

RÉSUMÉ

THÈSE DE DOCTORAT:

Effet des explants, des hormones de croissance et des milieux de culture sur la micropropagation des variétés de pêche

Doctorant: NAZAR SHIHAN MASOOD AL GHASHEEM
Coordinateur scientifique: Prof. dr. STĂNICĂ FLORIN

MOT-CLÉ: Culture tissulaire, *in vitro*, multiplication, stérilisation, pousses, nœuds, cytokines, auxines

Thèse de doctorat **Effet des explants, des hormones de croissance et des médias de culture sur la micropropagation des variétés de pêche** est structuré en quatre expériences, plus l'introduction, le résumé, les conclusions et recommandations, la bibliographie et les annexes. L'étude a été menée au Laboratoire de culture tissulaire de la Faculté d'Horticulture et de micropropagation du Centre d'études sur la qualité des produits alimentaires et agricoles de l'Université des sciences agronomiques et de médecine vétérinaire de Bucarest (USAMV), boulevard Mărăști, no. 59, 011464, Bucarest, Roumanie. (<https://www.usamv.ro/index.php/en/>), Entre 2016 et 2019 sur le pêche (*Prunus persica* L.).

Les principaux objectifs de la recherche sont: la recherche objective globale (utilisation de techniques de culture *in vitro* pour la multiplication de variétés de pêches) avec Objectifs spécifiques (Étude de différents types de pêcher explosant en culture *in vitro*, Étude de l'équilibre hormonal optimale au cours de différentes phases de la micropropagation du pêcher, Essai de milieux de culture à différents stades de la micropropagation du pêcher, Développement d'une technologie de multiplication de cultures *in vitro* du pêcher). La justification de la multiplication des variétés de pêches *in vitro* ouvrirait une nouvelle ère. Les avantages de cette méthode sont, entre autres, la multiplication rapide et l'introduction de nouvelles variétés en culture, la propagation du matériel exempt de virus, le matériel de plantation uniforme, etc. L'étude comprenait 55 tableaux et 110 figures et graphiques.

La première expérience consiste en deux explants pour une stérilisation primaire à l'éthanol à 70% pendant 2-3 minutes (C_2H_5OH) et à quatre agents de stérilisation à tester dans 18 variantes différentes: hypochlorite de sodium ($NaOCl$) en trois concentrations: 5% , 10% et 15% pendant 5 et 10 minutes, peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) en deux concentrations: 5% et 10% pendant 10 et 20 minutes, fongicide captan (50%) WP en quatre concentrations: 1%, 2%, 3% et 4% pendant 5 minutes et de l'acide borique (BH_3O_3), en deux concentrations: 1% et 2% pendant 5 et 10 minutes. Parmi les différents protocoles de stérilisation testés pour réussir à établir une culture de culture *in vitro* nos résultats ont montré que lors de la stérilisation, différents facteurs dépendaient des facteurs de stérilisation, du temps d'exposition et du type d'explants utilisés pour la micropropagation.

Il est recommandé d'utiliser cette étude parmi différentes variantes de stérilisation, le traitement le plus efficace étant un hypochlorite de sodium avec un taux de survie de 50% (à concentration de 15% pendant 5 minutes) et un taux de survie de 60% (à 10% de concentration pour 10 minutes). Le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) est également recommandé à une concentration de 10% pendant 20 minutes; Captan 50% avec 4% concentration pendant 5 minutes; Acide borique (BH_3O_3), concentration de 2% pendant 10 minutes, recommandé pour une utilisation lors de la stérilisation initiale.

La deuxième expérience visait à tester la capacité de certaines variétés de pêcher (*Prunus persica* L.) à se multiplier *in vitro* puis à être cultivées sur leurs propres racines. La micropropagation des variétés de pêcher n'est pas une pratique courante dans le temps. La plupart des porte-greffes de pêcher sont actuellement produits *in vitro*. Dix variétés de pêcher ont été incluses dans l'expérience: trois variétés naines (Valerica, Cecilia, Dan), un contrôle standard - Redhaven, six variétés commerciales (Raluca,

Monica, Florin, Filip, Mimi et Catherine sel 1. Deux explants (pousses et noeuds d'une longueur de 0,5-1 cm) ont été prélevés sur les arbres plantés dans le champ. Les explants ont été cultivés sur un milieu MS sans suppléments d'hormones consistant en l'étape d'initiation et on a ajouté aminopurine de benzyle (BAP) dans quatre variantes avec 0, 1, 5 et 10 mg/l comme une cytokinine au cours de l'étape de multiplication (T1 = 0 mg/l (témoin); T2 = 1 mg/l ; T3 = 5 mg/l ; T4 = 10 mg/l).

Les résultats ont montré qu'il existe des différences significatives entre les variétés testées aux stades de la stérilisation et de l'initiation. Il y avait une variété très variable pour les variétés commerciales et une faible réponse des variétés naines. Au début de l'initiation, les variétés Florin et Filip présentaient le pourcentage le plus élevé de pousses (68%), Alors que les variétés Cecilia et Catherine sel 1 ont présenté le pourcentage le plus faible de bourgeons en croissance (12%, respectivement 20%).

De plus, au stade initial, les variétés Florin et Monica présentaient la plus grande longueur de pousses (4,78 cm et 3,94 cm respectivement) et les variétés Florin, Valerica et Dan le plus grand nombre de feuilles (8,00 feuilles/explant, 6,20 feuilles/explant, 6,20 feuilles/explant). Alors que les variétés Dan et Cecilia présentaient une largeur minimale de pousses (1,59 cm, 1,67 cm) et que la variété Valerica indiquait que le nombre minimal de feuilles était formé (2,40 feuilles/ explant). Les résultats ont montré le pourcentage le plus élevé de contamination des nœuds cultivés dans des tubes de culture et les variétés Valerica et Dan ont enregistré le pourcentage le plus élevé de contamination.

De plus, au début de l'initiation, il existait une différence statistiquement significative entre la longueur des pousses et le nombre de feuilles formées (longueur totale des pousses de 2,95 cm sur les explants de pousses, longueur totale des pousses de 2,47 cm sur l'explant des noeuds et le nombre total les feuilles moyennes formées 4,76 feuilles sur les pousses explantées, le nombre total de feuilles moyennes formées 3,89 feuilles sur les nœuds explantés, au stade de la multiplication, seules 4 variétés avec témoin ont réussi à donner le nombre moyen de pousses qui ont été formé en ajoutant du BAP à MS (Florin 8,00 pousses/explants, Filip 7,40 pousses/explant, Mimi 5,40 pousses/explant et Redhaven 4,00 pousses, tandis que les 4 variétés (Valerica, Cecilia, Raluca et Monica) ont été perdus après deux semaines de tests.

De plus, les variétés Dan et Catherine sel.1 n'ont pas donné des résultats acceptables. Il existe également des différences significatives entre les traitements T2, T3, T4 et T1 (contrôle) pour tous les critères étudiés. Le traitement T3 (5 mg/l BAP) (2,86 pousses/explant) était supérieur aux autres traitements, explant tire T1 (1,00 pousses/explant); T2 (1,58 pousses/explant); T4 (1,00 pousses/explant), cela confirme que la présence d'hormones dans le milieu de culture est le facteur principal dans la multiplication des variétés de pêche et l'importance de l'addition au milieu de culture.

La troisième expérience comprenait trois variétés de pêche (Florin, Filip et Mimi). Deux explants (pointes de pointes et nœuds) ont été prélevés à une longueur de 0,5 à 1 cm. Les explorations ont été cultivées sur 3 milieux de culture MS (Murashige et Skoog, 1962), B5 (Gamborg, 1968) et QL (Quoirin et Lepoivre, 1977) plus de 30 g/l de saccharose et de 7 g/l d'agar sans suppléments hormonaux. heure d'initiation. Au stade de la multiplication, différentes concentrations d'hormones végétales BAP et ANA ont été testées dans 12 variantes. Les cultures en tube ont été conservées à l'obscurité (0,1,2,3,4) jours pour éliminer le processus d'oxydation des matériaux phénoliques résultant de la coupe des tissus végétaux. découvert lors de l'étude de la mise en place de tubes de culture dans l'obscurité a un effet positif sur l'élimination des matières phénoliques qui provoquent l'explosion des explants en noir ou brun et provoque la toxicité du tissu mis en culture et le faible taux de réussite de la culture.

Les résultats ont été trouvés que l'explantation dans l'obscurité à 2-3 jours était le meilleur résultat dans les explants non phénoliques. en 2 jours/obscurité (croissance de l'explant Florin 89%, croissance de l'explant Filip 83% et croissance de l'explant Mimi 85%) respectivement à 3 jours / obscurité (croissance de l'explant Florin 89%, croissance de l'explant Filip 84% et Mimi 86% respectivement. Au stade initial, les résultats ont montré qu'il y avait une augmentation de toutes les variétés sur tous les milieux de culture utilisés dans l'expérience. Le milieu de culture MS donnait la moyenne la plus élevée des pousses pour toutes les variétés MS utilisées (Florin 3,33 cm, Philip 2,61 cm et Mimi 2,59 cm), tandis qu'un milieu de culture (B5) donnait la valeur la plus basse (Florin 2,15 cm, Philip 1,84 cm et Mimi 2,01 cm respectivement).

Au stade de la multiplication, les résultats ont montré qu'il y avait des différences significatives au niveau de 0,05. Toutes les variétés ont produit pousses en fonction de la quantité de phosphore dans le milieu de culture et de la concentration des hormones ajoutées. MS et QL ont montré le nombre moyen le plus élevé de pousses à une concentration moyenne de 5 mg/l de BAP (MS) (Florin 4,20 pousses/explant, Filip 3,60 pousses/explant et Mimi 4,00 pousses/explant) et QL milieu (Florin 4,40 pousses/explant, Filip 2,40 pousses/explant et Mimi 4,00 pousses/explant) respectivement.

Alors qu'un milieu de culture B5 donnait la valeur la plus basse (Florin 1,80 pousses/explant, Filip 1,40 pousses/explant et Mimi 2,20 pousses/explant), respectivement. En outre, il a été établi qu'il existait une relation entre BAP et ANA, car l'addition des deux hormones avait pour résultat un tissu calleux (la plus grande variété de callus Florin à 44% de calus/explants en T1 (1/2 MS + 1,00 BAP mg/l + 0,50 ANA mg/l), l'addition de BAP uniquement à tous les milieux de l'expérience a donné les pousses. En outre, le moyen QL fournir pousses vert jaunâtre avec une résistance élevée de 95% à la vitrification est un trouble physiologique qui affecte le tissu de prolifération de la culture de plusieurs espèces de plantes.

La quatrième expérience, une variété de pêcher (Florin) et le porte-greffe (Mirobolan 29C) ont été incluses dans l'expérience. Les nœuds ont été testés (le nœud contient un bourgeon) ont été prélevés à une longueur de 0,5 à 1 cm. Pour la préparation du greffon et du porte-greffe, deux méthodes ont été testées pour cette opération: Méthode I: immersion des explants issus de l'initiation dans des solutions contenant les hormones enracinées dans les concentrations d'NAA et AIB (contrôle 0,00, 0,01, 0,50, 1,00 et 2,00) mg/l, respectivement; Méthode II: Prendre les explants résultant de l'initiation et les cultiver dans des tubes de milieu de culture contenant des hormones NAA et AIB à des concentrations en NAA et IBA (0,00 témoin, 0,01, 0,50, 1,00 et 2,00) mg/l. Pour l'application de la micro-greffe, deux méthodes ont été testées pour cette opération: Méthode I: Effectuer le micro-greffage avant l'enracinement; Méthode II: Effectuer une micro-greffe après la formation de racines.

L'étude a démontré le succès de la méthode de micro-greffage de variétés de pêcher issue de la technologie de culture tissulaire et peut être utilisée pour produire un grand nombre de plants exempts d'agents pathogènes. Ces résultats montrent également le rôle de l'IBA dans l'enracinement des explants ayant donné le taux le plus élevé de nombre de racines (7,00 racine/explant) et de longueur de racine (9,07 cm de longueur de racine/explant), à toutes les concentrations étudiées, avec les mêmes concentrations d'NAA. En outre, la méthode consistant à immerger les explants (immersion dans des solutions contenant des hormones d'enracinement puis de les planter dans un milieu de culture sans hormones) était supérieure au nombre et à la longueur des racines produites par la méthode d'addition d'hormones d'enracinement au milieu de culture.