été utilisés. Ceci permettra d'utiliser cette technique dans la multiplication en masse de ces cultivars et d'envisager l'amélioration génétique de bananiers plantains.

CONCLUSION ET SUGGESTIONS

L'objectif de ce travail était d'étudier le potentiel embryogène chez trois variétés de bananiers plantains. Au total 5 tubes par cultivars ont été observés pour la prolifération des bourgeons et 5 autres tubes pour la formation des groupes embryogéniques. Les résultats obtenus après 4 mois d'expérimentation permettent de tirer les conclusions suivantes :

- Le taux moyen de prolifération *in vitro* des bourgeons meristématiques est variable suivant les cultivars, Tala Lola en produisant plus que les autres.
- Il n'existe pas de différence significative entre le nombre des bourgeons meristématiques produits chez Bosakaraka I et Libanga Likale, de même que entre Bosakaraka I et Tala Lola.
- Le taux de production des globules meristématiques ainsi que des cals embryogènes varient d'un cultivar à un autre.
- Il existe une corrélation entre et la prolifération de bourgeons meristématiques la prolifération des groupes embryogènes *in vitro*.

Ceci permet de confirmer l'hypothèse sur la variation du taux de prolifération des bourgeons, des globules meristématiques et globules embryogènes suivant les cultivars, il permet aussi de confirmer celle en relation avec la corrélation entre ce taux pour la prolifération de nombre des bourgeons et les globules embryogènes produits *in vitro*. Cependant, une très grande attention doit être accordée à la qualité de la prolifération des bourgeons et de l'homogénéité de l'explant afin d'exprimer le maximum de potentiel embryogène des cultivars étudiés.

L'ensemble de ces résultats montre que les cultivars utilisés possèdent un potentiel embryogènes dont la variation reste à confirmer sur un plus grand nombre d'essai. Ces résultats permettent de suggérer :

- La poursuite de cette étude en considérant d'autres cultivars et sur des essais plus étendus
- La régénération des cals embryogènes en plantules pour ces cultivars
- L'utilisation d'une loupe lors de la dissection pour travailler avec des explants plus homogènes.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- ADHEKA, G., 2007. Etude sur l'effet de la micropropagation sur la prolifération *in vitro* des bourgeons chez trois cultivars des bananiers plantains (*Musa* AAB) à Kisangani, Mémoire inédit, Faculté des Sciences, 69p.
- ADHEKA, G., 2014. Contribution to the characterization and classification of the Congo basin African plantains (*Musa* AAB) in the Democratic Republic of Congo. PhD thesis, University of Kisangani, 119p.
- BAKRY, F., 1984. Application des techniques de culture *in vitro* pour l'amélioration du bananier (*Musa* Sp.). Thèse de doctorat, Université de Paris-Sud. 216p.
- BANERJEE, N. and DE LANGHE, E., 1985. A tissue culture for rapide clonale propagation and storage under minimal conditions of *Musa* (Banana and plantain). Plant cell reports, 4: 351-354.
- BANERJEE, N., VUYSLTEKE, D. and DE LANGHE E., 1986. Meristem tip culture of *Musa*: histological studies of shoot but proliferation. In WITHERS L.A. and ANDERSON, P.G. (eds). Plant tissue culture and its Agricultural applications. Butterwork Scientific ltd, U.K.:139-147.
- BARKER, W.G. 1959. A system of maximum multiplication of banana plants. Trop. Agric. (Trinidad), 36:275-284.
- BONTE, E., VENDONEK, R. and GREGROIRE, L., 1995. Rapid multiplication of banana and plantain. Trees in Cameroun. 126p.
- CHAMPION, J., 1963 : Le bananier. Eds G-P Maisonneuve et Larose. Paris, France, 260 p.
- DE LANGHE, E., 1961. Multiplication végétative accéléré en plantation du bananier plantain Bosua. Bulletin d'information de L'INEAC : 70-87.
- DHED'A, D., 1992. Culture des suspensions cellulaires embryogéniques et régénération en plantules par embryogenèse somatique chez le bananier et le bananier plantain *Musa* Spp. Thèse de doctorat, KU. Leuven 192p.
- DHED'A, D., MOANGO, M., SWENNEN, R., 2011. La culture des bananiers plantains en République Démocratique du Congo, Support didactique, Saint Paul, Kinshasa 85p.
- ESCALANT, J.V. and TEISSON, C. 1989. Somatic embryogenesis and plants from immature zygotic embryos of species *Musa acuminata* and *Musa balbisiana*. Plant Cell Report, 7:665-668.
-

-
- GASPAR, T., 1994. New growth regulators in tissue culture. Proceeding of the BPTCG autumn symposium: new hormones in the control of plant cell, tissue and organ culture. ULG, November 18th.
- GATIN, C.L., 1908. Recherches anatomiques sur l'embryon et la germination des Cannacées et des Musacées. Sci. Nat. Bot. (Paris), 9(8) : 113-146
- GAUDY, M., 1965. Manuel d'agriculture tropicale. Afrique tropicale et équatoriale, 2^e édition. La maison rustique. Paris 412p.
- HELLER, C., 1990. Agrégé de physiologie végétale. 2. Développement, 4^{ème} Edition Masson, Paris. 260p.
- INIBAP, 2001: Annual report 2001. International Network for Improvement of Banana and Plantain. Montpellier. France.
- ISSOLIWEI, 2016. Caractérisation morphologique et usages de bananiers et bananiers plantains dans la Province de l'Equateur en République Démocratique du Congo. Mémoire de D.E.S. UNIKIS Faculté de Gestion des Ressources Renouvelables, 93p.
- KAY, L. F., 2002. Etude de taux de multiplication rapide ex situ par décapitation de méristème apical de quelques nouvelles variétés de bananiers (*Musa* Spp., Musaceae) à Kisangani(RDC) : 21p.
- LASSOUDIÈRE, A., 2007 : Le bananier et sa culture. Edition QUAE Rd 10,78026 Versailles cedex, France, 384p
- LISSINGI, A., 1999. Etude de l'effet de lait de noix de coco sur la prolifération *in vitro* des bourgeons méristématiques chez les bananiers et bananiers plantains (*Musa* Spp., Musaceae). Mémoire inédit ; Institut Facultaire des Sciences Agronomiques/ Yangambi. 26p.
- MAVE, D., 2014. Etude comparative de taux de prolifération in situ et *in vitro* chez trois cultivars de bananiers plantains (*Musa* AAB) à Kisangani. Travail de fin de cycle ; Faculté des Sciences UNIKIS, 26p.
- MUKONO, N., 2013. Effets des différentes concentrations de noix de coco sur la prolifération ex situ de trois cultivars de bananiers plantains à Kisangani. Travail de fin de cycle Faculté des Sciences.
- MURASHIGE S. and SKOOG F., 1962. A revised medium for growth and bioassays with tobacco callus tissues cultures. *Physiol. Plant* 15:473-479

-
- MUSUMBU, 1997. Essai de multiplication rapide ex situ de bananier et bananier plantain (*Musa* Spp.) ; à Kisangani ; Mémoire inédit. Institut Facultaire des Sciences Agronomiques/ Yangambi. 40p.
- ONAUTSHU, O., 2013 : Caractérisation des populations de *Mycosphaerella fijiensis* et épidémiologie de la cercosporiose noire du bananier dans la région de Kisangani (RDC). Thèse de doctorat. Faculté d'ingénierie biologique, agronomique et environnementale, Université catholique de Louvain.
- PALMER, J.K., 1963. Banana polyphenoloxidase preparation and properties. *Plant Physiol.*, 38: 508-513.
- PANIS, B., THINH, NT. 2001. Cryoconservation de matériel génétique de bananier. Guide technique INIBAP (J.V. ESCALANT et S. Shanok.) Réseau international pour l'amélioration de la banane et de la banane plantain, Mont pellier, France 4.4.
- QUENNOZ, N., 2007 : Les principaux régulateurs de croissance chez les végétaux.
- SANNASGALA, K., 1989. *In vitro* somatic embryogenesis in *Musa*. DISSERTATIONES DE Agricultura N° 180. PhD. Thesis, K.U. Leuven, Belgium, 172P.
- SERVICE NATIONALE DE STATISTIQUES AGRICOLES (SNSA), 1996. Production agricole du Zaïre.
- SWENNEN, R., 1984: A physiological study of suckering behavior in plantain (*Musa* C.V. AAB). Dissertation de Agricultura, N° 134, Faculty of Agriculture, Catholic University of Leuven, Belgium. 180p.
- SWENNEN, R and VUYLSTEKE, D. 1991. Bananas in Africa. Diversity uses and prospects for improvement. In: Ng, N.Q. Perrinno, P., Attere, F. and Zedan, H. Crop genetics resources of Africa. Proceedings of an International conference on crop genetic resources of Africa. 17-20. Oct.1988, Ibadan, Nigeria, Vol. II: 151-159.
- SWENNEN, R., VUYLSTEKE, D. and De SMET, 1991. Season- dependent seed set in plantain. *Banana Newsletter*, 14:35-36.
- TEZENAS DU MONTCEL, H, SWENNEN, R et DE LANGHE, E, 1983 : Essai de classification des bananiers plantains (AAB). *Fruit* 38/6: pp 318-325.
- VUYLSTEKE, D. 1989. Shoot-tip culture for the propagation, conservation and exchange of *Musa* germplasm. IBPGR. Rome, 56P.
- WHITE, P. R. 1928. Studies on the banana. An investigation of the floral morphology and cytology of certain types of the genus *Musa* L. *Zeitschr. Zelforsch., Mikrosk, Anat.* 7: 673-733.
-

ZRYD, J.P., 1988: Culture de cellules, tissus et organes végétaux. Presses Polytechniques
Romandes, 308p.

ANNEXES
Annexe 1: Nombre des bourgeons produits chez Bosakaraka I

N° de Tube	1e Subc	2e Subc	3e Subc
1	3	6	10
2	5	7	11
3	10	14	11
4	8	9	12
5	10	11	16
Total	36	47	60
Moyenne	7,2	9,4	12
Ecart type	3,1	3,2	2,3

Annexe 2 : Nombre des bourgeons meristématiques produit chez Libanga Likale

N° de Tube	1e Subc	2eSubc	3e Subc
1	4	8	8
2	5	11	11
3	3	11	12
4	2	9	14
5	4	9	10
Total	18	48	55
Moyenne	3,6	9,6	11
Ecart type	1,1	1,3	2,2

Annexe 3: Nombre des bourgeons meristématiques produit chez Tala Lola.

N° de Tube	1e Subc	2e Subc	3e Subc
1	6	11	16
2	10	8	16
3	8	13	15
4	11	12	19
5	7	15	22
Total	42	59	88
Moyenne	8,4	11,8	17,6
Ecart type	2	2,5	2,8

Annexe 4: Nombre des globules méristématiques produits par tube chez différents cultivars.

N° Tube	Nombre des globules méristématiques		
	Bosakaraka	Libanga Likale	Tala Lola
1	1	0	5
2	1	7	2
3	2	18	2
4	3	25	9
5	4	0	17
Total	11	50	35
Moyenne	2,2	10	7
Ecart type	1,3	11,1	6,2

Annexe 5: Nombre des globules embryogènes produits chez différents cultivars.

N° Tube	Nombre des cals embryogènes		
	Bosakaraka	Libanga Likale	Tala Lola
1	13	6	31
2	34	12	33
3	13	15	21
4	39	60	34
5	12	11	39
Total	111	104	158
Moyenne	22,2	20,8	31,6
Ecart type	13,1	22,1	6,6

Annexe 6 : Analyse de variance des bourgeons produits de la 1ère subculture par différents cultivars

```

Terms:
              cultivars Residuals
Sum of Squares      62.4      61.2
Deg. of Freedom       2       12

Residual standard error: 2.258318
Estimated effects may be unbalanced
> summary(anova)
              Df Sum Sq Mean Sq F value Pr(>F)
cultivars     2   62.4   31.2  6.1176 0.01474 *
Residuals    12   61.2    5.1
---
Signif. codes:  0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1
> TukeyHSD(anova)
  Tukey multiple comparisons of means
    95% family-wise confidence level

Fit: aov(formula = subculture1 ~ cultivars, data = analyse1)

$cultivars
              diff          lwr          upr          p adj
Libangalikale-Bosakaraka1 -3.6 -7.4104715  0.2104715  0.0646802
Talalola-Bosakaraka1      1.2 -2.6104715  5.0104715  0.6862717
Talalola-Libangalikale     4.8  0.9895285  8.6104715  0.0145093

```

ANOVA: Différences significatives (p-value=0,014<0,05)

DUNCAN: différence significative entre Tala Lola et Libanga Likale (p-value=0,014<0,05)

Pas de différences significatives entre Bosakaraka I et Libanga Likale (p-value=0,064>0,05) et entre Bosakaraka I et Tala lola (p-value=0,68>0,05)

Annexe 7 : Analyse de variance des bourgeons produits de la 2ème subculture par différents cultivars

```

Terms:
              cultivars Residuals
Sum of Squares  17.73333  75.20000
Deg. of Freedom    2      12

Residual standard error: 2.503331
Estimated effects may be unbalanced
> summary(anova)
              Df Sum Sq Mean Sq F value Pr(>F)
cultivars     2  17.733   8.8667  1.4149 0.2807
Residuals    12  75.200   6.2667

```

Pas de différences significatives (p-value=0,28>0,05)

Annexe 8 : Analyse de variance des bourgeons produits de la 3ème subculture par différents cultivars

```

Terms:
              cultivars Residuals
Sum of Squares  126.5333   75.2000
Deg. of Freedom    2         12

Residual standard error: 2.503331
Estimated effects may be unbalanced
> summary(anova)
              Df Sum Sq Mean Sq F value    Pr(>F)
cultivars      2 126.53  63.267   10.096 0.002683 **
Residuals     12  75.20   6.267
---
Signif. codes:  0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1
> TukeyHSD(anova)
  Tukey multiple comparisons of means
    95% family-wise confidence level

Fit: aov(formula = subculture3 ~ cultivars, data = analyse1)

$cultivars
              diff          lwr          upr          p adj
Libangalikale-Bosakaraka1 -1.0 -5.223883  3.223883 0.8058888
Talalola-Bosakaraka1       5.6  1.376117  9.823883 0.0105710
Talalola-Libangalikale     6.6  2.376117 10.823883 0.0034448

```

ANOVA: Différences très significatives entre les 3 cultivars ($p\text{-value}=0,002<0,01$)

DUNCAN: différence significative entre Tala lola et Libanga Likale ($p\text{-value}=0,003<0,01$) et entre Bosakaraka I et Tala lola ($p\text{-value}=0,01<0,05$)

Pas de différences significatives entre Bosakaraka I et Libanga Likale ($p\text{-value}=0,8>0,05$) et entre Bosakaraka I et Tala lola ($p\text{-value}=0,68>0,05$)

Annexe 9 : Analyse de variance (ANOVA) des globules produits par cultivars

```

Terms:
              cultivars Residuals
Sum of Squares  154.8     662.8
Deg. of Freedom    2         12

Residual standard error: 7.431913
Estimated effects may be unbalanced
> summary(anova)
              Df Sum Sq Mean Sq F value    Pr(>F)
cultivars      2  154.8   77.400   1.4013 0.2838
Residuals     12  662.8   55.233

```

Pas de différences significatives ($p\text{-value}=0,28>0,05$)

Annexe 10 : Analyse de variance (ANOVA) des cals par cultivars

```
Terms:
      cultivars Residuals
Sum of Squares  344.9333 2832.8000
Deg. of Freedom      2      12

Residual standard error: 15.36446
Estimated effects may be unbalanced
> summary(anova)
      Df Sum Sq Mean Sq F value Pr(>F)
cultivars  2  344.93  172.47  0.7306 0.5019
Residuals 12 2832.80  236.07
```

Pas de différences significatives ($p\text{-value}=0,50>0,05$)
