



Effets des différents doses d'agar du milieu de culture sur l'induction de la rhizogénèse chez l'hybride FHIA-01 de bananier (*Musa AAAB*) en culture *in vitro*

¹Mazinga Kwey Michel, ^{2*}Useni Sikuzani Yannick, ²Kapenda Dumba Eric, ³Mario Godoy Jara, ³Juliens Louvieux, ^{2&4}Baboy Longanza Louis, ²Nyembo Kimuni Luciens, ⁵Kasongo Lenge Mukonzo Emery, ⁶Musambi Luhanga, ⁷Kaboza Yambayamba Henoc, ⁸Tshitungu Bilitu Eddie, ⁹Van Koninckxloo Michel

¹Laboratoire de culture *in vitro* des plantes, Département de phytotechnie, Faculté des sciences agronomiques, Université de Lubumbashi B.P 1825 Lubumbashi, RD Congo. E-mail : michelmaz2003@yahoo.fr. Tél : +243970648542 ;

²Département de phytotechnie, Faculté des sciences agronomiques, Université de Lubumbashi B.P 1825 Lubumbashi, RD Congo ;

³Haute École Provinciale du Hainaut Occidentale-Condorcet et laboratoire de culture *in vitro* du centre de Recherches « Centre pour l'agronomie et l'agro-industrie de la Province de Hainaut » (CARAH asbl), rue Paul Pastur 11, 7800 ATH/Belgique ;

⁴Collaborateur Scientifique au Service d'Écologie du Paysage et Systèmes de Production Végétale, à l'Université Libre de Bruxelles, Avenue F.D. Roosevelt 50, CP 169 B-1050 Bruxelles, Belgique ;

⁵Département de Gestion des ressources naturelles renouvelables, Faculté des sciences agronomiques, Université de Lubumbashi B.P 1825 Lubumbashi, RD Congo ;

⁶Faculté des sciences agronomiques, Université de Kamina, Kamina, RD Congo ;

⁷Département de phytotechnie, Faculté des sciences agronomiques, Université de Kalémie, Kalémie, RD Congo ;

⁸Ecole Supérieure des Ingénieurs Industriels, Université de Lubumbashi B.P 1825 Lubumbashi, RD Congo ;

⁹Centre pour l'agronomie et l'agro-industrie de la Province de Hainaut (CARAH asbl) et Inspection générale de l'enseignement supérieur de la Province de Hainaut. , rue Paul Pasteur 11, 7800 ATH/Belgique.

*Auteur correspondant : yannickuseni@gmail.com; Tel : +243813666582

Original submitted in on 6th November 013 Published online at www.m.elewa.org on 31st January 2014.

RÉSUMÉ

Objectifs : La détermination de la concentration d'agar est l'un des facteurs importants de la culture *in vitro* des plantes. Dans cette étude, les différentes concentrations d'agar ont été comparées afin d'identifier une concentration adaptée à l'induction de racines chez l'hybride FHIA-01 pendant la phase d'acclimatation *in vitro*.

Méthodologie et résultats : Les explants de l'hybride FHIA-01 provenant de la phase de prolifération au laboratoire de culture *in vitro* du CARAH à l'H.E.P.H-Condorcet à Ath, ont été utilisés. Quatre concentrations d'Agar 'vitro' de Duchefa (2,5 g/l, 5 g/l et 7 g/l) ont été appliquées en dix répétitions. Les récipients utilisés étaient des bacs en plastic munis du filtre d'aération sur le couvercle. Il a été garni de 100 ml de milieu de culture par bac. L'apport de l'agar réduit les risques d'hyperhydricité, des malformations des parties aériennes et souterraines. L'augmentation de la concentration d'agar a permis l'obtention d'un bon système racinaire et un nombre moyen de bourgeons par explant élevé.

Mazinga et al. J. Appl. Biosci. 2014. Effet de différentes doses d'agar du milieu de culture sur l'induction de la rhizogénèse chez l'hybride FHIA 01 de bananier en culture vitro.

Conclusion et application de la recherche : L'utilisation de l'Agar en culture *in vitro* permet de réduire la mortalité des explants liée au problème d'hyperhydricité en micropropagation. Cette étude constitue une alternative à la propagation du bananier qui se fait par rejetonnage, caractérisé par la difficulté de trouver un grand nombre de rejets lors de l'installation d'un premier champ.

Mots clés : Explants, milieu de culture, agar, bananier, FHIA-01, rhizogénèse

Abstract

Effects of different doses of agar culture medium on the induction of rooting in FHIA -01 (Musa AAAB) *in vitro* culture

Objectives: The determination of the concentration of agar is one of the important factors in tissue culture. In this study, different concentrations of agar were compared to identify a suitable induction of roots in FHIA -01 during *in vitro* acclimatization phase concentration.

Methods and results: The explants FHIA -01 from the proliferative phase to the laboratory *in vitro* culture of the CARAH HEPH Condorcet - Ath, were used. Four concentrations of Hagar vitro ' of Duchefa (2.5 g / l , 5 g / l and 7 g / l) were applied in ten repetitions . The containers used were plastic containers marked with the breather filter on the lid. It was packed with 100 ml of culture medium per tank. The contribution of agar reduces the risk of hyperhydricity, malformations of aerial and underground parts. Increasing the concentration of agar allowed obtaining a good root system and a higher average number of buds per explant.

Conclusion and application of research: The use of tissue culture Agar reduces mortality of explants related to the problem of hyperhydricity in micropropagation. This study provides an alternative to the spread of banana sucker characterized by the difficulty of finding a large number of discharges during the installation of the first field.

Keywords: explants, medium, agar, banana FHIA -01, rooting

INTRODUCTION

La détermination de la concentration d'agar est l'un des facteurs importants de la culture *in vitro* des plantes (Debergh et al., 1992). Il est important que le milieu de culture soit suffisamment ferme, rigide afin de bien soutenir l'explant inoculé (Berrios et al., 1999). Il a été rapporté que, les concentrations très élevées d'agar bloquent la diffusion des nutriments vers les tissus. Plus souvent lors qu'il s'agit du milieu solide, plusieurs auteurs ont proposé des concentrations d'agar comprises entre 0,5 et 1 % (Boxus, 1974 ; Haicour, 2002; El Hamdouni et al., 1999). Ces suggestions des concentrations d'agar sont faites à titre indicatif sachant que la qualité de ce produit n'est pas constante (Damiano, 1980). D'autres auteurs ont pourtant comparé le milieu solide au milieu liquide sans pour autant révéler des différences significatives (Hunter et al., 1984). La plupart d'auteurs utilisent le milieu de culture solide malgré que le taux d'induction de cals soit plus élevé dans les milieux liquides (Belkengren et Miller, 1962;

Nishi et Ohsawa, 1973; Boxus, 1974; Navatel, 1979; Damiano, 1980; Swartz et al., 1981; Anderson, 1982; Fabbri, 1986; Hennerty et al., 1987; O'Ríordáin, 1987; Theiler-Hedtrich, 1987; Thomsen, 1987). Par ailleurs, les milieux liquides causent des pertes allant parfois jusqu'à 60 % des pousses ou explants dues au problème d'hyperhydricité en micropropagation (Piqueras et al., 2002 ; Abdoli et al., 2007). Cette hyperhydricité fréquente en culture *in vitro* affecte la prolifération, la croissance des pousses et entraîne une défaillance des racines. Ce qui rend la reprise de vitroplants difficile lors de l'acclimatation (Debergh et al., 1992; Baker et al., 1999; Ziv, 1991). Ce phénomène est souvent lié à l'absence ou suppression d'agar dans les milieux (Pâques et Boxus, 1987). Par ailleurs, plusieurs substances et techniques connues peuvent contrôler l'hyperhydricité, parmi lesquelles l'aération des bocal ou bacs de culture (Rossetto et al., 1992), la baisse de concentration en cytokinine dans les

milieux de culture (Williams & Taji, 1991), une augmentation de la concentration d'agar (Brand, 1993) ainsi que l'évolution de la concentration des constituants du milieu (Ziv, 1991). Dans cette

étude, les différentes concentrations d'agar ont été comparées afin d'identifier une concentration adaptée à l'induction de racines chez l'hybride FHIA-01 pendant la phase d'acclimatation *in vitro*.

MATÉRIELS ET MÉTHODES

Matériels : Il a été utilisé dans cette étude, les explants de l'hybride FHIA-01 provenant de la phase de prolifération qui a été réalisée au laboratoire de culture *in vitro* du CARAH à l'H.E.P.H-Condorcet à Ath. Les explants utilisés proviennent du cultivar FHIA-01, constitués par des vitroplants issus des bourgeons apicaux et axillaires dont la taille était réduite à 2 cm de hauteur et 0,5 cm de diamètre. Le milieu de base utilisé est constitué de sels minéraux et de vitamines selon Murashige & Skoog (1962) additionné de deux cytokinines dont 10 μ M de BAP, 10 μ M MemTR, d'une auxine AIA 1 μ M. et de saccharose à 20 g.l⁻¹. Le pH est ajusté à 5,8. Les essais placés à la lumière à 27°C de température, une photopériode de 16 h. Cinq (5) explants par répétition ont été incubés. Un total de 10 répétitions par traitement a été effectué. Les récipients utilisés sont les bacs en plastique munis du filtre d'aération sur le couvercle. Il a été garni de 100 ml de milieu de culture par bac. La durée de chaque essai était de 45 jours.

RÉSULTATS

Effets de différentes doses d'agar sur l'induction de la rhizogénèse FHIA-01 : Les traitements à 2,5 g et 7 g/l d'agar avaient influencé positivement l'induction de la rhizogénèse ($p = 0,01$). Les valeurs moyennes étaient respectivement de $2,7 \pm 1,8$ (b), $0,6 \pm 0,97$ (c), $2,57 \pm 1,22$ (b) pour 2,5 g, 5 g, 7 g de saccharose et pour contrôle $4,73 \pm 1,85$ (a) (Figure 1). Parallèlement, le nombre des bourgeons a varié significativement

Méthodologie : L'Agar 'vitro' de Duchefa a été utilisé, trois concentrations considérées comme traitements ont été testées, première concentration à raison de 2,5 g/l, deuxième concentration ou traitement 5 g/l, troisième concentration de 7 g/l. Un traitement à raison de zéro concentration d'agar a été utilisé comme témoin était placé dans l'incubateur sous agitation. L'identification des milieux de cultures comportant ces traitements est la suivante : les lettres suivies des chiffres désignent le traitement ou la concentration d'agar utilisée : T1 pour 2,5 g/l d'agar ; T2 pour 5 g/l d'agar; T3 pour 7 g/l d'agar dans le milieu. L'absence d'agar dans le milieu est mentionnée par T suivie du chiffre 0 soit T0. Les observations sur le nombre de racines formées, le nombre de feuilles émises, la taille de l'explant initial et le nombre de bourgeons proliférés ont été estimés après 6 semaines de culture comme décrit par Kone et al. (2010). Les résultats ont été soumis à l'analyse de la variance (ANOVA) avec le logiciel SPSS.

entre les différentes concentrations d'agar. Le nombre de bourgeons augmente pour le milieu de culture additionné de 5 g/L d'agar comparativement aux autres concentrations d'agar soit 2,5 g et 7 g ($p < 0,05$). Les valeurs moyennes sont respectivement de $1,43 \pm 1,3$ (b), $3,45 \pm 1,3$ (a), $0,53 \pm 1,0$ (c), respectivement pour 0,25 %, 0,50 %, 1,00 % et le contrôle $1,63 \pm 1,4$ (b) (Figure 2).

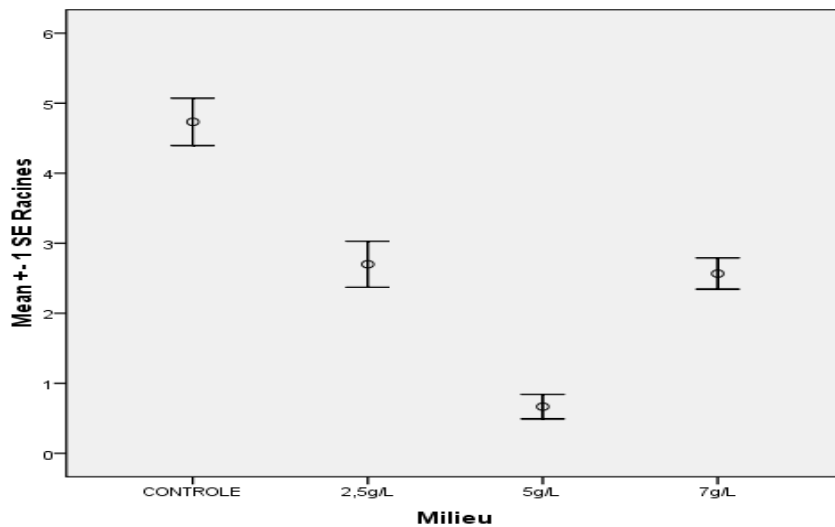


Figure 1. Effets des différentes doses d'agar sur l'induction de la rhizogénèse.

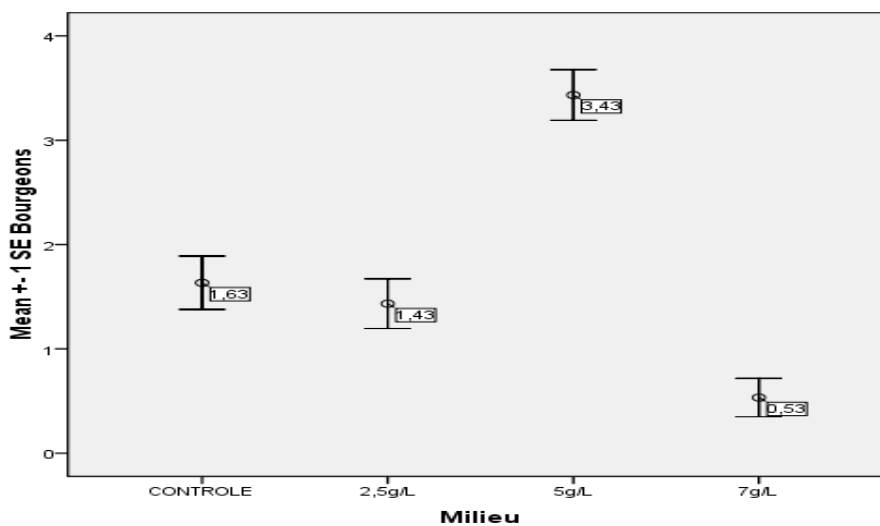


Figure 2. Effets des différentes doses d'agar sur l'induction de bourgeons.

Les traitements à 2,5 g et 7 g/l d'agar avaient influencé positivement la croissance ($p < 0,05$). Les valeurs moyennes étaient respectivement de $2,77 \pm 0,65$ (b), $1,99 \pm 0,51$ (c), $3,1 \pm 1,06$ (b) pour 2,5 g, 5 g, 7 g de saccharose et pour contrôle $3,9 \pm 1$ (a) (Figure 3). Par

ailleurs, les traitements à 2,5g et 7g/l d'agar avaient influencé positivement la croissance ($p < 0,05$). Les valeurs moyennes étaient respectivement de $3,5 \pm 1,19$ (a), $2,07 \pm 1,41$ (b), $3,73 \pm 1,01$ (b) pour 2,5 g, 5 g, 7 g de saccharose et pour contrôle $4 \pm 0,74$ (a) (Figure 4).

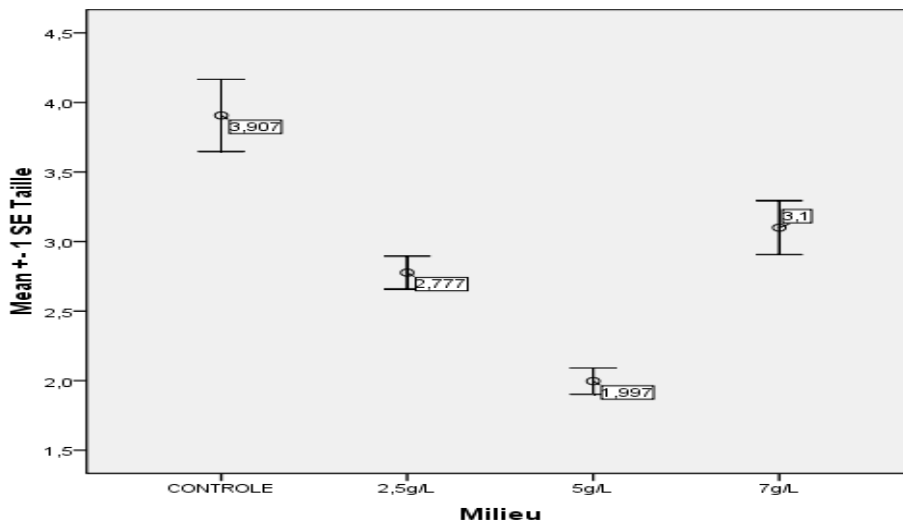


Figure 3. Effets des doses croissantes d'agar sur la taille (cm).

Une relation en forme de V était constatée pour l'émission foliaire.

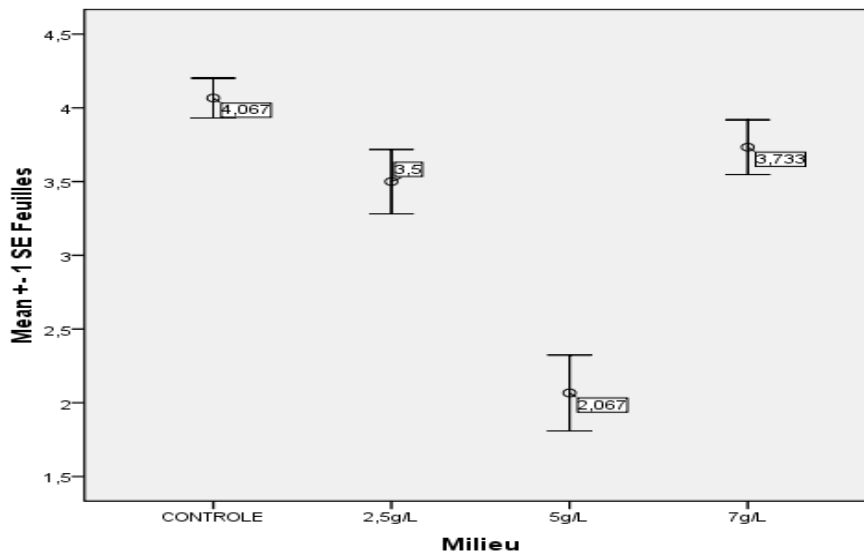


Figure 4. Effets des doses croissantes d'agar sur l'émission foliaire.

Il ressort du tableau 1 que la taille d'explant, le nombre de feuilles émises, le nombre de racines et le poids d'explant révèlent des corrélations négatives significatives avec les bourgeons proliférés. Par contre,

les autres paramètres ont montré des corrélations positives significatives à l'exception du nombre de bourgeons.

Mazinga et al. J. Appl. Biosci. 2014. Effet de différentes doses d'agar du milieu de culture sur l'induction de la rhizogénèse chez l'hybride FHIA 01 de bananier en culture vitro.

Tableau 1 : Les corrélations des paramètres de croissance et de développement en présence des concentrations croissantes d'agar

		Bourgeons	Taille	Racines	Feuilles
Bourgeons	Corrélation de Pearson	1	-,354**	-,473**	-,485**
	Sig. (bilatérale)		,000	,000	,000
	N	120	120	120	120
Taille	Corrélation de Pearson	-,354**	1	,511**	,424**
	Sig. (bilatérale)	,000		,000	,000
	N	120	120	120	120
Racines	Corrélation de Pearson	-,473**	,511**	1	,508**
	Sig. (bilatérale)	,000	,000		,000
	N	120	120	120	120
Feuilles	Corrélation de Pearson	-,485**	,424**	,508**	1
	Sig. (bilatérale)	,000	,000	,000	
	N	120	120	120	120

** . La corrélation est significative au niveau 0.01 (bilatéral).

Les résultats d'analyse multivariée (analyse discriminante), ont montré que tous les paramètres: la prolifération de bourgeons, l'induction de racines,

l'émission foliaire et la taille d'explant étaient significativement influencés par les différentes concentrations d'agar avant classement (Tableau 2).

Tableau 2 : Résultats de l'analyse multivariée avant classements des effets des doses croissantes d'agar sur la rhizogénèse

Paramètres	Doses d'agar (g/l)				Valeurs de p
	Contrôle	2,5	5	7	
Bourgeons	1,6±1,4	1,4±1,3	3,4±1,3	0,5±1	<0,05
Taille	3,9±1,4	2,7±0,6	1,9±0,5	3,1±1	<0,05
Racines	4,7±1,8	2,7±1,8	0,6±0,9	2,5±1,2	<0,05
Feuilles	4±0,7	3,5±1,1	2±1,4	3,7±1	<0,05
Classement (%)	70%	10%	76%	63,3%	

Il ressort de l'analyse multivariée (analyse discriminante), que, après classement, tous les paramètres : la prolifération de bourgeons, l'induction

de racines, l'émission foliaire et la taille d'explant sont significatifs avec des moyennes appropriées à chaque traitement (Tableau 3).

Tableau 3. Résultats de l'analyse multivariée après classements des effets des doses croissantes d'agar sur la rhizogénèse

Paramètres	Doses d'agar (g/l)				Valeurs de p
	Contrôle	2,5	5	7	
Bourgeons	1,6±1,3	1,9±1	3,8±0,9	0,2±0,4	<0,05
Taille	4,6±1,3	2,6±0,5	1,8±0,3	2,9±0,9	<0,05
Racines	5±1,8	2,5±0,5	0,6±0,9	2,2±1,2	<0,05
Feuilles	4±0,7	3,7±1	1,8±1,5	3,5±0,9	<0,05
Classement (%)	84,4	77,3	71,4	97,4	

Mazinga et al. J. Appl. Biosci. 2014. Effet de différentes doses d'agar du milieu de culture sur l'induction de la rhizogénèse chez l'hybride FHIA 01 de bananier en culture vitro.

Le pourcentage de « bien classé » avant classement était de : 70 %, 10 %, 76 % et 63,3 %, respectivement pour les traitements: contrôle, 2,5 g.l⁻¹, 5 g.l⁻¹, 7 g.l⁻¹. Après amélioration du classement, le pourcentage est

passé de 84 %, 77,3 %, 71,4 %, 97,4 %. Illustrant une séparation nette entre les barycentres de chaque traitement (Figure 5).

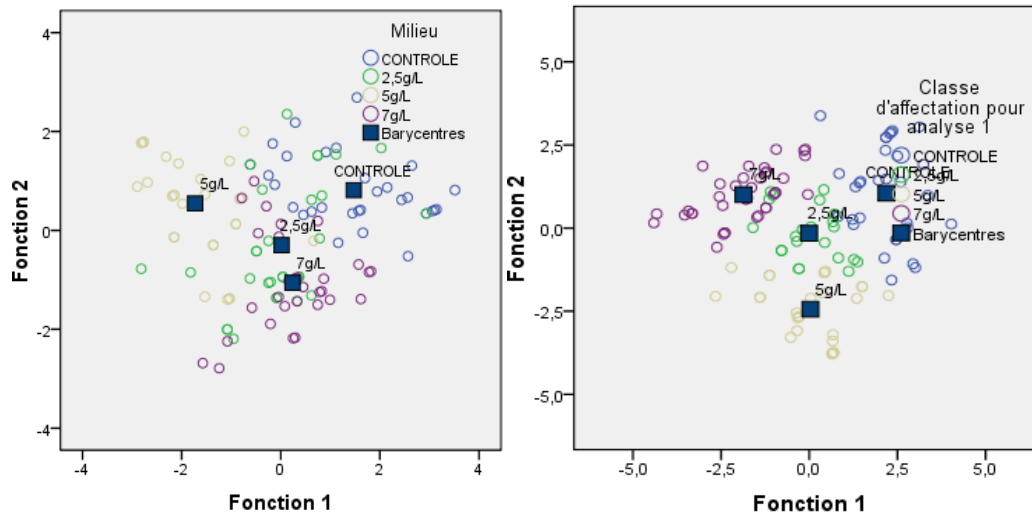


Figure 5. Fonctions discriminantes canoniques des paramètres de croissance et de développement en présence des concentrations croissantes d'agar.

DISCUSSIONS

Ces résultats obtenus de l'essai de l'effet de l'agar sur la prolifération de bourgeons sont similaires aux résultats obtenus par Naydenov et al. (2006) sur le pin gris (*Pinus banksiana* Lamb.). Les vitroplants issus du traitement témoin ont présenté un système racinaire de mauvaise qualité, des bourgeons hyperhydriques ainsi que des malformations. L'hyperhydricité constatée serait due à l'absorption importante d'eau du milieu de culture par les tissus à l'absence d'agar (Gaspar et al., 1987). Les malformations des parties caulinaires et racinaires (tiges, feuilles, racines) sont causées par l'agitation de milieu dans l'incubateur. Il a été suggéré que l'état physique du milieu pourrait affecter la diffusion des phytohormones et de nutriments (Bornman et Vogelmann, 1984). Le pourcentage d'explants formant des pousses et celui de pousses hyperhydriques augmente avec la diminution de concentration d'agar (Abdoli et al., 2007). Il a été constaté que, lorsque l'on augmente la concentration d'agar entre 0,4 % à 0,8 %, le pourcentage des pousses hyperhydriques diminuait considérablement. Ainsi un nombre significativement élevé de bourgeons est obtenu (Debergh, 1983; Brand, 1993; Abdoli et al., 2007). Dans cette étude, une faible induction de

bourgeons a été observée à une concentration de 7 g.l⁻¹ d'agar. Par ailleurs, la variation du nombre de bourgeons ou des racines formés est dépendante de la composition du milieu de culture; elle suit les objectifs de l'essai, selon qu'il s'agit de l'embryogénèse, de la phase de multiplication ou de la phase d'enracinement. Les travaux réalisés à partir d'embryons immatures de graminées (Jullien, 1991), de pois (Saadi, 1991), de noix de coco (Nair et al., 1999), de *Pinus sylvestris* (Haggman et al., 1999), d'*Arabidopsis thaliana* (Gaj, 2001), de boutons floraux de bananier (Escalant et al., 1994), d'hypocotyles du tournesol (Laparra et al., 1997) et des feuilles du *Santalum album* et *Santalum spicatum* (Rughla et Jones, 1998) ont enregistré des résultats similaires; Bien que la concentration d'agar influence significativement l'organogénèse et l'hyperhydricité (Abdoli et al., 2007). Selon Brand (1993) et Abdoli et al. (2007), l'agar pourrait modifier la disponibilité des substances solubles par des interactions chimiques et réduire considérablement l'hyperhydricité. En outre, la variation du nombre de bourgeons formés est dépendante du génotype (Auge et al., 1989). Plusieurs auteurs l'ont également signalé chez le tournesol (Power, 1987; Espinasse et al.,

Mazinga et al. J. Appl. Biosci. 2014. Effet de différentes doses d'agar du milieu de culture sur l'induction de la rhizogénèse chez l'hybride FHIA 01 de bananier en culture vitro.

1989; Sarrafi et al., 1996; Berríos et al., 1999; Azadi et al., 2002; Mayor et al., 2003). Le rapport hormonal (auxine/cytokinine) conditionne, en grande partie, le type de néoformation obtenu. Ce rapport a conduit, dans le cas de la culture *in-vitro* du parenchyme médullaire de tabac, par exemple, à l'orientation des tissus, vers la caulogénèse ou la rhizogénèse (Zryd, 1988). L'organogénèse est fortement influencée par les régulateurs de croissance utilisés, d'une manière conjointe ou séquentielle. Par ailleurs, se basant sur la

diversité des réponses obtenues dans ce domaine, qu'il n'existe pas de règle générale, concernant l'efficacité de différentes substances du milieu de culture: agar, sources carbonées, vitamines, auxines et cytokinines sur la caulogénèse ou sur la rhizogénèse. Les effets paraissent varier essentiellement avec le matériel végétal employé (Bencheikh et Gallais, 1996; Parrott, 1991; Brown et Atanassov, 1985 ; Reisch et Bingham, 1980; Bingham et al., 1975).

CONCLUSION

Les résultats obtenus dans cette étude montrent qu'à l'absence d'agar l'explant présentait les symptômes d'hyperhydricité, des malformations des parties aériennes et souterraines ainsi qu'un mauvais système racinaire. Par contre, l'utilisation tout comme l'augmentation de la concentration d'agar a permis l'obtention d'un bon système racinaire bien que peu nombreuses, des bourgeons ne présentant aucun symptôme d'hyperhydricité et un nombre moyen de

bourgeons par explant élevé. Eu égard à ce qui précède, l'organogénèse est fortement influencée par les régulateurs de croissance utilisés et leurs doses d'application, ce qui permet de réduire la mortalité des explants due à l'hyperhydricité en micropropagation. Cette étude constitue une alternative à la propagation du bananier qui se fait par rejetonnage, caractérisé par la difficulté de trouver un grand nombre de rejets lors de l'installation d'un premier champ.

REMERCIEMENTS

Les auteurs remercient le laboratoire de culture *in vitro* du CARAH asbl (Centre pour l'agronomie et l'agro-industrie de la province de Hainaut) en Belgique.

BIBLIOGRAPHIE

- Abdoli M., Moieni A., Dehghani H., 2007. Effects of cultivar and agar concentration on *in vitro* shoot organogenesis and hyperhydricity in sunflower (*Helianthus annuus L.*). *Pak. J. Bot.*, 39 (1): 31-35.
- Anderson H.M., Abbott A.J., Wiltshire S., 1982. Micropropagation of strawberry plants *in vitro*. Effect of growth regulators on incidence of multi-apex abnormality. - *Scientia Hort.*, 16 (4): 331-341.
- Auge R., Beauchesne G., Boccon -Gibo D., Decoutye L., Digat B., Jalouzot R., Minier R., Morand C.L., Reynoird J.P., Strullud G., Vidalie H., 1989. La culture *in-vitro* et ses application horticoles. Ed Lavoisier ; p 225.
- Azadi P., Moieni A., Ahmadi M.R., 2002. Shoot organogenesis from cotyledons of sunflower. *Helia*, 25: 19-26.
- Baker C.M., Munoz-Fernandez N., Carter C.D., 1999. Improved shoot development and rooting from mature cotyledons of sunflower. *Plant Cell, Tiss. and Org. Cult.*, 58: 39-49.
- Belkengren R.O., Miller P.W., 1962. Culture of apical meristems of *Fragaria vesca* strawberry plants as a method of excluding latent A virus. - *Plant Dis. Rep.*, 46: 119-121.
- Bencheikh M., Galais A., 1996. Somatic embryogenesis in pea (*Pisum sativum L* and *Pisum arvense L.*): Diallel analysis and genetic control. *Euphytica* 90(3): 257-267
- Berríos E.F., Gentzittel L., Serieys H., Alibert G., Sarrafi A., 1999. Influence of genotype and gelling agents on *in vitro* regeneration by organogenesis in sunflower. *Plant Cell, Tiss. and Org. Cult.*, 59: 65-69.
- Bingham E.T., Hurley L.V., Kaotz D.M., Sanders J.W., 1975. Breeding alfalfa wick regenerates from callus tissue culture. *Crop sci* 15: 719 - 721.
- Bornman C.H., Vogelmann T.C., 1984. Effect of rigidity of gel medium on benzyl-induced adventitious bud formation and vitrification *in vitro* in *Picea abies*. *Physiol. Plant.*, 61: 505- 512.
- Boxus P., Quoirin M., 1974. La culture de méristèmes apicaux de quelques espèces de *Prunus*. *Bull. Soc. R. Bot. Belg.*, 107: 91-101.
- Brand M.H., 1993. Agar and ammonium nitrate influence hyperhydricity, tissue nitrate and total nitrogen content of serviceberry

Mazinga et al. J. Appl. Biosci. 2014. Effet de différentes doses d'agar du milieu de culture sur l'induction de la rhizogénèse chez l'hybride FHIA 01 de bananier en culture vitro.

- (*Amelanchier arborea*) shoots *in vitro*. *Plant Cell, Tiss. And Org. Cult.*, 35: 203-209.
- Brown C.W., Atanasov A., 1985. Role of genetic background in somatic embryogenesis in *Medicago*. *Plant cell, Tissue organe culture* 4: 111-122.
- Debergh P.C., 1983. Effects of agar brand and concentration on the tissue culture medium. *Physiol.Plant.* 59: 270-276.
- Debergh P.C., Aitken-Christie J., Cohen D., Grout B., Von Arnold S., Zimmerman R., Ziv M., 1992. Reconsideration of the term vitrification as used in micropropagation. *Plant Cell, Tiss. and Org. Cult.*, 30: 135-140.
- Escalant J.V., Poduschek C.C., Babeau J., Grapin A., Teisson C., 1994. Embryogénèse somatique des bananiers à partir d'explants floraux. In *Teisson : la culture in-vitro de plantes tropicales* CIRAD.Montpellier.
- Espinasse A., Lay C., Volin J., 1989. Effect of hormone concentration and explant size on shoot organogenesis from callus derived from zygotic embryos of sunflower (*Helianthus annuus* L.). *Plant Cell, Tiss. and Org. Cult.*, 17: 7-18.
- Fabbri A., Sutter E., Dunston S.K., 1986. Anatomical changes in persistent leaves of tissue-cultured strawberry plants after removal from culture. *Scientia Hortic.*, 28 (4): 331-337.
- Gaj M.D., 2001. Direct somatic embryogenesis as a rapid and efficient system for *in-vitro* regeneration of *Arabidopsis thaliana*. *Plant Cell. Tissue and Organ Culture* 64: 39 – 46
- Gaspar Th., Kevers C., Debergh P., Maene L., Pâques M., Boxus PH., 1987. *Vitrification :morphological, physiological and ecological aspects*. In: *Cell and Tissue Culture in Forestry*. Vol. 1. General Principles and Biotechnology. Eds. J.M. Bonga, D.J. Durzan, Martinus Nijhoff, Dordrecht, 152-166.
- Haggman H., Jokela A., Krajnakova J., Niemi K., Aronen T., 1999. Somatic embryogenesis of scots pine: cold treatment and characteristics of explants affecting induction. *Jou.exp.Bot.* 50 (341) : 1769 - 1778.
- Haicour R., Ducreux G., Ambroise A., 2002. *Biotechnologies végétales : technique de laboratoire*. Edition Tec & Doc. Lavoisier, p. 305
- Hennerty M.J., Hunter S.A., Foxe M.J., 1987. Field performance of tissue cultured strawberry plants. - In Boxus (P.), Larvor (P.) *In vitro* culture of strawberry plants. - *Comm. Eur. Communities, Rep. EUR 10871 EN-FR*, 41-46.
- Hunter S.A., Hannon M., Foxe M.J., Hennerty M.J., 1984. Factors affecting the *in vitro* production of strawberry (*Fragaria X ananassa* Duch.) meristems (cv. Cambridge Favourite). - *J. Life Sci.*, 5 : 3-19.
- Jullien M., 1991. *La multiplication végétative in-vitro, bases méthodologiques et physiologique*. D.E.A. Ressources génétiques et Amélioration des plantes. INA Paris Grignon 101 p.
- Laparra H., Stoeva P., Ivanou P., Hahne G., 1997. Plant regeneration from different explants in *Helianthus smithu heiser* (*C.sunflower*). *Plant Cell. Reports* 16 (10): 692-695.
- Mayor M.L., Nestares G., Zorzoli R., Picardi L.A., 2003. Reduction of hyperhydricity in unflower tissue culture. *Plant Cell, Tiss. and Org. Cult.*, 72: 99-103.
- Nair M.K., Karum A., Rajesh M.K., 1999. *Research potentiality of coconut biotechnology*. AgBioTechNet 1 ABN 019.
- Navatel J.C., 1979. La multiplication *in vitro* du fraisier. Un nouveau schéma de production de plants de fraisier. - *CTIFL-Documents*, 60 : 53-63.
- Nishi S., Ohsawa K., 1973. Mass production method of virus-free strawberry plants through meristem callus. - *Jpn. Agric. Res. Q*, 7(3): 189-194.
- O'Riordáin F., 1987. The effects of benzyladenine, indole butyric acid and gibberellic acid on the micropropagation of the strawberry cultivar 'Clonard'. - In Boxus (P.) Larvor (P.) *In vitro* Culture of Strawberry Plants. - *Comm. Eur. Communities, Rep. EUR 10871. EN-ER*, 47-53.
- Parott W.A., 1991. Auxin - stimulated somatic embryogenesis from immature cotyledons of white clover. *Plant Cell Reports*, 10: 17 -21.
- Piqueras A., Cortian M., Serna M.D., Casas J.L., 2002. Polyamines and hyperhydricity in micropropagated carnation plants. *Plant Sci*, 162: 671-678.
- Power C.J., 1987. Organogenesis from *Helianthus annuus* inbreds and hybrids from the cotyledons of zygotic embryos. *Am. J. Bot.* 47: 497- 503.
- Reisch J.W., Bingham E.T., 1980. The genetic control of bud formation from callus cultures of diploid alfalfa. *Plant Science Letters* 20:71-77

Mazinga et al. J. Appl. Biosci. 2014. Effet de différentes doses d'agar du milieu de culture sur l'induction de la rhizogénèse chez l'hybride FHIA 01 de bananier en culture vitro.

- Rossetto M., Dixon K.W., Bunn E., 1992. Aeration: a simple method to control vitrification and improve *in vitro* culture of rare Australian plants. *In vitro Cell. Dev. Biol.*, 28: 192-196.
- Rughla A., Jones M.G.K., 1998. Somatic embryogenesis and plantlet formation in *Santalum album* and *S. spicatum*. *Jou.Exp Bot* 49 ; 320 : 563 – 571.
- Saadi A., 1991. *Régénération de plantes de pois Pisum sativum L par embryogenèse somatique*. Thèse de doctorat, Paris Grignon 162p.
- Sarrafi A., Bolandi A.R., Serieys H., Berville V., Alibert G., 1996. Analysis of cotyledon culture to measure genetic variability for organogenesis parameters in sunflower (*Helianthus annuus* L.). *Plant Sci.*, 121: 213-219.
- Swartz H.J., Galletta G.J., Zimmerman R.H., 1981. Field performance and phenotypic stability of tissue culture-propagated strawberries. - *J. Am. Soc. Hortic. Sci.*, 106 (5): 667-673.
- Theiler-Hedtrich R., 1981. Virus eradication from *Fragaria vesca* by meristem cultures ; preliminary results. - In Boxus P., Larvor P., 1987. *In Vitro Culture of Strawberry Plants*. - *Comm. Eur. Communities, Rep. EUR 10871. EN-ER*, 21-26.
- Thomsen A., 1987. Virus-free strawberry by meristem culture in Denmark. - In Boxus P., Larvor P., *In Vitro Culture of Strawberry Plants*. - *Comm. Eur. Communities, Rep. EUR 10871. EN-ER*, 39-40.
- Williams R.R., Taji A.M., 1991. Effects of temperature, gel concentration and cytokynins on vitrification of *olearia microdisca* (J.M. Black) *in vitro* shoots cultures. *Plant Cell, Tiss. And Org. Cult.*, 26: 1-6.
- Ziv M., 1991. Quality of micropropagated plants-vitrification. *In vitro Cell. Dev. Biol.*, 27: 64-69.
- Zrýd J.P., 1988. *Cultures de cellules, tissus et organes végétaux. Fondements théoriques et utilisations pratiques*. Première édition. Presses polytechniques romandes, CH -1015 Lausanne.