



Université Mohamed Khider de Biskra  
Faculté des Sciences Exactes et des Sciences de la Nature et de  
la Vie  
Département des Sciences Agronomiques

# MÉMOIRE DE MASTER

Science de la Nature et de la Vie  
Sciences Agronomique  
Production végétale

Réf. : Entrez la référence du document

Présenté et soutenu par :

**MOHAMEDI YOUSRA**

Le : mardi 20 juin 2023

*Effet de la salinité sur la callogenèse chez quelques variétés de pi-  
ment (locales et hybride) (*Capsicum annuum.L*) cultivées dans le  
Sud- Est Algérie*

Jury :

Pr.	MEHAOUA M S	Pr	Université de Biskra	Président
Dr.	BENAISSA KELTOUM	MCB	Université de Biskra	Examineur
Dr.	BEDJAOUI HANANE	MCB	Université de Biskra	Rapporteur
Mr.	TAHIRINE MOHAMED	MAB	CRSTRA	Co-Rapporteur

Année universitaire : 2022/2023

## Remerciement

Au terme de cette étude, je remercie avant, Dieu tout puissant de m'avoir guidée de suivre le chemin de la science et m'avoir permis la réalisation de ce présent travail. Tout d'abord, qui m'a inspirée les bons pas et les justes réflexions. Sans sa miséricorde, ce travail n'aura pas abouti.

Mes vifs remerciements à ma Promotrice Madame Bedjaoui Hanane pour la confiance qu'elle ma témoignée, Je tiens à vous exprimer ma gratitude de m'avoir gracieusement pour ses précieux conseils, le temps, l'attention et sa disponibilité consacrés tout au long de ce travail, son orientation, sa gentillesse, sa modestie et pour l'intérêt bienveillant manifesté pour mon travail.

Le travail présenté dans ce mémoire a été réalisé au laboratoire de Biotechnologies et améliorations des plantes a CRSTRA-Biskra, sous la direction du Co-promoteur Monsieur Mohammed Tahirine qui a proposé ce sujet. Merci à Mohammed pour ses précieuses compétences et connaissances, de sa longue expérience dans le domaine de génétique et amélioration des plantes et tout le suivi effectué sur mon travail, merci aussi pour votre bonne humeur à toute épreuve. Merci pour m'avoir si souvent pousser à donner le meilleur et merci pour le soutien permanent dans les périodes difficiles et pour son soutien précieux lors de la rédaction de ce mémoire malgré ses très nombreuses charges, Je lui suis reconnaissante pour le temps qu'il m'a accordé.

C'est avec un grand honneur, j'adresse mes vifs Remerciements Et mon profond respect aux membres du jury qui ont bien voulu accepter de nous honorer par leurs présences et pour avoir accepté de juger et évaluer mon travail.

Je souhaite remercier également toute l'équipe du laboratoire de biotechnologie et amélioration des plantes pour l'aide, le temps et l'attention qu'ils m'ont accordés pendant cette année.

Je remercie tous les professeurs et toutes les personnes qui par leurs paroles, leurs écrits, leurs conseils et leurs critiques ont guidé mes réflexions et ont accepté de me rencontrer et de répondre à mes questions durant mes recherches.

J'exprime également mes gratitudes envers tous mes enseignants universitaires pour tout le savoir qui nous ont transmis. Je tiens aussi à remercier tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à l'élaboration de ce travail.

Enfin, nombreuses sont les personnes que je voudrais remercier pour leur aide scientifique, morale et leur amitié, que celles que je n'ai pas pu citer me pardonnent.

## Dédicace

Je dédie ce modeste travail :

A l'homme de courage et de force, à celui qui a toujours été présent, qui m'a appris les vraies valeurs de la vie à celui qui m'a soutenu en toutes circonstances, Tu t'es toujours dévoué à nous fournir le meilleur et à nous encourager à poursuivre nos rêves. Mon père MOHAMED KAMEL.

A la femme la plus courageuse, à celle qui a su me donner amour et joie de vivre, à celle qui a toujours montrée affection et compréhension à mon égard, ta présence inébranlable m'a donné l'assurance nécessaire pour affronter les défis académiques et m'a montré l'importance du travail acharné et de la persévérance, Tu as été mon mentor, mon enseignant et mon modèle de détermination ma mère MERIEM.

A mes chers grands-parents, les moments passent à vos cotes, à écouter vos histoires et à apprendre de vos expériences, ont façonné ma vision du monde et m'ont permis de grandir en une personne curieuse et ouverte d'esprit. Votre sagesse est une bénédiction que je chéris chaque jour. Dieu ait son âme.

A mon oncle Bachir Madani Depuis mon tout premier pas dans le monde du savoir, tu as été à mes côtés. Je vous serai éternellement reconnaissante pour tout ce que vous avez fait et continuez de faire pour moi. Sans oublier sa femme Ferial, qui a toujours été comme une deuxième maman pour moi.

A mes très chers frères Abdallah et, AHMED WASSEL et mes sœurs ABIR, SELSABIL et IMANE Qui m'ont fourni du courage, du soutien, et tous leurs efforts et moyens pour que je termine mes études votre présence a été une source infinie de joie et de motivation, Vos sourires réconfortants et votre amour inconditionnel ont été mes sources d'énergie les plus puissantes. Nous avons partagé tant de moments précieux, des rires aux larmes, des défis aux réussites. Votre présence à mes côtés a renforcé ma détermination et m'a rappelé que nous sommes une équipe indissociable. Je vous aime tous profondément.

A mes amis les plus fidèles : Dalila, Rayene, Meriem,

A Toute la famille MOHAMMEDI et MADANI.

Que dieu vous protège, je vous souhaite une longue vie pleine d'amour, de bonheur et surtout de santé.

Youssra Mohammedi

## Liste des abréviations

D.S.A : Direction des services agricoles.

FAO : Food and Agriculture Organization (Organisation des Nations Unies pour

ITDAS : Institut Technique de Développement de l'Agronomie Saharienne.

l'alimentation et l'agriculture).

Mg : Milligramme.

PEG : Polyéthylène glycol.

Pop: Population.

T : ton

TG : Taux de germination.

## Liste des figures

<b>Figure 1.</b> Les Meilleurs Pays Producteurs du piment 2023.....	4
<b>Figure 2.</b> Evolution de la production du piment à l'échelle national 2011-2021.....	6
<b>Figure 3.</b> Evolution de la superficie du piment à l'échelle national 2000-2021 .....	6
<b>Figure 4 :</b> Anatomie du fruit de <i>Capsicum</i> .....	9
<b>Figure 5 :</b> Différences étapes de désinfection des graines.....	22
<b>Figure 6 :</b> Pesée et germination des graines .....	23
<b>Figure 7 :</b> Variation du taux de germination des différentes Population du piment, en.....	26
<b>Figure 8.</b> Cinétiques de germination des graines du piment traitées avec différentes concentrations de PEG2000 .....	30
<b>Figure 9 :</b> Variation du poids des différentes Population du piment, en Fonction de la concentration de PEG2000.....	31
<b>Figure 10 :</b> Apparition De Cal.....	33

## Liste des tableaux

Tableau 1 : Place occupée par le piment par rapport aux autres produits agricoles dans l'Afrique.....	5
Tableau 2 : Composition chimique de <i>Capsicum annuum</i> L. ....	8
Tableau 3 : Calendrier cultural du piment.....	10
Tableau 4 : Principales maladies et ravageurs du piment et méthodes de lutte. ....	13
Tableau 5 : Composition du milieu Murashige et Skoog (1962). ....	18
Tableau 6 : Génotypes étudiés et leurs localisations.....	21
Tableau 7 : Nature des hormones végétales testées. ....	26
Tableau 8 : Combinaisons et concentrations hormonales ajoutées au milieu MS et testées pour l'induction de la callogenèse du piment ( <i>Capsicum annum</i> L.). ....	26
Tableau 9 : Effet de différentes concentrations de 2.4D/BAP sur la texture et la couleur après deux semaines et deux mois de la formation des cals dans le cas d'explants de germes pour les quatre populations. ....	33
Tableau 10. Variation du taux de callogenèse après deux mois d'incubation sur les milieux 2.4D/BAP pour les quatre génotypes .....	33
Tableau 11 : Expression de la variance révélée par les paramètres étudiés. ....	35
Tableau 12 : Groupes homogènes révélés par le test Post-hoc Tukey : PEG-Poids .....	35
Tableau 13 : Groupes homogènes révélés par le test Post-hoc Tukey PEG-Nombre de jour. ....	36
Tableau 14 : Groupes homogènes révélés par le test Post-hoc Tukey:Population-poids .....	<b>Erreur ! Signet non défini.</b>
Tableau 15 : Groupes homogènes révélés par le test Post-hoc Tukey:Population-nombre de jour .....	37
Tableau 16 : Groupes homogènes révélés par le test Post-hoc Tukey :Germination-population. ....	37



## Sommaire

### Partie I : Synthèse bibliographique

Liste des abréviations .....	6
Liste des figures .....	7
Liste des tableaux .....	8
Sommaire .....	10
Introduction .....	1
<b>Chapitre I : Généralités sur la culture de piment.</b> .....	<b>3</b>
I.1. Historique et origine du piment .....	3
I.2. Ressources phylogénétiques et les variétés les plus cultivées dans le monde et en Algérie .....	3
I.3. Importance économique.....	4
I.3.1. Dans le monde.....	4
I.3.2. En Algérie .....	5
I.4. Caractéristiques des fruits de piments .....	7
I.4.1. Composition alimentaire .....	7
I.4.2. Couleur .....	7
I.4.3. Arôme .....	8
I.4.4. Caractère brûlant.....	8
I.5. Stades phénologiques.....	9
I.6. Mode de reproduction .....	10
I.7. Conduite de la culture .....	10
I.8. Exigences de la culture de piment .....	10
I.9. Les principales maladies et ravageurs du piment et méthodes de lutte .....	12
Chapitre II : Notions générales sur la <i>culture in vitro</i> .....	12
II.1. Définition.....	12

II.2. Techniques de <i>culture in vitro</i> .....	12
II.2.1. Organogénèse .....	12
II.2.3. Embryogenèse somatique .....	12
II.3. Milieu de culture .....	13
II.3.1. Eléments minéraux .....	14
II.3.2. Eléments organiques .....	15
II.3.3. Régulateurs de croissance .....	16
II.3.4. Géloses .....	17
II.4. Avantages de la <i>culture in vitro</i> .....	18
II.4.1. Collection de génotypes et état physiologique du matériel conservé .....	18
II.4.2. Obtention de matériels indemnes de maladies .....	19
II.4.3. Développement de méthodes de production de plants .....	19
II.4.4. <i>Culture in vitro</i> au service de l'amélioration variétale .....	19
II.5. Inconvénients liés à la <i>culture in vitro</i> .....	20
II.5.1. Vitrification .....	20
II.5.2. Perte de caractères intéressants .....	20
II.5.3. Problèmes inhérents à la technique .....	20
Matériel et méthodes .....	20
I.1. Teste de germination de huit populations locales de piment. ....	20
I.1.1. Matériel végétal .....	20
I.1.2. Plan expérimental.....	21
I.1.3. Paramètres étudiés .....	23
I.2.1. Désinfection de graines .....	25
I.2.2. Milieu MS .....	25
I.2.3. Stérilisation du milieu de culture .....	25
I.2.4. Germination des graines .....	25

I.3. Induction de la callogenèse chez ls géotypes du piment .....	26
I.3.1. Milieu de culture .....	26
I.3.2. Prélèvement des explants .....	27
I.3.3. Paramètres de suivi .....	27
I.4. Analyse statistique des résultats .....	27
Chapitre II : Résultats et Discussion .....	26
II.1. Test de germination .....	26
II.1.1. Taux de germination .....	26
II.1.2. Cinétique de germination.....	27
II.1.3. Poids moyen des grains .....	30
II.2. Induction à la callogenèse et description des cals. ....	32
II.3. Etude de la variance.....	34
II.3.1. Paramètres étudiés .....	34
Discussion générale.....	35
Conclusion et perspectives .....	37
Références bibliographiques .....	39
<i>المخلص</i> .....	45
Summary .....	45
Résumé.....	45

### Introduction

La famille *Solanacées* comprend 2500 espèces (**R. G. Olmstead et al ,2008**) réparties en près de 95 genres (**Angiosperm Phylogeny Group,2003**). Les genres *Capsicum* (piment), *Lycopersicon* (tomate) et *Solanum* (pomme de terre et aubergine), sont les plus cultivés pour leur importance alimentaire, économique et médicinale par la présence en abondance de la vitamine C, des antioxydants, de la capsaïcine, des flavonoïdes et de l'Alpha-tocophérol. Tous ces éléments présentent un intérêt médicinal certain. Ils ont un rôle dans la préservation de la santé humaine. (**Lee et al ,1995**)

Le piment et le poivron sont des fruits tropicaux originaires de l'Amérique de Sud et de l'Amérique Centrale. Leur culture fût, par la suite, répandue en Europe, en Afrique et en Asie (**F. Menichini et al ,2009**). Le piment arrive en sixième position après la tomate, le bananier, le maïs, le gombo et la morelle noire (*Solanum nigrum*), et en première position dans le groupe des épices en zone fore stière humide à pluviométrie bimodale (**J. Gockowski et N. M. Ndoumbe,2019**). Le genre *Capsicum annuum* présente une grande variété de formes cultivées et renferme des variétés piquantes (piments forts) et non piquantes (piments doux = les poivrons) (**H. Jolicoeur,2001**).

Le piment a une bonne adaptation aux conditions pédoclimatiques en Algérie. L'Algérie a occupé la 13<sup>ème</sup> position pour la production de piment frais qui est de 268055 (t) avec un rendement 12,97 de tonnes par hectare. Elle a également occupé le 28eme rang dans la production de piment sec qui est à 7600 (t) avec un rendement de 2 (t/ha). (**DSA Ain Defla en 2017**)

Le stress biologique est une force adverse qui empêche le fonctionnement normal et le bien-être du système biologique. La productivité agricole mondiale est soumise à des contraintes environnementales croissantes sous la forme de stress abiotiques et biotiques qui influent négativement sur les plantes. En fait, les stress abiotiques sont la principale cause des mauvaises récoltes. La sécheresse et la salinité sont deux facteurs abiotiques majeurs (**Wu et al., 2011**).

La salinité est l'une des contraintes environnementales les plus importantes qui limitent la productivité des plantes particulièrement dans les climats aride et semi-aride (**Hussain et al., 2009**).

Le piment est une plante glycophyte (qui ne peut se développer que dans un sol pauvre en sel NaCl) ce qui rend la salinité un des facteurs majeurs qui influent sur le rendement dans les zones irriguées, notamment les régions arides et semi-arides. (Ly et al., 2014)

Pour contourner le problème de salinité chez les cultures on utilise des outils de la biotechnologie telle que la *culture de tissus in vitro* qui permettent la sélection de plantes résistantes ou tolérantes à la salinité.

Dans ce contexte nous avons mené ce travail dont l'objectif principal est d'étudier le comportement de sept populations locales de piment et une variétés hybride importée sous contrainte de stress salin provoqué par l'utilisation du PEG2000. Également nous avons cherché, à déterminer l'influence des facteurs biotiques (génotypes) et abiotiques (hormones) sur l'induction à la callogenèse et optimiser les conditions de son induction, notamment la balance hormonale, pour une expression d'une callogenèse maximale et reproductible.

Dans ce travail, nous avons choisi de structurer le développement de notre étude selon un enchaînement logique constitué comme suit :

- Une première partie bibliographique donnant en chapitre I des généralités sur la culture de piment et en chapitre II des notions de base sur *la culture in vitro*.
- Une 2ème partie expérimentale qui comprend deux chapitres, le premier où nous avons détaillé le matériel utilisé la métrologie suivie et le second, où nous avons présenté l'essentiel des résultats obtenus suivis d'une discussion.

Enfin notre mémoire est clôturé par une conclusion générale et des perspectives.

# **Partie I :**

## **Synthèse bibliographique**

# **Chapitre I :**

## **Généralités sur la culture de piment**

## Chapitre I : Généralités sur la culture de piment

### I.1. Historique et origine du piment

Le piment est une plante maraîchère qui porte le nom vernaculaire « Felfel Arbi », appelé communément « Piment fort ou épice » et scientifiquement « *Capsicum frutescens.L* », appelé en anglais Chili Pepper ou Hot Pepper, le piment appartient à l'espèce capsicum de la famille des *Solanaceae*. Le mot vient probablement du grec kapsa qui signifie capsule ou bien du latin capsa' qui signifie boîte / coffret, C'est une plante dicotylédone qui est très ancienne. Selon plusieurs études, il semble que le piment soit originaire d'Amérique tropicale (centrale et certaines parties de l'Amérique de sud). Les premières plantes sont cultivées dans ces zones car des vestiges du piment ont été trouvés dans des sites archéologiques du sud est du Mexique qui remontent à 7000 ans avant J.C. Son introduction au reste du monde a toujours suscité de grands débats parmi les spécialistes et les historiens.

Actuellement, le genre *Capsicum* comporte plus de 10 espèces qui se distinguent par la forme, la taille, les couleurs et surtout par la différence du degré de saveur, dont les principales espèces (*C. pubescens*, *C. baccatum*, *C. annum*, *C. frutescens*, *C. chinense*) et aux moins 25 espèces sauvages (Mokhtar, 2010).

La classification de cette plante dicotylédone selon (De, 2003) est la suivante :

- **Division** : Maagnoliopyta.
- **Classe** : Magnoliopsida.
- **Ordre** : Solanales.
- **Famille** : *Solanacée*.
- **Genre** : *Capsicum*.
- **Espèce** : *Capsicum Annum L.*

### I.2. Ressources phylogénétiques et les variétés les plus cultivées dans le monde et en Algérie

D'après Bosland et al, (2000), le genre *Capsicum* compte 25 espèces. Il existe en fait cinq espèces de piments domestiquées, chacune distinguable (en partie) grâce à ses fleurs dont 5 domestiquées.

La grande variabilité de *Capsicum* a été largement exploitée par les sélectionneurs. Trois variétés anciennes sont conservées dans un registre annexe du catalogue officiel pour les jardiniers amateurs. On classe les variétés en 3 catégories :

- Les poivrons à gros fruits doux de différentes formes.
- Les piments à petits fruits pointus et à saveur plus ou moins brûlante.
- Les piments doux à petits fruits pointus non-piquants (**Marchoux et al., 2008**).

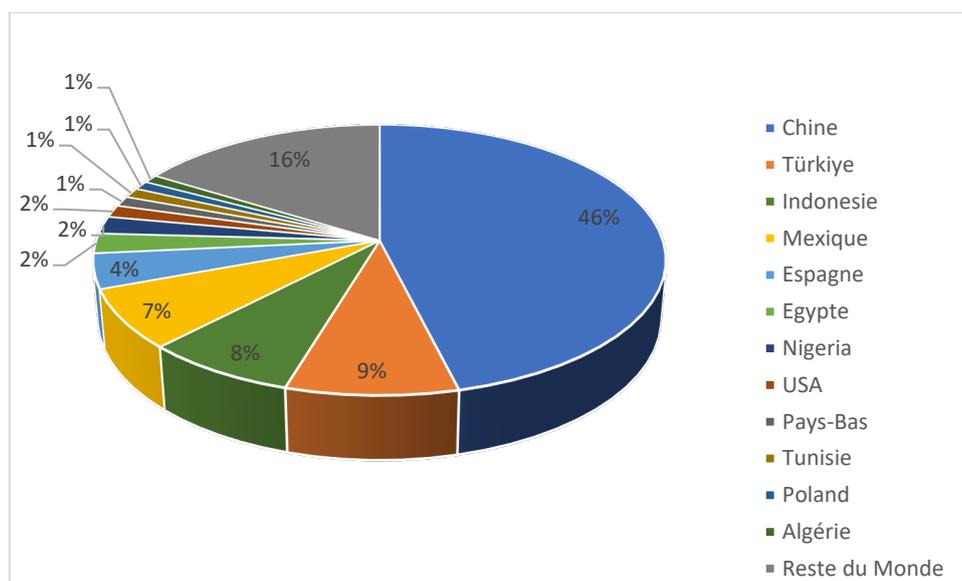
### I.3. Importance économique

Les piments sont appréciés un peu partout dans le monde, présentant une importance économique. Dans cette partie nous allons exposer la situation des piments en termes de production à l'échelle mondiale, nationale et régionale.

#### I.3.1. Dans le monde

Le piment est en classé en sixième position de point de vue revenus dans le secteur horticole après la tomate, le bananier, le maïs, le gombo et la morelle noire (**Gockowski et Ndoumbe., 2019**).

La production mondiale de piment était estimée à 614 922 de tonnes en 2017. Les principaux producteurs mondiaux de piments frais sont la Chine et la Turquie (1,7 million de tonnes) (**F.A.O STAT 2023**).



**Figure 1. Classement des Pays Producteurs du piment 2023. (FAO STAT, 2023)**

D'après **Djebbour et Kebala (2017)**, la culture des piments s'étend maintenant sur tous les continents habités et comporte deux volets : le piment-légume et le piment-condiment transformé en poudre ; ils sont exprimés en tonnes de matières sèches.

### Variétés les plus cultivées dans le monde

Parmi les variétés les plus cultivées dans le monde : Cayenne, Gorria, Tabasco, Habanero, Lipari, Corne de bœuf (Djebbour et Kebala, 2017).

### I.3.2. En Algérie

L'Algérie est classée en 4<sup>ème</sup> position en 2022 parmi les pays Africains avec une production de 614 922t et. Un rendement de 28,1197 t/ha pour le piment frais. Elle contribue avec 10.55% par rapport à la production AFRICA quant à piment sec.

Par ailleurs, la superficie consacrée à cette culture est également évoluée. Elle est de 9998 hectares en 2011, et de 21868 hectares en 2017. Le piment occupe une place importante en économie avec une concurrence importante par rapport aux autres produits agricoles (FAO STAT, 2023 ).

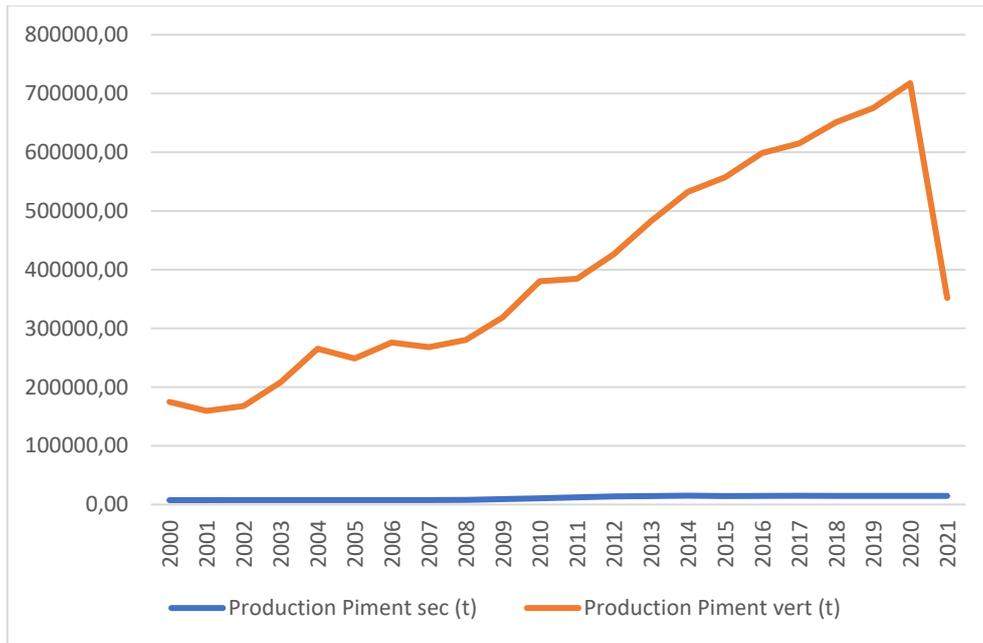
### Variétés les plus cultivées en Algérie

Parmi les variétés les plus cultivées en Algérie : Eternel, Lipari, Italico, Doux Marconi, Doux d'Espagne (type doux), Corne de chèvre, Nour, Foughal, Capel hot (type piquant) (Djebbour R et Kebala S 2017).

**Tableau 1 : Place occupé par Le piment par rapport aux autres produits agricoles dans l'Afrique (2018).**

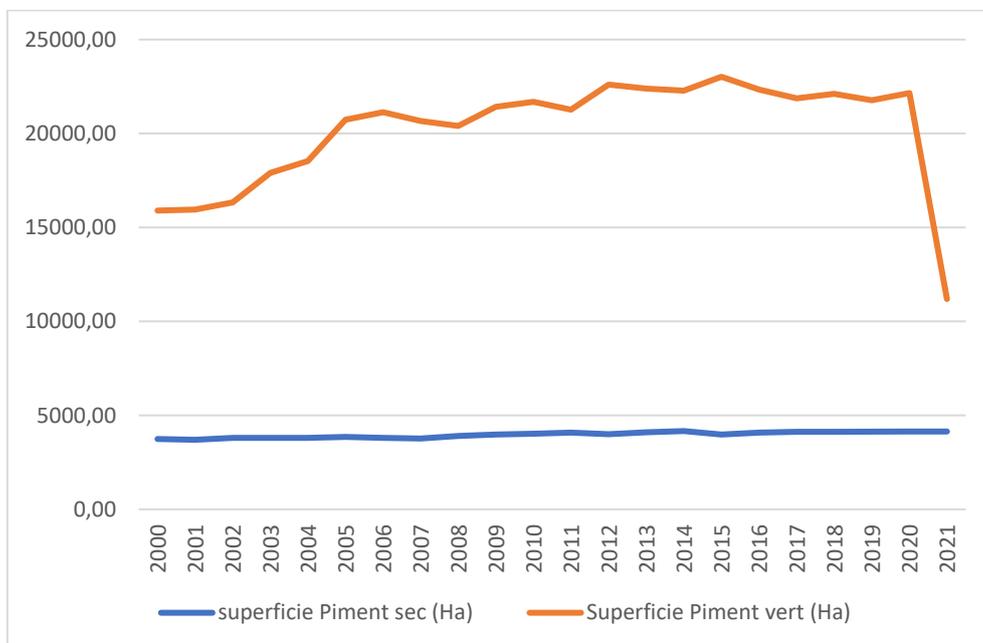
Pays	Piment frais			Piment sec		
	Production (t)	Rendements (t/ha)	Rang (SUR117)	Production (t)	Rendements (t/ha)	Rang (SUR117)
<b>AFRIQUE</b>	2541998	/	/	455150	/	/
<b>Nigeria</b>	748559	7,6563	7	68980	1,7380	11
<b>Egypte</b>	623221	15,1832	8	55273	3,4251	12
<b>Ghana</b>	120382	8,8067	11	119804	7,7431	7
<b>Tunisie</b>	429000	20,7371	12	20747	2,5317	30
<b>Algérie</b>	614922	28,1197	13	11948	3,5905	28
<b>Ethiopie</b>	138191	2,17	22	115000	0.4	6
<b>Cameron</b>	65441	2,2892	6	44508	2,6105	32

Source : DSA, in : Bouragaa (2019)



**Figure 2. Evolution de la production du piment à l'échelle nationale 2000-2021(FAOSTAT, 2023)**

Dans la figure 2 nous remarquons une tendance ascendante de la production du piment à l'échelle nationale durant la période de 2000 à 2021 atteignant un max pour l'année 2020 et juste après une chute a été observée probablement due à la pandémie covid 19.



**Figure 3. Evolution de la superficie du piment à l'échelle national 2000-2021 (FAOSTAT, 2023)**

#### I.4. Caractéristiques des fruits de piments

La qualité d'un piment et de ses produits dérivés dépend de sa couleur, son arôme et son caractère brûlant.

##### I.4.1. Composition alimentaire

Le *Capsicum* contient des colorants, principes piquants, résine, protéines, cellulose, pentoses, éléments minéraux et une faible quantité d'huiles volatiles (les graines contiennent les huiles non volatiles) (Tewksbury et al., 2008b).

Les différentes espèces fraîches de piments contiennent une quantité importante de vitamines B, C, E et provitamine A (tableau 2), mais l'espèce *annuum* est une source très riche en vitamine C (Daood et al., 1996).

La vitamine C contenue dans les piments (surtout les verts) est supérieure à celle contenue dans les oranges. (Pegon, 2009).

##### I.4.2. Couleur

La paroi du mésocarpe est responsable de la couleur des fruits. La quantité de chlorophylle varie selon les différentes variétés. Quand les fruits mûrissent, la chlorophylle et l'anthocyanine disparaissent normalement et les chloroplastes sont convertis en chromoplastes ; parallèlement des chromoplastes supplémentaires apparaissent (Cabballero et al., 2003).

Pendant la maturité, les caroténoïdes totaux augmentent (de 35 fois), suite à la synthèse de nouveaux pigments rouges comme les cétocaroténoïdes, dont la capsanthine (30- 60 % du total des caroténoïdes), la capsorubine (5-15 %) et la cryptocapsine (environ 5 %) ; ils contiennent rarement du cyclopentanol (caroténoïde de la tomate) (Topuz et Ozdemir, 2007).

Tableau 2 : Composition chimique de *Capsicum annum L.*

Constituants	(g/100 g de fruit frais)
Eau	91 ± 0.6
Glucose	0.85 ± 0.1
Fructose	0.75 ± 0.1
Amidon	0.81 ± 0.2
Fibres	2.20 ± 0.3
Constituants	(mg/100 g de fruit frais)
Acide citrique	28 ± 12
Acide fumarique	1.1 ± 0.4
Acide malique	208 ± 18
Acide oxalique	140 ± 24
Acide quinique	183 ± 62
Vitamine C	24 ± 12
Trans-lutéine	1.6 ± 0.3
Trans-β-carotène	0.92 ± 0.4

Source : Lopez-Hernandez *et al.* (1996)

#### I.4.3. Arôme

L'arôme caractéristique des piments est produit par les gouttelettes d'huiles essentielles des cellules du mésocarpe, lesquelles augmentent pendant la maturité. L'huile est un mélange de méthoxypyrazines, d'alcools aliphatiques et d'esters. Les alcools aliphatiques et les esters semblent être responsables des arômes fruités et floraux. Les différences dans la composition de l'huile essentielle dans et entre les espèces de *Capsicum* sont peu connues (Caballero *et al.*, 2003).

#### I.4.4. Caractère brûlant

L'effet sensoriel du « brûlant » est produit par un groupe de vanillyl amides connu comme les capsaïcinoïdes parmi lesquels la capsaïcine et la dihydrocapsaïcine sont prédominantes. Ces alcaloïdes, responsables du goût piquant et de la sensation de brûlure, n'existent dans aucune autre famille de plantes (Tewksbury *et al.*, 2006). Les capsaïcinoïdes sont synthétisés par des structures situées à la jonction du placenta (partie blanche supportant les graines au centre du fruit) et de la paroi de la gousse (Estrada *et al.*, 2002).

La capsaïcine est le principe actif principal présent dans le fruit de plusieurs variétés de *Capsicum* : poivron, paprika, chili, piment fort, etc.... (Bosland et Votava, 2000). De plus, la capsaïcine, un amide de formule : 8-méthyle N-vanillyle 6-nonénamide appartient à la famille des capsaïcinoïdes qui est responsable de la saveur piquante des piments forts (De, 2003)

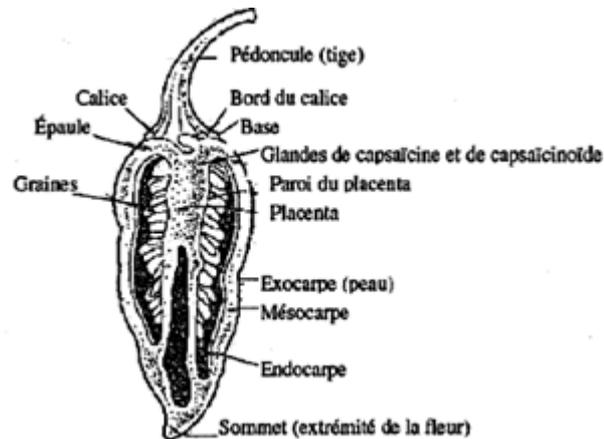


Figure 4 : Anatomie du fruit de *Capsicum* (Source : Bosland et Votava, 2000).

## I.5. Stades phénologiques

### I.5.1. Germination

La radicule émerge de la graine et Hypocotyle et cotylédons percent les téguments de la graine (Syngenta ,2015).

### I.5.2. Stade de levé

Le stade levé est la formation de la 1ère à 9ème feuilles sur la tige principale. La formation des pousses latérales apicale est visible 1 à 9 premier et secondaire. (Syngenta ,2015).

### I.5.3. Inflorescence

L'inflorescence est Caractérisée par La visibilité de 1 à 19 boutons. (Syngenta ,2015).

### I.5.4. Floraison

La floraison est l'ouverture des fleurs au long de l'inflorescence. (Syngenta ,2015).

### I.5.5. Développement et Maturation de fruits

Le premier fruit Sur la première inflorescence a atteint sa taille finale. Le premier fruit atteint sa taille et forme typiques. En effet, la maturation est complète lorsque le fruit possède la couleur typique de pleine maturité. (Syngenta ,2015).

### I.5.6. Sénescence

La sénescence est la phase finale, c'est à dire le produit après récolte. (Syngenta ,2015).

### I.6. Mode de reproduction

Le piment est une plante annuelle préférentiellement autogame (Chaine,1993) ou encore autogame facultatif (Pochard et al, 1992). Ses fleurs sont pentamériques et hermaphrodites, et elles sont fréquemment visitées par les insectes d'où une allogamie résiduelle qui en résulte.

### I.7. Conduite de la culture

#### I.7.1. Mode de culture du piment en Algérie

En Algérie, une variation des conditions climatiques impose la grande diversité des modes de culture.

**Tableau 3 : Calendrier culturel du piment.**

mois Mode de culture	08	09	10	11	12	01	02	03	04	05	06	07	08	09	10	11	12
P.	■	■	■		■	■	■										
S.						■	■	■	■		■	■	■	■			
A.S.											■			■	■	■	■
Sah.						■	■	■	■				■	■	■	■	■

Semis ■ Récolte ■ P. : primeur ; S. : Saison ; A.S. : arrière-saison ; Sah. : saharienne

Source : Syngenta (2015).

#### I.7.2. Système de culture

Il existe deux systèmes de culture du piment

- Culture de plein champ qui représente la culture de saison et la culture d'arrière-saison
- Culture sous serre : pour la culture primeur et la culture précoce

### I.8. Exigences de la culture de piment

#### I.8.1. Climat

Piment est l'une des plantes maraîchères les plus exigeantes en température, mais moins exigeant en ensoleillement que la tomate.

Le piment est très sensible aux températures basses, le zéro végétatif est de 14°C. Son développement optimal s'observe sous des températures variantes entre 16 à 26°C (**Messiaen, 1975**). Son optimum de croissance se situe à 24°C. Par ailleurs, les températures supérieures à 35°C réduisent la fructification et la photosynthèse. Les besoins en lumière sont très grands (**Skiredj, et al, 2005**), elle est moyennement tolérante en salinité : 1.92 à 3.2 g/l (3 à 5 mmhos/cm-1). L'humidité du sol convenable se situe entre 80 à 85 % et celle de l'air de 60 à 70 %. (**ITCMI, 2010**).

### **I.8.2. Nature du sol**

La culture de poivron nécessite un sol de texture légère. Il doit être bien drainé, et riche en matière organique. Le pH est compris entre 5.5 et 7.0 (**Valdez, 1994**).

### **I.8.3. Irrigation**

Selon **Valdez, (1994)**, l'irrigation dans les sols sableux est favorable à cette culture Elle correspond à la quantité d'eau consommée par la plante et le sol. Les besoins sont d'environ 4,5 mm/j soit 4,5l/m<sup>2</sup>/jour (**Tropicasem, 2001**).

Le piment s'adapte bien à la saison sèche c'est à dire dans les régions localisées entre 25 à 30 ° de latitude (**Messiaen ,1975**).

### **I.8.4. Fertilisation**

Selon **Tropicasem, (2004)**, la fertilisation en éléments organiques est de 30 à 35 t/ ha. L'amendement en Azote est tout au long du cycle, 180 à 200 unités de N/ha.

L'apport en fond de Phosphore est de 60 % environ dont la disponibilité de 80 à 100 unités de P/ha en début de phase reproductive La disponibilité de la floraison à la première récolte de Potassium est de 15 % en fond, 200 à 250 unités de K/ha.

L'apport en fond Calcium et Magnésium est nécessaire.

### **I.8.5. Récolte et rendement**

Le piment devient prêt pour la récolte après 50-60jours de plantation. Il est conseillé de détacher les fruits avec leurs pédoncules. La Récolte est une fois par semaine en évitant les blessures. La récolte peut s'étaler sur plusieurs mois. Les variétés améliorées de l'AVRDC produisent des rendements de 10 à 20 t/ha (**Dhaliwal ,2008**).

**I.9. Principales maladies et ravageurs du piment et méthodes de lutte**

Il existe dans la littérature plusieurs études traitant des maladies du piment (**Palloix, 1992**) (**tableau 4**).

Tableau 4 : Principales maladies et ravageurs du piment et méthodes de lutte.

Type de maladie	Maladie	Agent pathogène	Vecteur ou Cause	Symptômes	Méthodes de lutte
Viroses	Panachure du piment	Pepper Mottle Virus (PMV)	Pucerons	Décoloration uniforme des feuilles	Utiliser les variétés tolérantes Traiter les vecteurs avec du diméthoate par exemple Callidim 400 EC
	Mosaïque	Cucumber Mosaic (CMV)	Pucerons	Décoloration, tâches et malformation des feuilles et des fruits Nanisme des plantes	Maintenir une bordure (1 m de large) propre ou planter 2 rangées de maïs autour des champs. Traiter les vecteurs avec du diméthoate par exemple Callidim 400EC
	Nécrose virale du piment	Tomato Spotted Wilt Virus	Thrips (Thrips tabaci)	Marbrure, décoloration et malformation des feuilles et fruits suivie de nécrose	Utiliser les variétés tolérantes (cf tableau 1) Traiter les vecteurs avec du diméthoate par exemple Callidim 400EC
Maladies fongiques	Alternariose	Alternaria Solani	Semences non traitées aux fongicides	Taches marrons sur les fruits matures, puis nécrose des taches	Détruire les débris au champ. En cas d'attaque, traiter la parcelle au mancozèbe, par exemple Ivory 80WP à raison de 35 g pour 100 m <sup>2</sup> .
	Fusariose	Fusarium oxysporum	Semences non traitées aux fongicide	Jaunissement du feuillage, puis flétrissement de la plante	Détruire les débris au champ. Utiliser la variété tolérante PM17/04A Faire une rotation culturale
Bactériose	Flétrissement bactérien	Ralstonia spp.	Semences non traitées Eau	Flétrissement brutal de la plante, puis dessèchement	Utiliser la variété tolérante PM17/04A Choisir un sol drainant bien Faire une rotation culturale

			d'irrigation		
<b>Nématodes</b>	Nématode	Meloïdogyne spp.	Culture Continue	Galle racinaire, mauvais développement de la plante	Faire une rotation culturale
<b>Type de ravageur</b>				symptômes	Lutte
<b>Insectes</b>	Chenilles de mouche du fruit <i>Ceratitiscapitata</i>			Attaque des feuilles, bour- geons et fruits du piment Dégât occasionnel	Traiter à la deltaméthrine, par exemple Décis 15,5EC ou à lacypermethrine, par exemple Cypercal 250EC

Source : Fondio *et al.* (2015)

# **Chapitre II :**

**Notions générales sur *la culture in vitro***

## Chapitre II : Notions générales sur *la culture in vitro*

### II.1. Définition

*La culture in vitro* est une technique de production de cellules, des tissus ou d'organes en dehors de tout organisme animal ou végétal, sur un milieu nutritif et dans des conditions contrôlées (Cézard, F 2009).

*La culture in vitro* végétale est une culture d'explants de plantes, sur un milieu synthétique dans : des conditions stériles, un environnement contrôlé et dans un espace réduit. C'est un mode de reproduction asexué artificiel, comprenant un ensemble de méthodes qui font intervenir, d'une part des éléments d'asepsie, et d'autre part la mise en place d'un environnement parfaitement contrôlé : milieu défini pour chaque espèce végétal, conditions optimales, de température, photopériode, d'humidité (Starr, C et al, 2012).

### II.2. Techniques de *culture in vitro*

Deux principales méthodes de *culture in vitro* sont connues et les plus utilisées dans le monde sont : l'organogenèse et l'embryogenèse somatique (Sedra, 2003 ; Anjarne et al., 2005).

#### II.2.1. Organogénèse

La technique d'organogenèse exploite les potentialités méristématiques des bases des jeunes feuilles du cœur de rejet à donner naissance à des bourgeons végétatifs aptes à se multiplier. L'origine préexistant de ces bourgeons confère à cette technique un niveau élevé de conformité génétique des *in vitro* plants produits (Aissam, 1990). L'obtention de plantules via cette technique suppose l'initiation des bourgeons pour l'établissement des souches réactives, leur multiplication, élongation, enracinement et l'acclimatation des plantules (Anjarne et al., 2005).

#### II.2.3. Embryogenèse somatique

L'embryogenèse somatique (encore appelée embryogenèse asexuée) désigne la formation *in vitro* d'embryons à partir d'une ou de plusieurs cellules somatiques ou germinales, sans fusion gamétique. Les embryons somatiques produits sont, en principe, génétiquement identiques et capables de produire des clones à partir de génotypes donnés (El Hadrami, 1998).

Dans le laboratoire on a adopté la technique de l'embryogenèse somatique. Les stades de l'embryogenèse somatique Le cycle de production comprend 04 :

A- Initiation de la callogènes et multiplication des cals embryogènes :

La première étape consiste en l'obtention d'une cal embryogène et dont la multiplication est maintenue par repiquages successifs sur des milieux appropriés. Selon les génotypes, ces cals apparaissent entre le troisième et le sixième mois de culture (**Anjarne, 2005**).

B- Initiation de l'embryogenèse et obtention d'embryons somatiques

Pour initier la formation d'embryons somatiques, les cals doivent être placés sur un milieu contenant peu ou pas d'auxines, causant alors la conversion irréversible de plusieurs cellules embryogènes (**Djillali, 2008**).

C- Germination des embryons

Les embryons obtenus ayant une taille convenable sont replacés dans un milieu de germination qui peut être solide, semis solide ou même liquide sans hormones de croissance ou en plus faibles concentrations (**El khayri et al., 2003**). Les repiquages successifs permettront d'obtenir des plants bien constitués avec le moins d'anomalies possibles (**Djerbi, 1994**).

D- Acclimatation

Après l'enracinement, et quand les plantules développent des feuilles et des racines, elles seront prêtes pour l'acclimatation. Cette étape est très importante pour la micro propagation du palmier dattier (**Seelye et al., 2003**).

La réussite d'un procédé de multiplication végétative *in vitro* impose donc que les plantules transplantées en serre soient capables de s'adapter rapidement à :

- Une forte luminosité ;
- Une humidité relative assez faible ;
- Une fluctuation de la température ;
- Aux stress biotiques (**Fki et al., 2010**).

### II.3. Milieu de culture

Toutes les cellules qu'elles soient, eucaryotes (animales, végétales, fongiques) ou procaryotes (bactéries) ont des besoins nutritifs plus au moins nombreux. Dans le cadre de la culture *in vitro* le milieu de culture se définit comme un support synthétique adapté dans sa composition à la technique, l'explant, l'objectif et l'espèce, voire le cultivar.

En 1962, Murashige et Skoog étudient la multiplication végétative du tabac et mettent au point le premier milieu de base pour la *culture in vitro*. Ce milieu contient des sels minéraux, des sucres, des vitamines B, des auxines et des cytokinines. Ce milieu rend possible la culture et la prolifération de méristèmes de tiges jusqu'alors réfractaires à la multiplication végétative *in vitro*.

L'explant doit trouver dans le milieu de culture tout ce dont il a besoin pour survivre, se multiplier et éventuellement régénérer un nouvel individu, en fait, tout ce que la plante mère peut fournir, par les racines et les feuilles.

Ce milieu est essentiellement conseillé pour le déclenchement de l'organogenèse, en particulier pour la néoformation de bourgeons, il s'est révélé nettement supérieur à d'autres milieux (Margara, F 1989).

Les principaux constituants d'un milieu de culture sont généralement représentés par : les macros et les micro-éléments, les sources carbonée et azotée, les vitamines et régulateurs de croissance (Vidalis, H et al., 1989).

### II.3.1. Eléments minéraux

Les besoins des cultures de tissus en éléments minéraux ont été étudiés par différents auteurs et le fruit de leurs recherches a donné lieu à différentes compositions minérales toujours utilisées aujourd'hui. La composition du milieu de culture Murashige et Skoog est sans doute la plus utilisée car elle convient à un très grand nombre de plantes. Les milieux de culture sélectionnés doivent être le plus parfaitement adaptés aux besoins nutritifs de la plante soumise à l'étude afin de laisser s'exprimer pleinement son potentiel génétique (Fracaro et Echeverrigaray, 2001). Les principaux constituants d'un milieu de culture sont généralement représentés par les macro-éléments et les micro-éléments, une source carbonée et azotée, des vitamines et des régulateurs de croissance (DalVesco et Guerra, 2001).

#### II.3.1.1. Macroéléments

N, P, K, Ca, Mg, S (sous forme de sel) : Les préfixes macro lorsqu'il est appliqué à des éléments se réfèrent au fait que ces substances sont nécessaires en quantités relativement importantes. Ils incluent le calcium (Ca), magnésium (Mg), l'azote (N), le phosphore (P), potassium (K) et du soufre (S) (Fossard, 1976).

### II.3.1.2. Microéléments

Appelés parfois oligo-éléments, et bien qu'ils ne soient nécessaires à la plante qu'en faibles concentrations, leur rôle est essentiel. (mg/L) : Al, Cu, Ni, Co, Mo, Mu, I (sous forme de sel) : Les microéléments sont nécessaires mais par petites quantités et souvent peuvent laisser dans le milieu des impuretés dans d'autres ingrédients. Ils peuvent également se reportés à l'explantation de tissus et de soutenir leur croissance pendant plusieurs semaines. Les microéléments sont essentiels en tant que catalyseurs pour de nombreuses réactions biochimiques. Ils incluent le cobalt (Co), le molybdène (Mo), le manganèse (Mn), le zinc (Zn), le cuivre (Cu) et le bore (B) (Soltner, 2005).

### II.3.2. Eléments organiques

#### II.3.2.1 Source de carbone

Dans le cas de 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, on ajoute des sucres, La source de carbone, la plus couramment utilisée, est le saccharose. Le glucose et le fructose sont également connus pour soutenir une bonne croissance de certains tissus (Téoulé, 1999). Le saccharose est nécessaire pour diverses activités métaboliques, pour la différenciation des éléments du xylème et le phloème en culture de cellules (Struik et Wiersema, 1999), joue le rôle de contrer la déficience de la photosynthèse, il est indispensable pour la culture d'embryon immature. (Khuri et Moorby, 1995).

#### II.3.2.2. Vitamines

Les plantes peuvent produire leurs besoins en vitamines. Cependant, les cultures de cellules végétales doivent être complétées avec certaines vitamines. Les vitamines sont des substances organiques reconnues pour stimuler la croissance. Les plus largement utilisés du groupe B (thiamine B1, la niacine B3), la pyridoxine B6) (Saadi, 1991). Certaines autres vitamines qui trouvent des utilisations spécifiques dans les cultures de cellules sont de l'acide pantothénique, la vitamine C, la vitamine D et la vitamine E (Téoulé, 1999)

#### II.3.2.3. Acides aminés

Il a parfois été observé que l'apport d'acides aminés favorisait la prolifération. Peuvent être directement utilisés par les cellules végétales ou peuvent servir de source d'azote. Toutefois, une source organique d'azote est préférable quand une source inorganique est absente ou épuisée. La cystéine a été incluse dans le milieu comme un antioxydant pour contrôler l'oxy-

dation de composés phénoliques et éviter le noircissement des tissus. La glycine souvent utilisée a peu d'intérêt à la croissance soutenue de cals et peut-être même un inhibiteur à des niveaux plus élevés (**Bhojwani et Razdan, 1996**).

### II.3.3. Régulateurs de croissance

On les appelle aussi « phytohormones » ou « hormones végétales », mais considérant qu'il s'agit variablement de produits de synthèse ou de produits synthétiques, il est préférable d'utiliser le terme régulateur de croissance. Ces substances sont utilisées à des doses très faibles.

Les trois principaux groupes de régulateurs de croissance d'usage fréquent sont les auxines, les cytokinines et les gibbérellines. Le choix du ou des régulateurs utilisés ainsi que leur quantité est généralement guidé par la littérature. (**Vidalis et al., 1989**).

#### II.3.3.1. Auxines

Elles favorisent la croissance des cals, les divisions cellulaires, l'allongement cellulaire, le développement des bourgeons adventifs ainsi que l'enracinement.

- a- Acide indole-3-acétique (AIA) : L'AIA est une substance naturelle pouvant être obtenue par synthèse chimique.
- b- Acide naphtalène acétique (ANA) : Cette molécule est souvent utilisée pour favoriser la rhizogénèse.
- c- Acide indole butyrique (AIB)
- d- Acide 2,4 dichlorophénoxyacétique (2,4-D) : Le 2,4-D est largement utilisée comme herbicide et pour la production de cals surtout. (**CHAUSSAT et BIGOT, 1980**)

#### II.3.3.2. Cytokinines

Elles stimulent les divisions cellulaires, la croissance des bourgeons axillaires, régularisent la morphogénèse et contribuent au renouvellement de la chlorophylle.

- ZEATINE : C'est une substance naturelle.
- Isopentényladéine (2-i-P) : C'est une substance naturelle.
- Inétine : La Kinétine est une substance de synthèse.
- 6-benzylaminopurine (BAP) et benzyladénine (BA) : La BAP est une substance de synthèse, largement utilisé en raison de sa grande activité et de son faible coût. (**Dal Vesco et Guerra, 2001**).

### II.3.3.3. Gibbérellines

Il y a plus de 20 gibbérellines connues. Parmi celles-ci, généralement, AG3 est le plus souvent utilisé. Par rapport aux auxines et cytokinines, les gibbérellines sont utilisées très rarement (**Bhojwani et Razdan, 1996**).

### II.3.4. Géloses

La gélose (ou agar) ajoutée au milieu nutritif permet l'obtention d'un milieu semi solide ou solide dans lequel les explants peuvent être repiqués et supportés. La gélose a l'avantage de retenir très peu les ions mais en contrepartie elle fournit un milieu de vie pauvre en oxygène lorsqu'elle est utilisée à forte concentration. La qualité d'un milieu gélosé est donc dépendante d'une part de sa fermeté, indispensable au support des plantes, et d'autre part de sa souplesse, qui facilite la diffusion des éléments nutritifs. La concentration utilisée varie selon le niveau de pureté de la gélose et l'objectif de la culture.

La gélose la plus utilisée c'est l'Agar-agar. Il s'agit d'une substance naturelle extraite de différentes espèces d'algues marines. On la classe parmi les sucres parce qu'elle est identifiée comme un polyside (donc un glucide). (**Georges et Sherrington 1984**)

Tableau 5 : Composition du milieu Murashige et Skoog (1962).

Eléments	Composition Chimique	Concentration en mg/l
Macroéléments	NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub>	1650
	K NO <sub>3</sub>	1900
	Mg SO <sub>4</sub> , 7H <sub>2</sub> O	440
	Ca Cl <sub>2</sub> , 2H <sub>2</sub> O	370
	KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	170
Microéléments	H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	6.20
	Mn SO <sub>4</sub> , 4H <sub>2</sub> O	22.30
	Zn SO <sub>4</sub> , 4H <sub>2</sub> O	8.60
	KI	0.83
	Na <sub>2</sub> Mo O <sub>4</sub> , 2H <sub>2</sub> O	0.25
	Cu SO <sub>4</sub> , 5H <sub>2</sub> O	0.025
	Co Cl <sub>2</sub> , 6H <sub>2</sub> O	0.025
Fer (Fe-EDTA)	Fe SO <sub>4</sub> , 7H <sub>2</sub> O	27.85
	Na <sub>2</sub> EDTA	37.25
Vitamines	Glycine	2.00
	Acide nicotinique	0.50
	Pyridoxine HCL	0.50
	Thiamine	0.10
Divers	Sucre	45.00
	Agar	7.00
	Myo-inositol	100

Source : Murashige et Skoog (1962).

## II.4. Avantages de la culture *in vitro*

### II.4.1. Collection de géotypes et état physiologique du matériel conservé :

A partir d'un matériel sélectionné en forêt, en verger ou en pépinière, il est possible de produire par culture de nœuds et/ou micro propagation des copies végétatives qui serviront à l'installation de parcs à pied-mères.

Grâce à la culture d'embryons zymotiques, à la micro propagation et à l'embryogenèse somatique, des géotypes peuvent être conservés *in vitro* (tubes, bocaux ou boîtes de pétri) sur

de longues périodes pouvant dépasser les 10 ans (cas de l'orme, du noyer, des porte-greffes fruitiers...). (Seelye et al., 2003).

Cette technique demande d'importants moyens humains pour entretenir les souches *in vitro* tout au long de l'année sur la base de repiquages mensuels. Cependant, on peut envisager de conserver les géotypes clonés dans l'azote liquide par cryoconservation (Engelmann et Baubault, 1986) de méristèmes (cas du merisier et du noyer), d'embryons somatiques (cas du mélèze) et zygotiques (cas du palmier à huile). Enfin, l'application des techniques de culture *in vitro* (Micropropagation et microgreffage) permet de maintenir le matériel sélectionné dans un état proche de la juvénilité favorable à la multiplication végétative, au bouturage en particulier (Franclet, 1980).

#### II.4.2. Obtention de matériels indemnes de maladies

Grâce à la culture de méristèmes ou à la technique de microgreffage on peut produire des variétés indemnes de virus en particulier (cas du fraisier, de la pomme de terre, de la vigne et des porte-greffes fruitiers) et éviter ainsi des pertes de productivité voire même la dégénérescence des plants cultivés. Ces variétés peuvent être conservées soit en *culture in vitro* soit en pépinière. Un suivi de ces variétés peut être effectué grâce à des tests sérologiques attestant la qualité de l'état sanitaire des plants commercialisés. (Fki et al., 2010).

#### II.4.3. Développement de méthodes de production de plants

*La culture in vitro* a depuis longtemps fait ses preuves comme outil de production de plants par sa rapidité à amplifier une variété donnée, par sa capacité à raccourcir les cycles de production et à stocker de grandes quantités de matériel dans un espace réduit, par sa puissance de production en masse sur des temps courts permettant une programmation précise de la sortie des plants commandés. Dans le domaine de l'horticulture, deux principales méthodes sont aujourd'hui utilisées : la micropropagation et l'embryogenèse somatique.

La première est bien adaptée à la production de plantes herbacées, d'arbres fruitiers et de feuillus forestiers, alors que la seconde est performante pour les conifères et certaines monocotylédones telles que le palmier dattier par exemple (Jay-Allemand et al., 1992).

#### II.4.4. Culture *in vitro* au service de l'amélioration variétale :

L'amélioration génétique traditionnelle tient et tiendra encore toute sa place pour les années à venir afin de sélectionner des variétés bien adaptées à l'environnement dans lequel

elles seront cultivées, tolérantes aux maladies et possédant des caractéristiques agronomiques intéressantes. Cependant, là encore la *culture in vitro* joue et jouera un rôle déterminant à trois principaux niveaux :

- La sauvegarde de génotypes produits par fécondation contrôlée grâce à la culture d'embryons zygotiques ou d'axes embryonnaires.
- La production d'haploïdes par androgenèse (culture d'anthères) ou gynogenèse (sacs embryonnaires, oosphères non fécondés) permettant d'obtenir des lignées homozygotes après diploïdisation, recherchées par les améliorateurs.
- La production de plants génétiquement modifiés via *Agrobacterium tumefaciens* par l'utilisation de techniques de régénération faisant appel à l'embryogenèse somatique au bourgeonnement adventif et à la micropropagation. (Jay-Allemand et al., 1992).

## II.5. Inconvénients liés à la *culture in vitro*

### II.5.1. Vitrification

Certains accidents, non prévisibles au départ, peuvent intervenir en cours de *culture in vitro*, comme des malformations dues à un déséquilibre hormonal. (Fki et al., 2010).

### II.5.2. Perte de caractères intéressants

La production répétée de grands nombres de plants uniformes (clones) peut entraîner la perte des gènes nécessaires, par exemple, à la résistance aux maladies nouvelles, il faut donc conserver les pieds mères et à certains moments, repasser par la reproduction sexuée. (Fki et al., 2010).

### II.5.3. Problèmes inhérents à la technique

#### a. Asepsie

La technique de *culture in vitro* exige beaucoup de soin pour le maintien des cultures en condition d'asepsie. Lorsque l'on a des cultures infectées, cela peut provenir de différentes causes. Il peut s'agir d'un champignon (moisissure) ou d'une bactérie. S'il s'agit d'un champignon, on voit un développement mycélien qui a une texture feutrée, souvent blanche ou grisâtre. S'il s'agit d'une bactérie, on voit alors un voile d'aspect laiteux, développé à l'intérieur du milieu et à la surface. Si l'infection part de la zone de contact entre les tissus et le milieu, ce sont les tissus eux-mêmes qui sont la source de l'infection. Si l'infection part d'un point quelconque du milieu, la source de l'infection peut être soit l'air, soit une mau-

vaie stérilisation du milieu, soit une infection de l'air ambiant par l'intermédiaire de l'eau de condensation au niveau du couvercle (Auger et al., 1989).

#### **b. Acclimatation**

Le passage à des conditions de culture normale est parfois délicat. En effet, durant son séjour *in vitro*, la plante est à l'abri des stress. (Auger et al., 1989).

#### **c. Apparition d'anomalies génétiques**

Certains cas d'hyper floraison, perte de sexualité chez certaines espèces, apparition d'organes anormaux : c'est la variation soma clonale. (Auger et al., 1989).

#### **d. Contamination**

La technique de *culture in vitro* exige beaucoup de soin pour le maintien des cultures en condition d'asepsie. Lorsque l'on a des cultures infectées, cela peut provenir de différentes causes. Il peut s'agir d'un champignon (moisissure) ou d'une bactérie. S'il s'agit d'un champignon, on voit un développement mycélien qui a une texture feutrée, souvent blanche ou grisâtre. S'il s'agit d'une bactérie, on voit alors un voile d'aspect laiteux, développé à l'intérieur du milieu et à la surface. Si l'infection part d'un point quelconque du milieu ; la source de l'infection peut être soit l'air, soit une mauvaise stérilisation du milieu, soit une infection de l'air ambiant par l'intermédiaire de l'eau de condensation au niveau du couvercle (Auger et al., 1989).

# **PARTIE II :**

## **ETUDE EXPERIMENTALE**

# **CHAPITRE I :**

## **Matériel et Méthodes**

## Matériel et méthodes

L'expérimentation se subdivise en trois parties ;

Dans la première partie, nous avons présenté le matériel utilisé et les méthodes pour déterminer l'effet de stress salin sur la germination de piment local, en utilisant le polyéthylène glycol (PEG 2000) à différentes concentrations pendant une durée de 30 jours.

Dans la deuxième partie nous allons présenter la préparation de milieu de *culture in vitro* et la mise en culture des graines.

Dans la troisième nous allons présenter l'induction de la callogenèse chez les populations de piment locales.

Notre étude a été réalisée au Laboratoire de Biotechnologie et amélioration des plantes au niveau du Centre de recherche scientifique et technique sur les régions arides Omar Bernaoui (CRSTRA)

L'objectif de cette étude est l'évaluation de l'influence du stress salin provoqué par le PEG sur la germination et la croissance de huit géotypes de piment.

### I.1. Teste de germination de huit populations locales de piment.

#### I.1.1. Matériel végétal

Le matériel végétal qui a fait l'objet de cette étude est issu de huit géotypes de piment (*Capsicum annuum L.*) (Tableau 6). Certaines de ces graines proviennent de l'Institut Technique de Développement de l'Agriculture saharienne (ITDAS) de Ain Ben Naoui (Wilaya de Biskra), Professeurs du département des sciences agronomiques (université de Biskra), agriculteur et amis.

Tableau 6 : Les génotypes étudiés et leurs localisations.

Variétés	Abréviations	Localisation
Barika	Ba	35° 22' 28" N ; 05° 16' 23" E
El oued	Ou	33° 24' 05" N ; 06° 50' 17" E
Lioua	Lu	34° 37' 36" N ; 05° 23' 52" E
M'ziraa	Mz	34° 43' 46" N ; 06° 19' 21" E
ElBaadj	Bd	34° 12' 51" N ; 05° 46' 04" E
Tolga	Tl	34° 45' 02" N ; 05° 22' 46"E
Touggourt	Tg	33° 07' 45" N ; 06° 05' 06"E
Hybrid (Atid F)	Hb	/

Google maps

## I.1.2. Plan expérimental

### I.1.2.1. Préparation des solutions de PEG

La solution de PEG à un potentiel osmotique donné, est préparée en faisant dissoudre la quantité de PEG 2000 « volume » dans l'eau distillée. Les solutions à préparer sont : 05%, 10 % et 15%, en plus du 0% (eau distillée) comme témoin. Le PEG est un polymère non ionique Hydrosoluble non perméable pour les cellules. Il est utilisé pour induire un déficit hydrique car il réduit la disponibilité en eau sans causer de dommage physique aux plantes (**Romo et al., 2001**)

### I.1.2.2. Désinfection des graines

Les graines ont été lavées avec de l'eau du robinet pendant 30 min avant la désinfection. Celle-ci consiste en une immersion dans l'éthanol à 70° pendant 3 secondes puis dans une solution d'hypochlorite de sodium (1 à 2%) pendant 15 à 20 minutes. (TB Conazol, 60g/l) Cette dernière immersion est suivie de plusieurs rinçages à l'eau distillée stérile pendant 10 min chacun.



**Figure 5 : Différentes étapes de désinfection des graines.**

### **I.1.2.3. Mise en germination**

L'essai de germination a été réalisé comme suit : les graines de géotypes du piment, ont été mises à germer sur du papier filtre imbibé de 10 ml de solution deux jour par jour dans des boîtes de Pétri, Chaque boîte de Pétri contient 5 graines. Le dispositif expérimental contient trois répétitions ; chaque répétition comprend 4 traitements : [0. 5. 10. 15 g/l de PEG2000], les boîtes pétri sont placées dans une étuve à une température 27°. La germination des semences examinée avec la pesée chaque jour pendant un mois, on considère que la germination a lieu lorsque la radicule apparaît. Le relevé des graines germées est effectué toutes les 24 heures.



Figure 6 : Pesée et germination des graines.

### I.1.3. Paramètres étudiés

- Taux de germination

Une graine est considérée germée lorsqu'il y a eu émergence de la radicule. En effet, le taux de germination est calculé par la formule suivante :

$$\text{Taux de germination en \%} = \frac{\text{Nombre de graines germées}}{\text{Nombre de graines testées}} \times 100$$

- Cinétique de la germination

Il s'agit de calculer chaque jour la vitesse de germination sous les différentes Concentrations de salinité. Elle est exprimée par le nombre de graines germées à 7 jours après le début de l'expérience. C'est un paramètre qui permet de mieux appréhender la signification écologique du comportement germinatif des variétés étudiées. Ainsi que l'ensemble des événements qui commencent par l'étape d'absorption de l'eau par la graine et se terminent par l'élongation de l'axe embryonnaire et l'émergence de la radicule (**Benidire et al., 2015**).

- Poids moyen des graines

Le poids moyen des graines après la germination fait référence au poids moyen des graines une fois qu'elles ont commencé à germer et à se développer en jeunes plantes. Lorsque les graines germent, elles absorbent de l'eau, activent leur métabolisme et utilisent les réserves de

nutriments stockées à l'intérieur pour soutenir leur croissance initiale, ce qui peut affecter le poids des graines.

## I.2. Préparation de milieu de culture MS (Murashige et Skoog) et Mise en culture

### I.2.1. Désinfection de graines

Les graines ont été lavées avec de l'eau du robinet pendant 30 min avant la désinfection. Celle-ci consiste en une immersion dans l'éthanol à 70° pendant 3 secondes puis dans une solution d'hypochlorite de sodium (1 à 2%) pendant 15 à 20 minutes. (TB Conazol, 60g/l) Cette dernière immersion est suivie de plusieurs rinçages à l'eau distillée stérile pendant 10 min chacune.

### I.2.2. Milieu MS

Le milieu de base est celui de MS (Murashige et Skoog, 1962) (dont la composition est déjà citée dans le tableau 01). Dans cette étape nous utilisons seulement la partie minérale du milieu de culture (MS minéral).

Le milieu Murashige et Skoog (1962) (MS) a été utilisé tout au long d'expérimentations. Pour préparer un litre de milieu MS, dans une erlenmeyer d'un litre on verse approximativement 600 ml d'eau distillée stérile puis 50ml de macro-éléments, 10ml de micro-éléments, 10ml de vitamines, 0.1g de myo-inositol ensuite on mesure le Ph de la solution et on l'a juste à 5.8 à l'aide de solution de soit NaOH 1N ou bien HCl 1N en s'assurant la stabilité de la valeur désirée. Et on ajoute 30g de saccharose et 8g d'agar et on ajuste le volume à 1 litre puis on chauffe le milieu.

### I.2.3. Stérilisation du milieu de culture

On partage le milieu dans verreries de façon chaque tube contient environ 25ml et on les stérilise à l'autoclave (120°C pendant 20 min sous une pression de 1 bar). Ensuite on les laisse refroidir pour faire la mise en culture.

### I.2.4. Germination des graines

Les graines sont mises à germer dans des verreries contenant 25 ml de milieu de Murashige et Skoog (1962) à raison de 5 graines par verreries sous une hotte à flux laminaire pour produire des plantules d'où proviendront les explants. Ils sont disposés régulièrement espacés de manière à éviter tout chevauchement des racines pouvant aboutir à une cassure au moment du transfert. L'incubation est faite à une température de 25°C, sous une photopériode de 16 h lumière / 8 h obscurité.

### I.3. Induction de la callogenèse chez les génotypes du piment

#### I.3.1. Milieu de culture

Pour réaliser un milieu, nous mélangeons dans un erlen-meyer l'eau distillée avec différents constituants (macro et micro éléments), nous ajustons le pH du milieu à 5.7. Des solutions ont été utilisées dans notre expérimentation. Il s'agit de la solution de demi Murashige et Skoog (MS/2) milieu de base juste pour réussir à avoir un développement *in vitro*. Le milieu de culture de l'induction de la callogenèse est celui de demi Murashige et Skoog (MS/2). Il est additionné par des régulateurs de croissance (hormones végétales) dont la nature et les concentrations sont précisées dans les tableaux 7 et 8.

La callogenèse a été effectuée à partir de 2 types d'explants *in vitro* (tige et feuille) des huit variétés. Au cours de cette phase, la croissance des cals a été évaluée en fonction de la température d'incubation.

**Tableau 7 : Nature des hormones végétales testées**

Régulateurs	Molécule	Solvant
1. Auxines	Acide 2,4 dichlorophénoxyacétique (2.4-D)	1N NaOH
2. Cytokinines	6-benzylaminopurine (BAP)	1N NaOH

**Tableau 8 : Combinaisons et concentrations hormonales ajoutées au milieu MS et testées pour l'induction de la callogenèse du piment (*Capsicum annum L.*).**

Milieu A		Milieu B		Milieu C	
AIA (mg/l)	BAP (mg/l)	AIA (mg/l)	BAP (mg/l)	AIA (mg/l)	BAP (mg/l)
1.2	0.3	0.6	0.6	0.3	1.2

Afin de déterminer l'explant et la combinaison hormonale adéquate pour la micropropagation de *Capsicum annum L.* plusieurs types d'explants ont été testés sur différentes combinaisons hormonales.

Ensuite le milieu MS/2 on ajoute une balance hormonale de 2.4.D et de BAP. Selon l'usage, les milieux de culture sont répartis dans des verreries puis elles sont hermétiquement scellées avec du papier film.

Pour réaliser cette étape le milieu de travail (hotte à flux laminaire) doit être strictement stérile en évitant toute sorte de courant d'air.

### I.3.2. Prélèvement des explants

Après la germination des graines, on attend que les germes atteignent au moins 3 cm, pour commencer les manipulations. Le repiquage des explants sur les milieux de culture est effectué à l'aide d'une pince stérilisée. Chaque verrerie contient 5 explants. Le dispositif expérimental contient trois répétitions.

Les tronçons sont prélevés et plantés à raison cinq par des verreries, en flambant l'ouverture de la verrerie avant et après l'opération sous la hotte, la fermeture étanche de la verrerie se fait avec papier film.

### I.3.3. Paramètres de suivi

- Croissance des cals.
- La texture et la couleur des cals obtenues.

La réponse des explants est suivie régulièrement et l'effet des différents traitements est évalué après quatre semaines. Le pourcentage est calculé sur la base du nombre de cals formés par rapport au nombre total des explants testés.

## I.4. Analyse statistique des résultats

Pour le traitement des données obtenues, nous avons utilisé le logiciel XLSTAT (2016) version 5.03. Nous avons effectué une analyse descriptive des données suivie d'une analyse de variance. Cette dernière a été réalisée à deux niveaux : au sein de la même commune et entre la commune d'étude.

Nous avons organisé nos résultats d'après la valeur de probabilité et le seuil alpha en classes :

Classe A : Pr **0,05**, dont la variance est non significative (N.S)

Classe B : Pr comprise entre 0,05 et 0,01, dont la variance est significative

Classe C : Pr comprise entre 0,01 et 0,001, dont la variance est hautement significative (H.S)

Classe D : Pr < 0,001, dont la variance est très hautement significative (T.H.S).

Ensuite représentés sous forme de graphes en fonction des variétés et cela à l'aide du logiciel EXCEL.

# **CHAPITRE II :**

**Résultats et discussion**

## Chapitre II : Résultats et Discussion

Dans ce chapitre, on présente les résultats de la réaction des différents génotypes du piment vis-à-vis du stress salin.

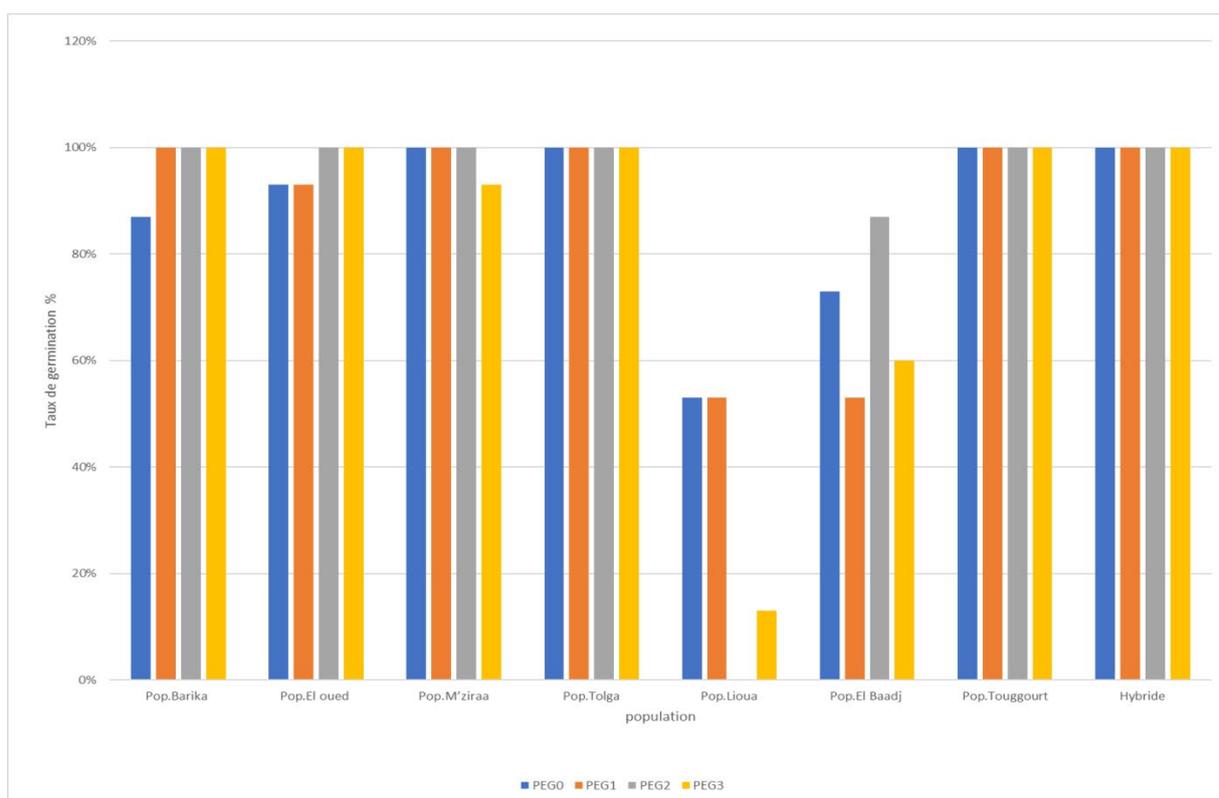
Et aussi montrer l'influence de l'acide 2,4- dichlorophénoxy-acétique (2,4-D) et de la BAP, utilisés en association avec des concentrations variables, sur la callogenèse *in vitro* pour quatre variétés étudiées.

### II.1. Test de germination

#### II.1.1. Taux de germination

Le taux de germination, en conditions de stress salin, donne toujours une idée plus ou moins précise sur le comportement des variétés étudiées.

La figure 4 présente les variations du taux de germination, des différentes variétés étudiées en fonction de la concentration de PEG2000.



**Figure 7 : Variation du taux de germination des différents génotypes, en Fonction de la concentration du PEG2000.**

La figure 4 montre le taux de germination des graines de piment après 30 jours traitées aux différentes concentrations de PEG2000. Nous constatons que pour les huit génotypes étudiées Barika, El oued, M'ziraa, Tolga, Lioua, El Baadj, Touggourt et la variété Hybride que le TG après 30 jours varie selon la génotype du piment et la concentration testées.

Au niveau des concentrations témoins PEG0, les huit génotypes marquent les meilleures valeurs de taux de germination qui varient de 100 à 87 % chez les six génotypes : Barika, d'El oued, M'ziraa, Tolga, Touggourt et hybride. Alors que les valeurs minimales sont de 73 à 53 % enregistrées chez les deux génotypes Lioua et E Baadj (Figure4).

Sous l'effet du déficit hydrique, pour le deuxième niveau de stress, qui correspond à une concentration de 5%, la valeur minimale est observée dans les deux génotypes Louai et El Baadj est 53%, alors que la valeur maximale (100%) a été enregistrée chez les six génotypes restants.

En ce qui concerne le troisième niveau du stress 10%, on remarque absence de germination chez le génotype Lioua, un taux variant de 87 à 93 % pour les deux populations El oued et El Baadj au moment où toutes les graines ont germé pour les cinq génotypes restants.

Et pour le dernier niveau du stress (15 %), on remarque une diminution considérable de TG% de l'ordre 13% chez le génotype Lioua, une variation comprise entre 60 à 93 % pour El Baadj et M'ziraa et un TG complet (100%) pour les autres génotypes.

Ainsi, une diminution du taux de germination a été observée globalement au fur et à mesure que la concentration de PEG2000 augmente et ce pour l'ensemble des variétés traitées par les différentes concentrations de PEG2000 notamment pour les deux population Lioua et El Baadj.

Le taux de germination des graines stressées est réduit comparativement au témoin et ceci pour les trois concentrations utilisées. Cette diminution est en corrélation avec la concentration en PEG2000.

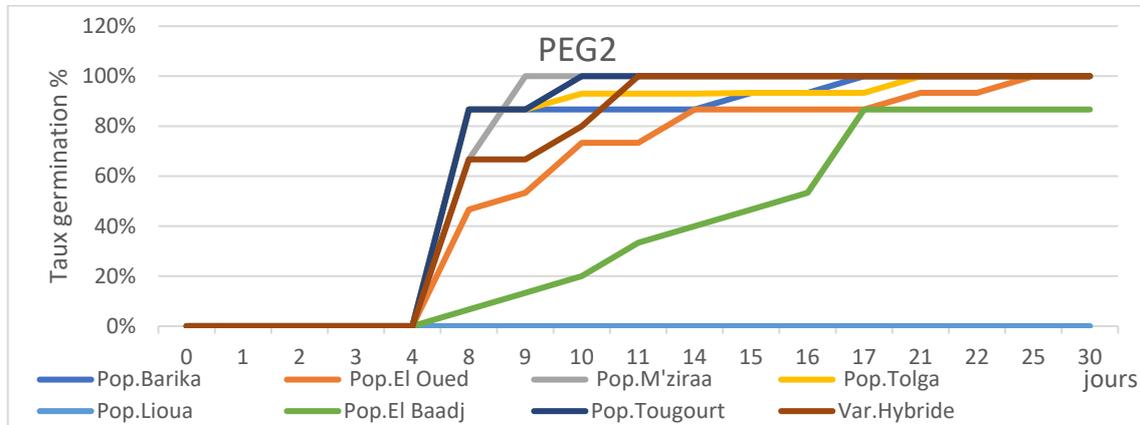
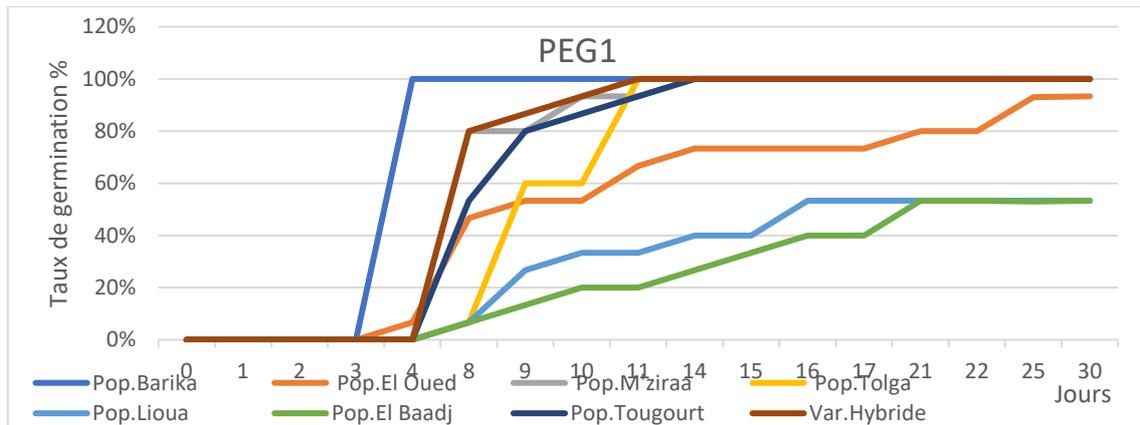
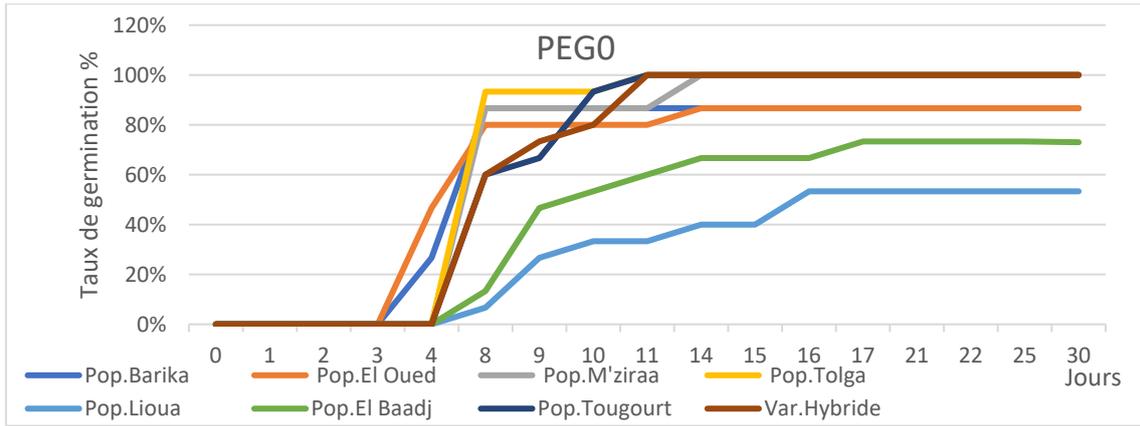
### II.1.2. Cinétique de germination

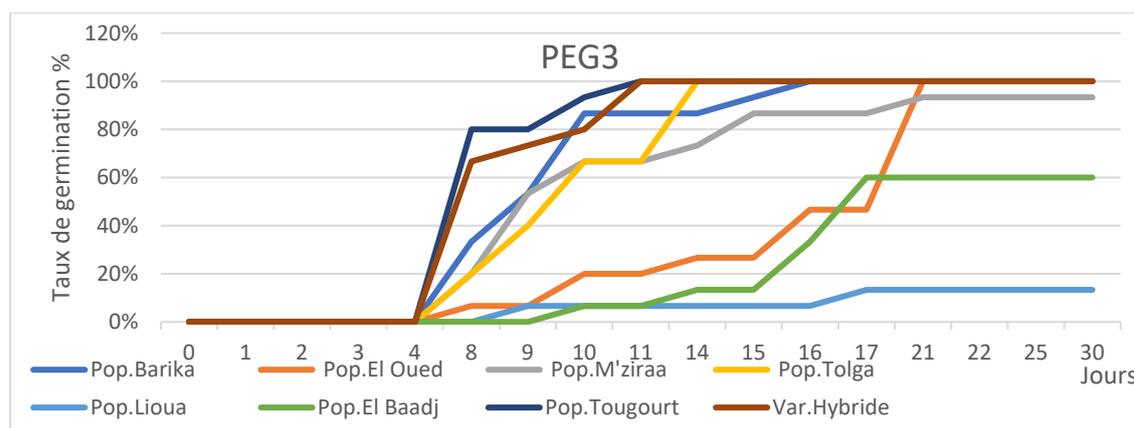
Nous avons étudié l'évolution des taux de germination en fonction du temps des différentes graines non traitées (témoins) et traitées aux différentes doses de PEG2000.

La figure 8 montre l'évolution de la germination des graines de différente population du piment en fonction du temps pour l'ensemble des doses. Ces courbes représentent les taux de

germination cumulés pour une période de 30 jours. On peut conclure que sous toutes les doses, PEG a un effet remarquable sur le démarrage des graines et la vitesse de germination

La figure 8 montrent les cinétiques de germination des graines du piment traitées avec différentes concentrations de PEG2000 durant 30 jours. D'après la figure 5 on observe trois phases de germination pour l'ensemble des traitements. L'analyse de cette cinétique montre généralement une première phase de latence, due à l'imbibition des graines, une deuxième phase exponentielle où l'on assiste à une accélération de la germination et enfin une troisième phase caractérisée par un palier indiquant un arrêt de germination. Chez le témoin, la phase de latence est très courte et ne dure de 4-6 jours ; la phase exponentielle de germination dure 5 jours avant d'atteindre la phase stationnaire où la germination s'arrête après un maximum de germination. Au fur et à mesure que la salinité augmente, l'allure de cette courbe est modifiée dans le sens d'un étirement, se traduisant par un retard et un ralentissement de la vitesse de germination.





**Figure 8 : Cinétique de germination des graines de piment traitées avec différentes concentrations de PEG2000**

Dans le témoin PEG0 on remarque que toute la population commence à germer dans une période de 4-6 jours mais il y a une variance dans le TG concerne le génotype. Par exemple la variété hybride toutes les graines ont germé après 11 jours c'est-à-dire une courte période avec un TG élevé. Le même constat est observé pour la population Tolga et Tougourt. Par contre pour les deux population Barika et EL Oued le TG est optimal 87 %. Les deux populations restantes ont un TG est faible au cours de temps.

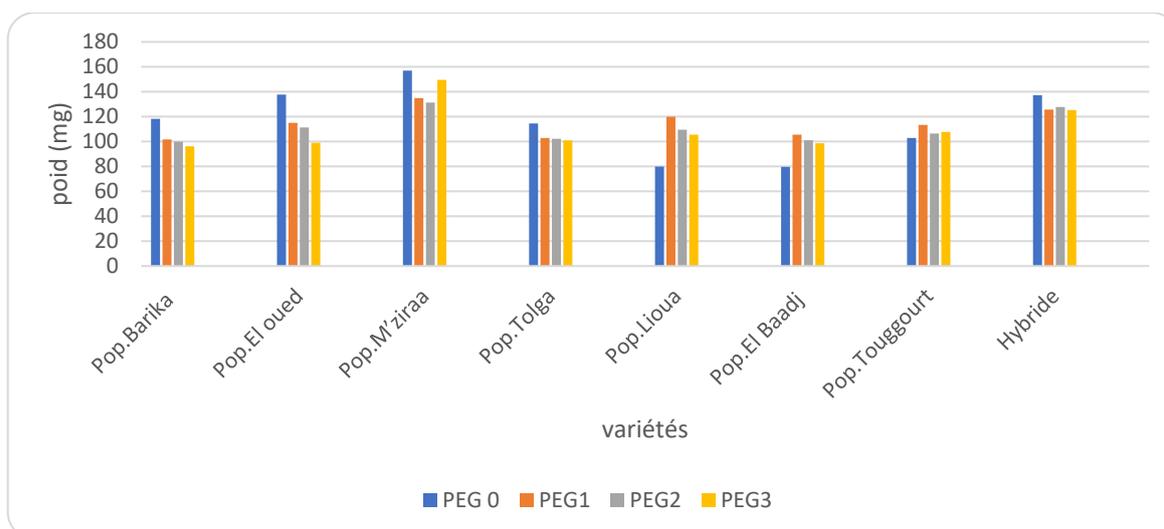
Et pour PEG1, la population Barika a TG est maximum dans une période courte, de même que les variétés Hybride, Tougourt, Tolga, M'ziraa qui avaient une période de germination plus longue par rapport à Barika ainsi que la population El oued dont le TG est un peu moins important que les précédents. Par contre les deux populations Lioua et El Baadj ont un TG de moitié avec une germination lente.

Concernant le PEG2, la plupart les populations ont un taux de germination maximum pour une période courte de 9 et 11 jours. Notons que la germination de la population Barika a pris 22 jours et celle d'El Baadj était moins que les précédents. Sauf la population Lioua son TG est nul.

Enfin pour PEG3 les populations Tougourt, Tolga M'ziraa et la variété Hybride ont enregistré un TG élevé avec une période optimale par rapport à Barika et El Oued dont la germination était est trop lente.

### II.1.3. Poids moyen des grains

La figure 6 montre une variation du poids des graines des différents génotypes du piment traités avec différentes concentrations de PEG2000.



**Figure 9 : Variation du poids des différentes Population du piment, en Fonction de la concentration de PEG2000.**

L'analyse de poids des graines révèle que les valeurs des populations Lioua et El Baadj sont très proches pour les différents niveaux de stress appliqué de même que pour les deux populations Barika et Tolga.

Concernant la population Tolga, les trois derniers trois niveaux de stress, les poids des graines sont très proches. Idem pour la variété Hybride.

Pour le premier niveau de stress c'est-à-dire le témoin PEG0, nos résultats ont montré que pour la population M'ziraa, possède le poids le plus important, suivi de la variété Hybride, El oued, Barika, Tolga, Touggourt (157-115 mg). Le plus petit poids a été observé chez les deux populations du Piment Lioua et El Baadj avec une valeur de 80mg.

Concernant le deuxième niveau de stress PEG1, les deux populations Lioua et El Baadj ont révélé des valeurs optimales 120 et 106 mg. Alors que les populations M'ziraa, Hybride, El Oued, Touggourt ont marqué des valeurs importantes comprises entre 135-102mg qui restent inférieures que celles enregistrées par le poids obtenu pour le témoin (PEG0). Par contre dans cette concentration par rapport les autres concentrations.

Et pour le troisième niveau de stress PEG2, on observe que M'ziraa et Hybride enregistrent des valeurs maximales de 131-128mg pour le variété hybride. Pour les cinq populations restantes, les valeurs sont très proches entre 111-101 mg.

Pour le dernier niveau de stress PEG3, pour la population M'ziraa et Hybride ont le plus grand poids de graines avec une fourchette comprise entre 150-125mg. Les deux populations El oued et El Baadj ont des poids similaires de même que pour les quatre populations res-

tantes dont les valeurs sont très proches comprises entre 96-106mg. Ce qui montre que ce paramètre est également affecté par le génotype et la concentration du PEG.

## II.2. Induction à la callogenèse et description des cals

Le but de ce travail est d'étudier l'effet de ces facteurs sur l'induction de la formation de cals pour déterminer les conditions favorables à la callogenèse chez piment.

Selon la concentration des hormones, il y a des variations dans le nombre de jours à l'initiation des cals, le pourcentage d'explants développant des cals ; la texture des cals et leur couleur ainsi que le degré de leur formation (Tableau11, Figure10).

Après quelques jours de mise en culture, la callogenèse s'est manifestée par un gonflement de l'explant suivi d'une prolifération importante et anarchique de ses cellules recouvrant complètement l'explant qui devient méconnaissable : on obtient ainsi un amas de cellules appelé cal.

- Des cals vert foncé et clair sont obtenus chez la population Lioua testée en présence de la composition hormonale 2.4D et BAP.

- Les cals verts sont obtenus chez la population El Oued en présence d'auxine/ cytokinine à des concentrations variables.

- Les cals bruns ne sont signalés que chez la variété Hybride avec les mêmes hormones mais à des doses différentes et aussi pour les deux population M'ziraa et El Oued mais pour une seule concentration.

**Tableau 9 : Effet de différentes concentrations de 2.4D/BAP sur la texture et la couleur après deux semaines et deux mois de la formation des cals dans le cas d'explants de germes pour les quatre populations.**

Paramètre	Texture et couleur après 15 jours			Texture et couleur après 60 jours			Nombre de jours à l'initiation de cal		
	1/4	1/1	4/1	1/4	1/1	4/1	1/4	1/1	4/1
Pop. A/C	1/4	1/1	4/1	1/4	1/1	4/1	1/4	1/1	4/1
Pop. El Oued	Friable-Blanc			Vert	Vert-Jaune	Brun	45	30	/
Pop. lioua				Vert claire	Vert foncé	Vert foncé		45	
Var. Hybride				Brun	Brun	Brun	/	45	/
Pop. M'ziraa				Brun-Vert	Vert-Jaune	Brun	/	45	/



**Figure 10 : Apparition de cal.**

D'après le tableau 10 on remarque que le taux de callogenese est le plus élevé pour la population El Oued pour la 2eme balance hormonale des taux plus faibles ont été enregistrés chez les autres populations.

**Tableau 10. Variation du taux de callogenèse après deux mois d'incubation sur les milieux 2.4D/BAP pour les quatre géotypes**

A/C	Population El Oued	Lioua	M'zriaa	Hybride
1/4	2%	0%	0%	0%
1/1	52%	12%	2%	7%
4/1	0%	0%	0%	0%

Concerne la 1<sup>ère</sup> balance hormonale un taux trop faible pour la population El Oued.

Pour la 2<sup>ème</sup> balance hormonale un taux maximal de 52% pour la population El oued et taux faible 2% à 12 %pour les restent.

Pour la 3<sup>ème</sup> balance hormonale, une induction directe vers la rhizogenèse été observée, en effet des radicules s'apparues pour les populations El Oued, M'zira, Lioua et la variété Hybride.

### II.3. Etude de la variance

L'analyse de la variance effectuée sur 8 géotypes de piment a donné des résultats variant de très hautement significatifs pour tous les paramètres relatifs aux PEG, Taux de germination, Nombre de jour à significatif pour le paramètre de poids.

#### II.3.1. Paramètres étudiés

Les résultats des paramètres de populations et PEG liés aux nombres de jour, taux de germination et le poids final sont donnés dans le tableau 11.

**Tableau 11 : Expression de la variance révélée par les paramètres étudiés.**

		Taux de germination	Nombre de jour	Poids final
Population	Pr	0,0001	0,0001	0,0001
	S	T.H.S	T.H.S	T.H.S
PEG	Pr	0,0001	0,0001	0,027
	S	T.H.S	T.H.S	S

D'après le tableau 13 nous pouvons conclure que l'expression de la variance a été :

-Très hautement significative dans les paramètres : taux de germination, nombre de jour et poids final entre les génotypes étudiés

-Un seul cas où la variance significative a été relevé pour l'effet de la concentration du PEG sur le poids final.

Pour déterminer les différences significatives entre les moyennes de groupes dans l'analyse de la variance de nos résultats, on a fait appel au test Post-hoc Tukey où nous avons pu regrouper les génotypes objet d'étude dans des groupes homogènes.

### II.3.1.1. Effet de PEG

- **Poids final des graines à la germination**

Concernant l'effet du PEG sur le poids des graines à la germination, les variétés étudiées ont été groupées dans 3 groupes homogène (Tableau 12)

- Groupe A regroupe la concentration élevée 15 % seulement.
- Groupe AB regroupe les deux concentration 5 % et 10 % intermédiaire entre les deux groupes A et B.
- Groupe B regroupe la concentration 0 %.

**Tableau 12 : Groupes homogènes révélés par le test Post-hoc Tukey : PEG-Poids**

Taux de PEG (%)	Moyenne estimée	Groupes homogènes
15	237,176	A
5	231,071	AB
10	210,507	AB
0	202,889	B

- **Nombre de jour pour la germination**

Les groupes obtenus en fonction de concentration de PEG-nombre de jour distribue des groupes homogènes :

- Groupe A regroupe la concentration élevée 15 % seulement.
- Groupe B regroupe la concentration 5,10,0 %. Alors ils sont homogènes entre eux.

**Tableau 13 : Groupes homogènes révélés par le test Post-hoc Tukey (PEG-Nombre de jour)**

Taux de PEG (%)	Moyenne estimée	Groupes homogènes
15	12,330	A
5	10,838	B
10	10,427	B
0	9,991	B

### Effet de la population

- **Poids terminal des graines à la germination**

En ce qui concerne le regroupement lié au paramètre du poids, les variétés ont été classées en trois groupes :

- Les deux populations El Oued et Lioua sont dans le même groupe A donc ils sont homogènes entre eux.
- Pour la population el baadj est seul dans le goupe AB donc il est intermédiaire entre les deux groupes.
- Les restes populations sont classé dans un seul groupe B vu leur valeurs moyennes proches.

**Tableau14 : Groupes homogènes révélés par le test Post-hoc Tukey : Population-poids**

Génotype	Moyenne estimée	Groupes homogènes
Pop.Lioua	303,464	A
Pop.El oued	262,099	A
Pop.El baadj	254,090	AB
Pop.M'ziraa	200,288	B
Pop.Touggourt	199,667	B
Var.hybride	185,449	B
Pop.Barika	182,374	B
Pop.Tolga	180,219	B

- **Nombre de jour pour la germination**

Les populations sont réparties en quatre groupes en fonction de nombre de jour :

- La population El Baadj forme seule le groupe A ;
- La population Lioua constitue le groupe AB et El Oued le groupe B ;
- Le restes des variétés forment le groupe C qui se distingue de tous les autres groupes.

**Tableau 15 : Groupes homogènes révélés par le test Post-hoc Tukey : Population-nombre de jour**

Génotype	Moyenne estimée	Groupes homogènes
Pop.El baadj	15,435	A
Pop.Lioua	13,182	AB
Pop.El oued	12,404	B
Pop.M'ziraa	10,167	C
Pop.Tolga	10,033	C
Pop.Touggourt	9,931	C
Pop.Barika	9,917	C
Var.hybride	9,517	C

- **Taux de germination**

Selon le tableau 16, les groupes homogènes révélés par le test Post-hoc Tukey : population -Germination. Les génotypes Touggourt, M'ziraa, Hybride, Tolga, forment le groupe homogène A, un autre groupe homogène AB intermédiaire entre A et B est formé par les deux gé-

notypes Barika et El oued. En ce qui concerne El baadj et Lioua, ils forment chacun un groupe homogène bien distinct qui sont C et D respectivement.

**Tableau16 : Groupes homogènes révélés par le test Post-hoc Tukey : Germination-population.**

Modalité	Moyenne estimée	Groupes homogènes
Pop.Touggourt	1,000	A
Pop.M'ziraa	1,000	A
Var.hybride	1,000	A
Pop.Tolga	0,983	A
Pop.Barika	0,967	AB
Pop.El oued	0,967	AB
Pop.El baadj	0,721	C
Pop.Lioua	0,167	D

## Discussion générale

L'objectif de notre travail est l'étude de l'influence du stress salin provoqué par PEG2000, à différentes doses, sur la germination de huit génotypes d'une grande importance économique dans le secteur maraîcher : le piment.

D'après nos résultats, la réduction de la capacité germinative des graines des génotypes stressés a été très marquée surtout pour les deux population Lioua et El Baadj. Selon **Hajlaoui et al. (2007) (Badraoui et Meziani, 2019)**, la diminution du pouvoir germinatif peut s'expliquer par une augmentation de la pression osmotique de la solution du sol qui ralentit l'imbibition et limite l'absorption de l'eau nécessaire au déclenchement des processus métaboliques impliqués dans la germination.

D'après **Prado et al. (2000)**, la diminution du taux de germination des graines soumises à un stress salin serait due à un processus de dormance osmotique développé sous ces conditions de stress. D'autres auteurs ont constaté que la réduction du pouvoir germinatif est due à l'augmentation de la pression osmotique, qui ralentit l'imbibition et limite l'absorption de l'eau nécessaire au déclenchement des processus métaboliques impliqués dans la germination, la salinité perturbe également les systèmes enzymatiques impliqués dans les différentes fonctions physiologiques de la graine en germination (**Slama et al., 1992**). De même **Wisle (1972)**, a révélé qu'une salinité élevée empêche les graines de germer par osmose ou par toxicité spécifique. L'effet inhibiteur de la salinité sur la germination a été observé en particulier à des concentrations élevées dans de nombreuses espèces végétales telles que le piment.

Certaines études ont montré que l'augmentation de la concentration des sels retarde la germination (**Askri et al., 2007**), et réduit le pourcentage final de germination (**Othman et al., 2006 ; Askri et al., 2007 ; Bouda et Haddioui, 2011 ; Yousofinia et al., 2012 ; Mrani Alaoui et al., 2013 ; El Goumi, 2014 ; Ndiaye et al., 2014**). Cette diminution est due selon **Othman et al. (2006)**, à la réduction de l'utilisation des réserves des grains.

Nos résultats montrent d'une manière générale un effet faible à absent pour les quatre doses testées chez les six populations (Barika, El Oued, M'ziraa, Tolga, Touggourt, et la variété Hybride ) sur la germination des graines, ce qui pourrait être interprété comme une tolérance au sel.

Un cas spécial a été observé pour la population Lioua qui a exprimé un pouvoir germinatif très faible qui pourrait être expliqué par une grande sensibilité au sel et ou par l'ancienneté de ses semences qu'on a récoltée auprès des agriculteurs sans collecter plus de détails. Selon

**Ewart (1908)** les semences du piment et du poivron sont classées dans la catégorie des graines microbiotiques c'est à dire qu'elles ne survivent pas plus de 3 ans. Une expression de sensibilité au stress salin a aussi été montrée chez la population EL Baadj.

Le retard de la germination des graines de l'ensemble des génotypes avec l'augmentation de la concentration saline est expliqué par le temps nécessaire à la graine de mettre en place des mécanismes lui permettant d'ajuster sa pression osmotique interne (**Bliss, 1986.**)

Les variations de la germination des graines, enregistrées dans nos conditions expérimentales font appel à un certain nombre de réflexion, en effet plusieurs résultats similaires sur le comportement des graines vis-à-vis d'un apport en sel, ont été observés chez le blé (**Mirani et al., 2013**), le gombo (**Zemani, 2009**), l'aubergine (**DEMIR et al., 2003**), le tournesol (**Kaya et al., 2006**), le soja (**Khajeh et al., 2003**) et le pois (**Okcu et al., 2005**).

Chez les glycophytes, la salinité réduit la capacité de germination et retarde le processus d'initiation à la germination (**Ly et al., 2014**). Cependant, les réponses sont variables et spécifiques pour chaque espèce (**Ungar, 1991**)

D'autre part, (**Abdul et al., 2011**) ont constaté l'effet négatif de la salinité sur la germination et la croissance des plantules chez la fève. L'effet de PEG sur le comportement germinatif de la lentille et le pois chiche se traduit par une diminution de pourcentage de germination final en augmentant la dose du stress. Les mêmes résultats trouvés avec les recherches d'**Agnihotri (2010)**, qui confirment que le pourcentage de germination final des graines et des cultures légumineuses (lentille) diminue avec l'augmentation de la concentration en PEG, ce dernier conduit généralement à la limitation de l'absorption totale des éléments nutritifs.

Les résultats de l'étude de la cinétique de germination de nos travaux sont proches de ceux obtenus par **Nait Seghir (2021)**, où la concentration croissante en sel engendre un retard de la germination. Des résultats similaires ont été obtenus par **Amouri et al., (2015)** sur *Medicago truncatula*, qui a exprimé un ralentissement du processus de germination en fonction de stress salin.

L'initiation de la callogenèse dépend de plusieurs facteurs comme la concentration des régulateurs de croissance ajoutés au milieu de culture, le génotype et les explants testés (**Barna , Wakhulu 1993**).

Les meilleurs résultats ont été obtenus pour la 2eme balance hormonale et la meilleure réponse est celle de la population d'El Oued.

Il faut cependant souligner que la réponse des explants mis en culture varie en fonction de la variété, la nature et la concentration de l'hormone de croissance additionnée. Cette différence de réponse est probablement liée au fait qu'il existe des différences dans les concentrations endogènes des régulateurs et à l'efficacité relative de leur systèmes enzymatiques de dégradation (**Zare et al, 2011**).

Le suivi de la cinétique de croissance des cals nous a permis de mettre en évidence que la callogenèse est profondément influencée par le facteur génotypique. L'implication du facteur génotypique en callogenèse a été décrit par **Brown et Meijer, (1987)** sur la luzerne ; **Saadi, (1991)** sur le pois ; **Kalamani et Ramasamy, (1998)** sur le sorgho.

Plusieurs travaux montrent que l'utilisation d'auxines et en particulier le 2,4D en association avec BAP en même quantité assure le déclenchement de cals chez un grand nombre d'espèces botaniques : le palmier à huile (**Ahée et al., 1981**) ; les kolatiers *C. anomala* et *C. acuminata* (**Fotso et al., 2002**) ; les bananiers (**Stross et al., 2003**) ; le cotonnier (**Kouadio et al., 2004**) ; l'absinthe (**Zia et al., 2007**) ; le palmier dattier (**Sané et al., 2006** ; **Asemota et al., 2007** et **Gueye et al., 2008**) et chez deux Sapotacées (**Fotso et al., 2008**) , ce qui a été confirmé par les résultats que nous avons obtenus .

# **CONCLUSION**

**et perspectives**

### CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Dans le cadre de ce mémoire, nous avons étudié l'effet d'un stress salin, provoqué par le PEG, à trois concentrations différentes (5%, 10% et 15%) sur la germination (évaluée par les taux de germination et poids des graines) de huit génotypes Barika, El Oued, M'ziraa, Tolga, Lioua, El Baadj, Touggourt et la variété Hybride dans les boîtes de Pétri.

Après application de trois doses de PEG comparées au témoin, nous avons observé que le taux de germination a affecté de manière similaire tous les génotypes excepté la population Lioua dont le pouvoir germinatif était très faible due probablement au fait que à sa grande sensibilité au sel et à l'ancienneté de ses semences. Sous l'action du PEG, aucune variation n'a été observée entre les variétés étudiées. De même pour le paramètre poids des graines exception faite pour les deux populations El Baadj et Lioua. De même, la détermination des différences entre les moyennes de groupes par le test Post-hoc Tukey a révélé la présence de groupes homo-gènes allant de 1 à 4.

Lors de notre étude sur la *culture in vitro* de tissu de piment (*Capsicum annuum*), nous avons pu induire la callogenèse chez cette plante. Les résultats obtenus montrent que le déclenchement de ce phénomène physiologique de callogenèse est influencé par des facteurs biotiques liés à la génotypes et abiotiques qui se rapportent à la composition hormonale du milieu (nature et concentration). Ces facteurs contrôlent le déclenchement de la formation des cals, leur importance (pourcentage) et leurs caractéristiques (consistance et couleur).

Quant à la callogenèse elle a été initiée avec succès chez les génotypes (El Oued, Lioua, M'ziraa et Hybride) et en présence des hormones (auxine : 2,4D plus cytokinine : BAP avec des quantités similaires) avec des taux variables.

D'autre part, les trois sortes de cals (beiges et friables, verts soit foncé ou claire, bruns et friables) ont pu être produits selon la population et la combinaison hormonale. Ce qui nous amène à confirmer que l'importance de la callogenèse ne dépend pas seulement de la nature du régulateur de croissance mais aussi de sa concentration.

Au cours de cette étude, nous nous sommes confrontés à plusieurs problèmes ; le plus important parmi eux est celui relatif aux préparations de milieu MS. Dans cette phase, seulement quatre génotypes des huit testés ont pu être mis en culture suite aux conditions de travail limitées.

En résumé ce travail nous a permis de réaliser en grande partie des objectifs que nous avions fixés au départ à savoir l'obtention des cals ; connaître le comportement de différents génotypes face au stress salin et déterminer la meilleure balance hormonale pour l'initiation des cals chez le piment.

En perspectives, cette étude peut illuminer le chemin pour d'autres études plus avancées afin d'améliorer la résistance des populations locales de piment contre les différents stress abiotiques.

Le recours aux techniques de biotechnologie et à la biologie moléculaire basés sur la valorisation des gènes et des processus responsables de la tolérance et/ou résistance de certaines populations vis-à-vis le stress abiotique peut orienter des travaux similaires dont le but sera la création de génotypes robustes capables d'assurer une meilleure production, qualitative et/ou quantitative.

Références bibliographiques

1. Ahée, J., Arthuis,P., Cas, G., Duval,Y., Guénin, G., Hanower,J., Hanower,P., Lievoux, D., Lioret,C., Malaurie,B., Pannetier,C., Raillot,D., Varechon,C., et Zucherman, L., 1981. La multiplication végétative du palmier à l'huile par embryogénèse somatique. Oléagineux. Vol. 36 N°3: pp. 113-118.
2. Aissam,S., 1990. Observations histologiques sur l'organogenèse et le développement des bourgeons du palmier dattier (*Phoenix dactylifera* L.) en culture in vitro. In : Anjarne M., Bougerfaoui M. et Abahmane L. Les techniques de micropropagation du palmier dattier : Expérience de l'INRA-Maroc. Actes du Symposium International sur le Développement Durable des Systèmes Oasiens Erfoud, Maroc - B. Boulanouar &C. Kradi (Eds.), 86-93.
3. Angiosperm Phylogeny Group, "An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG III," *Botanical Journal of the Linnean Society*, Vol.161, pp 105-121, 2003.
4. Anjarne M., Njarine M., Bougerfaoui.,Abahmane L., 2005. Les techniques de micropropagation du palmier dattier : Expérience de l'INRA-Maroc. Actes du Symposium International sur le Développement Durable des Systèmes Oasiens Erfonal, Maroc - B Boulanouar &C. Kradi (Eds.), 86-93.
5. Askri H, Rejeb S, Jebari H., Nahdi H. & Rejeb MN., 2007. Effet du chlorure de sodium sur la germination des graines de trois variétés de pastèque (*Citrus lanatus* L.). *Sécheresse* 18 (1), 51-55.
6. Badraoui H et Meziani S., 2019. Effet de la contrainte saline sur la germination et la croissance de quelques variétés de blé dur (*Triticum durum* Desf.). *Mémoire de fin d'études* p19-38
7. Barna K S, Wakhulu A K.,1993. Somatic embryogenesis and plantlet regeneration from callus culture of chickpea (*Cicer arietinum* L). *Plant Cell Report* 12 : 521-524.
8. Bhojwani S.S. et Razdan M.K., 1996. *Plant tissue culture: Theory and practice*. Editeur : Elsevier Science Publishers B.V., Amsterdam, Pays-Bas.
9. Bliss R.D., Platt-Aloria K.A. & Thomson W.W., 1986. Osmotic sensitivity in relation to sensitivity in germination barley seeds. *Plant Cell and Env.*9, 721-725.
10. Bosland PW et Votava EJ., 2000. *Peppers: Vegetable and Spice Capsicums*. CABI Publishing. 204.
11. Bouda S. & Haddioui A., 2011. Effet du stress salin sur la germination de quelques espèces du genre *Atriplex*. *Nature & Technologie*. n°05, 72-79

12. Brown, C.W., et Meijer, E.G.M.,1987. Role of exogenous reduced nitrogen and sucrose in rapid high frequency somatic embryogenesis in *Medicago sativa*, *Plant Cell. Tissue and Organ Culture*. 10 : 11 – 19
13. Caballero B, Trugo LC et Finglas P. M.,2003. *Encyclopedia of Food Sciences and Nutrition*. ed. Academic Press, Vol. 7. (2). United Kingdom.
14. Chaine Dogimont C., 1993.Etude génétique de trois systèmes de résistance par hypersensibilité ou séquestration aux trois virus principaux infectant le piment (*Capsicum annum* L.). Thèse de docteur, INA-PG. Paris, 194 p.
15. Chaussat R. et Bigot C.,1980. "La multiplication végétative des plantes Ed. Gauthier et Villars, Paris, 277 p
16. Dalvesco, L.L., et Guerra, P.M.,2001. The effectiveness of nitrogen sources in *Feijoa* somatic embryogenesis. *Plant Cell Tissue and Organ Culture*. 64 : 19 – 25.
17. Daood HG, Vinkler M, Markus F, Hebshi EA, Biacs PA.,1996. Antioxidant vitamin content of spiced red pepper (paprika) as affected by technological and varietal factors. *Food Chem*, 55, 365–372.
18. De A., 2003.*Capsicum: The genus Capsicum. Medicinal and aromatic plants -industrial profiles*, 33
19. Djebbour R et Kebala S., 2017. Effet d'un fertilisant biologique sur la qualité et le rendement d'une variété de piment cultivée sous serre mémoire de Master Spécialité : Gestion qualitative des productions agricoles université de Khemis Miliana p77.
20. Bouragaa M., 2019. Contribution à l'étude des ravageurs insectes des cultures maraichères sous serre dans la région de Biskra. Cas de *Myzus persicae* (Hemiptera, Aphididae).
21. DSA Ain Defla., 2017. Données statistiques. Document interne non publié.
22. El Goumi Y., Fakiri M., Lamsaouri O. & Benchekroun M.,2014. Salt stress effect on seed germination and some physiological traits in three Moroccan barley (*Hordeum vulgare* L.) cultivars *J. Mater. Environ. Sci.*5 (2), 625-632.
23. Estrada B, Bernal MA, Diaz J, Pomar F, Merino F. ,2002. Capsaicinoids in vegetative organs of *Capsicum annum* L. in relation to fruiting. *J. Agri Food Chem*, 50, 1188–1191.
24. F. Menichini, R. Tundis, M. Bonesi, M.R. Loizzo, F. Conforti, G. Statti, B. De Cindio and P. J. Houghton., 2009. "The influence of fruit ripening on the phytochemical content and biological activity of *Capsicum chinense* Jacq. Cv Habanero," *Food Chemistry*, no. 114, pp 553– 560.

25. F.A. O stat., 2023.Site web de la base statistique de la FAO.www.FAO.org
26. Fki L, Sahnoun N., Masmoudi R., Kiaa W., Bouaziz N., Drira N.,2010. Production de vitro plants de palmier dattier à l'échelle pilote Schemas de production et traitement des contraintes, pp 195- 214, In : ABERLENC-BERTOSSI F. Biotechnologies du palmier dattier. Actes du Je séminaire du réseau AUF-BIOVEG, Montpellier (France), (2008),
27. Fossard R.A., 1976.Tissue culture for plant propagators. Editeur: Department of Botany, University of New England, Armidale – Australie.
28. Fotso, M., Ndoumou, D.O., et Mbouna, D. ,2002. Comparative study of regeneration of *C. Anomala* and *C. acuminata*. Cahier d'étude et de recherche francophones. Agriculture. Volume 11 (5) : 355-60.
29. Fotso, M., Sannone., Donfagsiteli Tchinda, N., et Ndoumou, D.O. ,2008. Comparaison des premières étapes de l'embryogenèse somatique chez *Baillonella toxisperma* et *Vitel-laria paradoxa* (Sapotacées). Biotechnol. Agron. Soc. Environ. 12(2) : 131-138.
30. Franclet A.,1980. Rajeunissement et propagation végétative des ligneux. Annales Afocel : 12-40.
31. Georges E.F. et P.D., 1984.Sherrington, « Plant propagation by tissue culture », Hand-book and directories of commercial laboratories, Exegetics Ltd, p. 307.
32. Gockowski J.et Ndoumbe NM.,2019. Analysis of horticulturale production and market-ing systemes in the forest margins ecoregional benchmark of southern Cameroone. In Ressource and crop Management Research Monographe.
33. H. Jolicoeur., 2001. Les chasse-ours à base de poivre de Cayenne, Société de la faune et des parcs du Québec Ed. Direction du développement de la faune Québec.
34. Hajlaoui H., Denden M. et Bouslama M., 2007. Etude de la variabilité intraspécifique de tolérance au stress salin du pois chiche (*Cicer arietinum* L.) au stade germination. Tropi-cultura, Vol 25 (3), 168-173.
35. Hussain K, Majeed A, Nawaz K, Khizar HB, Nisar MF.,2009. Effect of different levels of salinity on growth and ion contents of black seeds (*Nigella sativa* L.). Current Research Journal of Biological Sciences 1: 135-138.
36. ITCM., 2010 Fiches techniques valorisées des maraîchères et industrielles.
37. Kalamani, A., et Ramasamy, N.M. ,1998. In-vitro response of genotype in pearl mil-let.Indian Journal of Genetics and plant Breeding. 58 (2): 153 – 158.
38. Khuri S. et Moorby J., 1995.Investigations into the role of sucrose in potato cv. Estima microtuber production in-vitro. Annals of Botany 75 (3) : 295-303.

39. Kouadio, J-Y., Koné, M., Djè, Y., D’Almeida, M-A., et Zouzou, M.,2004. L’étéiolement est un facteur d’induction de l’embryogenèse somatique au cours de la callogenèse chez deux variétés récalcitrantes de cotonnier cultivées en côte d’Ivoire. *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.* 8 (3): 155-162.
40. Lee Y., L. R. Howard and B. Villalon., 1995. “Flavonoids and antioxidant activity of fresh pepper (*Capsicum annum*) Cultivars, ” *J. Food Sci*, Vol. 60, no. 3, pp 473-476.
41. Lee, K.-S., Choi, W.-Y., Ko, J.-C., Kim, T.-S., and Gregoria, G.B.,2003. Salinity tolerance of japonica and indica rice (*Oryza sativa* L.) at the seedling stage. *Planta*, 216(6): 1043–1046. PMID:12687373.
42. Lopez-Hernandez J, Oruna-Concha M.J, Simal-Lozano J, Vazquez-Blanco et Gonzalez-Castro.,1996. Chemical composition of Padron peppers (*Capsicum annum* L.) grown in Galicia (N.W. Spain). *Food chem*, 57(4), 557-559.
43. Marchoux, G., P. Gognalons et K.G. Sélassié.,2008. Virus des Solanacées. Du génome viral à la protection des cultures. Quae, Paris, France
44. Margara F., 1989. Bases de multiplication végétative : les méristèmes et l’organogenèse. Ed INRA Paris 262p.
45. Messiaen C.M., 1975.Le potager tropical, tome 2 : cultures spéciales. Collection « Techniques vivantes ». Presses Universitaires de France, 197 p
46. Mrani Alaoui M., El Jourmi L., Ouarzane A., Lazar S., El Antri S., Zahouily M., et Hmyene A. ,2013. Effet du stress salin sur la germination et la croissance de six variétés marocaines de blé. *J. Mater. Environ. Sci.* 4 (6), 997-1004.
47. Mokhtar M., 2010.Effet in vitro du piment (*capsicum annum* L) °de la variété locale de Biskra sur quelques germes pathogènes et sur certaines souches probiotiques. Mém Ing Univ. Mostaghanem Algérie.
48. Murashige, T., et Skoog, F.,1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. *Physiologia Plantarum*. pp 473 - 497.
49. Nasri Souhila., 2014.effet du stress salin sur la germination et la croissance de quelques provenances algériennes d'arganier (*Argania spinosa* l.), memoire en vued'obtention du diplom de magister en forestry, université abou bker belkaid-tlemcen.
50. Navas P, Villalba JM, CORDOBA F.,1994. Ascorbate function at the plasma membrane. *Biochimica et Biophysica Acta*1197,1–13.
51. Ndiaye. J. *Appl. Biosci.*,2014. Effets du stress salin sur la germination des grains de *Gossypium hirsutum* L. *Journal of Applied Biosciences*, 80(1), 7081-7092.

52. Olmstead R. G., L. Bohs, H.A. Migid, E. Santiago-Valentin, V. F. Garcia and S. M. Collier.,2008. “A molecular phylogeny of the Solanaceae,” *Taxon*, no. 57, pp 1159-1181.
53. Othman Y., Al-Karaki G., Al-Tawaha A.R. & AlHorani A.,2006. Variation in germination and ion uptake in barley genotypes under salinity conditions. *World J. Agric. Sci.*, 2, 11-15.
54. Palloix, A., Yoon.,1992. Diseases of pepper and perspectives for genetic control. p. 120–126. In: VIIIth EUCARPIA Meeting on Genetics and Breeding on Capsicum and Eggplant.Rome (Italy), 7–10 September 1992.
55. Pegon J.,2009. Des piments à la capsaicine : quels impacts sur la santé ? Thèse doctorat à l’université Strasbourg. France.
56. Pochard E., Palloix A., Daubeze A.M., 1992.Le piment. Dans : GALLAIS A. et BANNEROT H., éditeurs.,1992. Amélioration des espèces végétales cultivées : objectifs et critères de sélection. Ed. INRA, Paris, 420 – 434 pp.
57. Prado F.E., C. Boero, M. Gallardo et J.A Gonzalez., 2000. Effect of NaCl on germination, growth and soluble sugar content in *Chenopodium quinoa* Willd. Seeds. *Botanical Bulletin of Academia Sinica*, 41, pp. 27-34
58. Saadi A.,1991 - Régénération de plantes de pois *Pisum sativum* L par embryogenèse somatique. Thèse de doctorat, Paris Grignon, France.
59. Seelve JF., Burge GK, Morgan R., 2003. Acclimatizing tissue chur plants, reducing the shock. *Comb Proc Int Plant Prop Soc* 53: 85-90
60. SKIREDJ PR., AHMED, H. ELATTIR et A. ELFADL, .2005. Institut Agronomique et vétérinaire Hassan II, Département d'horticulture. Site Internet : [www.legume-fruitmaroc.com](http://www.legume-fruitmaroc.com), 2005. Consulté le 30 mai 2007.
61. Soltner D., 2005.Les bases de la production végétale-Tome III : La plante et son amélioration. Editeur : Collection Sciences et Techniques Agricoles, Bressuire - France.
62. Stross, H., Domergue, R., Panis, B., Escalant, J.V., et Cote, F.,2003. Suspension cellulaire embryogène de Bananiers et Bananiers plantain. Guide technique INIBAP8. Réseau international pour l’amélioration de la banane et la banane plantain, Montpellier, France.
63. Struik P C. et Wiersema S G, 1999.Production of pre-basic seed. In: *Seed Potato Technology*. Editeur: Wageningen Academic Publishers, Wageningen, Pays-Bas : 173-216.
64. Tano K., R. Koffi-Nevry, M. Koussémon and M. K. Oulé., 2008. “The effects of different storage temperatures on the quality of fresh Bell pepper (*Capsicum annum* L.),” *Agricultural Journal*, Vol. 3, no. 2, pp 157-162 .

65. Téoulé E., 1999, Biotechnologie et Amélioration des plantes. In : Biotechnologie. Editeur : Tec et Doc Lavoisier, Paris, France : 597-628.
66. Tewksbury JJ, Levey DJ, Huizinga M, Haak D, Traveset A., 2008. Costs and benefits of capsaicin-mediated control of gut retention in dispersers of wild chilies. *Ecology*, 89, 107–117.
67. Topuz A., Ozdemir F., 2007. Assessment of carotenoids, capsaicinoids and ascorbic acid composition of some selected pepper cultivars (*Capsicum annum* L.) grown in Turkey. *J. Food Compos. Anal.*, 20, 596–602.
68. Tropicasem., 2001 En savoir plus sur le piment : gestion de l'eau et irrigation en culture intensive. *Tropiculture* n° 54, mars 2001. Edition Tropicasem, Dakar / Sénégal, pp 4-5
69. Tropicasem., 2004. Mieux réussir la fertigation du piment. *Tropiculture* n° 92, mai 2004. Edition Tropicasem, Dakar / Sénégal, pp 1-2.
70. Valdez V S., 1994 Cultivo de Aji, Edition : Centro de Información de FDA.
71. Vidalis Engelen, H.A., et de Vries, S.C., 1989. Extracellular proteins in plant embryogenesis. *Trends Genet.* 8 : 66-70.
72. Wu C., Wang Q., Xie B., Wang Z., Cui J., Hu T., 2011. Effects of drought and salt stress on seed germination of three leguminous species. *African Journal of Biotechnology* 10(78): 17954-17961.
73. Yousofinia M., Ghassemian A., Sofalian O. & Khomari S., 2012. Effects of salinity stress on barley (*Hordeum vulgare*, L.) Germination and seedling growth. *International Journal of Agriculture and Crop Sciences*. Vol. 4, 1353-1357.
74. Zare Mirakabad, Bagheri A R, Zare Mehrjerdi M., 2011. Efficient protocol for break impasses of regeneration via callus for 20 genotypes of Chickpea. *International Journal of Plant Production* 4 (2) : 115-128.
75. Zia, M., Rehman, R-U., et Chaudhary, M.F., 2007. Hormonal regulation for callogenesis and organogenesis of *Artemisia absinthium* L. *African journal of biotechnology*. 6(16)1874-187.

الفلفل الحار، *Capsicum annuum L.* له أهمية اجتماعية واقتصادية حقيقية في الجزائر. الهدف من هذا العمل هو دراسة سلوك سبع أصناف محلية من الفلفل وصنف هجين مستورد تحت ضغط الإجهاد الناجم عن استخدام *PEG2000* بجرعات مختلفة وتحديد تأثير العوامل الحيوية (التركيب الوراثي) والعوامل اللاحيوية (الهرمونات) على تحريض تكوّن الكالوجين. أظهرت النتائج التي تم الحصول عليها بعد تحليل التباين واختبار *HSD* وجود تباين كبير جدا للغاية في سلوك الأصناف المستخدمة استجابة للجرعات المطبقة وهذا لجميع العوامل المدروسة وهي معدل الإنبات والوزن وعدد الأيام اللازمة للإنبات. بدأ تحريض تكوين الكالوجين بنجاح في 4 الأنماط الجينية في وجود جرعات متساوية من الأوكسين: *D2.4* والسيتوكينين: *BAP*. من ناحية أخرى، تم إنتاج عدة أنواع من الكالس بمعدلات متفاوتة.

## Summary

Chilli pepper, *Capsicum annuum L.*, is of real socio-economic importance in Algeria. The aim of this work was to study the behavior of seven local pepper populations and one imported hybrid variety under stress induced by the use of *PEG2000* at different doses, and to determine the influence of biotic (genotype) and abiotic (hormones) factors on callogenesis induction. The results obtained from the analysis of variance and the *HSD* test showed that there was considerable variation in the behavior of the varieties used in response to the doses applied, for all the parameters studied, germination rate, weight and number of days required for germination. Callogenesis induction was successfully initiated in 4 genotypes in the presence of equal doses of auxin: 2,4D and cytokinin: BAP. In addition, several types of callus were produced at varying rates.

**Key word:** *Capsicum annuum L.*, local populations, hybrid variety, *PEG2000*, callogenesis, germination.

## Résumé

Le piment, *Capsicum annuum L.* a une réelle importance socio-économique en Algérie. L'objectif de ce travail est d'étudier le comportement de sept populations locales de piment et une variétés hybride importée sous contrainte de stress provoqué par l'utilisation du *PEG2000* à différentes doses et déterminer l'influence des facteurs biotiques (génotype) et abiotiques (hormones) sur l'induction à la callogénèse. Les résultats obtenus, suite à l'analyse de la variance et le test *HSD* ont montré la présence de variation très importante dans le comportement des variétés utilisées en réponse aux doses appliquées et ce pour l'ensemble des paramètres étudiés à savoir taux de germination, le poids et nombre de jours nécessaires pour la germination. L'induction à la callogénèse a été initiée avec succès chez 4 génotypes en présence de doses égales d'auxine : 2,4D et cytokinine : BAP. D'autre part, plusieurs types de cal ont été produits à des taux variables.

**Mots clés :** *Capsicum annuum* L., populations locales, variété hybride, PEG2000, callogénèse, germination.