



République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère des études supérieures et de la recherche scientifique
Université Mouloud Mammeri Tizi Ouzou
Faculté des Sciences Biologiques et Agronomiques
Département de Biochimie et Microbiologie



Mémoire de fin d'études

En vue d'obtention du diplôme de Master II en biotechnologie

Option : Biotechnologies et Valorisation des Plantes

Thème :

**Influence de divers facteurs sur deux espèces ligneuses, le
Palmier Dattier *Phoenix dactylifera* L., et l'Olivier *Olea
europaea* L. par le biais de la morphogénèse in-vitro.**

Dirigé par :

- **M^{me} S. Bougdal Yakoub**, Professeur U.M.M.T.O

Présenté par :

- **M^{elle} Ouhadda Zohra**
- **M^{elle} Zeboudj Kamelia**

Devant le jury :

- Présidente : **M^{me} Boudiaf Nait-Kaci**, Maitre de conférences UMMTO.
- Promotrice : **M^{me} S. Bougdal Yakoub**, Professeur U.M.M.T.O.
- Examineur : **M^r Medjbeur**, Maitre-assistant UMMTO.

Année 2020/2021

Remerciements

Nous tenons d'abord à remercier Dieu pour la volonté et le courage qu'il nous a donné pour mener à terme ce travail et pour sa bienveillance.

*Notre promotrice **M^{me} S. Bougdal-Yakoub**; Docteur d'état es-Sciences en physiologie végétale et Professeur au département des sciences biologiques de l'université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou , pour avoir accepté d'encadrer ce travail, de nous avoir accueilli dans son laboratoire de culture in vitro (CIV) Faculté de médecine , et elle nous a donné toute liberté d'action en étant toujours présente pour les discussions , les corrections ainsi que la vérification du bon déroulement du travail . Pour cela, on tient à lui exprimer notre reconnaissance.*

*Notre responsable **M^{me} Boudiaf -Nait-Kaci** ; Maitre de conférences à l'université Mouloud Mammeri pour sa gentillesse et son aide le long de notre parcours et pour tous les efforts qu'elle a fourni.*

***Mr Medjbeur**, maitre-assistant à l'Université Mouloud Mammeri Tizi-ouzou, de nous avoir consacré son temps pour examiner le contenu de notre travail.*

On remercie également toutes les personnes qui nous ont aidé et encouragé, pour aboutir à ce modeste travail, qu'elles trouvent ici l'expression de notre sincère reconnaissance.

Dédicaces

Je dédie cet ouvrage
A mes très chers parents que nulle dédicace ne puisse
exprimer mes sincères sentiments pour leurs grands
sacrifices et leur soutien

A mes chers frères Mohamed et Ali
A mes chères belles sœurs Charlène et Amel
A mon prince Nael

A mes chères tantes et oncles
A ma chère cousine Alycia

A tous les ami(e)s qui m'ont aidé à faire ce travail
A toi qui a cru en moi

A tous les ami(e)s que j'ai connus durant ce travail
A toute la promotion Biotechnologies végétales et
valorisation des plantes

A toi Kamelia et à toute ta famille

Zohra

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail :

A la mémoire de mon père, que Dieu l'accueille dans son vaste paradis.

A toi qui m'a élevé, éduqué, encouragé ; à toi ma source d'amour et d'affection Maman je ne pourrais jamais assez te remercier que Dieu te protège.

A mes chères sœurs Djedjiga et Kenza.

A mes chères cousines.

A toute ma famille paternelle et maternelle sans exception.

A tout mes ami (e)s qui m'ont soutenu.

A l'ensemble de l'équipe pédagogique de l'Université Mouloud Mammeri T-O, aux professeurs qui m'ont aidé durant tout mon cursus.

A toute la promo Biotechnologies et Valorisation des Plantes.

A ma binôme Ouhadda Zohra, et ses parents qui nous ont toujours accompagnés et crus en nous.

Kamelia Zeboudj

2,4-D : l'acide 2,4-dichlorophénoxyacétique.
2iP : Isopentényladénine.
ADN : Acide désoxyribonucléique.
AIB : L'acide indole butyrique.
An : Annexe.
ANA : l'acide naphthalène acétique.
APG III: Angiosperm Phylogeny Group.
ARN m : Acide ribonucléique messenger.
CIM: Callus inducing Medium.
CRY1: Cryptochrome.
DN : DegletNour.
E S : Embryogenèse Somatique.
E Z: Embryogenèse Zygotiques.
FAO: Food and Agriculture Organization
J.-C : Jésus Christ.
HCl: Acide chlorhydrique.
IPA: l'Isopentényladénine.
KN: Kénitine.
LOV: Light Oxygen Voltage.
M100 : Milieu solide.
MAC: Méristème apical caulinaire.
MAR: Méristème apical racinaire.
MS : Murashige et Skoog.
NaOH: Soude.
NBB: Naphtol blue black.
P12,5: Milieu solide modifier 12,5g picloram.
P5 : Milieu liquide.
pH: Potentiel hydrogène.
PHR: Photolyaseread.
Phot : Phototropine.
Picloram : l'acide 4-amino-3,5,6trichloropicolinique.
RC: rouge claire.
RS: rouge sombre.
SCE: Suspension cellulaire embryogène.
SIM: Shoot inducing Medium.
TGZ: Tagaza.
TKB: Takerboucht.
UV: ultraviolette.
ZC : zone centrale.
ZM : zone médullaire.
ZP : périphérique.

Figure 1 : Distribution du Palmier dattier en Algérie. D’après Hannachi et al.,1998	3
Figure 2 : Pourcentage de Palmiers dattiers dans 5 pays du Maghreb. In Azzoug et Berrichi 2014.....	4
Figure 3 : Palme *feuille d’un Palmier adulte *(Munier, 1973).....	5
Figure 4 : Coupe longitudinale du fruit : la datte observée à la loupe au G x1 (Bougdal-Yakoub, 1984).....	6
Figure 5 : Représentation schématique d’une partie souterraine d’un Palmier dattier. (Zaid, 2011) GrX1.....	7
Figure 6 : Coupe transversale (a) et (b) de la graine sèche, (Bougdal-Yakoub, 1984).....	8
Figure 7 : Germination de la graine et développement de la jeune plante du Palmier dattier (Bougdal-Yakoub)	8
Figure 8 : Différentes phases du cycle cellulaire. D’après Epifanova et Terskikh (1969) in Bougdal-Yakoub, 2005	13
Figure 9 : Histoautoradiographies réalisées sur des coupes longitudinales axiales chez <i>Perilla nankinensis</i> . D’après Nougarède et Bronchart, 1965, in Bougdal-Yakoub , 2005.....	14
Figure 10 : Répartition de l’Olivier dans le monde (Argenson et al.1999)	17
Figure 11 : Les principales parties de l’Olivier <i>Olea europea</i> L. adulte (Argenson et al.1999)	19
Figure 12 : fleur d’Olivier <i>Olea europea</i> L. Ouverte (Soudani, 2016).....	20
Figure 13 : schéma d’une coupe longitudinale et du fruit de l’Olivier (var.Chemlal). D’après Bougdal-Yakoub ; 1990	20
Figure 14 : Morphologie de <i>Medica gotruncatula</i> d’après Zancarini (2012) in Cherfa	22
Figure 15 : Fruit et graine <i>Olea europea</i> L. var. Chemlal d’après Bougdal-Yakoub (2005) et var.Deglet-nour d’après Yahiaoui 2016.....	23
Figure 16 : Etapes d’extraction des extrémités de pétiole cotylédonaire var Deglet-Nour. D’aprèsYahiaoui 2016	24
Figure17 : Embryons d’ <i>Olea europea</i> ensemencés sur les milieux de culture.D’après Ould kaci et Bougdal-Yakoub 2017	25
Figure 18 : Technique du repiquage dans l’ANA à différentes concentrations. D’après Ouali et Saheb 2013.....	25
Figure19 : droits d’auteur.	
Figure 20 : Droit d’auteur.	
Figure 21 : Droit d’auteur.	
Figure 22 :Cals friables du cultivar Deglet-nour en culture sur milieu solide M ₁₀₀ . D’après Azzoug et Berrichi 2014	27
Figure 23 :Germination des graines de Palmier dattier (<i>Phoenix dactylifera</i> L.), var. Deglet-nour, (Laboratoire CIV, Université Mouloud Mammeri, Tizi-Ouzou, D’après Yahiaoui2016.	29
Figure 24 : Développement des embryons de Palmier dattier (<i>Phoenix dactylifera</i> L.), var Deglet-nour sur le milieu MS/2 en fonction du temps. D’après Bougdal-Yakoub et Yahiaoui2016.....	30
Figure 25 : Développement des extrémités cotylédonaires sur MS/2. D’après Bougdal-Yakoub etYahiaoui2016.....	31
Figure 26 : Développement des embryons d’olivier <i>Olea europea</i> (Var. Chemlal), sur les milieux MSm et MS/2. D’après Bougdal-Yakoub et Ould Kaci 2017	31
Figure 27 : Jeune plante d’ <i>Olea europea</i> L. obtenue par culture in-vitro sur milieu MS ₁₀ au 10 ^{ème} jour de culture D’après Ould Kaci 2017 et Bougdal-Yakoub.....	32
Figure 28 : Embryon d’ <i>Olea europea</i> L., cultivé sur le milieu MS. D’après Ouali et Saheb ;et Bougdal-Yakoub 2013	32
Figure 29 : Influence de la lumière bleue avec une concentration maximale et minimale de	

Listes des figures

saccharose sur le développement des embryons. D'après Oubacha et Bousmak 2010	33
Figure 30: Influence de la lumière blanche avec une concentration minimale et maximale de saccharose sur le développement des embryons D'après Oubacha et Bousmak 2010	34
Figure 31: Influence de la lumière bleue avec une concentration maximale et minimale de saccharose sur le développement des embryons. D'après Oubacha et Bousmak 2010	34
Figure 32: Cellules colorées par fluorescéine di-acétate (FDA) (G x 40).D'après Azzoug et Berrichi 2014.....	37
Figure 33: Aspects histologiques de cals friables et compacts obtenus chez le cultivar Tagaza (G x 40). D'après Azzoug et Berrichi 2014	38
Figure 34: histologie du tissu parenchymateux et des cellules embryogènes. D'après Azzoug Et Berrichi 2014	39

Chapitre 1 : Synthèse bibliographique**I. Première partie : le Palmier dattier**

I.1 Origine.....	3
I.2 Répartition géographique dans le monde et en Algérie	4
I.3 Intérêts de la culture du Palmier dattier	4
I.4 Les exigences écologiques du Palmier dattier.....	4
I.5 Les différentes variétés du Palmier dattier étudiées.....	5
5.1 Deglet-nour.....	5
5.2 Takerboucht.....	5
5.3 Tagaza	5
I.6 Taxonomie.....	5
I.7 Description morphologique.....	6
7.1 Partie aérienne	6
7.1.1 Le stipe (Le tronc).....	6
7.1.2 Les palmes.....	6
7.1.3 Les bourgeons	6
7.1.4 Les rejets	6
7.2 Appareil de reproduction.....	6
7.2.1 L'inflorescence.....	6
7.2.2 Fleurs.....	7
7.2.3 Fruits	7
7.3 Système racinaire.....	7
I.8 Cycle de développement	8
8.1 Stade 1 : graine	8
8.2 Stade 2 : phase germinative.....	8
8.3 Stade 3 : construction de la plante.....	9
8.4 Stade 4 : phase adulte végétative	9
I.9 Modes de multiplication chez le Palmier dattier (<i>Phoenix dactylifera</i> .L).....	9
9.1 Les méthodes traditionnelles (classique).....	9
9.1.1 La multiplication par graines (voie sexuelle).....	9
9.1.2 La multiplication par rejet (voie végétative)	9
9.2 Multiplication in vitro	9
9.2.1 Définition	9
9.2.2 Les exigences de la culture in vitro.....	10
9.2.3 Techniques de réalisation des cultures	10
• Support des milieux de culture	10
• Constitution des milieux de culture	10
• Régulateurs de croissance.....	10
- Auxines.....	10
- Cytokinines	11
9.3 Techniques de culture des tissus	11
9.3.1 Voie de l'organogénèse.....	11
- La rhizogénèse.....	11
- La caulogénèse	11
- La callogénèse	11
9.4 Les radiations lumineuses	11
9.4.1 Effet de la lumière sur la Germination.....	12
9.4.2 Types des signaux lumineux	12
• Phytochromes	12
• Cryptochromes.....	12
• Phototropines	12
9.5 Méristèmes	12
9.5.1 Types des méristèmes	12
• Méristème apical caulinaire (MAC)	12
• Méristème racinaire (MAR)	13
9.5.2 La culture des méristèmes).....	13
9.6 Marquage d'ADN.....	13
9.7 L'embryogenèse somatique.....	15
• Embryogenèse somatique directe.....	15

• Embryogenèse somatique indirecte	15
• La phase callogène.....	15
• La phase embryogène	15
9.8 La suspension cellulaire	16
9.8.1 Initiation d'une suspension cellulaire	16
9.8.2 Maintenance d'une suspension cellulaire.....	16
9.9 Histologie	16
II. Deuxième partie : l'Olivier <i>Olea Europea</i>	17
II.1 L'Olivier dans le monde et dans l'Algérie.....	17
II.2 Historique.....	17
II.3 Classification botanique et systématique de l'olivier	18
II.4 Description de la morphologie de l'Olivier	18
4.1 Système aérien	18
4.1.1 Tronc	18
4.1.2 Charpentières	18
4.2 Système racinaire	19
II.5 Exigences de l'olivier	20
5.1 Exigences climatiques	20
5.2 Exigences hydriques.....	20
5.3 Exigences édaphiques	21
III. D'autres espèces ont été sélectionnées.....	21
III.1 <i>Medicago truncatula</i>	21
III.2 <i>Chlorella sp.</i>	21
Chapitre 2 : Matériel et Méthodes	22
I. Matériel	22
I.1 Matériel végétal utilisé	22
II. Méthodes.....	22
I.1 Effet des différents milieux sur l'extraction des embryons et les extrémités cotylédonaire chez le Palmier dattier et l'Olivier.....	22
II.2 Influence des phytohormones sur la redétermination des méristèmes chez l'Olivier	24
III.3 Influence des traitements lumineux chez <i>Phoenix dactylifera L</i>	25
3.1 Influence de la lumière Bleue et blanche	25
3.2 Influence de la lumière (Rouge RC/RS)	26
3.3 La transdetermination chez le Tabac	26
3.4 Marquage d'ADN.....	26
VI.4 La contribution à la multiplication de cals embryogènes et l'initiation de la suspension cellulaire chez trois cultivars de Palmier dattier (Deglet-nour, Takerboucht et Tagaza)	26
Chapitre 3 : Résultats et discussion	28
I. Résultats	29
I.1 Effet des différents milieux sur l'extraction des embryons et les extrémités cotylédonaire chez le Palmier dattier <i>Phoenix dactylifera</i> et l'Olivier <i>Olea europea L</i>	29
II.2 Influence des phytohormones sur la redétermination des méristèmes chez l'Olivier	32
III.3 Influence des traitements lumineux chez <i>Phoenix dactylifera L</i>	33
3.1 Influence de la lumière blanche et Bleue	33
3.2 Influence de la lumière (Rouge RC/RS)	35
3.4 Marquage d'ADN.....	36
VI.4 La contribution à la multiplication de cals embryogènes et l'initiation de la suspension cellulaire chez trois cultivars de Palmier dattier (Deglet-Nour, Takerboucht et Tagaza)	36
II. Discussion	39
Conclusion générale.....	49
Références bibliographiques	
Annexes	
Résumé	

Dans ce présent mémoire nous présentons une synthèse bibliographique qui porte sur une étude in-vitro sur le milieu de Murashige et skoog (1962) avec l'influence de divers facteurs (hormonaux, lumineux, et dans différents milieux de culture MS, CIM, SIM) sur deux espèces ligneuses une monocotylédone le Palmier dattier et une dicotylédone l'Olivier.

Le Palmier dattier, *Phoenix dactylifera* L., appartient à la famille des Arecaceae, famille importante des Monocotylédones et la plus ancienne des Angiospermes, selon l'évolution végétale actuelle (Burger1981). L'ensemble des pays phoenicicoles et plus particulièrement l'Algérie avec la Tunisie possèdent la meilleure variété mondiale à savoir, la Deglet-nour. L'Algérie vise à augmenter leur production pour satisfaire d'abord la consommation locale et pour en exporter.

Le palmier dattier présente un intérêt majeur pour les pays d'Afrique du Nord, dont une partie importante se situe dans des zones arides et semi-arides. A l'ombre des palmiers, grâce à l'irrigation se développent des cultures sous étages (arbres fruitiers, céréales, cultures maraîchères). Il demeure l'arbre le plus caractéristique des oasis et l'économie des Wilayates du sud de l'Algérie. De plus, l'espèce est sujette à de nombreuses maladies dont la plus ancienne et la plus redoutable reste le " Bayoud" ou Fusariose du Palmier dattier (Rahmania de L'U.S.T.H.B Faculté d'Alger). Pour favoriser l'agronomie saharienne, il s'avère indispensable de rénover le verger phoenicicole. Dans le cadre de nos recherches, le but recherché est la maîtrise et l'amélioration des méthodes de multiplication in-vitro.

Les travaux antérieurs (Bougdal-Yakoub, 1984-1987- 2005-2010), ont tout d'abord eu pour objet l'étude du comportement en culture in vitro de plantules et d'explants de *Phoenix datylifera* L. et *Olea europoea* L. soumis à l'influence de divers régulateurs de croissance, et à l'influence des radiations rouges (RC/RS).D'autres travaux sont effectués sur le Merisier. (Lamrioui et al. 2011).De même pour la recherche d'un biocarburant par le biais de la Chlorelle *Chlorella sp.* (Ghobrini et al. 2019).

L'olivier *Olea europea* L. est une espèce ligneuse, originaire de l'Asie Mineure ou de la Syrie. Elle occupe une place importante dans l'arboriculture fruitière méditerranéenne. L'olivier a trop longtemps été considéré comme un arbre rustique produisant des fruits sans l'intervention de l'Homme.

En Algérie, l'oléiculture représente l'activité arboricole la plus dominante du point de vue superficie, mais néanmoins la plus marginalisée. Elle est caractérisée par un vieillissement avancé des arbres, et un état sanitaire déplorable.

Dans cette étude, nous nous sommes intéressés à la variété Chemlal, variété locale, dont l'huile est d'excellence qualité. Notre but est la redétermination des plantes d'Olivier sous l'influence de différents régulateurs de croissance.

Notre étude projette des effets comparés à d'autres espèces dont :

Le Merisier, *Prunus avium* mis en culture in vitro avec des phytohormones à différentes concentrations (Mansseri-Lamrioui et al, 2011).

Le Tabac *Nicotiana tabacum*, régénéré par le biais de la transdetermination en utilisant différentes hormones végétales. Les méristèmes racinaires cultivés sur CIM (Callus inducing medium) et repiqués sur SIM (Shoot inducing medium), ont régénéré des méristèmes caulinaires (Bougdal-Yakoub et al. 2014).

La luzerne *Medicago truncatula* L, deux lignées génétiques A17 et 2HA ont régénéré des méristèmes caulinaires, légumineuse possédant un système génétique simple choisie comme espèce modèle, mis en germination dans différents milieux (D'après Belharet et Cherfa 2013).

La chlorelle, *Chlorella sp*, est une algue unicellulaire eucaryote de la famille des Chlorellaceae, mise en culture afin d'étudier sa croissance sous l'influence de nombreux paramètres physico-chimiques (la lumière, la nature du milieu).

I. Le Palmier dattier

I.1 Origine

De nombreuses hypothèses ont été émises sur l'origine du Palmier dattier. Wertih (1933) en Bougdal-Yakoub (1984), a résumé les tendances en les classant en deux groupes. Dans le premier groupe, le dattier provient d'une ou plusieurs formes sauvages. Dans le second, il provient de l'hybridation naturelle de plusieurs *Phoenix*. Pour ce qui est du lieu de sa domestication, les vestiges archéologiques laissent penser que les palmeraies auraient existé dans le Golfe Arabique, depuis 5000 ans av. J.C. (Battesti, 2005) ; plaçant ainsi le Palmier dattier comme l'un des premiers arbres fruitiers ayant été cultivé par l'homme dans l'ancien Monde.

I.2 Répartition géographique dans le monde et en Algérie

Le Palmier dattier est localisé dans l'hémisphère nord, là où les conditions climatiques le permettent. Le Maghreb compte actuellement plus de 26 millions de palmiers dattiers, repartis sur les 5 pays (Fig.1;2).

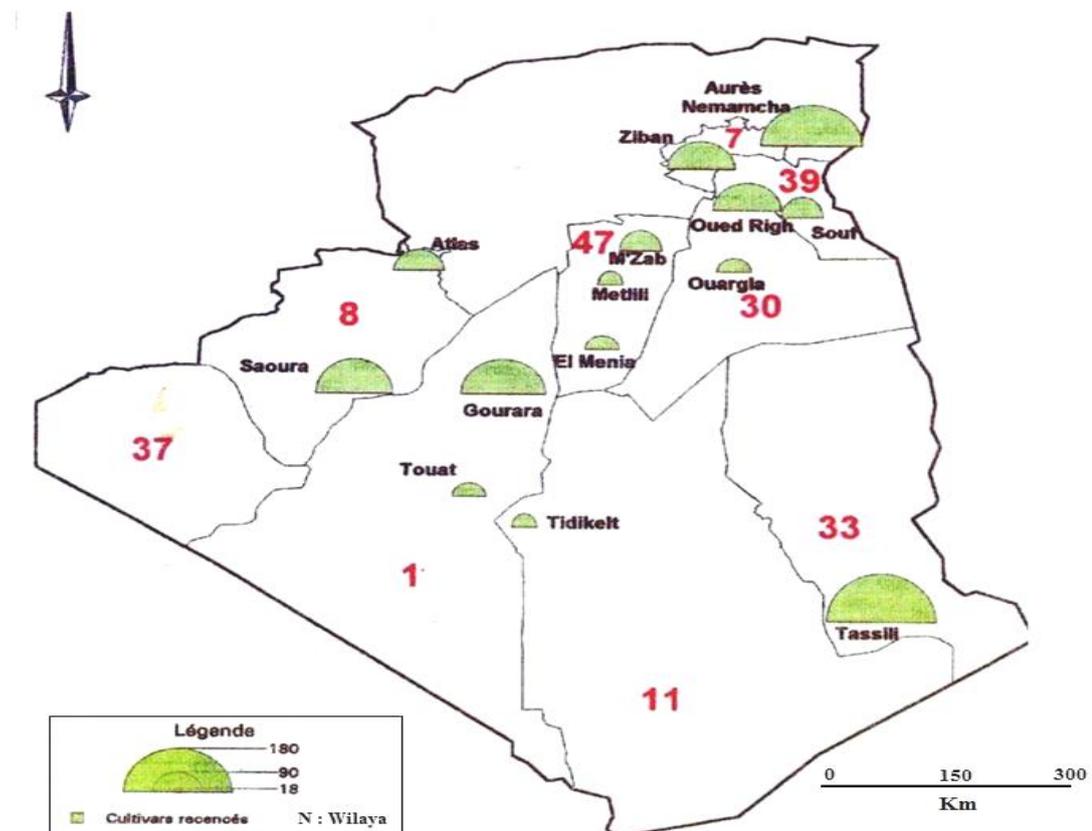


Figure 1 : Distribution du Palmier dattier en Algérie. D'après Hannachi et al., 1998.

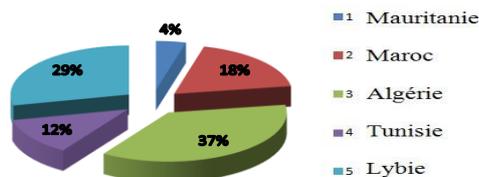


Figure 2 : Pourcentage de Palmiers dattiers dans 5 pays du Maghreb. In Berrichi 2014

I.3 Intérêts de la culture du Palmier dattier

Le Palmier dattier joue plusieurs rôles dans l'économie et dans la vie des habitants du Sahara. Il constitue une nourriture d'appoint non négligeable. Le Palmier dattier constitue l'élément fondamental de l'écosystème oasien.

Pour l'intérêt pharmaceutique la décoction de la datte est indiquée comme un calmant pour les maladies nerveuses, elle favorise la sécrétion d'urine, traite les hémorroïdes. (Munier, 1973).

I.4 Les exigences écologiques du Palmier dattier

Le Palmier dattier est une plante sensible au froid, elle pousse sur des terrains fertiles et bien drainés. Cependant, sa culture exige un certain nombre de conditions climatiques telles qu'une température élevée comprise entre 30° à 40°C et la lumière. Les Palmiers les mieux éclairés sont toujours les plus chargés en fruits (Toutaine, 1967 in Drira, 1985).

I.5 Les différentes variétés du Palmier dattier étudiées

5.1 Deglet-nour

Description	Datte Deglet-nour de couleur ambrée à brune
Conservation	9 à 12 mois – température ambiante de 0°C à 4°C
Période de récolte	Octobre à décembre
Région	Tozeur et Kébili
Usage	Consommation ou usage industriel
Etat	Sans noyaux
Type	Grasse à demi-sèche avec une teneur en eau comprise entre 18% et 22%

5.2 Takerboucht

Nom vernaculaire	Takerboucht
Sens du nom	Datte ronde
Importance	Peu fréquente
Date de maturité	Octobre
Date de récolte	Octobre
Utilisation de la datte	Fraiche
conservation	Aucune
Appréciation	Datte commune
Digestibilité	Datte froide
Commercialisation	Aucune

5.3 Tagaza

C'est un grand palmier, qui pousse vite s'il est bien arrosé. Idéalement, il prospère en situation désertique aride, à condition d'avoir suffisamment d'eau à disposition.

I.6 Taxonomie

La classification botanique du Palmier dattier d'après Munier (1973).

Embranchement ... Phanérogames.
 Sous-embranchement.....Angiospermes.
 Classe.....Monocotylédones.
 GroupePhoenocoides.
 Famille..... Arecaceae.
 Sous-familleCoryphoideae
 Genre..... *Phœnix*.
 Espèce.....*Phœnix dactylifera* L.

I.7 Description morphologique

7.1 Partie aérienne

7.1.1 Le stipe (Le tronc)

Il est généralement cylindrique au-dessus de sa région basale, l'élongation du tronc s'effectue dans sa partie coronaire par le bourgeon terminal ou phyllophore.

7.1.2 Les palmes :

Elles représentent des feuilles chez *Phoenix dactylifera* L. (Fig.3).

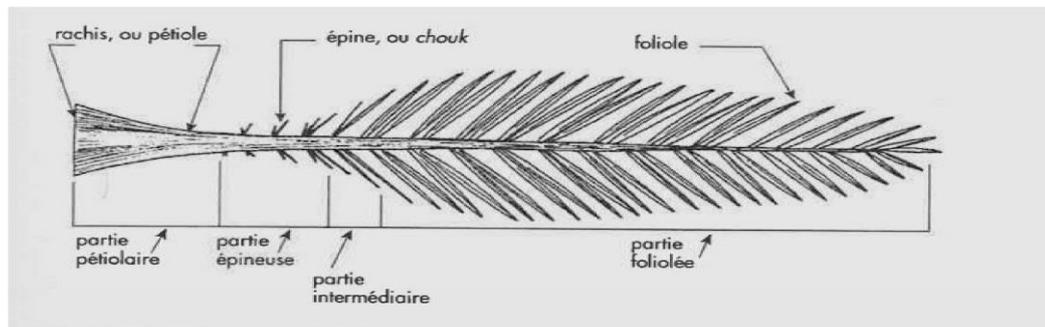


Figure 3: Palme *feuille d'un Palmier adulte *(Munier, 1973)

7.1.3 Les bourgeons

A l'aisselle de chaque palme, se trouve un bourgeon axillaire qui peut se développer pour donner naissance à un rejet, à la base du stipe ou aérien attaché au tronc.

7.1.4 Les rejets

Le rejet est une jeune pousse du végétal, qu'il est possible de planter pour obtenir un nouveau palmier, celui-ci sera choisi par l'homme parmi une sélection des meilleurs palmiers (Sbiai, 2011).

7.2 Appareil de reproduction

7.2.1 L'inflorescence

Formée à partir de bourgeons, l'inflorescence est une grappe d'épis (spadices ou régimes) de couleur vert-jaunâtre, chaque régime ne porte que des fleurs de même sexe. (Amorci, 1975; Peyron, 2000; Zaid et al. ,2002).

7.2.2 Fleurs

Les fleurs du dattier sont déclinées, (unisexuées), pratiquement sessiles, pédoncules très courts. Elles sont rassemblées en épi composé, « le spadice ». Le dattier est une espèce dioïque ; chaque individu porte des inflorescences de même sexe.

7.2.3 Fruits

Les constituants du fruit sont représentés dans la Figure 4.

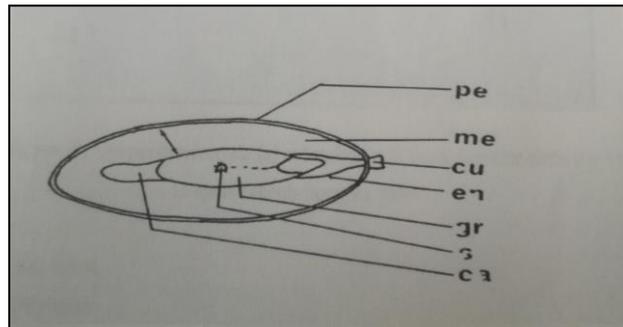


Figure 4 : Coupe longitudinale du fruit : la datte observée à la loupe au G X 1
Pe : péricarpe ; me : mésocarpe ; en : endocarpe ; gr : graine ; ca : cavité ou loge de la graine ; S : saillie ; Cu : cupule (périanthe) adhère souvent au fruit (Bougdal-Yakoub, 1984)

7.3 Système racinaire :

Le système racinaire est dit fasciculé, (disposé en faisceaux de racines), parfois ramifié avec beaucoup ou peu de radicelles, selon qu'elles se trouvent ou non au contact d'amendements humides. D'après Zaid (2001), On distingue quatre grandes zones de racines (Fig.5) : La zone des racines de respiration ; La zone des racines de nutrition ; La zone supérieure aux racines d'absorption ; La zone inférieure aux racines d'absorption.

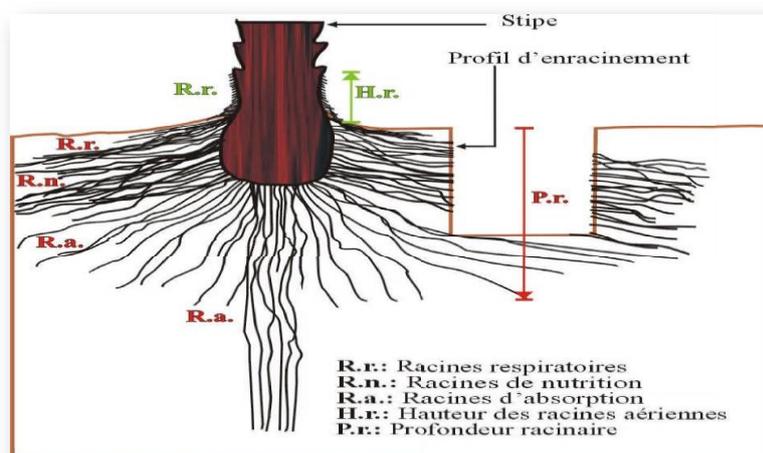


Figure 5 : Représentation schématique d'une partie souterraine d'un Palmier dattier. (Zaid, 2001).

I.8 Cycle de développement

Selon Bougdal-Yakoub et (1984) Riedacker (1993), Le cycle végétatif du Palmier dattier comporte quatre stades:

8.1 Stade I : graine

Elle est représentée dans la Figure 6

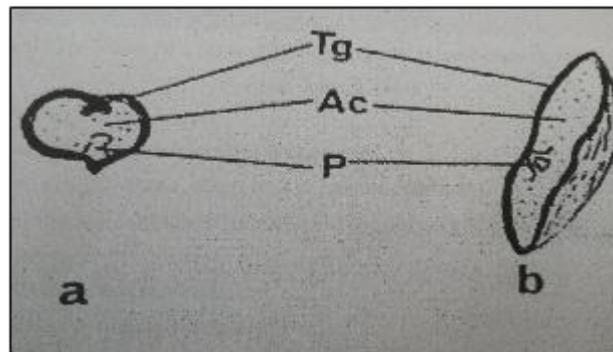


Figure 6 : Coupes transversale (a) et longitudinale (b) de la graine sèche (Gr x 1)
Tg : Tégument ; Ac : Albumen ; P : Plante. D'après Bougdal-Yakoub, 1984

8.2 Stade 2 : phase germinative

A ce stade, la plantule vit des réserves de l'albumen. La première feuille est de forme linéaire et lancéolée. Cette forme est une des caractéristiques du genre *Phoenix* (Fig.7).

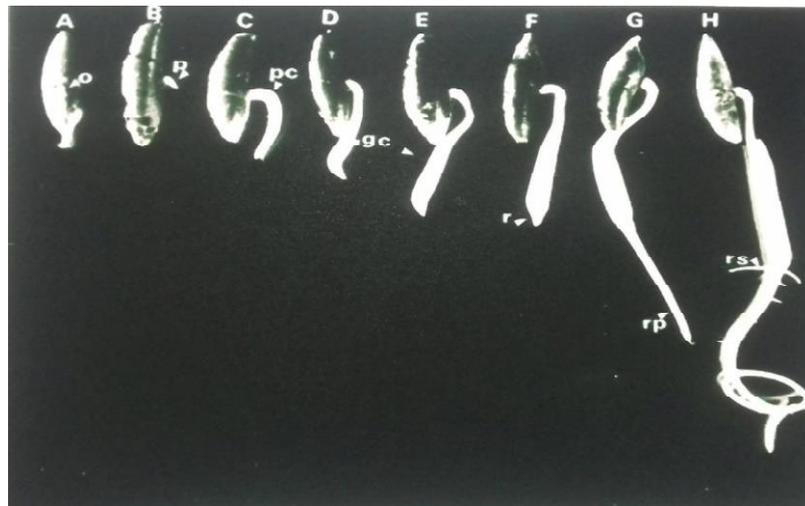


Figure 7 : Germination de la graine et développement de la jeune plante du Palmier dattier A : soulèvement de l'opercule (O ; B : 10^{ème} jour de la germination, sortie de la future plante (p) ; C : 15^{ème} jour allongement du pétiole cotylédonaire (pc) ; D et E : allongement de pétiole cotylédonaire (pc) et épaissement de la gaine cotylédonaire(gc) ; F : début de l'apparition de la racicule (r) ;G : allongement de la racine principale (rp) ; H : formation des racines secondaires (rs).(D'après Bougdal-Yakoub, 1984)

8.3 Stade 3 : construction de la plante

C'est la phase post germinative, elle aboutit à la constitution de l'axe primaire. La plante devient autotrophe et son système vasculaire doit se construire. Durant cette phase on observe une série de feuilles à limbe paripenné puis penné avec une insertion spiralée caractéristique du genre *Phoenix*.

8.4 Stade 4 : phase adulte végétative

Durant cette phase, le dattier va construire son tronc ou stipe et acquérir son « port de palmier » ; extension continue de l'axe végétatif. Durant cette phase il produit essentiellement des feuilles et accumule des réserves, elle dure de 3 à 8 ans.

I.9 Modes de multiplication chez le Palmier dattier (*Phoenix dactylifera* L.)

9.1 Les méthodes traditionnelles (classiques)

9.1.1 La multiplication par graines (voie sexuelle)

Egalement appelée la propagation sexuelle, bien utile pour des fins de reproduction, n'est pas une bonne méthode de multiplication végétative du Palmier dattier. (Zaid, 2001).

9.1.2 La multiplication par rejet (voie végétative)

Ce sont des ramifications qui se développent à partir des bourgeons axillaires à la base du tronc de la plante mère, et par conséquent les fruits seront de la même qualité que ceux de la plante mère et assure l'uniformité des produits. (Zaid, 2001).

9.2 Multiplication in vitro

9.2.1 Définition

L'in-vitro c'est toute exploration ou expérimentation biologique qui se fait en dehors de l'organisme d'origine (dans des tubes à essai, éprouvettes, boîtes de Pétri, etc.).

C'est une technique de multiplication végétative non sexuée qui vise à régénérer une plante à partir de tissus végétaux ou de cellules mis en culture dans un milieu artificiel spécifique, dans un environnement contrôlé (température, pH, éclairage...), et dans des conditions de stérilisations strictes.

Cette dernière est basée sur la caractéristique des cellules végétales à savoir la totipotence, prélevées sur un organe quelconque de la plante, elles ont le pouvoir de reconstituer un individu identique à la plante mère.

9.2.2 Les exigences de la culture in vitro

L'asepsie est la première condition pour la réussite d'une culture, ce qui implique une stérilisation des tissus, un prélèvement aseptique ainsi que la réalisation des conditions permettant le maintien à l'abri des contaminations microbienne et fongique (Bougdal-Yakoub, 2005), un laboratoire bien équipé présentent tous les critères de réalisation de cultures. La qualité du travail doit être vigoureuse et la maîtrise des gestes et techniques s'impose ; Choisir un matériel végétal sain ; Toute culture nécessite un suivi journalier et une surveillance pointue des développements et d'éventuelles anomalies qui doivent impérativement être éliminées (Himour, 2012).

Toutefois la culture in vitro est influencée par certains facteurs ou paramètres qui viennent assurer son bon fonctionnement. Parmi ces facteurs nous retrouvons : La lumière et la photopériode ; La température ; Le support du milieu de culture ; Le saccharose et les vitamines ; Les régulateurs de croissance.

9.2.3 Techniques de réalisation des cultures

- **Support des milieux de culture**

Il existe une multitude de milieux de culture. Ceux-ci doivent fournir à la plante tous les éléments nutritifs dont elle a besoin. On distingue deux types de milieux : Ceux ayant une consistance « liquide » et servant aux cultures de cellules et Ceux « solides », ayant la consistance d'un flan, servant aux cultures de tissus, bourgeons, racines ou cals (Quennoz, 2001).

Le milieu MS, est enrichi de divers éléments, constitué de sels minéraux, substances organiques (sucre, vitamines..), l'eau, l'agent gélifiant (la gélose) pour solidifier les milieux.

- **Constitution des milieux de cultures :**

Sels minéraux (macroéléments, microéléments) ; les vitamines ; les acides aminés ; les substances organiques (sucre et charbon actif). (An.3 ; Tab 2).

- **Régulateurs de croissance**

Un régulateur de croissance est défini comme étant, une substance qui, suivant sa concentration absolue ou relative dans le milieu, peut supprimer, permettre ou modifier sous certaines conditions les processus de cytodifférenciation (Street, 1977). On distingue :

- **Auxines :**

Les auxines agissent principalement sur l'élongation cellulaire. Elles participent aux phénomènes de phototropisme, de géotropisme et de la dominance apicale, la différenciation

cellulaire. La synthèse s'effectue au niveau des jeunes feuilles, dans les bourgeons en activité, au niveau des ébauches florales et des jeunes fruits. L'auxine naturelle la plus importante est : L'acide indole acétique (AIA), première substance de croissance isolée chez les végétaux (Went, 1921 in Guignard, 2000). Son action dépend de sa concentration et de ses interactions avec les autres régulateurs (Louerguoui, 1988). Parmi les auxines on peut citer : AIB (acide indolybutyrique), ANA (acide naphthalèneacétique), 2,4 D (acide dichlorophénoxyacétique).

- Cytokinines

La première cytokinine naturelle, est la zéatine, (1989), la seconde est l'isopentényladénine (IPA) (Auge., 1989). Depuis plus d'une trentaine de molécules ont été isolées et identifiées (Guignard, 2000). Toutes les plantes possèdent des cytokinines, élaborées essentiellement par les racines et également au niveau des embryons. L'équilibre hormonal, chez un végétal est lié à son transport. En culture in-vitro elles assurent la balance entre la formation de racines et celle des bourgeons (Guignard, 2000).

9.3 Techniques de culture des tissus

La multiplication in-vitro, permet la propagation à grande échelle et la sélection des cultivars résistants aux maladies. Deux méthodes différentes de culture in-vitro ont été déployées pour le palmier dattier : Voie de l'organogénèse et la Voie de l'embryogénèse somatique.

9.3.1 Voie de l'organogénèse

- **La rhizogénèse** : c'est la néoformation et la croissance de racines obtenues lorsque le rapport auxine / cytokinine est élevé.

- **La caulogénèse** : désigne à la fois l'initiation et le développement des bourgeons terminaux des axillaires (produit par les assises cellulaires de la tige) et adventifs (former dans des endroits inhabituels, sur les différents organes de la plante) ; ou néoformés sur un cal.

- **La callogénèse** : obtention de cal, cellules indifférenciées à partir d'organes (feuilles, racines...). Le cal est coupé en microcals. Ces derniers sont repiqués sur un milieu neuf.

9.4 Les radiations lumineuses

Les végétaux qui ont évolué dans un environnement où la lumière est un facteur prépondérant ont mis en place au cours de l'évolution des systèmes de perception de lumière à différentes longueurs d'onde capables d'avoir un effet sur différentes phases du développement (Bouly, et al, 2012).

9.4.1 Effet de la lumière sur la Germination

Selon Rollin 1970 ; la germination d'un certain nombre de semences est retardée ou inhibée par la lumière blanche (400-800 nm). En général, de courtes irradiations ralentissent la vitesse de germination sans en modifier le pourcentage, par contre, de longues expositions à la lumière ont un effet inhibiteur, même dans des conditions favorables (humidité, aération, température). Cependant, après une exposition suffisante à la lumière, la germination peut se poursuivre même à l'obscurité.

9.4.2 Types de signaux lumineux

La perception du signal lumineux est assurée principalement par 3 familles de photorécepteurs suivant la longueur d'onde perçue :

- **Phytochromes**

Les phytochromes sont des chromoprotéines solubles dimériques, qui absorbent la lumière rouge (660nm pour le rouge clair RC, et 730nm pour le rouge sombre RS)

- **Cryptochromes**

Des photorécepteurs à la lumière bleue (400-490 nm) et ultraviolette (UV-A, 315-380 nm), présents dans tous les organes et tissus des plantes, cultivés à l'obscurité ou à la lumière (Bouly, et al, 2012).

- **Phototropines**

Les phototropines sont des protéines associées à la membrane, constituées de deux domaines LOV (Light Oxygen Voltage) en position N-terminale et d'un domaine sérine / thréonine kinase à l'extrémité C-terminale. On connaît deux phototropines chez *Arabidopsis thaliana* PHOT1 et PHOT2.

9.5 Méristèmes

Au cours de l'embryogenèse, une structure simplifiée est mise en place, elle comprend deux populations de « cellules-souches » indifférenciées qui se multiplient activement :

Le méristème racinaire et le méristème caulinaire.

9.5.1 Types des méristèmes

- **Méristème apical caulinaire (MAC)**

Le méristème apical caulinaire (MAC), est un système dynamique qui produit continuellement des cellules qui entrent dans la constitution de la tige et des feuilles. Il est caractérisé par un équilibre entre la production de cellules indifférenciées et la différenciation des

cellules constituant les nouveaux organes. Trois domaines, ou zones ont été définis sur la base de critères cytologiques : la zone centrale (ZC), la zone périphérique (ZP) et la zone médullaire (ZM).

- **Méristème racinaire (MAR)**

Le méristème apical racinaire est lui aussi formé durant l'embryogenèse. Il élabore les tissus de la racine et la coiffe, il est uniquement histogène.

Dans une racine, la division, l'élongation et la différenciation cellulaires peuvent être suivies linéairement dans trois zones qui se recouvrent : la zone de division cellulaire, la zone d'élongation et la zone de différenciation.

9.5.2 La culture des méristèmes :

Cette technique est utilisée pour l'éradication de nombreuses maladies (viroses, mycoses, bactérioses...) et a permis la régénération d'un grand nombre d'espèces saines (Toute, 1998).

9.6 Marquage d'ADN

La prolifération cellulaire dans les tissus méristématiques est le résultat de processus séquentiels que l'on reconnaît cytologiquement comme étant le cycle cellulaire. (Fig. 8) Une cellule passe par une série d'événements dont l'un est la mitose. La cellule se divise et les deux cellules filles passent à leur tour par les mêmes événements.

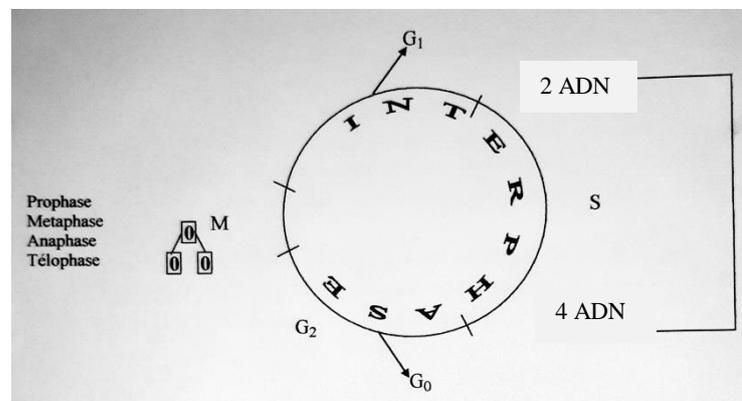


Figure 8 : Différentes phases du cycle cellulaire. G₁, période située entre la mitose (M) et la synthèse de l'ADN (S) ; S, stade de synthèse de l'ADN ; G₂, période située entre la fin de S et le début de M. ; M, mitose ; G₀, stade pendant lequel les cellules ne sont pas proliférantes en G₁ ou en G₂ –Epifanova et Terskikh, 1969) in Bougdal-Yakoub, 2005.

Howard et Pelc 1953 dans d'autres expériences ont apporté plus de précisions, à savoir que, dans ces cellules seulement une période de 6 heures sur un total de 30 heures, concerne la synthèse de l'ADN, période dite phase S. La synthèse de l'ADN a été déterminée par comptage de noyaux marqués sur des autoradiographies de sections longitudinales axiales de méristèmes caulinaires

ayant incorporé de la thymidine tritiée durant 6 heures (Bernier et Bronchart, 1964 et Bougdal-Yakoub 2005).

Pedurant (1970) a réalisé des techniques d'autoradiographie sur *Zea mays*. L'incorporation d'un précurseur d'ADN et l'étude du métabolisme de l'ARN conduisent au même schéma structural, à savoir l'existence d'une zonation identique à celle observée chez les dicotylédones.

D'autres travaux ont été réalisés chez *Perilla anankinensis* par Nougarede et Bronchart (1965). Les études sont en relation avec les conditions photopériodiques, et établies au cours des différentes phases de développement. Il en ressort qu'au cours de la phase végétative, la synthèse d'ADN et la teneur en ARN sont les plus importantes dans les cellules latérales de l'apex. Durant la phase préflorale, les valeurs obtenues pour l'ADN sont très semblables entre les deux zones. Durant la phase reproductrice, la zone latérale est plus active que la zone axiale (mais cette zonation est différente de celle de la phase végétative) (Fig. 9a, b, c).

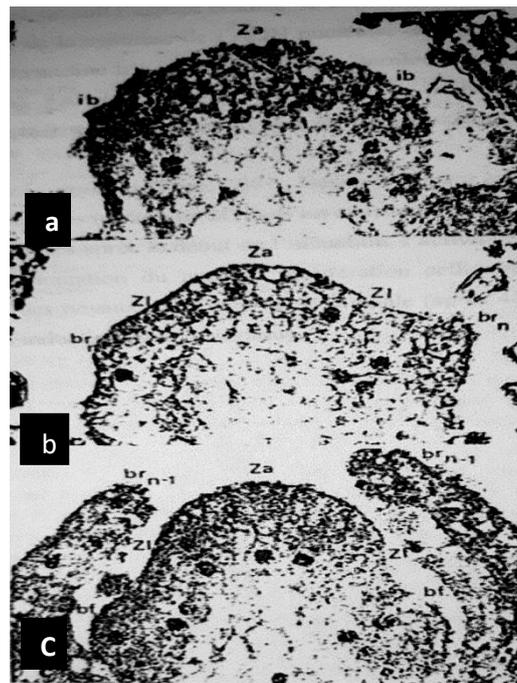


Figure9 : Histoautoradiographies réalisées sur des coupes longitudinales axiales chez *Perilla nankinensis* ., Photopériode de 8 heures. a, initiation de deux bractées opposées de rang n, ib, et synthèse d'ADN à leur niveau ;Za : zone axiale; b, surrection des bractées de rang n, brn, entamant l'apex ; noyaux marqués localisés aussi bien dans la zone axiale, Za, que dans la zone latérale, ZI; c, à l'aisselle des bractées de rang n-, 1, br_{n-1} et br_{n-1} soulèvement des méristèmes floraux, bf, où l'on remarque une forte incorporation de thymidine tritiée dans l'apex, noyaux marqués à la fois dans la zone axiale, Za, et latérale, ZI. D'après Nougarede et Bronchart, 1965.

Les principaux événements qui s'effectuent lors de l'induction florale, sensiblement identiques quel que soit l'espèce étudiée, se déroulant selon la même séquence, à savoir : un accroissement de la synthèse de l'ADN nucléaire décelé par histoautoradiographie après

incorporation de la thymidine tritiée (Evans, 1964 ; Bernier et coll., 1967 ; Arzee et coll., 1970 ; Taillandier, 1971). La phase d'induction florale se traduit par une activation de l'ensemble des cellules du méristème et en particulier de la réactivation des cellules de la zone axiale.

L'état reproducteur du *Silene armeria* (Noin, 1981 ; Besnard-Wibaut et al. 1983) montre une augmentation du pourcentage des noyaux en 2C dans les trois territoires apicaux (10 à 15%), 24h après l'induction. Puis 72 heures après le début de l'induction, l'activité mitotique s'accroît dans la zone axiale. Cette augmentation du taux de prolifération cellulaire est précédée par un accroissement significatif des noyaux à 4C dans la zone axiale (après 48 heures). Ces résultats sont obtenus au cours de l'induction photopériodique.

9.7 L'embryogenèse somatique

C'est une forme de multiplication végétative qui permet d'obtenir une multitude de plantules identiques génétiquement à la plante donneuse d'explants. En effet dans une graine, nous trouvons la future plante sous forme d'embryon (embryon zygotique) qui résulte de la reproduction sexuée. Cette technique consiste alors à provoquer l'apparition d'embryons à partir des tissus végétaux mis en culture in vitro qui provoquent de nombreuses divisions cellulaires. (Himour et Mollier, 2012). Cette technique est subdivisée en :

- **Embryogenèse somatique directe**

Elle consiste à provoquer la néoformation des embryons sur des cellules somatiques des différents explants mis en culture, en subissant une différenciation, évoluant directement en embryons.

- **Embryogenèse somatique indirecte**

Dans cette technique le passage par un stade intermédiaire de différenciation cellulaire qui aboutit à la formation d'un cal est primordial, l'embryon donc n'apparaît pas directement sur l'explant mis en culture, car le cal sera le siège de la redifférenciation aboutissant à la formation d'embryons qui à leur tour donneront naissance à des plantules entières. L'embryogenèse somatique indirecte passe par deux phases :

-La phase callogène : Processus par lequel on aboutit à la néoformation, sur l'explant initial mis en culture, d'un amas cellulaire non structuré et inorganisé appelé « cal » (Margara, 1989).

-La phase embryogène : Les embryons somatiques peuvent se développer après quelques semaines lors du transfert des cals sur un milieu de culture. L'embryon somatique est

caractérisé par une structure bipolaire, un pôle qui donne les feuilles et un pôle qui donne les racines (Auge et al., 1989).

9.8 La suspension cellulaire

Ce sont des cellules en culture dans un milieu liquide maintenues en mouvement ou en agitation. (Auge et al. 1989, obtenue aussi avec un shaker Bougdal-Yakoub, 2005).

La suspension cellulaire est utilisée pour faire croître des cellules hors de leur organisme (ex vivo) ou de leur milieu d'origine, mais de manière à conserver les fonctions spécifiques de chaque tissu, dans un but d'expérimentation scientifique ou de fécondation *in vitro*.

9.8.1 Initiation d'une suspension cellulaire

L'initiation d'une suspension cellulaire embryogène (SCE) de bonne qualité dépend de la qualité et du volume du cal embryogène sélectionné. Une observation attentive et régulière du cal idéal est nécessaire pour la sélection du cal embryogène qui est à l'équilibre entre la bonne taille et la bonne phase de développement (Panis et Thineh, 2001).

9.8.2 Maintenance d'une suspension cellulaire

Bien que les cellules se multiplient facilement dans un milieu liquide, les suspensions qui en résultent peuvent avoir des potentiels de régénération variables (Georget et al., 2000).

Avec les suspensions cellulaires, il est possible de produire des métabolites secondaires de même caractéristique que celles de la plante d'origine comme l'Alcaloïde indolique chez *Catharanthus roseus* (Tabata, 1988).

La réformation des tissus a besoin de méthodes cytologique et histologique pour observer in situ l'origine de la prolifération.

9.9 Histologie

« Histologie » signifie étymologiquement, science des tissus. Elle étudie la structure des organismes vivants, les rapports constitutifs et fonctionnels entre leurs éléments, ainsi que le renouvellement des tissus.

L'histologie s'intéresse à la morphologie des cellules, mais aussi à leur fonctionnement et à la conception des tissus. L'histologie a pour but de mettre en évidence au sein de la cellule, in situ (contrairement à la biochimie), les protéines, l'ADN et l'ARN_m. En culture in vitro l'histologie est employée comme un guide permettant d'apprécier l'évolution bonne ou mauvaise des cultures au cours du temps et de citer l'origine des néoformations (Bougdal-Yakoub, 1984).

II. Deuxième partie : l'Olivier *Olea europea L.*

II.1 L'Olivier dans le monde et en Algérie

L'Olivier *Olea europea L.*, occupe actuellement la 24^{ème} place des 35 espèces les plus cultivées dans le monde (Breton et al 2006) ; avec une superficie de 8,1 millions d'hectares. (Abdelhadi. ; 2005).

En Algérie, il représente l'une des espèces arboricoles occupant une superficie totale de 300 000 ha, soit 4,2% des plantations dont les deux tiers sont concentrés en Kabylie.

Traditionnellement, les oliviers sont multipliés par des méthodes classiques telles que la culture de semis de noyaux suivi de greffage etc. Ce sont des méthodes longues et à faible rendement (Bougdal-Yakoub et al. ; 2007).

Les vergers de Kabylie sont connus pour la variété « Chemlal » productive dans une proportion de 90%, avec un faible taux d'enracinement 19%.(Fig.10).

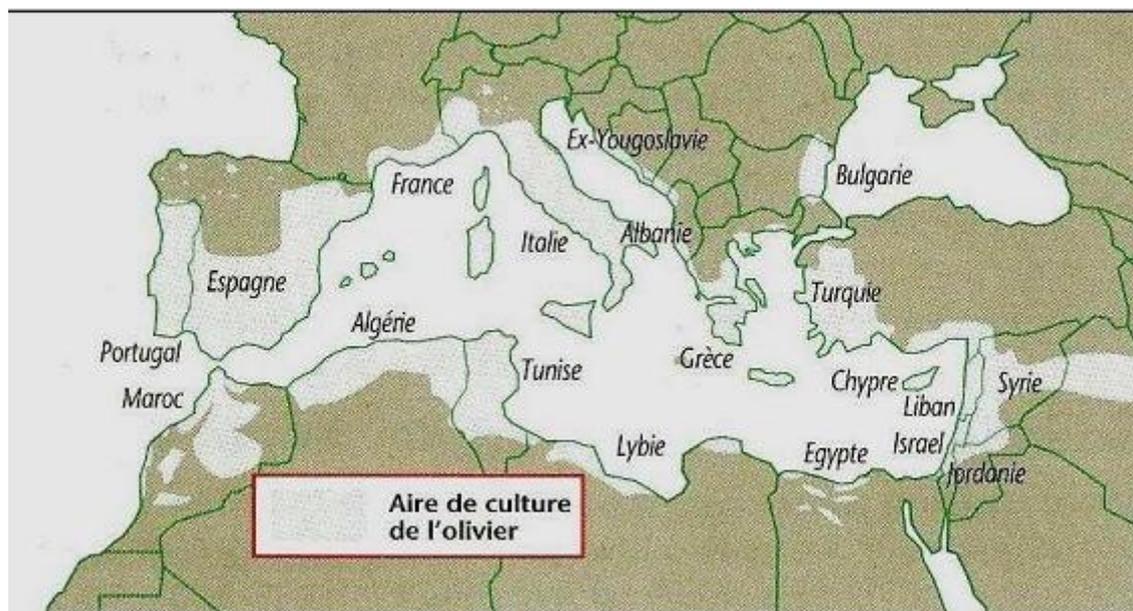


Figure 10 : Répartition de l'Olivier dans le monde (Argenson et al.1999)

II.2 Historique

Des analyses de pollen et de charbon réalisés dans certains gisements attestent que l'olivier est présent depuis le paléolithique (5000 à 3000 ans avant J.C) (Loussert et Brousse in Yakoub-Bougdal., 2005).

Dans les territoires de la méditerranée, les Grecs ou les Kabyles l'ont élevé au rang d'arbre légendaire mythique, en raison de ses nombreux bienfaits : corps gras, remède, source d'éclairage (Khodja ; 2005).

Plusieurs origines ont été attribuées à l'olivier par plusieurs auteurs, mais la thèse la plus fréquemment retenue, est celle de candole in Loussert et Brousse (1978). Maillard (1975) in Bougdal-Yakoub (2005), désigne la frontière Irano-Syrienne comme lieu d'origine.

II.3 Classification botanique et systématique de l'olivier

Selon Escuder (2007) *Olea* viendrait du nom grec Elaïra qui désigne l'arbre. Il est subdivisé en huit espèces, divisée à son tour en deux sous-espèces qui sont : *Olea europea sylvestris* ou Oléastre c'est-à-dire olivier sauvage et *Olea europea sativa* ou olivier cultivé (Polese, 2009).

Selon la classification de Guignard (2004) la systématique moléculaire de l'olivier est la suivante :

Embranchement.....	Spermaphytes
Sous-embranchement.....	Angiospermes
Classe	Dicotylédones
Sous-classe.....	Astéridées
Ordre.....	Lamiales
Famille	Oléacées
Genre.....	<i>Olea</i>
Espèce	<i>europea</i>
Série.....	<i>sativa</i>
Variété	Chemlal

II.4 Description de la morphologie de l'Olivier

4.1 Système aérien :

4.1.1 Tronc : droit, circulaire, lisse de couleur grise verdâtre. Selon Boyer, (2000), il peut atteindre 3 à 5 m et même 12 m de hauteur avec une couronne élargie à la base. (Fig.11).

4.1.2 Charpentières : D'après Loussert et Brousse, (1978) ce sont de grosses ramifications destinées à former la charpente de l'arbre, Ce sont de grosses branches servant de support aux autres ramifications et au feuillage. (Fig.11).

L'ensemble tronc - branches constitue le squelette de l'arbre et l'ensemble charpentières ramifications - feuillage, constitue la frondaison (Loussert et Brousse in Bougdal-Yakoub, 2005). Elles sont constituées de :

- **Charpentières maitresses.**
- **Sous charpentières, constituées de :**

- Rameaux fructifères : Chez l'olivier nous distinguons trois différents types de rameaux ; rameau principal, rameaux anticipés et rameaux verticaux (Walali, 1984 in Bougdal-Yakoub, 2005).

- **Feuilles:** opposées, ovales allongées, portées par un court pétiole, coriaces, entières, enroulées sur les bords, d'un vert foncé luisant sur la face supérieure et d'un vert clair argenté avec une nervure médiane saillante sur la face inférieure.

- **Fleurs :** blanches, et regroupées en petites grappes de dix à vingt, poussant à l'aisselle des feuilles au début du printemps sur les rameaux âgés de deux ans (Fig.12). Selon Soudani et Bougdal-Yakoub, 2016, les fleurs sont régulières, généralement hermaphrodites, avec une formule florale très simple :

4 sépales (S) + 4 pétales (P) + 2 étamines (E) + 2 carpelles (C).

- **Fruit :** Une drupe à épicarpe d'abord vert puis violet ou rouge et à maturité noirâtre, de forme ovoïde ou ellipsoïde et de dimension très variable selon les variétés. Le fruit contient au centre un noyau dur, fusiforme, possédant à son tour une graine (Fig.13) (Bougdal-Yakoub, 1990).

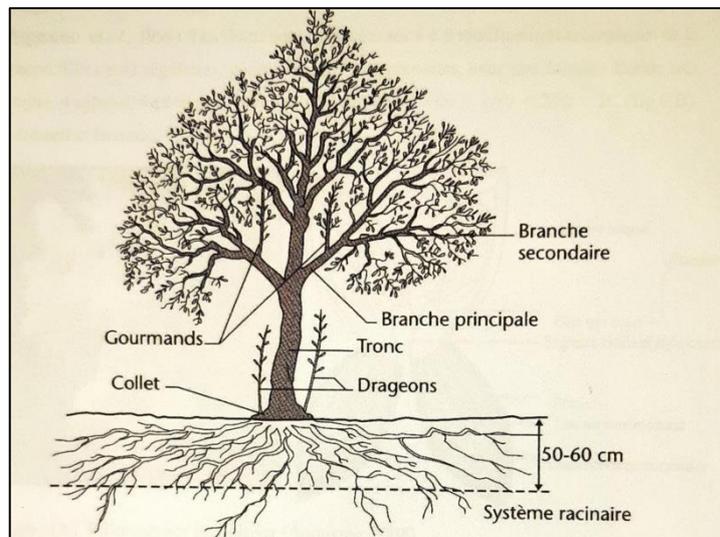


Figure 11 : Les principales parties de l'Olivier *Olea europaea L.* adulte (Argenson et al., 1999)



Figure 12 : fleur d'Olivier *Olea europea* (Soudani et Bougdal-Yakoub, 2016. Serre de Mme Yakoub-Bougdal, Complexe Biomédical université Mouloud Mammeri Tizi Ouzou)
A : Fleur ; B : anthère ; C : Pétale.

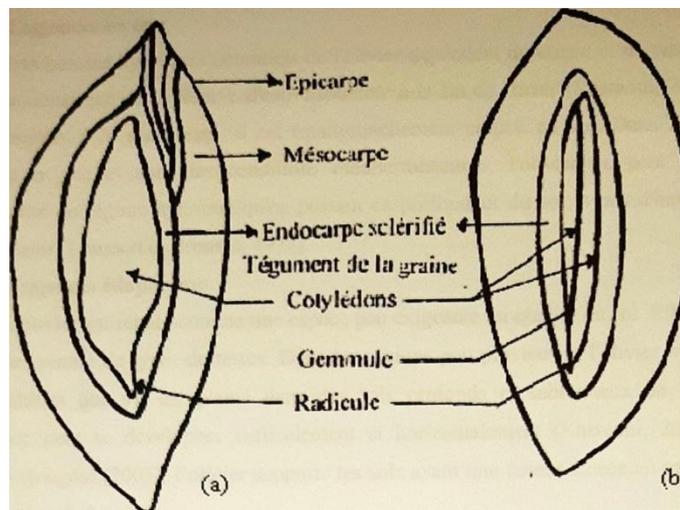


Figure 13 : Schéma d'une coupe longitudinale et du fruit de l'Olivier (var. Chemlal). Bougdal-Yakoub ; 1990)

4.2 Système racinaire : Il possède une importante capacité d'exploitation du sol. La racine est de couleur blanchâtre.

II.5 Exigences de l'olivier :

L'olivier s'adapte bien à des conditions d'environnement extrêmes telles que la sécheresse et la chaleur.

5.1 Exigences climatiques

Température : d'après Loussert et Brousse (1978), en période de végétation, les températures optimales de développement sont comprises entre 12⁰ et 22⁰C.

5.2 Exigences Hydriques

Dans le cas de la conduite en sec et dans les conditions méditerranéennes, l'olivier ne peut s'adapter à l'irrégularité du régime hydrique qu'en puisant en profondeur du sol le peu d'humidité qu'il peut contenir (Loussert et Brousse, 1978).

5.3 Exigences édaphiques

Selon Bougdal-Yakoub (2005), l'olivier supporte les sols ayant une teneur élevée en calcaire avec un pH autour de 8.

III. D'autres espèces ont été sélectionnées dans le laboratoire

III.1 *Medicago truncatula*

La luzerne c'est une légumineuse appartenant à la famille des fabaceae, considérée comme plante modèle, présente des intérêts économiques et agronomiques (espèce fourragère servant d'aliment), et à sa capacité de former des nodosités fixant l'azote de l'air. (Fig. 14)

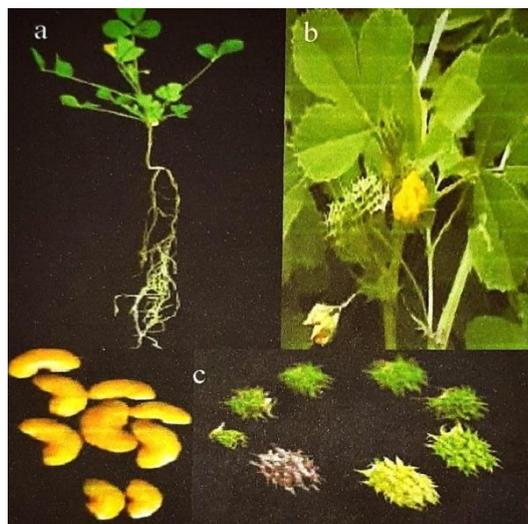


Figure 14 : Morphologie de *Medicago truncatula* in Cherfa

a : Plante ; b : fleurs ; c : gousses et graines

III.2 *Chlorella sp*

La chlorelle : c'est une algue unicellulaire eucaryote de la famille des Chlorellaceae (Hoel et al., 1995) qui croît à la fois dans des conditions phototrophiques principalement en eau douce. Utilisée dans différents domaines (alimentaire, pharmaceutique, cosmétique, environnemental), elle a la capacité de produire de la bioénergie sous forme d'électricité et/ou de chaleur par combustion directe, ou sous forme de biométhane après méthanisation ou sous forme de biocarburant ou d'hydrogène.

I. Matériel

I.1 Matériel végétal utilisé

Dans l'ensemble des manipulations effectuées sur l'olivier et le Palmier dattier, il existe quelques différences durant l'échantillonnage, et les milieux de cultures utilisés. Cependant, les méthodes de travail au laboratoire in vitro sont identiques.

II. Méthodes

II.1 Effet des différents milieux sur l'extraction des embryons et les extrémités cotylédonaire chez le Palmier dattier et l'Olivier

Après la récolte des fruits d'olives et du Palmier dattier, ces derniers sont débarrassés de leur chair (pulpe), puis lavés. Les noyaux obtenus sont relavés avec des produits, puis essuyés, stérilisé (An.1 ; Fig.1, 2) et séchés à l'air libre. Ils sont conservés dans des bocaux à température ambiante.(Fig. 15).



Figure 15: a, fruit *Olea europea* L. var. Chemlal ; b, graine avec l'endocarpe lignifié ; c, graine contenant l'embryon ; d, fruits et graines var. Deglet-nour. D'après Yahiaoui 2016 et Bougdal-Yakoub (2005).

1.1 Le protocole expérimental

Les protocoles expérimentaux consistent à stériliser et imbiber les graines d'olivier variété Chemlal et celles du Palmier dattier var. Deglet-nour. Les embryons sont mis en germination sur le milieu de base MS10 (Murashige et Skoog, 1962) (An.3 ; Tab 2). Ce milieu est constitué principalement d'eau, de sels minéraux (macroéléments et microéléments), d'éléments organiques (vitamines, saccharose ou glucose) ainsi que des phytohormones (auxines et cytokinines). Le milieu MS/2 réalisé par Bougdal-Yakoub (An.3 ; Tab 3). Les deux milieux sont additionnés d'une balance hormonale de 2.4.D à 0.5 mg/l et de la Kinétine à 0.05 mg/l. Ces solutions aqueuses sont solidifiées avec 7g d'agar. Les milieux de culture sont répartis dans des boîtes de Pétri et dans des tubes à essai hermétiquement scellés avec du parafilm.

1.2 Extraction du matériel végétal

Après la germination des graines du Palmier dattier var Deglet-nour, l'expérience commence par les extractions des embryons du Palmier dattier dont la technique est mise au point Bougdal-Yakoub (1984), pour les ensemercer dans les tubes à essais contenant un milieu de culture durant une période 72 heures (Fig.16).

Les embryons et les extrémités du pétiole cotylédonaire sont repiqués dans le milieu de culture MS10 ; un deuxième repiquage a été effectué sur un milieu de culture MS/2.



Figure 16: Germination et excision des extrémités de pétiole cotylédonaire ; a, pétioles cotylédonaires ; b, section de l'extrémité cotylédonaire du Palmier dattier var. Deglet-nour. D'après Yahiaoui et Bougdal-Yakoub 2016.

Pour l'Olivier c'est après l'imbibition des graines dans des boîtes de Pétri, que les embryons seront extraits grâce à une double incision de la partie radulaire de la graine (Bougdal-Yakoub, 2005). Les embryons à leur tour sont ensemençés dans des tubes à essai contenant 20ml du milieu de culture (MS/2) (toutes les quantités des produits apportés : les micro et les macroéléments sont divisés par deux par rapport au MS₁₀). Pour le milieu MS_m (la quantité des macroéléments seulement a été divisée par deux et la quantité de microéléments est restée identique à celle du MS₁₀) (Fig.17). Les embryons sont transférés dans une chambre de culture réglée à 25±2° c et une photopériode de 16heures de lumière et 8 heures d'obscurité. La composition du milieu de culture est représentée dans. (An.3 ; Tab 3).

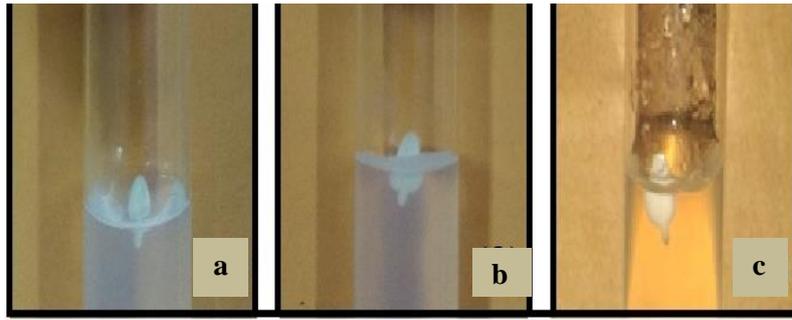


Figure17: Embryons d'*Olea europaea* ensemencés sur les milieux de culture a,MS/2 ;b,MSm ; c,MS₁₀.D'après Ould kaci et Bougdal-Yakoub2017.

II.2 Influence des phytohormones sur la redétermination des méristèmes chez l'Olivier

Dans le but d'étudier l'impact des phytohormones sur la redétermination des méristèmes d'*Olea europaea* L. var. Chemlal, un projet de collaboration de l'Université Pierre et Marie Curie (Paris VI) a été initié avec notre laboratoire depuis 2009. Dans ce protocole expérimental les travaux effectués sont répartis en deux expériences.

L'expérience consiste à repiquer les jeunes germinations obtenues sur le milieu CIM (Callus Inducing Medium), puis un deuxième repiquage sur le milieu SIM (Shoot Inducing Medium) pour la transdétermination additionnée de balances hormonales d'auxine ANA et cytokinine 2iP à différentes concentrations (1 mg/l; 2 mg/l; 5 mg/l; 10mg/l) pour chaque hormone. Les étapes de repiquage sur CIM sont illustrées dans la figure 18.

1 Ensemencement des embryons

Après imbibition des graines, les embryons sont extraits grâce à une double incision de la radicule de la graine (Bougdal-Yakoub, 2005) puis ensemencés dans des tubes à essai contenant 20 ml du milieu MS. Ils sont transférés dans une chambre de culture réglée à $25\pm 2^{\circ}\text{C}$ pour la mise en germination.

2 Repiquage des plantules sur CIM

Les plantules dont les racines atteignent 0,5 à 1 cm sont repiquées dans un milieu de culture MS₁₀ et transférées dans une chambre de culture à $25\pm 2^{\circ}\text{C}$, sous une photopériode de 16h de lumière, et 8h d'obscurité.

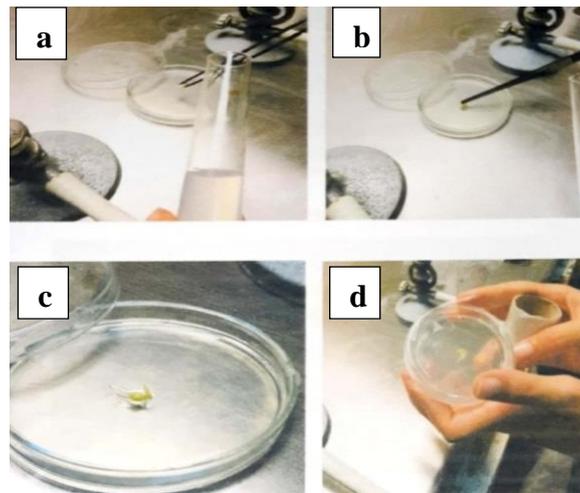


Figure 18: Technique du repiquage dans l'ANA à différentes concentrations
 a, extraction de la plantule ; b, c, dépôt de la plantule entière dans une boîte de Pétri contenant le milieu CIM ;
 d, La boîte scellée avec du parafilm et transférée en chambre de culture. D'après Ouali et Saheb2013.

3 Repiquage des plantules sur SIM

Après quelques jours de culture sur le milieu CIM, des primordia racinaires apparaissent sur les jeunes plantes puis fragmentées. Ces explants seront transférés dans les boîtes de Pétri contenant un milieu SIM, composé de MS₂₀ additionné d'une balance hormonale (1 mg/l, 2 mg/l, 5 mg/l, 10 mg/l de 2iP).

III.3. Influence des traitements lumineux chez *Phoenix dactylifera L.*

3.1 Influence de la lumière blanche et bleue

Deux solutions ont été utilisées dans cette expérimentation, il s'agit de la solution de Murashige et Skoog (1962) (MS), modifiée respectivement (MS_{m1}) et (MS_{m2}) par Bougdal-Yakoub (1987).

Au cours de cette expérimentation, des embryons entiers ont été utilisés sur deux milieux de culture différents, MS_{m1} et MS_{m2} constitués principalement d'eau, de sels minéraux (macroéléments et microéléments), d'éléments organiques (vitamines, saccharose). (An.3 ; Tab.4) additionnés de deux concentrations de saccharose (minimale et maximale) et sous deux conditions de lumière différentes (blanche 16 heures de lumière et 8 heures d'obscurité et bleue). La différence entre les deux milieux : MS1 possède l'adénine et la biotine. Ces substances ne figurent pas dans MS2, les hormones (ANA) l'acide naphtalène acétique, (AIA) l'acide indolylacétique et la (BAP) la benzylaminepurine sont ajoutées aux deux milieux. (An.3 ; Tab.3 et 4).

3.2 Influence de la lumière (rouge RC/RS)

Le matériel végétal est représenté par le prélèvement des méristèmes excisés des graines ayant germé à l'obscurité et des embryons qui sont prélevés stérilement à l'aide d'un marteau et d'une pince. Pour la solution utilisée dans cette expérimentation, il s'agit de la solution de Murashige et Skoog (1962) (MS), à ce milieu Bougdal-Yakoub a ajouté deux auxines l'acide naphthalène acétique (ANA), l'acide indohylacétique (AIA) et une cytokinine la benzylaminepurine (BAP) à différentes concentrations pour l'obtention d'une rhizogenèse et d'une caulogénèse.

Les méristèmes sont mis en culture à l'obscurité pendant 48 heures. Ils sont soumis à une condition de lumière (traitement bref) selon trois conditions : lumière 8h, 16h obscurité ; RC (5 min) ; RS (5min).

3.3 La transdétermination chez le Tabac (*Nicotiana tabacum*)

Pour la transdétermination chez le tabac, projet réalisé en collaboration avec Université Paris VI (Bougdal-Yakoub et al.; 2009-2014) des explants racinaires et hypocotylaires ont été prélevés sur des plantules de 18 jours placés sur CIM contenant différentes concentrations d'ANA (1-10 mg/l), (Fig.19). Après 30 jours de préculture sur ANA, les primordia racinaires sont fragmentés et repiqués sur SIM contenant 2-IP à différentes concentrations (1-10 mg/l) ; (Fig.19).

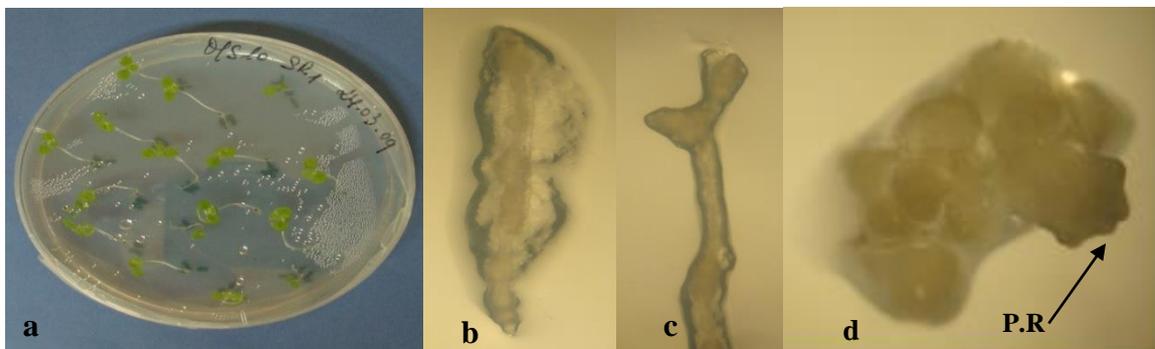


Figure 19: a, plantules de tabac âgées de 18 jours sur milieu MS₁₀ ; b, explants excisés de 0,5cm après 8 jours sur milieu CIM (à 1mg d'ANA) présentant un primordia racinaires, vu à la loupe binoculaire au grossissement Gx1 ; c, explants racinaires excisés de 1,5 cm après 11 jours sur milieu CIM (1 mg d'ANA) présentant des primordia racinaires, vu à la loupe binoculaire au grossissement Gx10 ; d, développement de l'explant racinaire excisé de 0,5 cm après 18 jours sur milieu CIM (1mg d'ANA) présentant des primordia racinaires, vu à la loupe binoculaire au grossissement Gx2, (P.R) ,primordium racinaire. D'après Bougdal-Yakoub 2014.

Figure 20 : **a**, Comportement des explants racinaires et évolution des primordia racinaires après repiquage sur SIM (différentes concentrations de 2-IP) durant 33 jours (loupe binoculaire au grossissement Gx10) ;**b**, Comportement des explants racinaires et évolution des primordia racinaires après repiquage sur SIM (2-IP à 1mg/l) durant 16 jours (loupe binoculaire au grossissement Gx10. D'après Bougdal-Yakoub 2014.)

Ce n'est qu'après 1 mois et 10 jours que des feuilles commencent à apparaître sur les milieux contenant 10 mg/l de 2-IP (Fig. 21).

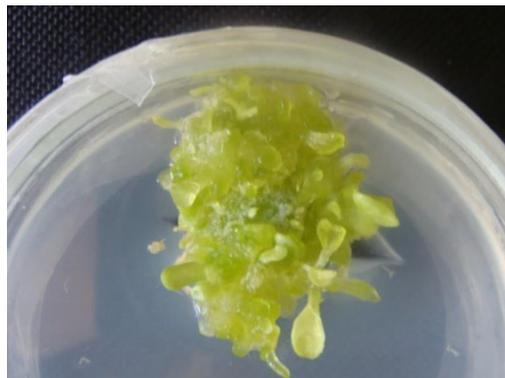


Figure 21 : Comportement des explants racinaires et évolution des primordia racinaires après repiquage sur 10 mg/l de 2-IP durant 1mois et 10 jours (loupe binoculaire au grossissement Gx10). D'après Bougdal-Yakoub 2014.

3.4 Technique histoautoradiographique chez *Phoenix dactylifera* L.

Cette technique est fondée sur l'utilisation de précurseurs radioactifs permettant de détecter la radioactivité au niveau cellulaire. Les noyaux en phase de synthèse seront observés lorsqu'on fait pénétrer dans nos échantillons un composé radioactif, précurseur spécifique de l'ADN : la thymidine ^3H . Dans cette expérience Bougdal-Yakoub a utilisé des jeunes germinations âgées dont le pétiole cotylédonaire a atteint une longueur de 2-3 mm, qui vont subir une incorporation à des heures différentes avec de la thymidine marquée au niveau du groupement méthyle par du tritium (CEA).

VI.4 La contribution à la multiplication de cals embryogènes et l'initiation de la suspension cellulaire chez trois cultivars de Palmier dattier (Deglet-nour, Takerboucht et Tagaza)

Le matériel végétal est représenté par des cals friables qui ont pour origine superficielle les cellules de l'assise épidermique et sous épidermique des explants, par contre les cals compacts naissent à partir de cellules périvasculaires. Les trois cultivars de Palmier dattier ont été choisis par rapport à leur comportement vis-à-vis de la maladie du Bayoud ; Deglet-nour : Sensible à la Fusariose, considérée comme étant la meilleure variété pour ses qualités gustatives, Takerboucht : Résistante au Bayoud, mais de qualité peu appréciée ; et Tagaza : Sensible à la Fusariose, de bonne qualité dattière. Les cals embryogènes issues des deux cultivars Deglet-nour et Takerboucht sont utilisées comme une source végétale pour l'obtention de la suspension cellulaire. L'histologie de cals friables issues de deux variétés Deglet-nour et Tagaza constituent la source végétale de l'étude histologique.

4.1 Le protocole expérimental

4.1.1 Multiplication des cals

Les deux milieux nutritifs utilisés pour nos cultures sont : Le milieu M_{100} (milieu solide 2,4-D à 100 mg/l; charbon actif 3 g/l, IPA 3mg/ml), et le milieu $P_{12,5}$ (milieu solide de picloram à 12.5mg ; charbon actif 200mg/l, IPA à 1 mg/ml) (An.3 ; Tab.5) qui sont nécessaires pour le développement des tissus végétaux. (Fig. 22)

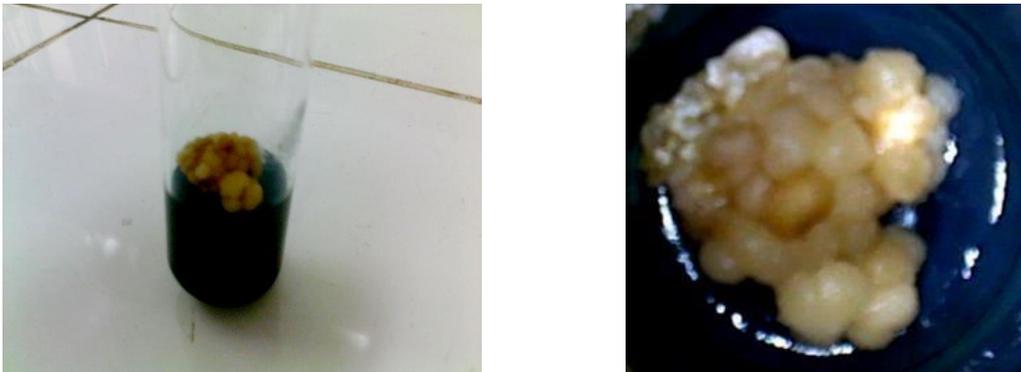


Figure 22: Cals friables du cultivar Deglet-nour en culture sur milieu solide M_{100} . D'après Azzoug et Berrichi 2014

Après trois subcultures, les cals friables sont sélectionnés puis transférés sur un milieu liquide P5 (picloram à 5mg/l, IPA à 1mg/l et Thiamine à 1mg/l) (An.3 ; Tab.6) pour l'établissement de la suspension cellulaire.

4.1.2 Suspension cellulaire

La suspension est réalisée dans des tubes et bocaux de deux variétés de palmier dattier ; Deglet-nour et Tagaza, on a pesé 2g pour chacune d'elles.

Des cals compacts sont écrasés à l'aide d'un pilon stérilisé. Les cals friables quant à eux sont mis en culture directement dans des erlen-meyer fermés avec des bouchons et entourés de parafilm. Ils sont transférés dans une chambre de culture à l'obscurité à une température de 28°C sur un agitateur horizontal à 100 rotations/min, Les repiquages sont effectués tous les 7 à 10 jours.

4.1.3 Histologie

Les étapes suivies sont :

Prélèvement : les gros échantillons de cal sont découpés puis les transférés dans un liquide fixateur, et laver avec de l'eau distillée 5 à 10 minutes.

Fixation : les fragments de cals sont fixés durant 48 h dans 200 ml de solution (éthanol à 95% 100 ml ; l'eau distillée 70 ml ; solution de formaldéhyde pure 20ml ; acide acétique glacial 10 ml).

Lavage : dans l'eau distillée pendant 1 heure.

Déshydratation : des passages progressifs dans des bains d'alcool à 25%, 50%, 70%, 90%, 100%, pendant 30min; puis 30 min-2h à 100%, et le dernier passage de 12h dans l'alcool à 100% .

L'imprégnation (la substitution) : passage des cals dans trois bains successifs de solvant (xylol) puis dans un mélange d'imprégnation alcool-xylol 45 min.

L'inclusion : cette étape dure 12h à une température ambiante dans un moule (barre de Leuckart).

La réalisation des coupes : effectuer des coupes à l'aide d'un microtome et à l'épaisseur de 10 µm.

Confection des lames : étaler la coupe sur une lame enduite de gélatine, chauffer la lame sur une plaque chauffante à 60° pour les coller et sécher

La coloration : une double coloration est effectuée (acide de Schiff 20 min à l'obscurité puis au Naphtol Blue Black (NBB) après un passage de 5 min dans l'acide périodique.

Lecture des lames : se fait au microscope photonique au grossissement 40x100.

I. Résultats

I.1 Effet des différents milieux sur l'extraction des embryons et les extrémités cotylédonaire chez le Palmier dattier et l'Olivier

Pour le Palmier dattier la germination est l'ensemble des processus qui vont du début de la réhydratation de la graine et qui se terminent par la sortie de la radicule. Les différentes étapes du processus de la germination sont comme suit : La première étape correspond au gonflement de la graine, c'est le résultat de la prise d'eau (a, Fig.23). Au 5^{ème} jour, soulèvement de l'opercule qui entraîne la sortie d'un bourrelet conique de 1 mm de longueur, qui renferme l'embryon (b, Fig.23). Au 9^{ème} jour le pétiole cotylédonaire s'allonge, il atteint environ 1.3 cm de long (c, Fig.23). Au 14^{ème} jour épaisseur et allongement du pétiole cotylédonaire, et développement de la radicule (R) (d, Fig.23).

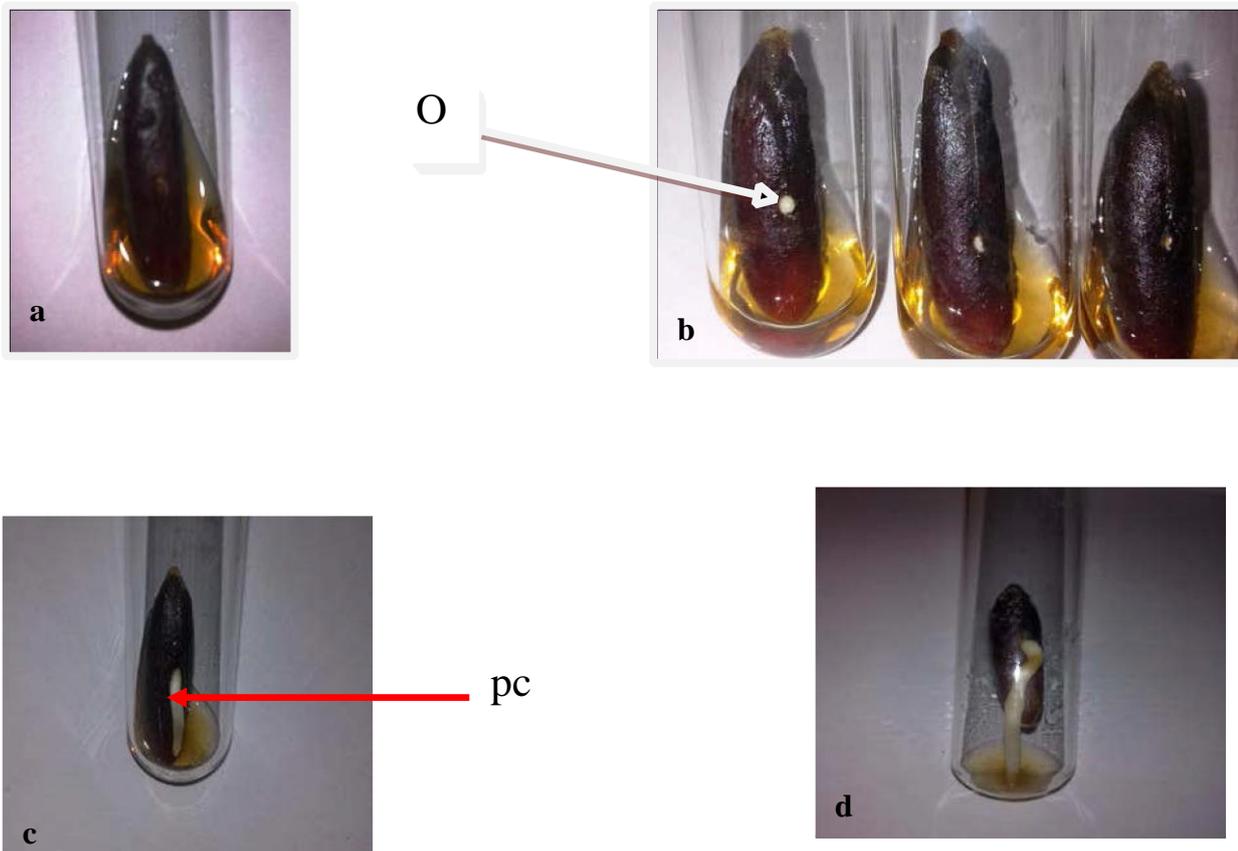


Figure 23: Germination des graines de Palmier dattier (*Phoenix dactylifera* L.), var. Deglet-

nour, (Laboratoire CIV, Université Mouloud Mammeri, Tizi-Ouzou, Yahiaoui2016) ; a, gonflement de la graine (5^{ème} jour) ; b, soulèvement de l'opercule (O) (9^{ème} jour) ; c, allongement du pétiole cotylédonaire (PC) (14^{ème} jour) ; d, épaisseur du pétiole cotylédonaire.

Le développement des embryons sur le milieu MS₁₀ montre les observations suivantes : Après une semaine de culture, apparition d'un développement important des embryons. Durant la deuxième semaine, les embryons présentent une croissance remarquable. La 3^{ème} semaine, est marquée par le début du gonflement des embryons. Durant la 4^{ème} semaine, apparition d'un gonflement important et ouverture des embryons. Le développement des extrémités cotylédonaire sur MS₁₀, montre les observations suivantes : Première semaine, début de développement des extrémités cotylédonaire, et apparition d'une feuille engainante, deuxième semaine : développement de la feuille. Quatrième semaine, sur 24 explants mis en culture sur MS₁₀ 20 explants présentent un recourbement. Les observations faites sur les embryons mis en culture sur MS/2 montrent un meilleur développement. Au cours de la première semaine les embryons montrent un recourbement très important (a ; Fig.24). Durant la deuxième semaine, on observe un développement considérable, (b ; Fig.24). Au cours de la 3^{ème} semaine, l'embryon montre une feuille engainante (c ; Fig.24).



Figure 24: Développement des embryons de Palmier dattier (*Phoenix dactylifera* L.), var Deglet-nour sur le milieu MS/2 en fonction du temps. a: un gonflement important à l'extrémité, b: développement de l'embryon (flèche), c : Formation de racine (flèche) et allongement de la feuille engainante. D'après Yahiaoui et Bougdal-Yakoub 2016

Ces données montrent que la culture des embryons et des extrémités cotylédonaire sur le milieu MS/2, donne un pourcentage du développement des embryons plus faible par rapport à celui des extrémités cotylédonaire. Après avoir mis les extrémités cotylédonaire sur MS₁₀ pendant 4 semaines puis repiquées sur MS/2, les résultats obtenus sont les suivants : Les extrémités cotylédonaire âgées de 11 jours repiquées sur le MS/2 montrent un allongement plus important (a ; Fig.25). Durant la deuxième semaine, développement d'une feuille engainante d'une extrémité cotylédonaire âgée de 15 jours (b ; Fig.25). Vers la troisième semaine, la majorité des extrémités cotylédonaire se développent considérablement et présentent des feuilles engainantes (c ; Fig.25).

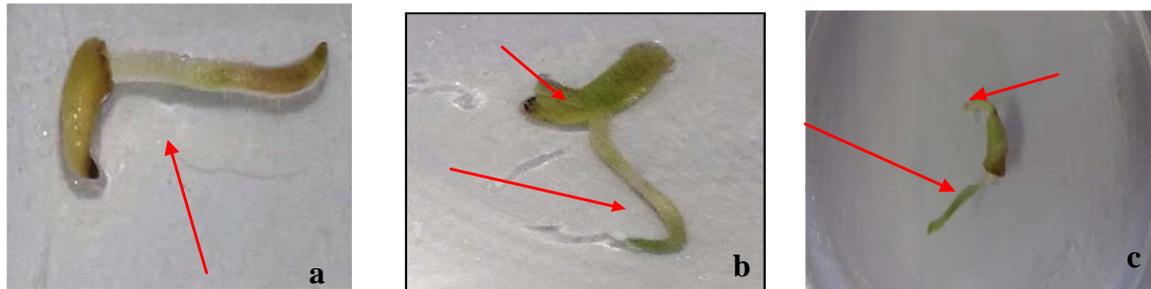


Figure 25: Développement des extrémités cotylédonaires sur MS/2 ; a, important allongement de l'extrémité cotylédonaire à 11 jours ; b, développement d'une feuille engainante à 15 jours, c : développement de la feuille engainante à 22 jours. D'après Yahiaoui et Bougdal-Yakoub 2016

Concernant l'Olivier :

Les observations morphologiques des plantules mises en culture sur les deux milieux MSm et MS10 sont presque identiques et illustrées sur la figure 28, le développement des embryons d'olivier *Olea europea* L. entre le 2^{ème} et 3^{ème} jour, début de l'ouverture des cotylédons à partir du 5^{ème} jour, le développement de la partie aérienne est visible et apparition d'une jeune plante à partir du 8^{ème} jour. (Fig.26).

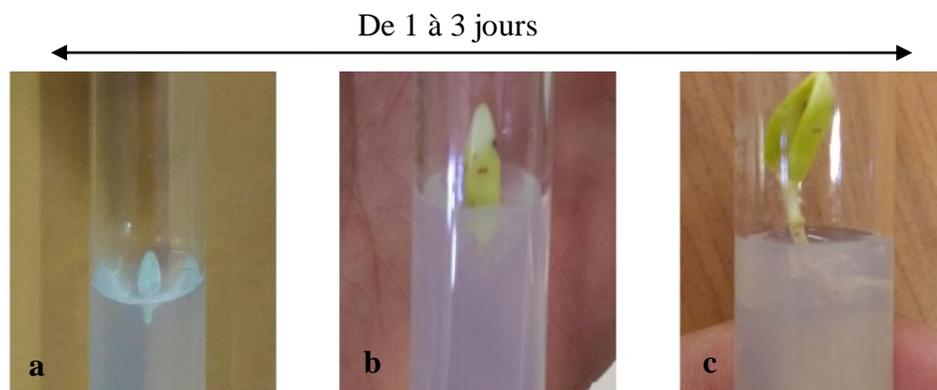


Figure 26: Développement des embryons d'olivier *Olea europea* L. (Var. Chemlal), sur les milieux MSm et MS10 de 1 à 3 jours ; a, verdissement de l'embryon ; b, ouverture des cotylédons ; c, début de l'ouverture des cotylédons. D'après Ould Kaci et Bougdal-Yakoub 2017.

Le développement des embryons d'olivier *Olea europea* L. sur le milieu MS₁₀ à partir du 3^{ème} jour de culture montre un verdissement et un début de l'ouverture des cotylédons à partir du 5^{ème} jour. Le développement de la partie aérienne est visible à partir du 6^{ème} jour avec apparition d'une jeune plante à partir du 10^{ème} jour. (Fig.27).



Figure 27: Jeune plante d'*Olea europea* L. Obtenue par culture in-vitro sur milieu MS₁₀ au 10^{ème} jour de culture D'après Ould Kaci et Bougdal-Yakoub, 2017.

II.2 Influence des phytohormones sur la redétermination des méristèmes chez l'Olivier

Le milieu MS est le plus favorable par sa richesse en sels minéraux ainsi qu'en vitamines. En effet Hamlat et Bougdal-Yakoub (1995) ont montré l'efficacité de ce milieu sur les embryons et notamment ceux de la variété « Chemlal »; puis cela a été confirmé par les travaux d'autres chercheurs Cherifi et Chetabi (2004), Messaoudi (2007), Haddadi (2008); Heddadi et Bougdal-Yakoub (2010).

A- Après 2 jours de culture sur le milieu MS, l'ouverture des cotylédons est nette et même un début de verdissement est observé (Fig.28b). Après 7 jours de culture le verdissement est plus apparent et le développement de cotylédons a abouti à la formation des feuilles cotylédonaires, suivie d'un allongement de la racicule (Fig.28c).

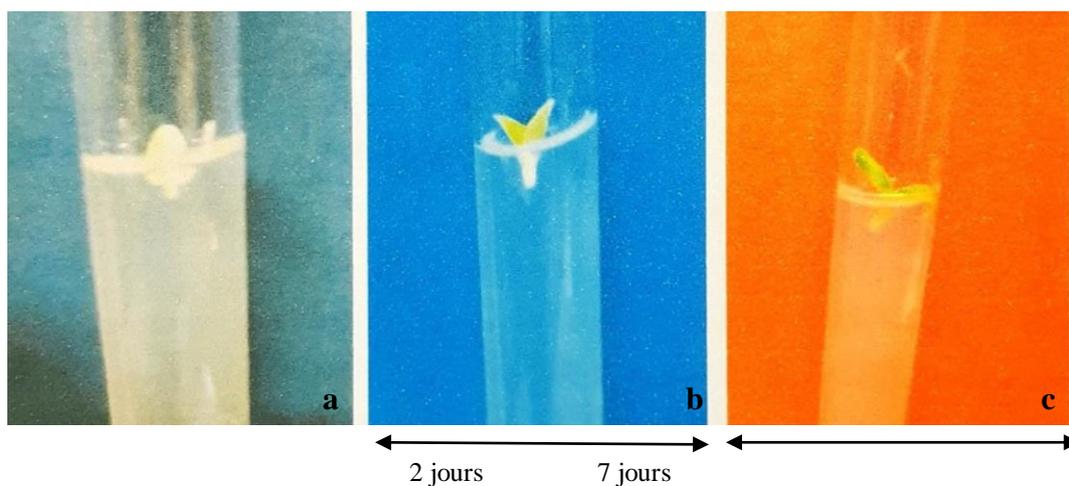


Figure 28: Embryon d'*Olea europea* L cultivé sur le milieu MS.

a, état initial ; b, ouverture des cotylédons; c, verdissement cotylédons et allongement radicaire.

D'après Ouali et al.;2013.

Après 2 semaines de culture les racines atteignent une longueur de 0,5 à 1 cm, elles sont ensuite repiquées sur un autre milieu MS10 (CIM) additionné de différentes concentrations d'ANA (1mg /l, 2mg /l, 5mg/l et 10mg/l) afin d'induire l'apparition des protubérances. Le meilleur taux de développement est observé sur le milieu MS₁₀ additionné de 2mg/l d'ANA.

Les résultats de la Figure 29 montrent l'apparition de protubérances au niveau des racines de plantules repiquées sur le milieu MS additionné d'ANA(CIM) et cultivées en lumière blanche.

Ces plantules présentent un bon développement racinaire. Celles qui sont repiquées sur le milieu MS₁₀ + ANA à 1mg/l et 5mg/l régénèrent des protubérances au bout de 3 jours de culture (Fig.29 ; Stade E, G), alors que celles repiquées sur le milieu MS₁₀ + ANA à 2mg/l et 10mg/l elles régénèrent après 5 jours (Fig.29, Stade F) à 8 jours de culture (Fig.29, Stade H).

Figure 29: Apparition de protubérances au niveau des racines d'*Olea europea* L. pré-cultivées sur le milieu CIM à différentes concentrations d'ANA.

A, B, C, D, état initial après repiquage sur CIM à différentes concentrations d'ANA ; E, F, G, H, apparition de protubérances. D'après Ouali et al. ; 2013.

Le prétraitement des plantules à différentes concentrations d'ANA, entraîne un développement des protubérances au niveau des racines. Ces dernières sont excisées et repiquées sur un nouveau milieu MS₂₀ additionné de quatre concentrations de 2iP (SIM) (1mg/l, 2mg /l, 5mg/l, 10mg/l) pour induire la caulogénèse. Les meilleurs taux de développement sont observés sur les milieux MS₂₀ additionné de 2iP à 2mg/l, 5 mg/l, et 10 mg/l. (Fig.30).

Figure 30: Redetermination des explants racinaires repiqués sur le milieu SIM à différentes concentrations de 2iP de la 1^{ère} à la 3^{ème} semaine. D'après Ouali et Saheb ;2013.

III.3 Influence des traitements lumineux sur le développement des embryons chez le Palmier dattier

3.1 Influence de la lumière blanche et Bleue

3.1.1 TémoinMSm₁ et MSm₂

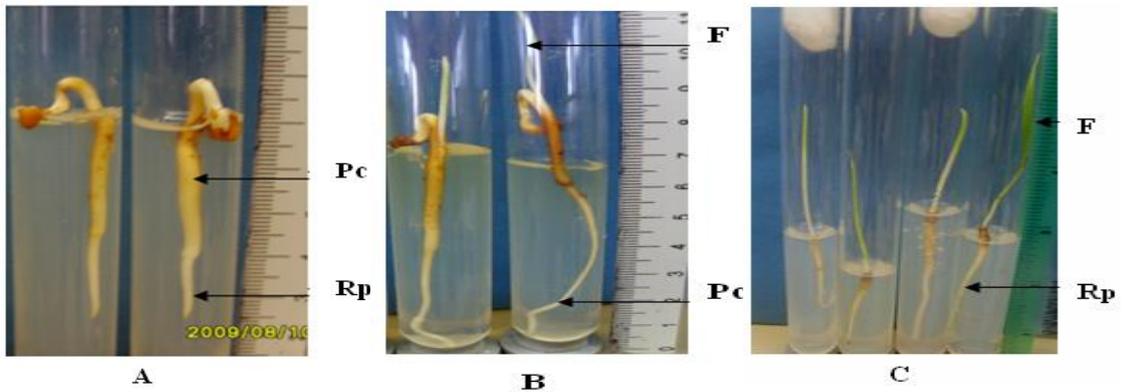


Figure 31: Influence de la lumière blanche avec une concentration minimale 30 g/l et maximale 50 g/l de saccharose sur le développement des embryons ; Rp, Racine principale ; Rl, Racine latérale ; F, Feuille ; Pc, Pétiole cotylédonaire).D'après Oubacha et Bousmak 2010.

A, sur les milieux témoins, apparaît en A la racine après une semaine sur MSm₂ et 2 semaines sur MSm₁ de culture ; **B**, apparition de la feuille après 3 semaines de culture ; **C**, plants entiers très développés après 8 semaines de culture pour les deux milieux.

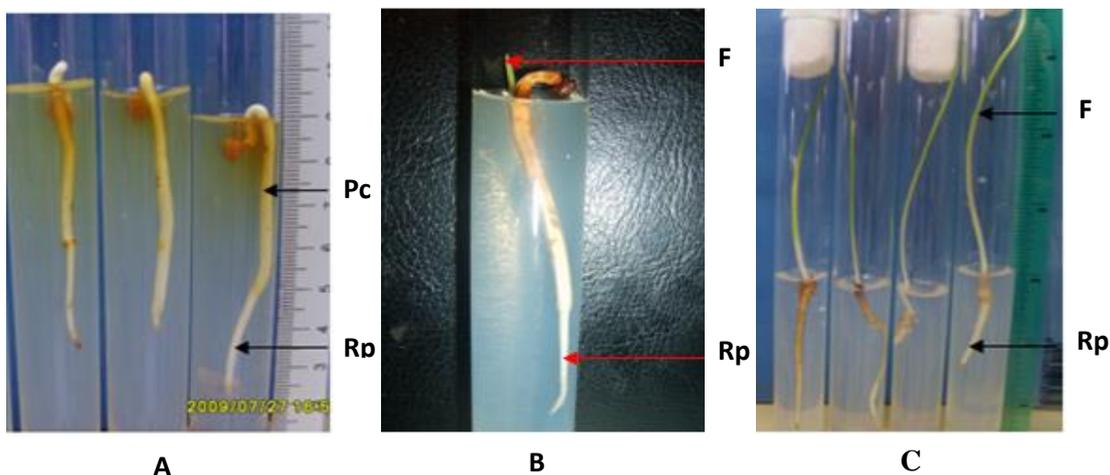


Figure 32: Influence de la lumière bleue avec une concentration minimale 30 g/l et maximale 50 g/l du saccharose sur le développement des embryons (Gc, Gaine cotylédonaire ; Rp, Racine principale ; Rl, Racine latérale ; F, Feuille). D'après Oubacha et Bousmak 2010.

Les résultats pour les deux milieux sont identiques : **A**, apparition de la racine après 2 semaines de culture; **B**, apparition de la feuille après 3 semaines de culture ; **C**, Plants entiers très développés après 8 semaines de culture.

3.1.2 MSm₁ et MSm₂ additionnés de deux auxines (ANA à 1mg/l, AIA à 0.1mg/l) et une cytokinine (BAP à 0.1mg/l)

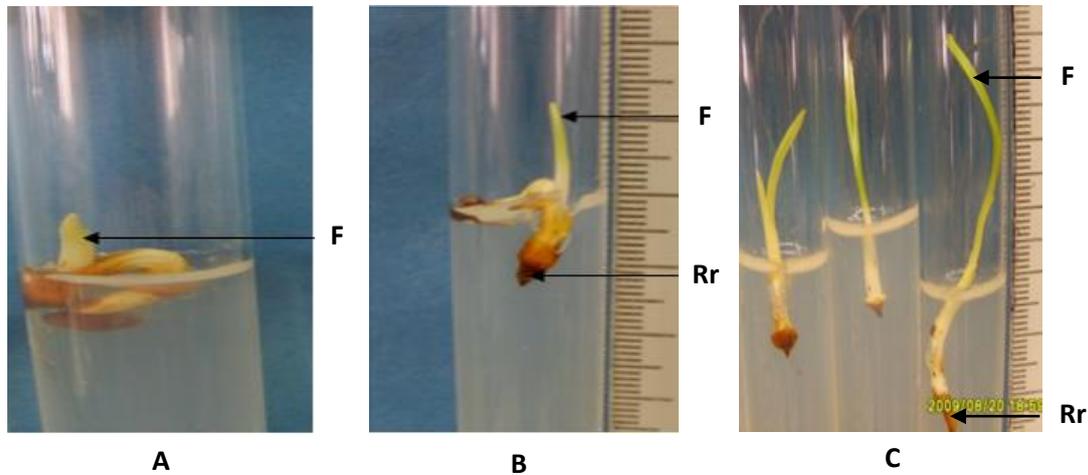


Figure 33: Influence de la lumière blanche avec une concentration minimale 30 g/l et maximale 50 g/l de saccharose sur le développement des embryons (F, Feuille; Rr, Racine réduite). D'après Oubacha et Bousmak 2010.

On note l'apparition de la racine après 1 semaine pour le MSm₂ et MSm₁ 2 semaines de culture (Fig.34A) ; suivie de l'apparition de la feuille après 3 semaines de culture (Fig.34B) ; des plants entiers sont développés après 8 semaines de culture sur les deux milieux (Fig.34C).

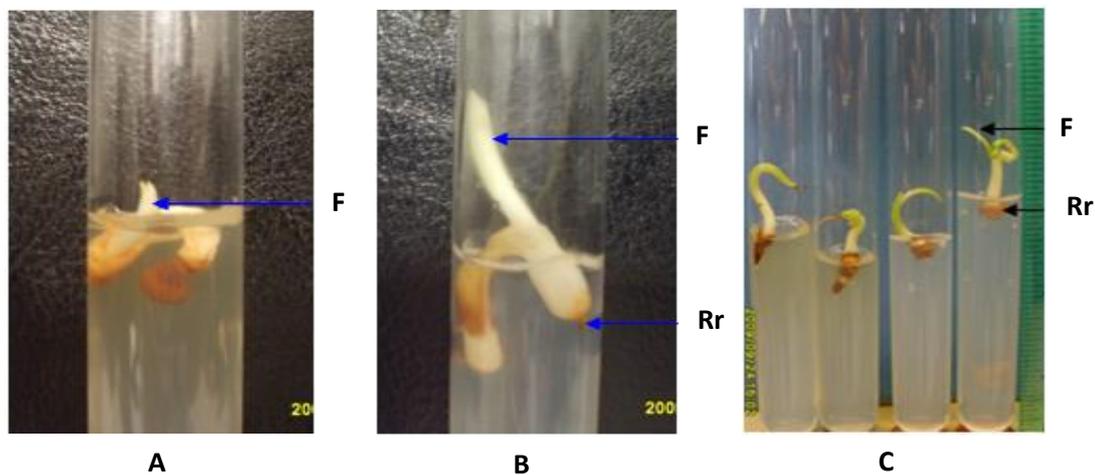


Figure 34: Influence de la lumière bleue avec une concentration maximale et minimale de saccharose sur le développement des embryons. (F, Feuille; Rr, Racine réduite). D'après Oubacha et Bousmak 2010.

Au départ les résultats sont identiques sur MSm₁ et MSm₂, avec la lumière bleue les plants présentent la partie caulinaires plus développée. La lumière bleue a entraîné un épaississement de la gaine et les plants sont moins développés.

3.2 Influence de la lumière (rouge RC/RS)

Figure 35 : Effet d'un bref éclairage rouge clair ou de rouge sombre sur le développement des méristèmes prélevés sur les plantules du Palmier dattier, âgées de deux mois. A, témoin; B, RC; C, RS. D'après Bougdal-Yakoub 2005

Le méristème exposé à 8h de lumière et 16h d'obscurité (témoin) montre un gonflement avec une feuille engainante (Fig.35A); le méristème ayant subi un éclairage de 5 min. de rouge clair, puis exposé à une photopériode de 8h de lumière et de 16h d'obscurité, présente en plus du gonflement à la base du méristème, une feuille aérienne plus développée (Fig.35B); le méristème ayant subi un éclairage de 5 min. de rouge sombre et exposé à une photopériode de 8h de lumière et de 16h d'obscurité montre de nombreuses racines dont quelques unes sont plus épaisses que d'autres.

Figure 36: Effet de la qualité de l'éclairage sur la néoformation de racines à partir de méristèmes excisés du Palmier dattier. D'après Bougdal-Yakoub 2005

Les méristèmes ont subi deux éclairagements successifs (RC/RS) et (RS, RC) pendant 5 min. puis sont transférés à la lumière 8h et à l'obscurité 16h pendant 40 jours. Le RS montre un nombre élevé de racine sur les méristèmes par contre le RC n'a pas eu d'effet rhizogène sur les méristèmes.

Les racines néoformées par les méristèmes ayant subi un traitement RS puis RC, apparaissent lentement, et sont de deux types, les unes sont épaisses, associées à d'autres très fines. Le témoin (8h lumière. obscurité 16 h) n'a formé qu'une racine à partir du 36ème jour seulement.

Figure 37 : Reconstitution d'une plante entière à partir d'un méristème du Palmier dattier, qui a reçu un éclairage de rouge sombre de 5 min ,puis transféré en photopériode de 8h de lumière et 16h d'obscurité. D'après Bougdal-Yakoub 2005

A : 20 jours de culture, racines épaisses (r) suite à un éclairage RS ; 1^{ère} feuille engainante (f₁).

B : 1 mois de culture, racines ramifiées (rr) et croissance de la feuille (f₁).

C : 1 mois et demi de culture, touffe de racines (r) à la base de méristème épaissi tandis que la partie aérienne n'a pas tellement évoluée.

D : 4 mois de culture, reconstitution d'une plante entière. Les racines fines (rf) sont plus longues (environ 5 cm de longueur) et plus nombreuses que les grosses racines. Développement intense de la partie arienne (f_1 et f_2).

3.3 Détection des cellules en cours de synthèse d'ADN par marquage à la thymidine ^3H :

L'inflorescence est obtenue au bout de 8 mois de culture *in vitro*, au lieu de 15ans en conditions naturelles (Fig.38).



Figure 38 : Inflorescence (INF) obtenue au 8ème mois de culture, GX5,5. D'après Bougdal-Yakoub 1987, 2005.

Etude de la courbe d'incorporation de thymidine tritiée en fonction de la durée du contact :

Le graphique de la figure présente le nombre de grains dénombré sur les noyaux en fonction de temps (h). Le maximum de grains (17-19) est obtenu après un contact de 3h. A 3h30min et à 4h le nombre moyen de grains par noyau reste stable.

Figure39 : nombre de grains d'argent réduit par noyau en fonction de la durée de contact avec la thymidine tritiée. D'après Bougdal-Yakoub2005.

Les noyaux qui synthétisaient de l'ADN durant le temps de contact avec le précurseur marqué seront identifiables par l'accumulation de points noirs, grains d'argent réduit dans des zones méristématiques, le marquage est plus intense dans les zones axiales (Za) (Fig. 42).

Figure 40 : Méristème à 120^{ème} heure de germination. La zone (Za) incorpore mieux le traceur. GX1500. D'après Bougdal-Yakoub 2005.

IV.4 La contribution à la multiplication de cals embryogènes et l'initiation de la suspension cellulaire chez trois cultivars de Palmier dattier (Deglet-nour, Takerbouchtet, Tagaza).

Les résultats montrent que la production des cals issue de la culture d'apex s'est formée sur les deux milieux (M₁₀₀ et P_{12.5}) et présente des structures callogènes différentes (friable et compacte). L'emploi des différents régulateurs de croissance (2,4-D 100mg/l, IPA 3mg/l) pour le M₁₀₀ et (picloram 12.5mg/l, IPA 1 mg/l) pour le P_{12.5} s'est révélé très efficace pour la multiplication des cals embryogènes. Ces résultats confirment ceux obtenus par Yatta et Fergani 2007, Vanneste et Friml 2009.

L'addition du charbon actif, respectivement à 3g/l et 200mg/l pour le M₁₀₀ et le P_{12,5} s'est révélé efficace pour éliminer l'effet toxique des hormones ajoutées dans les milieux, ceci est en accord avec Valverde et al. 1987 ; Steinmacher et al., 2007. Ils ont rapporté que les meilleurs résultats de l'induction de la callogenèse chez le Palmier sont obtenus en présence du charbon actif combiné avec une forte concentration d'auxine (2,4-D).

Les résultats obtenus montrent une variabilité de réponse selon la composition et la concentration du milieu de culture en régulateurs de croissance. Le taux de multiplication des cals après 4 mois de subculture est optimal sur le milieu M₁₀₀.

Fergani (1998) a rapporté que les cals friables et les cals nodulaires maintenus dans leurs milieux d'induction, perdent leur pouvoir de multiplication après deux à neuf mois de culture. La même remarque est rapportée par Schroeder (1970), Bougdal-Yakoub (2005) qui constatent un arrêt de croissance ainsi qu'une forte nécrose des cals après le repiquage.

Les cals embryogènes issus des deux cultivars Deglet-nour et Tagaza sont placés sur le milieu P₅ (Picloram 5mg/l ; IPA à 1mg/l ; Thiamine 1 mg/l) sous une agitation continue à une vitesse de 100 tours/min. La constitution d'une suspension cellulaire intéressante est observée, les cellules de cal sont dissociées en microcals. Durant la première semaine de culture dans le milieu liquide (P₅), une prolifération élevée des suspensions est observée chez la majorité des souches.

Sur le Shaker le cal se dissocie et libère des cellules de différentes formes plus au moins associées. Une étude au microscope a permis d'observer trois types de cellules: Des cellules arrondies de petite taille avec un noyau volumineux, des cellules ovales plus-au-moins grandes avec un petit noyau et des cellules allongées de grande taille avec un petit noyau. (Fig.41).



Figure 41: Cellules colorées par fluorescéine di-acétate (FDA) (G x 40).D'après Azzoug et Berrichi 2014

La suspension cellulaire qui résulte des cals friables est plus stable par rapport à celle obtenue à partir du cal compact. Les cals friables sont dissociés en cellules isolées plus ou moins rapidement, leur multiplication est plus rapide. Ceci concorde avec les résultats de Chabane *et al.*, 2006. Ces auteurs confirment que l'obtention de ces cellules est le point de départ d'une suspension cellulaire viable.

L'efficacité des cals friables s'est révélée par la possibilité de donner facilement naissance à des agrégats de cellules et par la capacité de multiplication des suspensions obtenues chez les deux cultivars. Ces observations concordent avec celles de (Fki *et al.*, 2003) ; (Sane *et al.*, 2006) ; (Chabane *et al.*, 2007); (Yatta *et al.*, 2013) chez d'autres cultivars. Une suspension embryogène de bonne qualité est caractérisée par la présence d'une grande proportion d'agrégats de cellules embryogènes en prolifération. Pour les cellules ovales et allongées, la taille du noyau est nettement inférieure à celle du cytoplasme : ce qui signifie que ces cellules sont plus âgées et donc non embryogènes (Panis *et al.*, 1993).

Le repiquage régulier provoque plusieurs inconvénients tels que : la diminution du taux de croissance, du potentiel de régénération et surtout, une augmentation de risques de contamination. Ce qui va influencer sur la qualité des cals mis en culture (Georget *et al.*, 2000). Pour réduire les problèmes liés aux repiquages, un protocole de cryoconservation a été développé afin de stocker les suspensions durant une période indéfinie (Panis et Tinh, 2001).

La suspension cellulaire est très utilisée en culture *in vitro* du Palmier dattier car elle constitue un matériel de choix pour l'isolement des protoplastes. Certains auteurs (Assani *et al.*, 2005), (Chabane *et al.*, 2007), (Yatta *et al.*, 2012), (Yatta *et al.*, 2013b) (Berrichi, Azzoug *et al.*, 2014) , ont rapporté que la suspension cellulaire pourrait être le point initial pour les fusions somatiques et la production de dattiers résistants aux maladies.

L'examen histologique montre que les cals friables sont composés d'un ensemble de cellules différenciées. Les cals initiés sur un bourgeon végétatif sont d'une nature morphologique friable. Ils sont constitués d'amas cellulaires le plus souvent initiés à partir des cellules épidermiques et sous épidermiques (Fig.42-A).

Par contre les cals compacts naissent au niveau des tissus péri-vasculaires. Les cellules des cals nodulaires des explants d'apex paraissent méristématiques. Ces nodules méristématiques présentent en particulier une zone pseudocambiale constituée de plusieurs assises de cellules alignées (Fig.42B). Ces masses nodulaires sont individualisées par la suite par la destruction des cellules les plus externes. En effet, les observations indiquent la présence de parois entassées (colorées en rose) des cellules détruites permettant l'isolement des nodules.

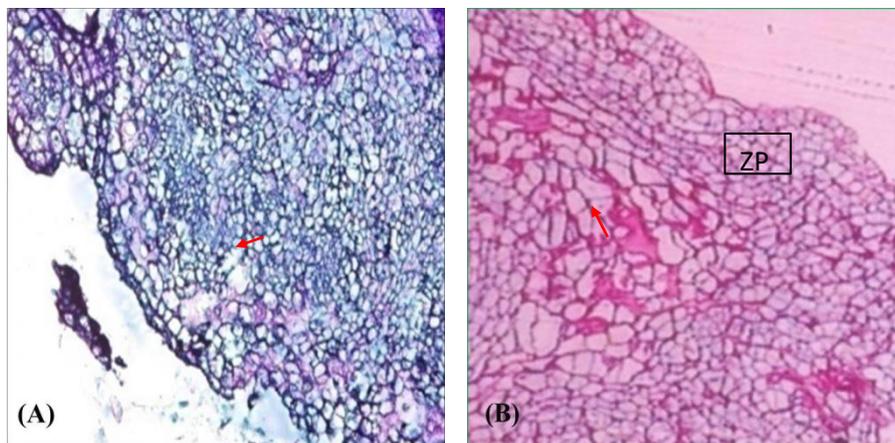


Figure 42 : Aspects histologiques de cals friables (A) et compacts(B) obtenus chez le cultivar Tagaza (G x 40). ZC : Zone centrale ; ZP : Zone périphérique. D'après Azzoug et Berrichi 2014

Les coupes histologiques ont révélé la présence de tissus parenchymateux dégénérés en présence de 2,4-D dans les milieux de culture, (Fig.43).

Des cellules embryogènes de 30-40 μm de longueur ont été observées à proximité des tissus vasculaires (Fig.43). Ces cellules péri- vasculaires ont été caractérisées par de petites vacuoles et un cytoplasme dense, où les protéines solubles ont été colorées.

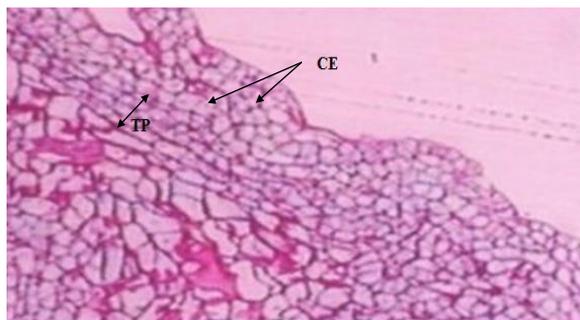


Figure 43 : histologie du tissu parenchymateux et des cellules embryogènes.

TP : Tissu parenchymateux ; **CE :** Cellules embryogènes. D'après Azzoug et Berrichi 2014

Les analyses histologiques réalisées, ont permis de décrire la nature et l'origine de la callogenèse dans le cœur du rejet du palmier dattier de trois cultivars. Les cals nodulaires et friables révèlent un pouvoir embryogène.

II. Discussion :

L'objectif essentiel visé par ce travail est de suivre la morphogenèse in-vitro d'une monocotylédone le Palmier dattier var. Deglet-nour, et une dicotylédone l'Olivier var. Chemlal soumises à divers facteurs. Le travail a débuté par la mise en germination in-vitro des embryons de *Phoenix dactylifera* L. et d'*Olea europea* L. sur un milieu MS/2, MSm et MS₁₀ dans le but d'obtenir des vitro-plants.

La germination des graines de Palmier dattier est de type tubulée remotive ; le pétiole et la graine cotylédonaire finissent par se nécroser lorsque leur rôle d'intermédiaire pour l'utilisation des réserves est achevé (Bougdal-Yakoub, 2005).

Les résultats des cultures dépendent essentiellement de la nature de l'explant utilisé. La mise en culture des embryons entiers et des extrémités cotylédonaires du Palmier dattier montrent que les potentialités de la prolifération ne répondent pas de la même façon sur le même milieu de culture. Ainsi, dans le cas de culture des extrémités cotylédonaires, sur les deux milieux (MS₁₀ et MS/2), Le taux de caulogénèse obtenu apparait plus élevé, par rapport aux embryons. La durée de la réponse est meilleure dans le cas des extrémités cotylédonaires par rapport aux embryons entiers, pour les deux milieux de culture utilisés.

La nature et la durée de la réaction est différente en fonction du type du milieu. La réponse sur le milieu MS₁₀ est plus rapide au début de l'expérimentation. Mais progressivement le développement devient meilleur sur le milieu MS/2. (3 à 6 semaines de culture) addition de la

balance hormonale à savoir : 2.4D à 0.5mg/l et Kin à 0.05 mg/l a donné meilleurs résultats. Ces résultats concordent avec ceux obtenus par Benmihoub et Ghobrini, 2008 où le taux de survie des extrémités de pétiole cotylédonaire est le plus élevé sur le milieu MS/2. Le développement des pétioles cotylédonaires sur MS/2 avec la balance hormonale 2.4-D à 0.5 mg/l et de Kin à 0.05mg/l est plus important que celui des embryons sur MS10.

Contrairement à l'Olivier un bon taux de germination a été obtenu sur le milieu MS modifié par Bougdal-Yakoub en 1984, ce qui prouve que ce milieu est favorable et très bénéfique pour la propagation d'Olivier *Olea europea* L. var. Chemlal, d'où la vitesse de développement est plus importante sur le milieu MS₁₀ caractérisé par la présence de teneurs élevées en ions K, Mg reconnus par leurs effets bénéfiques, à savoir une bonne croissance des plants.

Benderradji et al., 2007, obtiennent des résultats similaires suite à la culture in vitro des boutures d'Olivier var. Chemlal sur milieu MS dilué de moitié (MS/2) additionné de la Kinétine 0.5 mg.l⁻¹, l'ANA à 0.5 mg.l⁻¹, la rhizogenèse a été induite après formation de cals. Haddadi et Bougdal-Yakoub, 2010 ; ont réussi à obtenir une rhizogenèse sans passer par le stade cal.

L'organogenèse a pu être sans passage par le cal (Haddadi et Bougdal-Yakoub 2010).

Les travaux sur l'Arganier *Arganier spinosa*, effectués par Benmahiou et al., 2006, confirment les résultats de Bougdal-Yakoub, 2000 sur l'olivier où la kinétine donne les meilleurs résultats en culture des embryons.

Le milieu de Murashige et Skoog, est le milieu le plus favorable chez *Olea europea* var. chemlal. Ce milieu est plus riche en sels minéraux par rapport aux autres milieux. Les milieux MS/2 et MS₁₀ sont les plus performants pour ces deux espèces ligneuses.

D'autres travaux sont effectués sur le Merisier on retrouve chez cette espèce les phénomènes régénératifs des ligneuses (*Prunus avium* L.), où on retrouve chez cette espèce le phénomène régénérations ligneuses dans le milieu Murashige et Skoog enrichi avec la BAP à 1mg/l et 2.4-D à 0.02 mg/l. (Lamrioui et al., 2011).

La préculture des jeunes plantes de l'Olea sur l'ANA conduit à l'apparition de protubérances, qui ne sont pas de véritables cals mais des structures organisées présentant un ensemble de cellules en division se développant en méristèmes racinaires. Le temps nécessaire pour que des cellules du péricycle xylémien réactivées par l'ANA acquièrent la détermination racinaire chez l'Olivier, est comprise entre 8 et 25 jours. Ces résultats sont identiques à ceux de Cherfa et Bougdal-Yakoub 2013 sur *Medicago truncatula*.

Le fait de précultiver les jeunes plantules en présence d'ANA (CIM) avant d'exciser les racines, et de les placer sur milieux contenant de la 2iP (SIM) permet d'atteindre la fenêtre de développement compétente pour la reconversion caulinaire de façon plus précoce (D'après Ouali et Saheb; 2013). Des résultats semblables ont été obtenus sur le tabac après 30 jours de préculture avec l'addition d'ANA transférés sur la 2ip. Les primordia racinaires se reconvertissent en bourgeons présentant une activité chlorophyllienne (Bougdal-Yakoub; transdétermination du tabac projet de collaboration avec le laboratoire de morphogenèse et de cytologie du professeur Brossard (Paris IIV); 2014).

Le prétraitement sur CIM montre le développement de néoformations sur les racines mises en culture, et conduit à des cals à partir desquels des méristèmes caulinaires peuvent ensuite prendre naissance après repiquage sur SIM. Un résultat similaire a été obtenu sur la luzerne (*Medicago truncatula*) (Zerrar 2012).

Les protubérances observées sur le milieu MS₂₀ additionné de la 2iP à 2mg/l sont des bourgeons qui ont donné naissance à des pousses feuillées. De ce fait un début de reconversion de primordia racinaires en méristèmes apicaux caulinaires (D'après Ouali et Saheb ; 2013).

Les résultats sur le Palmier dattier sont différents de ceux obtenus par Ammar et Benbadis (1977), sur la variété Deglet-nour et ceux de Stiti (1992) sur la variété Takerboucht, ces auteurs préconisent des concentrations élevées de saccharose pour l'amélioration du taux de survie et de la croissance des embryons. Par contre ces résultats se rapprochent de ceux obtenus par Al khateeb (2008), qui a montré que les faibles concentrations en sucre favorisent le bourgeonnement et l'enracinement des vitroplants alors que les fortes concentrations induisent un brunissement et le dessèchement des vitroplants, ainsi qu'une diminution du taux de bourgeonnement, ce qui concorde avec nos observations.

En plus du saccharose, du glucose a été ajouté selon Munnier (1995) une étude sur l'influence de diverses concentrations de saccharose est nécessaire pour déterminer l'optimum pour chaque espèce, les résultats obtenus par (Ghobrini et Bougdal-Yakoub 2018 en collaboration avec le professeur Brányik T., Prague) sur la chlorelle *Chlorella sp* confirme que l'optimisation de la concentration du glucose dans le milieu de culture donne un taux élevé de productivité en biomasse.

Les travaux antérieurs (Bougdal-Yakoub, 1984-1987- 2005), ont tout d'abord eu pour objet l'étude du comportement en culture in vitro de plantules soumises à l'influence de divers régulateurs de croissance, et à l'influence des radiations lumineuses, blanche, bleue, rouges (RC/RS).

Les embryons soumis à un bref traitement de lumière bleue additionné à une concentration minimale de saccharose, ont montré un temps moyen de germination, par rapport à ceux cultivés en lumière blanche. Aussi le développement des embryons avec les deux concentrations a montré que la lumière bleue favorise un développement homogène de la partie racinaire et caulinaire avec des vitroplants vigoureux. Ceci, s'explique par le rôle attribué à ce type de radiations sur le comportement des plantules. En effet, la lumière bleue est perçue au niveau de la plante par des cryptochromes dont le rôle est de convertir le signal lumineux en un signal biochimique induisant différentes réponses morphologiques, ainsi il a été signalé que les cryptochromes ont un rôle aussi dans la division cellulaire, l'étiollement ...etc.

Quelques travaux ont montré la présence des cryptochromes, dans toute la plante (Parait, 1994 ; Reddy et Sharma, 1998; Briggs et Huala, 1999). Leur concentration est plus forte dans les zones méristématiques (divisions cellulaires et croissance active) ainsi que dans certains organes de réserve (donc sans croissance active) (Sutsugu et Wada, 2003). Les parties de la plante sont rarement exposées directement à la lumière.

Des études sur l'effet positif des radiations bleues et même des radiations rouges sur l'induction et le développement des embryons de Palmier dattier var. Deglet-nour ont été signalées. Les résultats observés par Bougdal-Yakoub (1984) ont mis en évidence l'effet positif d'un traitement bref en rouge sombre sur l'induction de la rhizogénèse, sur des méristèmes caulinaires prélevés de jeunes germinations. Calero (1989) a montré l'effet d'un court traitement de rouge clair sur la formation des embryons somatiques observés sur des nervures de la gaine cotylédonaire. Le rôle des radiations bleues n'a pas encore été étudié cependant, il semble être analogue à ceux des radiations rouges (Combe, 2002).

Bougdal-Yakoub confirme l'effet stimulateur du RS sur la néoformation des racines, par rapport au témoin donc cet éclaircissement est favorable à la rhizogénèse; l'induction de l'inflorescence en un court temps (8mois) au lieu de 15ans dans les conditions naturelles, nous avons suivi les expériences réalisées dans le dôme caulinaire ou la zone axial est responsable de la floraison. Cette zone a montré une incorporation de thymidine tritiée très intense, ce qui correspond à la phase S de l'ADN.

Les hormones de croissance utilisées pour le palmier dattier dans les deux milieux de culture (P_{12.5} et M₁₀₀) ont des effets importants sur le développement et la multiplication des cals. La prolifération des cals sur les deux milieux d'initiation était forte. Plusieurs auteurs (Murashige 1979 ; Chabane

1995 ; Yatta 2007 et 2013) confirment la performance de ces deux hormones dans l'induction et la multiplication des cals embryogènes.

De meilleurs résultats ont été obtenus à partir des apex mis en culture sur le milieu M₁₀₀ (composé de 2,4D à 100g/l; charbon actif à 3g/l du et IPA à 3mg/l), cela est conforme aux résultats des travaux de Chaibi et al., effectués à l'Institut National de la Recherche Agronomique de Tunisie, d'où il a confirmé que le milieu Murashige et Skoog additionné d'acide 2,4-dichlorophénoxyacétique (2,4-D) et de 2-isopentenylaminopurine (2-IP) associés au charbon actif améliorent le développement la multiplication des cals.

L'utilisation de milieu liquide augmente considérablement la productivité de l'embryogenèse somatique, qui se traduit par l'augmentation de masse des cals compacts et friables. Ces résultats concordent avec ceux obtenus par Yatta et al. (2009), Mahmadou adamou et Sani gaoh (2010).

D'après Azeqour et al.2002, les variations morphologiques révélées chez les vitro-plants du palmier dattier suggèrent l'influence de la technique de culture in vitro utilisée, à savoir, la durée de la culture in vitro et, plus précisément, la longueur de la phase non morphogène, ceci est conforme aux résultats qui démontrent que les cals perdent leur pouvoir de multiplication après 2 à 9 mois de repiquage

Les cals nodulaires et friables révèlent un pouvoir embryogène non négligeable grâce a la présence des cellules de petite taille (à l'état juvénile) qui ont un rapport noyau/cytoplasme élevé.

Ces cals embryogènes ont été employés pour initier les suspensions cellulaires. Ces derniers constituent un matériel idéal pour l'isolement de protoplastes. La capacité de régénération des cals embryogènes est définie par une étude histologique.

L'étude histologique réalisée, a permis de décrire la nature et l'origine de la callogenèse dans le cœur du rejet du palmier dattier de trois cultivars. Les cals friables présentent une origine superficielle à partir de cellule de l'assise épidermique et sous épidermique des explants ; Azeqour et al.2002, confirme ces résultats suite à ses travaux effectués au niveau du laboratoire de physiologie végétale, faculté des sciences et techniques, université Moulay-Ismail, Maroc. Pour une étude histologique à partir des clones de Palmier dattier obtenus par organogenèse, l'initiation des bourgeons se fait au niveau de la zone méristématique sous-épidermique, par contre les cals compacts naissent à partir de cellules péri vasculaires. Ces résultats concordent avec ceux obtenus par Meguellati, 2005.

Conclusion générale :

L'utilisation de nouvelles techniques biotechnologiques constituent actuellement d'importantes voies pour la multiplication et l'amélioration génétique des espèces végétales.

Les plantules *Phoenix dactylifera* L. ont révélé des capacités morphogénétiques pour variées sous l'influence de divers facteurs trophiques, hormonaux et physiques. Les plantules excisées ne présentent aucun obstacle lors de la germination, ni inhibitions, ni dormance.

La présence d'une auxine AIA dans le milieu, améliore le développement, cependant la croissance est lente. L'addition d'une cytokinine, a orienté le devenir de la jeune plante.

Selon la nature de la cytokinine, les plantules évoluent et deviennent soit organogènes soit elles passent par un stade callogène.

Par le biais de la microscopie électronique, des modifications structurales sont vérifiées au niveau cellulaire.

L'influence de la benzylaminopurine et la Kinétine ont favorisé le développement des bourgeons. La formation des racines est obtenue sur cal, sur le milieu MS/ 2, en présence de l'ANA à 4mg/L.

Le RS exerce un effet stimulateur sur la néoformation des racines, donc cet éclaircissement est favorable à la rhizogénèse.

Le marquage nucléaire des méristèmes caulinaires à l'aide de la thymidinetritiée³H a permis de localiser préférentiellement les noyaux en cours de la phase S (synthèse d'ADN) au niveau des zones latérales des méristèmes.

L'état physiologique de l'explant, la nature des cytokinines et la concentration en sucre jouent un rôle déterminant.

La méthodologie de ce travail a permis la multiplication des cals embryogènes, l'établissement et la croissance de la suspension cellulaire à partir des cals embryogènes chez les trois cultivars Degletnour, Tagaza et Takerboucht.

Quant aux perspectives de recherche, l'étude laisse apparaître les orientations suivantes :

Lors de l'obtention de l'inflorescence du palmier dattier il serait intéressant de reprendre ces expériences pour analyser l'origine des primordia serait intéressant de faire des coupes histologiques pour l'évolution de la phase préflorale et florale et voir les gènes impliqués dans les transformations.

Concernant la transdétérmination de l'Olivier sur CIM et SIM, il s'avère indispensable de localiser les gènes dans les protobéronces racinaires et dans l'acquisition de la compétence caulogène.

Développer la technique de culture de protoplastes issus de cals ou de suspensions embryogènes, puis envisager la création d'hybrides somatiques.

Ammar S. et Benbadis A., 1977; Multiplication végétative du palmier dattier *Phoenix dactylifera* L. par la culture de tissus de jeunes plantes et semis, C. R. Acad. Sci., 284, 1789-1791.

Aiboud K., Ghobrini D. et Bougdal-Yakoub S. Production de biodiesel à partir de *Chlorella sp* souche isolée du parc National du Djurdjura, 3^{ème} Congrès international de physiologie et de Biosurveillance de l'environnement. Sousse, 15-18 Décembre 2014.

Argenson C. ; Rejis S. Jourdain J. M ; Vaysse P. (1999); l'Olivier. Eds. Centre technique interprofessionnel des fruits et légumes (CTIFL), Paris, P204.

Augé, R., Beauchesne S., BocconGibod, J., Decourtyel., Digat, B., Jalouzotr, Minier, R., Morandj, CL., Reyneld, JP., Vidalie, H. (1989). La culture in vitro et ses applications horticoles. 3^{ème} édition. Revu, corrigé et augmenté 300 p. Ed. Lavoisier, J.B Billière.

Azzoug R. et Berrichi K., 2014 Contribution à la multiplication de cals embryogènes et à l'initiation de la suspension cellulaire chez trois cultivars de palmier dattier (*Phoenix dactylifera* L.) (Deglet-nour, Tagaza et Takarbucht). encadré par Yatta D. et Bougdal-Yakoub S.

Battesti v., 2005. Les jardins du désert .I.R.D Editions. 440p.

Belharet F.; 2013 : Influence des phytohormones sur la redetermination des méristèmes racinaires d'Olivier *Olea europea* L. Var. Chemlal. Thèse master en Génétique et Amélioration des Plantes. Université Mouloud Mammeri Tizi-Ouzou. Sous la direction du Professeur Bougdal-Yakoub S.

Benabdelah A ., 1989 . Multiplication par organogenèse du Palmier dattier (*Phoenix dactylifera* L.) les cultivars tunisiens. Compte rendu du deuxième séminaire Maghrebin sur la multiplication rapide du Palmier dattier par la technique de culture in vitro pp : 37-41

Bernier G., et Bronchart R., 1964 effet du 2TU et de l'acide gibbérellique sur la mise à fleur du *Sinapsis alba* L. *physiol. Vég.*, 5 ;311-324.

Bougdal-Yakoub S., 1984. Etude des radiations rouges sur des méristèmes et sur des embryons en culture *in – vitro* chez le Palmier dattier (*Phoenix dactylifera* L.). Approches quantitatives. D.E.A. Université Pierre et marie curie (Paris IV).

Bougdal-Yakoub S., 1987. Etude des inductions morphogénétiques chez le Palmier dattier (*Phoenix dactylifera* L.) var Deglet-nour en culture *in-vitro*. Analyses

cytophotométrie et autoradiographique. Thèse de doctorat de l'université de Paris VI.

Bougdal-Yakoub S., 1990 ; Recherche des clones homogènes chez l'Olivier (*Olea europea* L.) var. Chemlal. Projet de recherche.

Bougdal-Yakoub S., 2005. Morphogenèse in-vitro du Palmier dattier (*Phoenix dactylifera* L.) et de l'Olivier (*Olea europea* L.) var Chemlal. Thèse .Doctorat d'Etat en biologie végétale. Encadrée par J. Bonaly, Paris XI. Soutenu à l'Univ .Mouloud Mammeri. Tizi –ouzou.191p.

Bougdal-Yakoub S. ; Cherifi D.; Bonaly J.; 2007 : Production de vitroplants d'*Olea europea* var. Chemal. Cahier agriculture vol.16, n°2, Mars-Avril 2007.

Bougdal-Yakoub S. et Brossart D. 2009-2014; la transdétermination du tabac collaboration avec le laboratoire de morphogenèse et de Biochimie. Paris VI.

Bouly, et al, 2012. Photomorphogenèse et photorécepteur chez les plantes (en ligne) disponible sur [http://www.ressources-pedagogiques.ups.tlse.fr/physiologie végétale/M8G08/CHAPITRE%20IV.pdf](http://www.ressources-pedagogiques.ups.tlse.fr/physiologie_végétale/M8G08/CHAPITRE%20IV.pdf) », (consulté le 10/05/2013).

Boyer, G.2000. L'Olivier l'arbre des Dieux. Journées méditerranéennes de l'olivier : Nîmes (7-8-9 avril 2000) P7.

Breton C. ; Medil F., Pinatel C., Berville A., 2006 : de l'olivier à l'oléastre. Origine et domestication de l'*Olea europea* L. dans le bassin méditerranéen cahier agriculture vol.15 n°4.Pp : 329-336.

Cherfa F. 2013 ; Essai de régénération in vitro de : *Medicago truncatula* lignée A17 plante model. Thèse master en Génétique et Amélioration des plantes. Université Mouloud Mammeri Tizi-Ouzou. Sous la direction du Professeur Bougdal-Yakoub S.

Cronquist A, 1991. The evolution and classification of plants. New Phytologist, vol.117. N°3. 5.

Daoud D.; Ghobrini D.; Bougdal-Yakoub S. Examination of Some Eco-Friendly Compounds, Extracted from Algal Biodiesel as Environmental Natural Inhibitors for Mild Steel Corrosion. Publisher IEEE *Xplore* 02 May 2019. Published in: 2018 6th International Renewable and Sustainable Energy Conference (IRSEC) Rabat, Morocco. DOI: 10.1109/IRSEC.2018.8702904.

- Drira N., 1985-** Multiplication végétative du palmier dattier (*Phoenix dactylifera* L) par les neoformations induites en culture in vitro sur des organes végétatifs et floraux prélevés sur la phase adulte. Faculté des Sciences de Tunisie. Thèse 3^{ème} cycle.
- Epifanova O.I., et Terskikh V.V., 1969-** on the resting periods in the cell life cycle. Cell tissue kinet., 2, 75-39
- Escuder O. ; 2007.** Plantes médicinales, mode d'emploi. Ed. Dunod. Paris. P172.
- Evans, 1964 ; Bernier et coll., 1967 ; Arzee et coll.,1970 ; Taillandier, 1971** inflorescence initiation in *lolium temulentum* L. VI. Effects of some inhibitors of nuclei acid protein and steroid biosynthesis. Aust. Biol. Sc., 17, 24-35.
- Gautheret R.J., 1980.** La culture in vitro .Bref aperçu historique. C.R. Acad .Agr. De Fra. Série n°8, pp : 628-631.
- Georget, R., Domergue, K., Ferrière, N., Côte, F X. (2000).** Morpho-histological study of the different constituents of a banana (Moussa AA B, cv. Grande naine) embryogenic cell suspension. Plant Cell Report 19:748-754.
- Ghobrini D., Bougdal-Yakoub S., Aïboud K. et Daoud D.** Effect of red light on biomass productivity of green microalgae *Chlorella sp.* strain isolated from Djurdjura national park (north Algeria). 2nd Symposium on Medicinal and Aromatic Plants of Mediterranean, April 22 – 25, 2015, Antalya, Turkey.
- Ghobrini D., Potocar T., Smolova J., Krausova G., Bougdal-Yakoub S., Branyik T., 2019.** Cultivation of *Chlorella vulgaris* using saline waste water from the demineralization of cheese whey. *Biotechnol Lett*, Doi.org/10.1007/s10529-019-02770-7(0123456789).
- Ghobrini D., Brányik T., Yakoub-Bougdal S., Kebbab L., Poutout B. et Aïboud K.** Cultivation of *Chlorella vulgaris* Using Medium From a Dairy Effluent. Publisher IEEE *Xplore* 02 May 2019. Published in: 2018 6th International Renewable and Sustainable Energy Conference (IRSEC) Rabat, Morocco. DOI: 10.1109/IRSEC.2018.8702962
- Guignard J.L., 2000.** Biochimie végétale. Ed. Dunod. Paris. 274p.
- Guignard ;J.L. ;2004 ;** Abrégé ; botanique ; systématique moléculaire. Paris 12^e édition ; MASSON ; PP 209-228.
- Haddadi M., Bougdal-Yakoub S., (2010):** Production de porte-greffes à partir d'embryons d'*Olea europea* L. var. Chemlal cultivés in vitro Publication dans la revue Cahiers/Agriculture. Vol. 19 N°4 288-291.

Hamlat M., 1995. Influence des phytohormones sur les embryons et microboutures d'olivier (*Olea europea* L.) var. Chemlal, cultivé in vitro .Thèse de Magister , Tizi-Ouzou ,167p.

Hannachi, S., Khitri D.; BenkhalifaA. ,Brac de la Perrier R.A. (1998).Inventaire variétal de la palmeraie algérienne. Ministère de l'agriculture et de la pêche, Ministère de l'enseignement supérieure et de la recherche scientifique, Ed. CDARS-URZA, Algérie. 225p.

Howard A. etPelc S.R.1951- Nuclear incorporation of ^{32}P as demonstration by autoradiographs. Exp. CellRes., 2, 178-187.

Khodja,CO.(2005). Une histoire millénaire (en ligne). Disponible sur <http://argogroupe.com/Son%20histoire.htm>, (consulté le 15mars 2013).

Louerguioui A., 1988- technique de multiplication par clonage in vitro du genre Eucalyptus. Thèse. Doc. Université de Rouen.

Loussert R. et Brousse G., 1978. L'Olivier techniques agricoles et production méditerranéennes. Ed. G.P. Maisonneuve et Lorose. Paris. P447.

Maillard R.,1975 L'Olivier .Ed. Comité technique de l'olivier. Aix en Provence et Institut National de Vulgarisation pour les fruits et légumes et champignons, p :21-25.

Mansseri-Lamrioui A., Louerguioui A., Bonaly J.,Bougdal-Yakoub S.; Allili N., 2011- Proliferation of wild cherry: the influence of cytokinin and auxin type and their concentration. African journal of Biotechnology 10(43), 8613-8624. 2011.

Margara, F. (1989). Bases de multiplication végétative : les méristèmes et l'organogenèse. Ed INRA Paris 262p.

Messaoudi, N(2007) : Influence des phytohormones sur le développement embryonnaire d'*Olea europea* L. Var. Chemlal. Mémoire D.E.S. en Biologie Physiologie Végétale. Université Mouloud Mammeri Tizi-Ouzou. P4, P19. Sous la direction du Professeur Bougdal-Yakoub.

Munier., 1973. Le Palmier dattier. Ed. G.P. Maison neuve et La rose .Paris, 209p.

Noin M., 1981; Bernard-Wibaut et al. 1983, photoperiodic inducing in relation to apical cycle in *Silene armeria*, strain S1-2. Intern. Symposium "light and the flowering process" Little Hampton. G.B.

- Nougarede A. et Bronchart R., 1965-** le métabolisme des acides nucléiques dans le méristème apical du *Perilla nankinensis* au cours des diverses phases du développement. C. R. acad.Sci., 260, 3140-3143.
- Panis, B., N.T. Thinh. (2001).** Cryoconservation de matériel génétique du bananier. Guide Technique INIBAP 5 (J.V Escalant et S. Sharrock, eds). Réseau international pour l'amélioration de la banane et de la banane plantain, Montpellier, France. 44pp.
- Perdurand D. 1970-** Structure et fonctionnement du méristème apical du *Zea mays* L. avant la phase végétative. C.R. Acad. Sci., 268, 504-507.
- Peyron, G. (2000).** Cultiver le Palmier dattier 110 pages
- Polese, 2009. J.M.; 2009.** Olivier pas à pas. Campagne des éditions de la less, Aix-en-Provence. P9.
- Rollin, R. (1970).** Le rôle du phytochrome dans la germination des graines de *Nemophila insignis* L. Berl. 2008 ; 91(6) :227-234.
- Sbiai, A. (2011).** Matériaux composites à matrice époxyde chargée par des fibres de palmier dattier ; effet de l'oxydation au tempo, thèse de doctorat, INSA de Lyon, 2011.
- Schöppner, A., Kindl, H. (1984).** Purification and Properties of a Stilbene Synthase from Induced Cell Suspension Cultures of Peanut. Journal of Biological Chemistry, 259, 6806-6811.
- Tirichine A., 1997.** Etude des ressources génétiques du Palmier dattier. In : web : <http://agromzab.Multimania.Com/contrib.Aissa.htm>.
- Toutaine G., 1967-** Le palmier dattier. Culture et production. El Awamia, 25, 83-151.
- Walali L. 1984** caractère morphologique et physiologique de clones d'olivier Picholine Marocaine. Revue « *olivae* » N°3.
- Zryd, J.P. (1988).** Culture de cellules, tissus et organes végétaux. Ed. Press. Polytechniques Romandes Suisse 308p.
- Zryd J.P., 1989.** Culture de cellules, tissus et organe végétaux. Fondement théorique et utilisations pratiques. Ed. Presses Polytechniques Romandes.

Résumé :

Le travail réalisé cerne quelques travaux biotechnologiques réalisés au niveau du laboratoire de CIV, et qui portent sur deux espèces ligneuses appartenant à deux classes différentes une monocotylédone le Palmier dattier, et une dicotylédone l'Olivier; afin d'étudier le processus la germination de la graine et le comportement des jeunes plants cultivés in-vitro sur différents milieux de culture MS (Murashige et Skoog 1962, MSm) ; SIM, CIM (MS additionné de phytohormones auxines ; et cytokinines). La combinaison hormonale 2.4D à 0.5mg/l et Kin à 0.05 mg/l a donné meilleurs résultats d'où un bon développement des extrémités cotylédonaires et la rhizogenèse. La redétermination des méristèmes racinaires en méristèmes caulinaire chez l'olivier suite à une culture sur grâce à CIM+ANA puis sur SIM+2iP additionnés (ANA et 2iP à 1, 2, 5, 10 mg/l pour chacune des deux hormones). Le comportement des plantules de *Phoenix dactylifera* L. soumises à l'influence des radiations lumineuses, blanche, bleue, rouges (RC/RS), les résultats révèlent que l'éclairement de type RS exerce un effet stimulateur sur la néoformation des racines. Le marquage nucléaire des méristèmes caulinaires à l'aide de la thymidine tritiée ³H afin de localiser les zones d'activité de synthèse d'ADN accompagnant l'induction des différenciations morphologiques a permis de localiser préférentiellement les noyaux en cours de la phase S (synthèse d'ADN) au niveau des zones latérales des méristèmes. D'autre part l'initiation d'une suspension cellulaire est obtenue dans un milieu liquide additionné d'hormones et à partir des cals compacts et friables. L'étude histologique réalisée, a permis de décrire la nature et l'origine de la callogenèse dans le cœur du rejet du palmier dattier. Les cals friables présentent une origine superficielle à partir de cellule de l'assise épidermique et sous épidermique des explants, par contre les cals compacts naissent à partir de cellules péri vasculaires.

Mots clés : *Phoenix dactylifera* L. ; *Olea europea* L. ; embryon ; MS ; CIV ; Phytohormone.

Summary:

The work carried out identifies some biotechnological work carried out at the level of the CIV laboratory, and which relate to two woody species belonging to two different classes, a monocotyledonous date palm, and a dicotyledonous olive tree; in order to study the process of seed germination and the behavior of young plants cultivated in vitro on different MS culture media (Murashige and Skoog 1962, MSm); SIM, CIM (MS with the addition of phytohormones auxins; and cytokinins). The hormonal combination 2.4D at 0.5mg / l and Kin at 0.05 mg / l gave better results, resulting in good development of the cotyledonary ends and rhizogenesis. Redetermination of root meristems into stem meristems in the olive tree following cultivation on thanks to CIM + ANA then on SIM + 2iP added (ANA and 2iP at 1, 2, 5, 10 mg / l for each of the two hormones). The behavior of *Phoenix dactylifera* L. seedlings when subjected to the influence of light, white, blue, red (RC / RS) radiations, the results reveal that the RS-type illumination exerts a stimulatory effect on the neoformation of the roots. The nuclear labeling of the stem meristems using ³H tritiated thymidine in order to locate the areas of DNA synthesis activity accompanying the induction of morphological differentiations made it possible to preferentially locate the nuclei during the S phase (synthesis DNA) in the lateral areas of the meristems. On the other hand, the initiation of a cell suspension is obtained in a liquid medium supplemented with hormones and from compact and friable calluses. The histological study carried out made it possible to describe the nature and origin of callogenesis in the heart of the rejection of the date palm. The friable calli have a superficial origin from cells of the epidermal and sub-epidermal base of the explants, on the other hand compact calli are born from perivascular cells.

Keywords: *Phoenix dactylifera* L.; *Olea europea* L.; embryo; MS; IVC; Phytohormone

