

Chapitre II :

La multiplication végétative

« Techniques artificielles »

Chapitre II : La multiplication végétative

Techniques artificielles

2.1. Les Techniques traditionnelles :

Le bouturage et le marcottage :

1- Le bouturage :

Il consiste à mettre en terre un fragment de plante dépourvu de racines, la bouture, capable de régénérer une plante entière par formation de racines adventives. Cette capacité à former des organes adventifs tient aux propriétés fondamentales des cellules végétales : la totipotence : chaque cellule végétale vivante différenciée possède l'information nécessaire pour reconstituer toutes les parties d'une plante ;

- La dédifférenciation : une cellule différenciée peut revenir à un état méristématique, retrouver une activité mitotique intense et développer de nouveaux points de croissance.

Le bouturage s'effectue en atmosphère humide sur terreau ou sur sable pour maintenir vivante la bouture en l'absence des organes qui lui manquent.

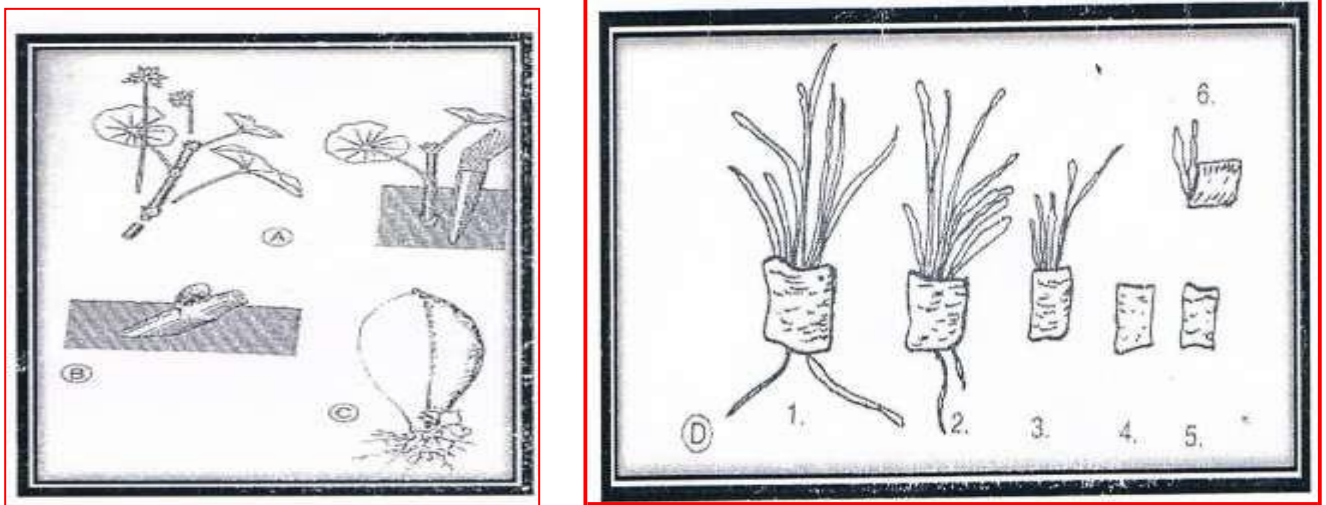


FIGURE 2.1 : *Quelques exemples de bouturage.*

A) Bouturage de rameaux de Pélargonium ; B) Bouturage d'« œil » de Vigne ; C) Bouturage défeuillé de Echeveria (Crassulacées) ; D) Bouturage de fragments de racines de Pissenlit. 1 à 5 : La polarité de l'organogenèse est très nettement marquée ; les faces proximales, tournées vers le collet, forment des bourgeons et les faces opposées, des racines, les fragments les plus éloignés du collet (3 à 5) forment des bourgeons plus tardivement : il existe un gradient de compétence morphogène. 6 : Fragment bouturé horizontalement : la polarité d'apparition des bourgeons et des racines est maintenue.

(A, B, C, d'après le bon jardinier)

2- Le marcottage

C'est un type particulier de bouturage dans lequel la bouture reste reliée à la plante mère jusqu'à la formation de ses propres racines. C'est l'application de l'enracinement des stolons du Fraisier. La diversité des techniques horticoles de marcottage permet d'obtenir une propagation plus ou moins intense (*fig. 2.2*).

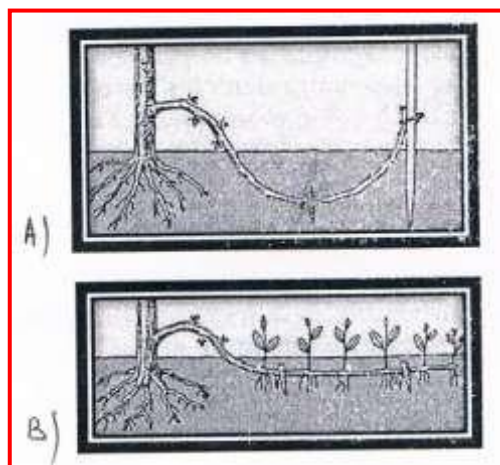


FIGURE 2.2 : Deux exemples de marcottage.

A) Marcottage simple; B) Marcottage chinois: on obtient de nombreux plants à partir des différents bourgeons axillaires d'un même rameau
(D'après le bon jardinier)

3- Le greffage

Connu depuis l'Antiquité, accidentellement spontané dans la nature, le greffage est une pratique agronomique qui consiste à implanter dans les tissus d'un végétal, un bourgeon ou un fragment d'organe portant des bourgeons, détaché du même individu ou d'un autre, dans le but d'associer les qualités respectives des deux plantes. L'une, le **porte-greffe** ou **sujet**, fournit le système racinaire, et autre, le **greffon** ou **scion**, le système aérien. La soudure des tissus vivants mis en contact permet au greffon de continuer à vivre et à croître en faisant corps avec le sujet. Le greffage concerne généralement des arbres ou des arbustes, plus rarement des plantes herbacées. Si les partenaires appartiennent au même individu, on parle **d'autogreffe**; s'ils proviennent d'individus différents d'une même espèce ou d'une même variété, il s'agit d'une **homogreffe**; enfin, l'**hétérogreffe** réunit des végétaux d'espèces ou de genres différents.

3-1- Les techniques de greffage :

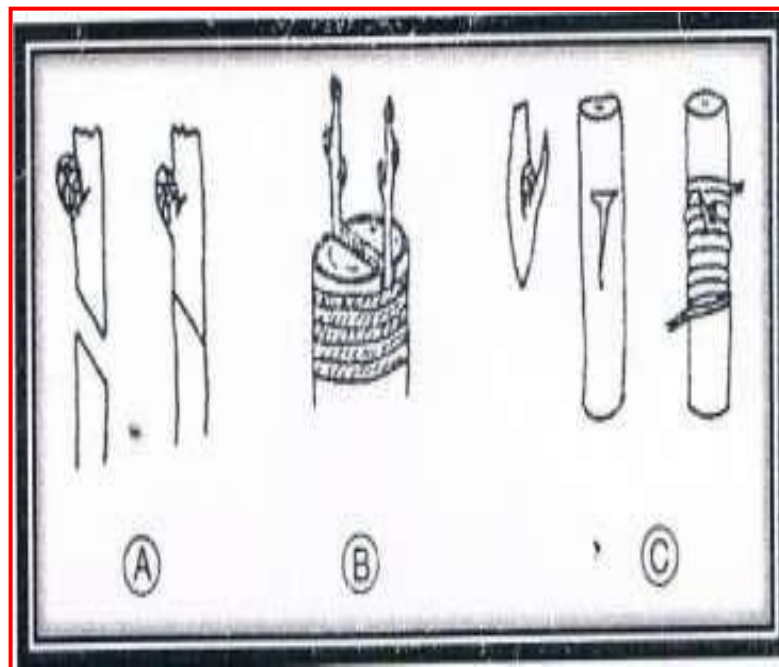
Elles peuvent être classées en deux grandes catégories:

- La greffe par approche, au cours de laquelle les deux partenaires sont étroitement accolés par une surface privée d'écorce et conservent leur propre système

racinaire et leur feuillage jusqu'à l'union complète (la partie basale du greffon est alors sectionnée).

- La greffe par bourgeon ou rameau détaché, dans laquelle le greffon comprend un segment de tige isolé portant selon les cas un ou plusieurs bourgeons associés à un écusson d'écorce (**greffe en écusson**, *fig.2.3C*). Si le porte-greffe est de même diamètre que le greffon, on pratique la **greffe anglaise** (*fig. 2.3A*). Mais s'il est de diamètre supérieur, on réalise une greffe en fente (*fig. 2. 3B*) ou encore une greffe en couronne. La greffe peut être faite directement sur l'appareil souterrain du porte- greffe (greffe sur racine) ou s'opérer sur une simple bouture qui fournira par la suite le système racinaire (greffe-bouture). On peut aussi faire des greffes de tissus cultivés *in vitro*.

FIGURE 2.3: Trois procédés de greffage.



A.) Greffe anglaise simple B) Greffe en fente; C) Greffe en écusson.

3.2 Aspects structuraux du développement de la greffe :

Les événements structuraux qui aboutissent à la soudure de la greffe se déroulent selon une succession qu'on retrouve de façon générale dans tous les exemples étudiés d'unions réussies.

Une couche d'isolement se met d'abord en place à l'interface de greffe (*fig.2.5A*); Elle résulte de la nécrose des cellules détruites lors de la blessure effectuée pour réaliser la greffe (on l'appelle parfois couche nécrotique). La formation d'une cal cellulaire d'union par hypertrophie et prolifération des cellules parenchymateuses vivantes et/ou des cellules cambiales présentes sous la surface blessée permet de combler l'espace ouvert entre le porte-greffe

et le greffon (*fig. 2.4*); une prolifération intense entraîne parfois la formation d'un « bourrelet » de greffe. Les cellules des deux cal opposés finissent par s'entremêler et former des interdigitations. Dans ce nouveau tissu d'origine mixte mais de structure homogène, on a montré l'établissement de communications par la voie symplasmique grâce à la formation de plasmodesmes d'origine secondaire dans les parois de fusion (*fig.2.5B*). La différenciation de tissus conducteurs s'effectue ensuite dans le cal : des éléments de xylème traversent l'interface de greffe et assurent l'interconnexion des faisceaux vasculaires sectionnés du porte-greffe et du greffon, des éléments criblés se forment plus tardivement, Un nouveau cambium se met alors progressivement en place par dédifférenciation des cellules de parenchyme situées au contact des cellules cambiales du sujet et du greffon. La connexion vasculaire entre le porte-greffe et le greffon est ainsi réalisée par un ensemble tissulaire important qui permet la circulation des sèves entre les deux partenaires (*fig.2.6 A et B*).

Cette formation n'est cependant pas nécessaire puisqu'elle n'existe pas chez le Monocotylédones. Le succès d'une greffe est donc lié à la rencontre anatomique précise entre les partenaires. Il semble important de souligner que dans le phloème néoformé de plaques criblées se forment secondairement et que les pores sont ouverts entre les éléments des deux partenaires : une continuité du symplasma s'établit. Le mécanisme de la différenciation vasculaire qui a lieu lors de la greffe reste mal connu. Selon les types de greffe des contacts intra ou interspécifiques se mettent ainsi en place à travers des parois déjà formées ce phénomène pose la question de l'existence de facteurs de reconnaissance entre cellules adjacentes d'origine différente.

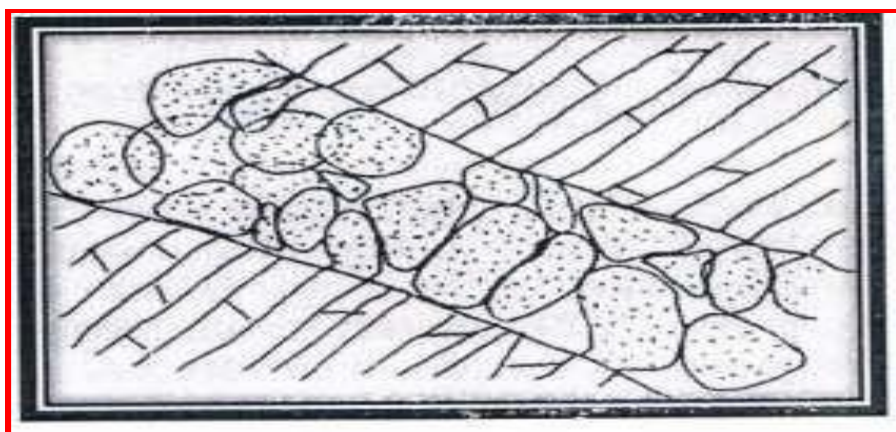


FIGURE 2.4: Cal mixte formé par la prolifération de cellules de parenchyme entre les deux partenaires d'une greffe.

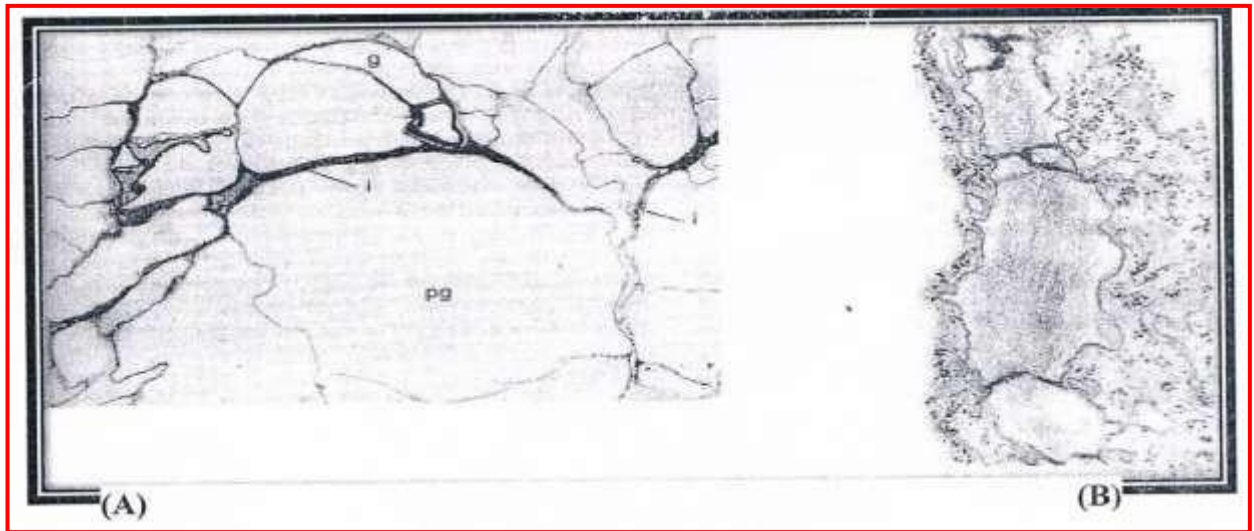


FIGURE 2.5 : Interface de l'hétérogreffe

- A) La couche d'isolement, i, est visible entre les cellules du cal formé par le greffon, g et le porte-greffe, pg (Gr. x 150).
- B) Interface d'hétéro greffé d'Impatiens Walleriana sur Impatiens olivieri des plasmodesmes continus et ramifiés s'établissent entre les cellules des deux partenaires. Observation au microscope électronique à transmission (Gr. x 33 000). (Reproduit par Kollman et Yang 1985).

En conclusion, deux points sont à souligner:

1) l'union de greffe, qui soude les deux partenaires et permet le développement d'une plante composite, est accomplie par des cellules qui se développent après que le greffage a été réalisé.

2) les cellules produites par les partenaires conservent leur propre identité; il n'y a pas de mélange des contenus cellulaires lors de l'union.

3.3. Les conditions de réussite de la greffe

En dehors des conditions extérieures et des techniques utilisées, les caractères intrinsèques des partenaires et leur degré de parenté interviennent dans le succès de la greffe.

- **Les conditions extérieures** concernent les facteurs de l'environnement. Il faut une **température optimale** et une **humidité** atmosphérique élevée pour éviter la dessiccation des cellules néoformées ; l'apport **d'oxygène** est indispensable aux cellules en division rapide.

- **La technique de greffage** doit assurer un **contact serré** mais étendu **entre les régions cambiales** des deux partenaires pour une cicatrisation et une régénération efficaces. Elle doit aussi faire correspondre la polarité des partenaires: l'extrémité distale du greffon doit être insérée dans la partie proximale du porte- greffe.

Les caractères intrinsèques des partenaires concernent:

- **Leur état physiologique** : Le porte-greffe et le greffon doivent manifester une activité de croissance qui permette la production de régulateurs hormonaux capables de stimuler le métabolisme cellulaire pour l'initiation des tissus conducteurs et du cambium
- **Leur état sanitaire** : les matériels infectés par des virus conduisent à des échecs de greffe ou des baisses de vigueur des plants résultants.
- **Le degré de parenté** des partenaires intervient enfin de façon capitale dans la réussite de la greffe. A l'opposé de ce qui se produit chez les animaux supérieurs, les autogreffes et les homogreffes végétales aisées, mais les hétérogreffes donnent des résultats très variables allant de la **compatibilité** (même pour des partenaires de famille différentes chez quelques plantes herbacées) à l'**incompatibilité**. Dans une hétérogreffe compatible réussie, la soudure est complète et durable entre sujet et greffon *fig. 2.6 A*) : deux plants différents se développent alors de façon satisfaisante en une plante composite. Dans le cas contraire, la greffe est incompatible.

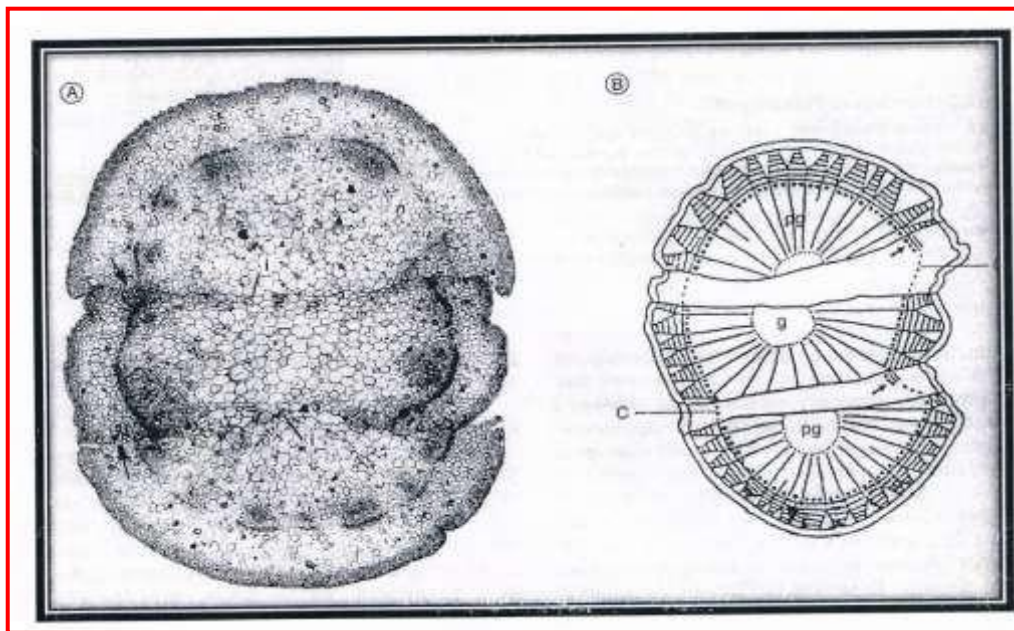


FIGURE 2.6 : Union de greffe dans une greffe en fente.

A) Coupe transversale d'hétérogreffe compatible réussie d'*Impatiens walleriana* sur *Impatiens oliveri*, 12 jours après le greffage. De part et d'autre de la couche d'isolement, j, l'alignement précis des tissus vasculaires et de cellules parenchymateuses de l'écorce et de la moelle n'est réalisé qu'en partie (flèches) à cause de la différence de diamètre et de position du cylindre central des deux partenaires (Gr.xII).

B) Schéma d'une coupe de greffe d'*Hibiscus*. La formation d'un cambium, c, dans le cal d'union a permis de réunir (les cambiums de; deux partenaires. La production vasculaire a commencé par endroits (flèches). Le périderme est continu entre le greffon, g, et le porte- greffe, pg.

(A, reproduit par R. Kollman et al. 1985) (B, d'après K. Esau)

3. L'incompatibilité de greffe

L'étude structurale des greffes incompatibles - faite uniquement chez des plantes herbacées a permis de montrer que les stades précoces se déroulent normalement. C'est la différenciation ultérieure d'éléments vasculaires et l'activité cambiale qui se produisent de façon variable ou n'aboutissent pas qui empêchent la connexion vasculaire entre les deux partenaires. Production de composés phénoliques (subérification, lignification) conduit dans tous les cas à la nécrose cellulaire ; celle-ci peut affecter le seul greffon ou les deux partenaires.

4. Les trois types d'incompatibilité

- **L'incompatibilité localisée** correspond aux combinaisons de géotypes dans lesquelles les réactions de « rejet » dépendent du contact réel entre sujet et greffon. Dans ce cas **l'insertion d'un sujet intermédiaire mutuellement compatible** permet de lever l'incompatibilité. C'est l'exemple du Poirier «Williams» greffé sur le Cognassier par l'intermédiaire d'un « pont compatible ».

- **L'incompatibilité transportée** n'est pas levée par l'insertion d'un sujet intermédiaire. Dans ce cas, une substance élaborée par un partenaire et toxique pour l'autre est transportée au travers du sujet intermédiaire jusqu'à l'union de greffe. La différence de réponse qui permet l'union compatible s'expliquerait par le fait du transport polarisé de la substance toxique. La cohésion des partenaires et la prolifération du cal se font généralement bien; les symptômes d'incompatibilité apparaissent tardivement (après environ une année) dans les tissus conducteurs de l'union.

- **L'incompatibilité retardée** se développe plusieurs années après l'opération de greffage. Elle peut avoir pour origine des agents pathogènes (virus, mycoplasmes, etc., latents) qui entrent en activité tardivement par le biais de toxines, ou bien des métabolites secondaires produits en réponse au vieillissement : ces substances provoquent la nécrose des cellules de l'union de greffe.

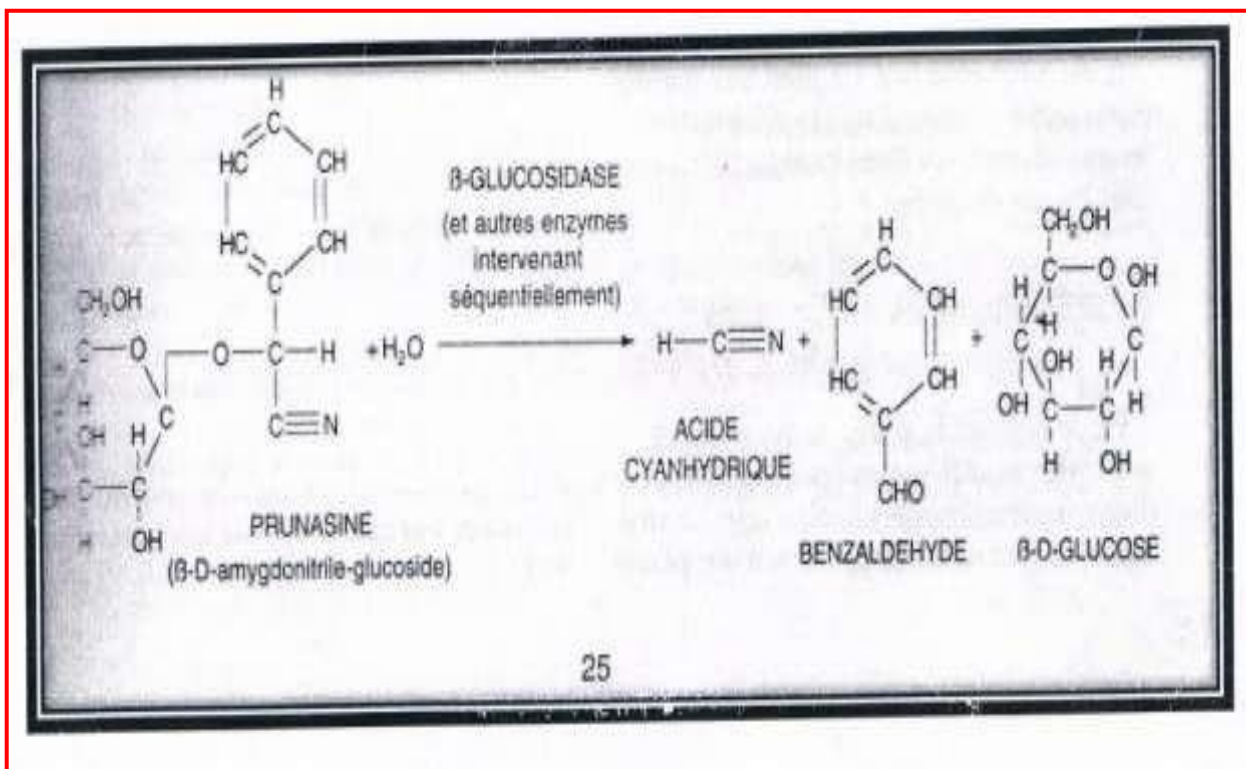


FIGURE 2.7 : *L'incompatibilité localisée*

2.2 La micro propagation par culture in vitro

A côté des techniques traditionnelles qui font appel aux potentialités organogènes de fragments végétaux comportant le plus souvent un ou plusieurs bourgeons, la multiplication végétative *in vitro* est une méthode moderne qui consiste à provoquer la néoformation de méristèmes de tige puis de racines à partir de très petits fragments d'organes, de culture de tissus ou même de cellules isolées ou de protoplastes.

Pourquoi cette différence ?

Il ne semble pas - mais celui qui n'est pas physiologiste animal s'aventure en disant cela - que la cellule animale puisse retourner à un état indifférencié, non spécialisé, comme le font les cellules végétales. Et c'est là que se situe la fondamentale différence.

1. Fondements

Toute cellule végétale vivante, quelle que soit sa "spécialisation", du moment qu'elle est vivante et possède un noyau, est capable de reproduire la plante entière d'où elle provient.

C'est à cette remarquable capacité de la cellule végétale que la culture *in vitro* doit toute son extension, et, peut-on dire, son pouvoir. A cause de cela, tout individu du règne végétal peut ou pourra être cultivé *in vitro* ; il n'y a pas d'exception. Cependant cela ne veut pas dire que le développement actuel des milieux de cultures, et les connaissances que l'on peut avoir du comportement de différentes espèces sur ces milieux de culture, permettent de réaliser immédiatement et sans problème la culture *in vitro* de toutes les plantes existant sur la terre.

1.1. La dédifférenciation

Il est bien évident que le passage d'un état différencié - celui de parenchyme médullaire de

tabac par exemple - à l'état de cellule méristématique proliférante, ne se fait pas sans que des modifications profondes n'apparaissent dans la structure de la cellule. Ces modifications ramènent la cellule adulte à l'état juvénile, capable de s'orienter vers la formation de n'importe quel organe. De cellule de parenchyme médullaire, elle va devenir point de départ d'un bourgeon végétatif, ou d'un méristème radicaire ... La cellule végétale peut remonter les étapes de son histoire et redevenir embryon.

Il n'est pas du domaine de cet ouvrage d'expliquer le mécanisme de la dédifférenciation cellulaire. Dès l'origine de la culture *in vitro*, des travaux très importants en ont fait leur objet, en particulier ceux de R. BUVAT (1944). Pour poursuivre avec l'exemple du parenchyme médullaire de tabac, on voit, dans ce cas, de grandes cellules perdre leurs vacuoles, leur noyau se diviser activement, et de nombreuses et très petites cellules méristématiques apparaître, au milieu d'autres cellules parenchymateuses qui, elles, ne se sont pas dédifférenciées. Suivant la composition du milieu de culture, ces cellules continueront à proliférer pour ainsi dire à l'infini ; elles deviennent parfois capables de poursuivre leur prolifération, même en l'absence de substances stimulantes, telles que les auxines et les cytokinines. R.J. GAUTHERET a observé le premier ce phénomène qu'il a appelé anergie : ces tissus qui continueront à proliférer sans substance de croissance sont des tissus anergies.

1.2. L'organogenèse à partir de tissus

La culture indéfinie de tissus végétaux a d'abord été le premier objectif des recherches en culture *in vitro* du début du siècle jusqu'en 1940 environ.

Durant cette période on n'a pratiquement pas abordé le problème de l'organogenèse *in vitro* à partir de tissus. Le souci des chercheurs était d'obtenir des cellules le plus indifférenciées possibles pour mieux étudier, à partir de ce matériel, les corrélations qui orientent les cellules vers telle ou telle spécialisation. Parmi d'autres, les travaux de G. CAMUS sur "l'action différenciatrice des bourgeons d'endive sur les tissus sous-jacents" (1944) sont bien caractéristiques de certains axes de recherches de l'époque.

Les cytokinines surtout vont jouer un rôle important dans l'étude *in vitro* des corrélations entre régulateurs de croissance et l'organogenèse.

F. SKOOG (1957) montre, à partir de parenchyme médullaire de tabac, comment les interactions entre auxines et cytokinines orientent les tissus, tantôt vers la néoformation de racines, tantôt vers un développement continu de tissus indifférenciés, tantôt vers la néoformation de bourgeons.

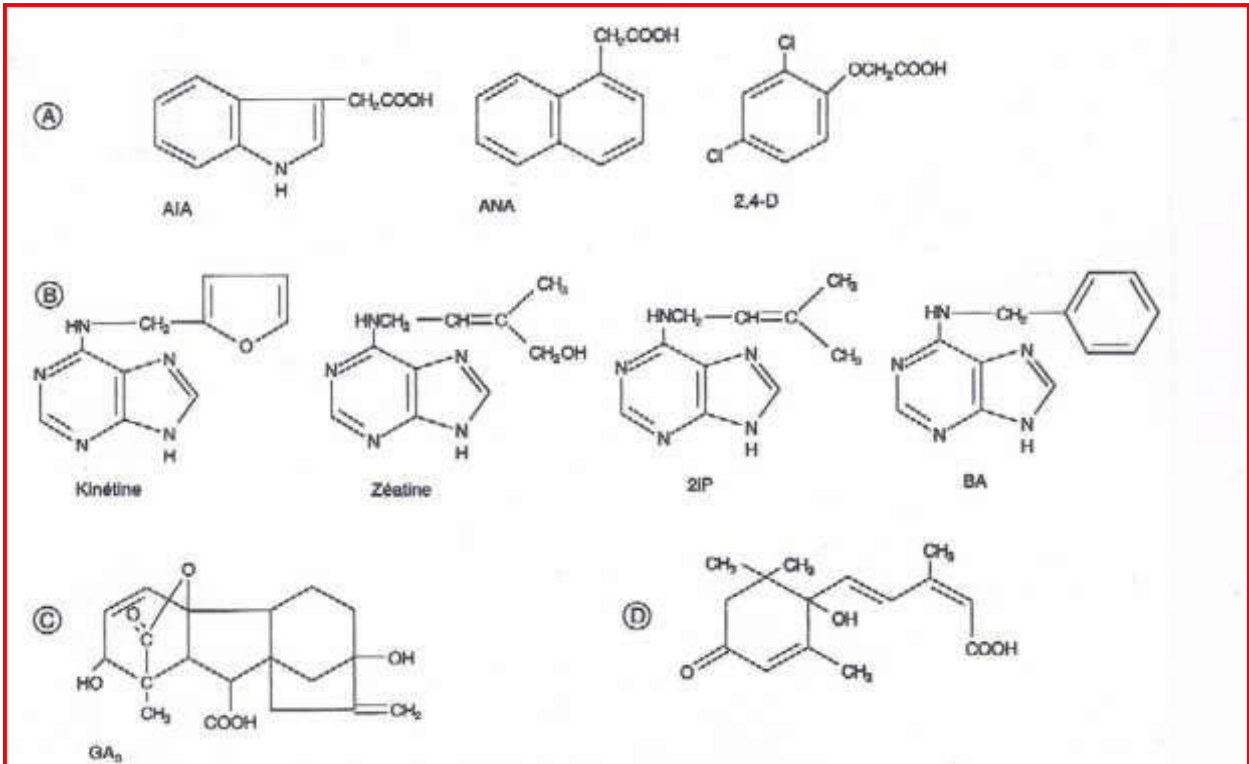
Tableau 2.1: Principaux constituants entrant dans la composition d'un milieu de culture.
(D'après J. Boccon-Gibod.)

Sels minéraux	Substances organiques	Régulateurs de croissance	Produits naturels complexes
Macroéléments	Glucides Saccharose Glucose	Auxines AIA, AIB, ANA, 2,4-D Cytokinines	Hydrolysats de caséines Peptone Extrait de levure
	Vitamines (groupe B) Thiamine-HCl	BAP (ou BA), 2iP, zéatine, kinétine Gibbérellines	Extrait de malt Lait de Coco
Microéléments	Acide nicotinique Pyridoxine HCl Myo-inositol Panthothénate de calcium Biotine Acides aminés Arginine Acide aspartique et asparagine Acide glutamique et glutamine Tyrosine	GA3	Jus ou pulpe de fruit

Tableau 2.2 : Composition de deux milieux de culture usuels.
MS (Murashige et Skoog) et B5 (Garnborg, Miller et Ojimak).

	MS	B ₅
Macroéléments (sels) mg • L⁻¹ mg • L⁻¹		
NH ₄ NO ₃	1 650	
KNO ₃	1 900	2 500
CaCl ₂ •2H ₂ O	440	150
MgSO ₄ •7 H ₂ O	370	250
KH ₂ PO ₄	170	
(NH ₄) ₂ SO ₄		134
NaH ₂ PO ₄ • H ₂ O		150
Oligoéléments (sels) mg • L⁻¹ mg • L⁻¹		
KI	0,83	0,75
H ₃ BO ₃	6,2	3
MnSO ₄ •4H ₂ O	22,3	
MnSO ₄ • H ₂ O		10
ZnSO ₄ •7 H ₂ O	8,6	2
Na ₂ MoO ₄ •2 H ₂ O	0,25	0,25
CuSO ₄ •5 H ₂ O	0,025	0,025
CoCl ₂ •6H ₂ O	0,025	0,0125
Na ₂ -EDTA	37,3	37,3
FeSO ₄ • 7 H ₂ O	27,8	27,8
Substance organique mg. L⁻¹ mg. L⁻¹		
Stycine	2	
Myo-inositol	100	100
Acide nicotinique	0,5	1
pyridoxine HCl	0,5	1
thiamine HCl	0,1	10
AIA	1-30	
2,4-D		0,1-1
kinétine	0, 04-10	0, 1
Sacchrose	30 g. L⁻¹	20 g. L⁻¹
pH	5,7	5,5

FIGURE 2.8: Structure chimique de quelques régulateurs de croissance utilisés en culture *in vitro*



- A) Les trois principales auxines : AIA = acide β -indolylacétique ; ANA = acide naphthylacétique; 2,4-D = acide 2,4.dichlorophénoxyacétique ;
- B) Quelques cytokinines : kinétine = 6 furfurylamino-9H-purin-9-ylmethanone ; zéatine; 2iP = 2-isopentényladénine et BA, benzyladénine = 6 benzylaminopurine;
- C) Une gibbérelline: GA3, l'acide gibbérellique;
- D) L'acide abscissique.

2.2.3. Les caractères physiques du milieu

Les caractères physiques du milieu sont également importants. La consistance peut être liquide ou solide. Les milieux liquides doivent être agités pour éviter la sédimentation et maintenir l'oxygénation. Pour les milieux solides, on introduit de l'agar-agar à des concentrations qui varient selon le type d'organe cultivé. Au cours des différentes phases d'une culture, on peut être amené à modifier la consistance du milieu. Le pH, ajusté avant l'autoclavage, est généralement compris entre 5 et 6 : ces valeurs sont assez élevées pour que les sels restent en solution, mais suffisamment basses pour permettre une croissance rapide et la différenciation des tissus. Les échanges gazeux doivent pouvoir s'effectuer par diffusion au travers des dispositifs de fermeture des récipients ; en particulier, l'oxygénation joue un rôle important sur le développement des cultures.

2.2.4. Les facteurs de l'environnement

Les facteurs de l'environnement — lumière, température et humidité — doivent être étroitement contrôlés. Le rôle de la lumière est important dans l'orientation morphogénétique. La température est généralement maintenue constante de 22 à 25 °C, et l'humidité relative est voisine de 100 % dans la plupart des cas.

2.2.5. La culture *in vitro* nécessite la maîtrise de l'acclimatation

Nous avons vu dans les chapitres précédents que les jeunes plants horticoles produits par les laboratoires de culture *in vitro* sont fournis aux producteurs en bocaux de verre ou en boîtes de matière plastique avec leur milieu de culture gélifié. Le repiquage de ces plants sur un substrat horticole et leur culture en serre constituent la phase de production que l'on appelle "acclimatation". Cette technique peut être réalisée de différentes façons :

- Par l'entreprise assurant la culture *in vitro* ;
- Par l'horticulteur lui-même ;
- Par un établissement spécialisé dans la production de jeunes plants.

La conduite de l'acclimatation est simple dans son principe : les facteurs de réussite sont les suivants : choix du substrat, arrosages (fertilisants ou non), température, humidité relative, lumière, sans oublier un point fondamental : le contrôle très strict de l'état sanitaire du milieu et du plant.

2-2-6- Facteurs de réussite

a/ Substrat

Tout substrat utilisé en multiplication traditionnelle peut convenir : le "classique" mélange 2/3 tourbe et 1 /3 sable (ou perlite) est fréquemment employé de même que les substrats prêts à l'emploi, à base de tourbe. Lorsque les plants sont destinés à la culture hors-sol de fleurs coupées, on peut utiliser les laines de roche (ou bien d'autres substrats inertes) dont les qualités physiques (rétention en eau et en air) et sanitaires (absence de germes pathogènes) sont des facteurs de réussite indéniables.

b/ Arrosages

Les arrosages peuvent être réalisés par aspersion ou manuellement (pour de petits lots) ; la technique du mist-system ou celle du fog-system est fréquemment employée ; elle offre l'avantage de réaliser l'apport d'eau à des rythmes déterminés par l'insolation de la serre. Pour certaines productions (Rosier, Gerbera, ...) acclimatées en laine de roche, on pratique l'arrosage fertilisant avec la même solution nutritive que celle distribuée en culture.

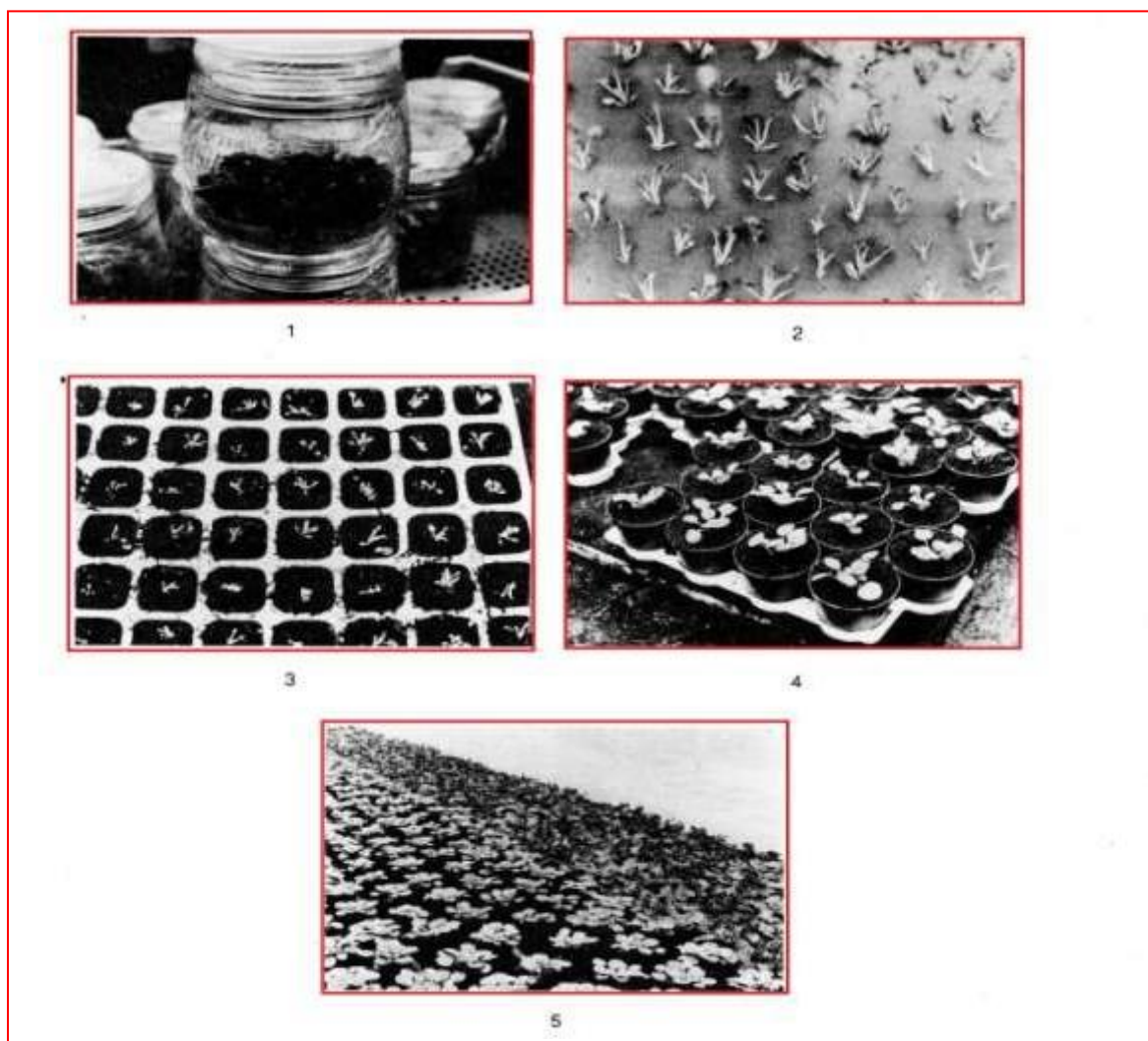


FIGURE 2.9 - La production du Saintpaulia à partir de la micropropagation in vitro

- 1 - Réception des bords contenant les plants issus *in vitro*
- 2 - Division des plants
- 3 - Repiquage
- 4 - Empotage (pots de Φ 11 cm), trois mois après
- 5 - Vue générale d'une culture, au premier plan, après six mois de culture, au deuxième plan, après sept mois de culture.

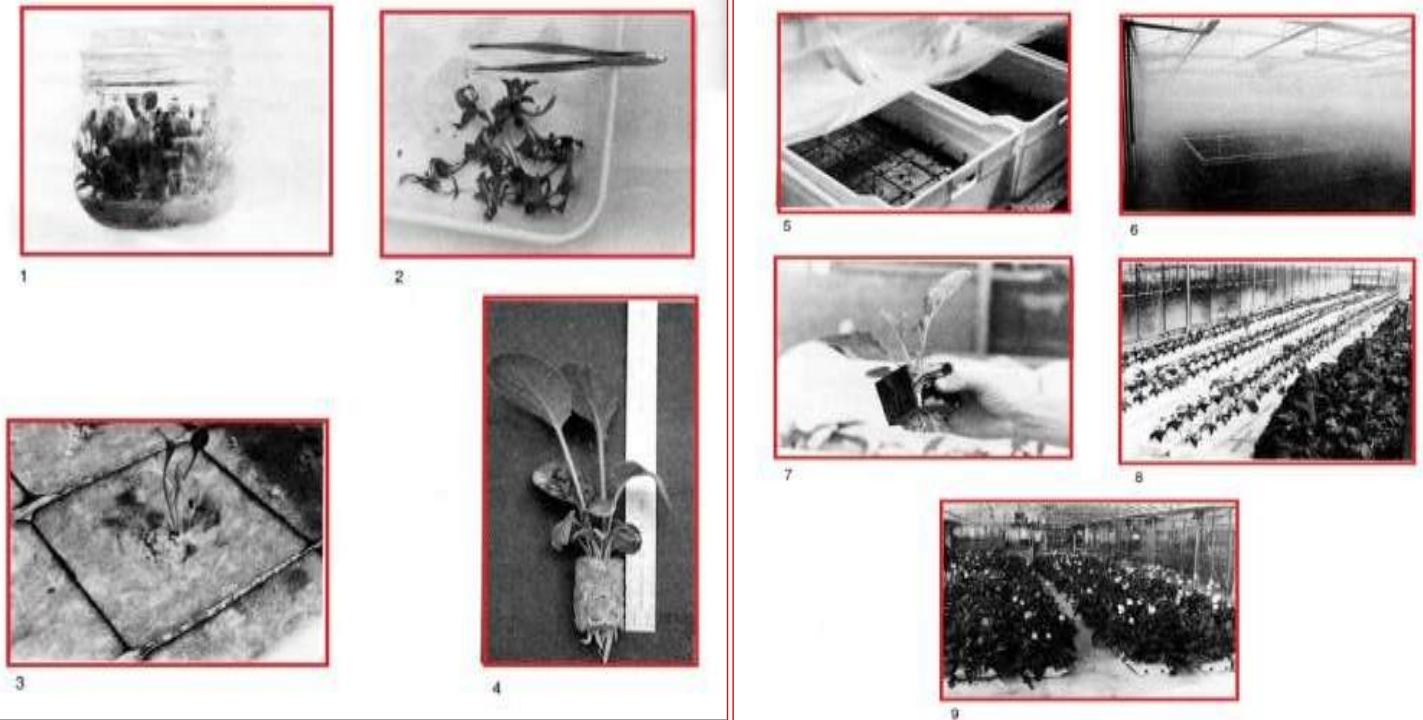


FIGURE 2.10 - *Acclimatation et culture du Gerbera sur laine de roche*

(travaux de recherches H.VIDALIE, M.LAFFAIRE et Liliane BRISSET)

- 1- Réception des vitroplants en bocal de culture.
- 2- Après lavage des racines pour éliminer la gélose, les plants sont triés.
- 3- Repiquage des plants en cubes de laine de roche (Cultilène).
- 4- La culture des plants peut s'effectuer dans des "bouchons" de laine de roche chez les spécialistes (Microviv).
- 5- Acclimatation des plants (après 10 jours).
- 6- Serre d'acclimatation avec brumisation automatique (Microviv).
- 7- Plant acclimaté avant sa mise en place sur les pains de laine de roche.
- 8- Vue générale de la serre d'expérimentation à l'ENITHP (Angers), après "plantation" des cubes.
- 9- Vue d'ensemble d'un essai après 4 mois et demi de culture.

(Photos 1, 2, 3, 5, 7, 8, 9 : H. Vidalie ; 4 et 6 : Microviv)

c/ Température

Tout comme en serre de multiplication traditionnelle, la température sera choisie en fonction de l'espèce cultivée. Mais, généralement, la température de fond est réglée à 1820° C.

d/ Humidité relative

C'est l'un des facteurs de réussite le plus important. Passant d'un microclimat strictement contrôlé au climat d'une serre, le plant doit être placé le plus rapidement possible dans une atmosphère à humidité relative élevée et bien contrôlée (voir § Arrosages : mist et fog-system) : un taux de 80 à 90 % est indispensable pendant les premières semaines. On peut également

maintenir cette H.R. en recouvrant les caissettes de culture d'un film de polyéthylène (perforé ou non) ou d'un voile en polypropylène que l'on soulèvera régulièrement pour contrôler l'état sanitaire des plants.

[e/ Lumière](#)

La maîtrise de ce facteur est déterminée par l'espèce cultivée en fonction de l'époque d'acclimatation ; les conditions optimales d'éclairage sont précisées dans les ouvrages spécialisés traitant des productions horticoles.

Nous avons pu vérifier que ce facteur jouait également un rôle important dans l'acclimatation de certaines plantes héliophiles telles que le Gerbera ; en Anjou, un ensoleillement normal en mai-juin permet un gain d'une à deux semaines en durée d'acclimatation par rapport à un ensoleillement défectueux. Pour ces végétaux (Gerbera, Rosier,...), l'éclairage d'appoint est indispensable en période hivernale (et printanière en Europe du nord) : on applique généralement un éclairage continu avec des lampes dont le spectre se rapproche le plus possible du spectre solaire. Actuellement, les lampes à vapeur de sodium de 400 watts sont très utilisées. Elles permettent d'obtenir un éclairage minimum de 2 000 lux que l'on applique après 22 heures ou même toute la journée lorsque l'ensoleillement est très défectueux (éclairage inférieur à 1 000 lux en serres).

[f/ Contrôle de l'état sanitaire](#)

Un vitro plant doit être placé dans un environnement dont l'état sanitaire est parfaitement contrôlé : substrats et contenants neufs, supports de culture désinfectés (à l'eau de Javel diluée par exemple) ; en outre, des traitements phytosanitaires seront appliqués à titre préventif pour éviter le développement de *Botrytis cinerea* en particulier.

Résumé du deuxième chapitre

La multiplication végétative n'est pas naturelle pour de nombreuses plantes : Il a donc fallu développer des techniques particulières pour faciliter ce mode de propagation ; par les méthodes traditionnelles et les méthodes biotechnologiques « culture *in vitro* ».

- 1) La multiplication végétative artificielle par les techniques traditionnelles est assurée par les organes non spécialisés : bouturage, marcottage et greffage.
 - Le bouturage : consiste à mettre en terre un fragment de plante dépourvu de racines.
 - Le marcottage : Est un type particulier de bouturage dans lequel la bouture reste liée à la plante mère jusqu'à la formation de ses propres racines.
 - Le greffage : consiste à implanter dans le tissu d'un végétal un bourgeon ou un fragment d'organes portant des bourgeons détachés du même individu ou d'un autre.
 - Le but de cette technique agronomique est d'associer les qualités respectives des deux plantes. L'une le porte greffe ou sujet qui fournit le système racinaire et l'autre le greffon ou le scion, fournit le système aérien.
 - Les organes adventifs formés à partir des techniques traditionnelles exploitent les propriétés fondamentales des cellules végétales : la totipotence et la dédifférenciation.
- 2) La multiplication végétative artificielle par les méthodes biotechnologiques « culture *in vitro* » :
 - La biotechnologie végétale est probablement la science la plus ancienne, elle résulte d'un mariage entre la science des êtres vivants, la biologie et un ensemble de techniques nouvelles de laboratoire. Les biotechnologies végétales reposent principalement sur les cultures *in vitro* (culture dans le verre). C'est un mode de multiplication végétative artificielle des plantes.
 - Il s'agit d'un ensemble de méthodes faisant intervenir d'une part l'asepsie (stérilisation du matériel, désinfection des explants), et d'autre part des conditions de culture parfaitement contrôlées (milieux de culture définis pour chaque type de plante, température, lumière, humidité,).
 - Le but de cette culture *in vitro* est de permettre la régénération de la plante entière autonome et fertile à partir de la propriété des cellules végétales : la totipotence. (-poten: pouvoir, toti- : tout): elles ont la possibilité de revenir à un état embryonnaire, et de se redifférencier en toute cellule spécialisée qui serait nécessaire pour former une nouvelle plante.