

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université Cheikh Larbi Tébessi-Tébessa
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Institut de Biologie

Mémoire

En vue de l'obtention du diplôme de MAGISTER en Biotechnologies
Végétales

Sous le sujet :

= = = = =
|| **Induction de l'enracinement par**
|| ***Agrobacterium rhizogenes* chez 3**
|| **variétés d'Olivier: Chemlal, Ferkani et**
|| **Boukaila.**
= = = = =

Présenté par: ALLAG Amel.

Membres du jury:

Président	Dr. KHELIFI D.	Pr. UMC- Constantine
Directeur de thèse	Dr. KHELIFI L.	MC. INA- Alger
Examineurs	Dr. BENCHABENE M.	MC. USD-Blida
	Dr. BENBELKACEM K.	MR. INRAA-Constantine
	Dr. GOUDJIL T.	MC. ULT- Tébessa
Invités d'honneur	Mr. MENDIL M.	DG. ITAFV-Alger
	Mr. BOULKHELOUA J.	CC. ULT-Tébessa

Année universitaire
2007/2008

L'induction de l'enracinement chez trois variétés nobles d'Olivier (*Olea europaea*): Chemlal de Kabylie, Ferkani de la région de Tébessa et Boukaila du Constantinois par infection (formation de chevelus racinaires) à l'aide d'*Agrobacterium rhizogenes* A₄ offre des perspectives prometteuses pour l'amélioration génétique de l'enracinement de ces variétés.

L'étude a porté sur le matériel herbacé des trois variétés qui répondent mal aux traitements auxiniques. Il s'agit d'utiliser les outils biotechnologiques pour faire intégrer, par transformation génétique, aux génomes de ces variétés les gènes de la rhizogénèse portés par le plasmide Ri (Root inducing) de l'*Agrobacterium rhizogenes* A₄.

Ainsi, du matériel végétal de différents types et origines a été utilisé (Boutures à un seul, boutures à plusieurs nœuds et feuilles détachées avec bourgeon axillaire à leur base).

Les résultats obtenus montrent que par rapport aux travaux antérieurs (taux de 19% pour Chemlal), que l'*Agrobacterium rhizogenes* A₄ permet d'améliorer considérablement le taux d'enracinement qui atteint 60% avec la variété Chemlal, 56,66% avec la variété Ferkani et 42,85% avec la variété Boukaila. Ce taux varie en fonction du type de bouture, et de la période d'induction. Les boutures racinées poursuivent un développement normal durant la période d'acclimatation.

Les mots clés:

Acclimatation, *Agrobacterium rhizogenes*, Amélioration génétique, Boukaila, Bouture, Chemlal, chevelus racinaires, Ferkani, Feuille, Infection, *Olea europaea*, Rhizogénèse, Transformation génétique.

The induction by infection (formation of hairy roots), for three noble varieties of Olives (*Olea europaea*) using *Agrobacterium rhizogenes* A₄, in the regions of (1) Chemlal of kabylie, (2) Ferkani of the area of Tébessa and (3) Boukaila of Constantine presents promising perspectives for the genetic improvement of the rooting of these varieties.

The current study was concerned with the herbaceous material of the three varieties which react badly to the auxinic treatment. The matter in to use biotechnological means to integrate into the genomes of these varieties, via genetic transformation, the rhizogenese genes that are carried by the Ri plasmid (Root inducing) of the *Agrobacterium rhizogenes* A₄.

In this case, the vegetable material of different types and origines was used (Cutting with a single knot, cuttings with several knots and leaves separated with buds supporting their base).

The results obtained show that, compared to previous works (rate of 19% for Chemlal), that the A₄ *Agrobacterium rhizogenes* favours a considerable improvement of the rooting rate which reaches 60% with the variety of Chemlal, 56,66% with the one of Ferkani and 42,85% for that of Boukaila. This rate varies according to the cutting type and the induction period. The rooted cuttings go on in a normal development during the period of acclimatization.

Key words:

Acclimatization, *Agrobacterium rhizogenes* A₄, Boukaila, Chemlal, Cutting, Ferkani, genetic transformation, genetic improvement, hairy roots, Infection, *Olea europaea*, Rhizogenese, leaves.

REMERCIEMENTS

Tout d'abord je remercie le bon dieu qui m'a donné la volonté et l'énergie de réaliser ce travail.

Je tiens à remercier ici toutes les personnes qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail, en particulier, les personnes et les institutions suivantes:

J'exprime ma profonde reconnaissance à Dr. KHELIFI L, directeur de ma thèse de m'avoir m'accueillie durant plus qu'une année au sein du Laboratoire de Ressources Phytogénétiques et Biotechnologie de l'INA qu'il le dirige, et pour m'avoir guidé dans mes réflexions scientifiques tout au long de ce travail. Que ce mémoire soit le témoignage de toute ma gratitude pour ses précieux conseils.

Sans oublier de remercier Madame KHELIFI de sa gentillesse et de ses encouragements au cours de l'année.

Je remercie également Pr. KHELIFI D, de m'avoir fait l'honneur de présider le jury de ma thèse.

J'exprime ma très haute considération à Dr. BENCHABENE M, d'avoir accepté la tâche de juger ce travail.

Un grand merci à Dr. BENBELKACEM K, pour sa disponibilité à être examinateur de ma thèse.

Un chaleureux merci à Dr. GOUDJIL T, d'avoir accepté l'examen de ma thèse qui est le résultat de ses encouragements inoubliables.

J'adresse un immense merci à Mr MENDIL, le Directeur Général de l'ITAFV pour toutes les aides qu'il m'a apporté au cours de l'année. Ainsi, à tout le personnel qu'il le dirige (Administration, serres, laboratoires, CDI, ... jusqu'aux agents de sécurité).

Un grand merci au Pr. DAOUD le directeur de l'Institut National Agronomique, de m'avoir accordé la réalisation de mon sujet de recherche au niveau de cet Institut. Qu'il trouve ici l'expression de ma plus haute considération.

Je remercie Pr. BOUZNAD, directeur de la poste graduation de l'INA, de sa gentillesse.

Un grand merci à Me et Mr HADDAD pour toute aide inoubliable de leurs parts.

Je remercie fortement Mr AGOUNI d'être disponible pour m'aider à chaque instant au niveau de la serre et hors la serre.

Un merci tout particulier à Mr GUETOUCHE pour la passion et l'énergie de son aide si précieuse au niveau de la serre.

Je tiens à remercier très chaleureusement Pr. GOUESSMIA A, Recteur de l'Université de Tébessa, pour sa gentillesse, ses encouragements et son aide précieuse pour résoudre mes problèmes administratifs.

Je remercie particulièrement Monsieur BOULKHELOUA J, pour sa gentillesse raffinée, sa patience et son aide qui m'a été particulièrement précieuse.

Tout particulièrement, j'adresse un grand merci à Djamila l'ingénieur du laboratoire pour sa disponibilité et son immense gentillesse. Ainsi au personnel du laboratoire d'analyse du sol.

Je remercie tout le personnel du département Pytotechnie de l'INA.

Je remercie vivement tous mes collègues au LRPB-INA (Zakia, Saida, Ghania, Amina, Fatima, Nazim, Mohamed, Boualem, Kheireddine, Belkacem) pour l'ambiance familiale au sein du laboratoire et pour leur gentillesse inoubliable. Je garderai un merveilleux souvenir de cette année passée parmi eux.

Je remercie le personnel de la bibliothèque centrale de l'INA et du phytotechnie.

Un grand merci à Mr IREKTI et Mr OUAZANI de l'INRA d'être serviables, sans oublier le personnel de la bibliothèque de l'INRA.

J'exprime toute ma gratitude à Me BENCHERAIET pour m'avoir dirigé vers la bonne voie afin d'exploiter mes capacités.

Un grand remerciement à Dr. BAALI A, qui m'a donné beaucoup d'aide. Je lui exprime ma très haute considération.

Un chaleureux merci aux pharmaciens qui m'ont donné énormément de l'aide: Me AOUNE.S à Tébessa et Mr TOUAHRIA.A à Alger.

Un grand merci également à tous mes enseignants à la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, et à l'Institut des sciences commerciales et de la gestion de l'université de Tébessa pour tout encouragement de leurs parts.

Je remercie tout le personnel de la Post-Graduation de l'université de Tébessa.

Je remercie le personnel de la bibliothèque de l'université de Tébessa en particulier Mr GAHGAH qui était très serviable au cours des années d'étude.

Je remercie très chaleureusement Manel, Yamina et Souhila qui m'ont donné l'aide inoubliable pour réaliser mon rêve.

Pour finir, j'adresse tout mon amour, à mes très chers parents, à mes chers frères, à ma chère sœur et à mon beau frère dont je les remercie infiniment d'avoir m'accueillie tout au long du séjour de la réalisation de ce travail à Alger. Ainsi à l'ange « Maissane » qui m'a accompagné durant toute tâche.

Dédicace

Une dédicace très particulière de ce mémoire aux bougies de ma vie:
Très chère maman & très cher papa.

Ainsi, je dédie ce mémoire à ma petite famille:
« Ma chère sœur Lynda »
« Mes chers frères: Atik, Affif et Ameer »
« Ma chère nièce Maissane »
« Mon beau frère Lies »

A toute personne qui m'aime et qui me respecte....

**« If we knew what we were doing, it
wouldn't be called research, would it be? »**

Albert Einstein (1879-1955)

TABLE DES MATIERES	vi
RÉSUMÉ.....	ii
TABLE DES MATIÈRES.....	v
LISTE DES FIGURES.....	x
LISTE DES TABLEAUX.....	xii
LISTE DES PLANCHES.....	xiii
LISTE DES ABRÉVIATIONS.....	xiv
INTRODUCTION.....	1
SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE.....	3
I. Données générales sur l'olivier (<i>Olea europaea</i>).....	3
1. Origine, botanique et caractéristiques de l'olivier.....	3
1.1. Origine de l'olivier.....	3
1.2. Données botaniques sur l'olivier.....	3
1.3. Caractéristiques de l'olivier.....	3
2. L'olivier dans le monde.....	4
2.1. Importance économique.....	5
2.2. Culture de l'olivier.....	5
2.2.1. Techniques de multiplication.....	5
2.2.2. Importance de la culture de l'olivier.....	6
2.2.3. Intérêts de l'olivier.....	6
3. L'olivier en Algérie.....	7
3.1. Espèces existantes.....	7
3.2. Place de l'olivier en Algérie.....	7
3.3. Exigences climatiques et culture de l'olivier.....	9
3.4. Variétés d'oliviers les plus cultivées en Algérie.....	9
3.5. Propagation de l'olivier.....	10
3.5.1. Modes de propagation.....	10
3.5.2. Structures de propagation intensive.....	12

4. Culture de tissus.....	12
4.1. Grands axes des techniques <i>in vitro</i>	13
4.2. Avantages de la micro propagation de l'olivier.....	13
II. Processus de la rhizogénèse chez l'olivier.....	14
1. Facteurs impliqués dans la formation de nouvelles racines.....	15
1.1. Facteurs dits fixes.....	15
1.2. Facteurs mobiles.....	15
2. Durées et étapes de l'enracinement sous serre.....	15
3. Taux d'enracinement de quelques variétés Algériennes d'olivier.....	15
4. Physiologie de la rhizogénèse.....	16
4.1. Rhizogenes en serre / pépinière.....	16
4.1.1. Facteurs agissant sur la rhizogénèse.....	17
4.1.2. Régulation hormonale de la rhizogénèse.....	17
4.2. Rhizogénèse <i>in vitro</i>	17
III. <i>Agrobacterium rhizogenes</i> et la rhizogénèse	18
1. Définition de l' <i>Agrobacterium rhizogenes</i>	18
2. Organisation du plasmide Ri de la souche A ₄	18
3. Cycle infectieux de l' <i>Agrobacterium rhizogenes</i>	19
3.1. Adhésion bactérie-plante.....	22
3.2. Activation des gènes vir et synthèse de l'ADN-T.....	23
3.3. Insertion de l'ADN-T dans le génome de la cellule végétale infectée.....	24
4. Propriétés de la transformation génétique par l' <i>Agrobacterium rhizogenes</i> (A ₄).....	26
VI. Utilisation d'<i>Agrobacterium rhizogenes</i> pour l'enracinement des plantes	
1. Cas des espèces ligneuses.....	27
2. Cas de l'olivier.....	27

MATÉRIEL ET METHODES.....	
I. Objectif de l'étude.....	30
II. Lieu de l'étude.....	30
III. Matériel Biologique.....	30
1. Matériel végétal.....	30
2. Souche bactérienne.....	30
2.1. Préparation de la suspension bactérienne.....	31
2.2. Activation de la bactérie (1 ^{ère} étape).....	31
2.3. Remise en suspension (2 ^{ème} étape).....	31
V. Induction de l'enracinement.....	33
1. Effet de l'origine de la bouture ou de la feuille sur le rameau.....	33
2. Protocoles expérimentaux.....	33
2.1. Essai préliminaire : variété Chemlal.....	33
2.2. Extension de l'essai aux variétés Chemlal, Ferkani et Boukaila.....	35
2.3. Essai feuilles herbacées des variétés Chemlal et Ferkani.....	35
2.4. Essai boutures herbacées à un seul nœud (Chemlal).....	37
3. Paramètres observés lors de la phase d'enracinement.....	38
VI. Acclimatation des boutures et feuilles racinées.....	38
VIII. Analyse statistiques.....	40
 RÉSULTATS ET INTERPRÉTATIONS.....	
I. Phase d'enracinement.....	41
1. Essai préliminaire.....	41
1.1. Pourcentage de callogenèse.....	41
1.2. Pourcentage de rhizogenèse.....	42
1.3. Nombre moyen de racines par bouture.....	45
1.4. Longueur moyenne des racines principales.....	45
1.5. Pourcentage de ramifications des racines.....	46
1.6. Conclusion.....	47

2.	Extension de l'essai à deux autres variétés.....	48
2.1.	Pourcentage de callogenèse.....	48
2.2.	Pourcentage de rhizogénèse.....	50
2.3.	Nombre moyen de racines par bouture.....	52
2.4.	Longueur moyenne des racines principales.....	54
2.5.	Pourcentage de ramifications des racines.....	56
2.6.	Conclusion.....	56
3.	Bouturage de feuilles herbacées de deux variétés.....	61
3.1.	Pourcentage de callogenèse.....	61
3.2.	Pourcentage de rhizogénèse.....	62
3.3.	Nombre moyen de racines par feuille.....	63
3.4.	Longueur moyenne des racines principales.....	64
3.5.	Pourcentage de ramifications des racines / feuille.....	65
3.6.	Conclusion.....	65
4.	Utilisation de boutures à un seul nœud.....	66
4.1.	Pourcentage de callogenèse.....	66
4.2.	Pourcentage de rhizogénèse.....	67
4.3.	Autres paramètres.....	68
4.4.	Conclusion.....	69
II.	Phase d'acclimatation.....	71
1.	Partie aérienne.....	73
1.1.	Longueur moyenne des pousses.....	73
1.2.	Nombre moyen de feuilles par pousse.....	73
1.3.	Diamètre moyen de la pousse.....	74
1.4.	Poids frais de la partie aérienne.....	75
1.5.	Poids sec de la partie aérienne.....	75
1.6.	Conclusion.....	76
2.	Partie racinaire.....	78
2.1.	Longueur moyenne de la racine principale.....	78
2.2.	Nombre moyen de racines par bouture racinée.....	78

2.3. Diamètre moyen de la racine principale.....	79
2.4. Poids frais de la partie racinaire.....	80
2.5. Poids sec de la partie racinaire.....	80
2.6. Conclusion.....	81
3. Effet de la Céfotaxime sur l'évolution des boutures racinées en acclimatation.....	83
DISCUSSION.....	85
CONCLUSION GÉNÉRALE.....	93
RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	95
ANNEXES.....

LISTE DES FIGURES

x

Figure 1 : Carte des Pays Oléicoles dans le Bassin Méditerranéen.....	5
Figure 2 : Aspets des fruits des variétés ayant fait l'objet de ce travail	9
Figure 3 : Organisation générale du plasmide Ri	20
Figure 4 : Mécanisme d'infection des cellules végétales par <i>Agrobacterium rhizogenes</i> : Transfert et integration du T-DNA	22
Figure 5 : Modèle de synthèse de l'ADN-T	24
Figure 6 : Modèle d'activation des gènes de virulence	24
Figure 7 : Modèle d'intégration de l'ADN-T dans l'ADN végétal	26
Figure 8 : Propriétés des racines transformées	27
Figure 9 : Opérations successives pour la mise en serre des boutures à plusieurs nœuds après traitement à la solution bactérienne.....	34
Figure 10 : Dispositif: boutures à plusieurs nœuds de la variété CHEMLAL.....	34
Figure 11 : Dispositif: boutures des variétés Chemlal, Ferkani et Boukaila	35
Figure 12 : Opérations successives pour la mise en serre des feuilles après traitement à la solution bactérienne	36
Figure 13 : Dispositif: feuilles des variétés Ferkani et Chemlal	36
Figure 14 : Opérations successives pour la mise en serre des boutures à un seul nœud après traitement à la solution bactérienne.....	37
Figure 15 : Dispositif: boutures à un seul nœud de la variété Chemlal.....	38
Figure 16 : Variation du pourcentage de callogenèse en fonction du traitement à la souche A4 et du type de bouture.....	42
Figure 17 : Variation du pourcentage d'enracinement en fonction du traitement à la souche A ₄ et du type de bouture.....	43
Figure 18 : Variation du nombre moyen de racines en fonction du traitement à la souche A ₄ et du type de bouture.....	45
Figure 19 : Variation de la longueur moyenne de racines en fonction du Traitement à la souche A ₄ et du type de bouture.....	46
Figure 20 : Variation du pourcentage de ramification des racines en fonction du traitement à la souche A ₄ et du type de bouture	47
Figure 21 : Importance et qualité des ramifications obtenues avec le traitement à la souche A4 des boutures médianes	47
Figure 22 : Variation du pourcentage de callogenèse en fonction du traitement à la souche A4 et du type de bouture. A: Chemla, B: Ferkani C:Boukaila.....	49
Figure 23 : Variation du pourcentage d'enracinement en fonction du traitement à la souche A4 et du type de bouture. A: Chemla, B: Ferkani, C: Boukaila.....	51
Figure 24 : Variation du nombre moyen de racines par bouture en fonction du traitement à la souche A ₄ et du type de bouture. A: Chemla, B: Ferkani, C: Boukaila.....	53

Figure 25 : Variation de la longueur moyenne de racines en fonction du traitement à la souche A ₄ et du type de bouture. A: Chemla, B: Ferkani, C: Boukaila.....	55
Figure 26 : Variation du pourcentage de ramification des racines en fonction du traitement à la souche A ₄ et du type de bouture. A: Chemla, B: Ferkani, C: Boukaila.....	57
Figure 27 : Variation du pourcentage de callogenèse en fonction du traitement à la souche A ₄ et du type de feuille. A: Chemlal. B: Ferkani	62
Figure 28 : Variation du pourcentage d'enracinement des feuilles de la variété Chemlal en fonction du traitement à la souche A ₄ et du type de feuille.....	63
Figure 29 : Variation du nombre moyen de racines par feuille de la variété Chemlal enracinée en fonction du traitement à la souche A ₄ et du type de feuille.....	64
Figure 30 : Variation de la longueur moyenne de racines des feuilles de la variété Chemlal racinées en fonction du traitement à la souche A ₄ et du type de feuille.....	64
Figure 31 : Variation du pourcentage de ramification des racines en fonction du traitement à la souche A ₄ et du type de feuille.....	65
Figure 32 : Variation du pourcentage de callogenèse des boutures à un nœud en fonction du traitement à la souche A ₄ et du type de bouture	67
Figure 33 : Variation du pourcentage d'enracinement des boutures à un seul nœud en fonction du traitement à la souche A ₄ et du type de bouture	68
Figure 34 : Variation de la longueur moyenne des pousses développées sur boutures racinées en fonction du traitement à la souche A ₄ et du type de bouture.....	73
Figure 35 : Variation du nombre moyen de feuilles par pousses issues de boutures racinées en fonction du traitement à la souche A ₄ et du type de bouture	74
Figure 36 : Variation du diamètre moyen de pousses issues de boutures racinées en fonction du traitement à la souche A ₄ et du type de bouture	74
Figure 37 : Variation du poids frais de la partie aérienne en fonction du traitement à la souche A ₄ et du type de bouture	75
Figure 38 : Variation du poids sec de la partie aérienne issu des boutures racinées en fonction du traitement à la souche A ₄ et du type de bouture.....	76
Figure 39 : Variation de la longueur moyenne des racines principales en fonction du traitement à la souche A ₄ et du type de bouture	78
Figure 40 : Variation du nombre moyen de racines par bouture racinée en fonction du traitement à la souche A ₄ et du type de bouture	79
Figure 41 : Variation du diamètre moyen des racines principales en fonction du traitement à la souche A ₄ et du type de bouture.....	79
Figure 42 : Variation du poids frais de la partie racinaire en fonction du traitement à la souche A ₄ et du type de bouture	80
Figure 43 : Variation du poids sec de la partie racinaire en fonction du traitement à la souche A ₄ et du type de bouture	81

Tableau 1: Capacités de production en nombre de plants produits par région.....	8
Tableau 2: Caractéristiques de quelques variétés Algériennes d'oliviers	10
Tableau 3: Taux d'enracinement de deux variétés algériennes de l'olivier.....	16
Tableau 4: Composition du milieu de culture YEM	31
Tableau 5: Facteurs étudiés: Type d'explant x origine sur le rameau.....	33
Tableau 6: Résultats statistiques des boutures à un seul noeud.....	69
Tableau 7: Paramètres mesurés pour l'effet de la Céfotaxime sur les boutures racinées.....	83
Tableau 8: Résultats statistiques pour l'effet de l'élimination de la bactérie par la Céfotaxime.....	84

Planche 1: Activation de la souche A ₄	34
Planche 2: Effet de l'origine de la bouture herbacé de la variété Chemlal sur l'induction de l'enracinement	44
Planche 3: Aspect des racines obtenues sur des boutures d'origines différentes soumises à la souche A ₄	58
Planche 4: Aspect des racines obtenues sur des boutures d'origines différentes soumises à la souche A ₄ chez la variété Ferkani	59
Planche 5: Aspect des racines obtenues sur des boutures d'origines différentes soumises à la souche A ₄	60
Planche 6: Illustration des différentes réactions des feuilles herbacées	66
Planche 7: Illustration des différentes réactions des boutures à un nœud soumises à un traitement par la souche A ₄	70
Planche 8: Aspect des boutures racinées en acclimatation	72
Planche 9: Pousses obtenues sur boutures racinées après traitement par la souche A ₄	77
Planche 10: Aspect des boutures racinées en phase d'acclimatation	82

ABA : Abscisic acid.

ags: agropine.

AIB: Acide Indolyl Butyrique.

ANA: Acide Naphtyl Acétique.

BAP: Benzyl Adénine (6 benzyl-amino Purine).

COI : Conseil Oléicole International.

Cyt : Cytokinines synthèses.

dNTP: désoxy Nucléotides Tri Phosphate.

DSASI: Direction des Statistiques Agronomiques et Saisie de l'Information.

FAO : Organisation pour l'alimentation et l'agriculture.

ITAFv : Institut National de l'Arboriculture Fruitière et de la Vigne.

mas: mannopine.

Ocs: synthèses of the opines octapine.

OGM: Organisme Génétiquement Modifié.

Oriv: the vegetative origine of replication of the Ri plasmide.

Tc: partie centre du T-DNA.

TL: partie gauche du T-DNA.

TR: partie droite du T-DNA.

YEM: Yeast Extract Mannitol (extrait de levure-mannitol).

PPDS: Plus Petite Différence Significative.

MADR: Ministère de l'Agriculture et du Développement Rural.

µM: micro-mole.

Introduction

Par son importance économique, sociale et commerciale, l'olivier (*Olea europaea*) occupe une place très importante dans le monde, et plus particulièrement en région méditerranéenne. Cependant, le développement de cette espèce reste confronté dans les pays de la rive sud de la méditerranée, dont l'Algérie, aux problèmes de production de plants de qualité. Parmi trois méthodes de propagation, la voie de multiplication par greffage reste la plus largement pratiquée, et ce, malgré ses limites et le prix de revient du plant greffé.

Le bouturage herbacé utilisant de jeunes rameaux feuillés de l'année en cours de lignification, bien que peu pratiqué en Algérie, constitue le meilleur mode de multiplication pour l'Olivier (ITAFV, 2004). Néanmoins, les capacités rhizogènes restent le caractère qui fait preuve d'une variabilité élevée chez l'Olivier. La capacité d'enracinement sous serre et/ou *in vitro* des boutures ou microboutures d'Olivier est directement proportionnelle à leurs âge d'un côté (Prolingis et Therios, 1976; Rugini, 1986; Jacoboni, 1989) et de l'autre aux facteurs génétiques (Ercan et al, 1999; Leva, 2004) qui conduisent à des résultats hétérogènes. C'est le cas pour de nombreuses variétés Algériennes qui ne s'enracinent pas ou très peu (même en présence d'hormones de croissance) alors que d'autres présentent des taux d'enracinements proches de 100% (Fontanaza et al, 2001).

Les biotechnologies et plus particulièrement, la Transgénèse végétale via *Agrobacterium rhizogenes* ayant le pouvoir de transférer les gènes de la rhizogénèse portés sur le plasmide Ri (inducteur racinaire) aux dicotylédones pourrait constituer une alternative non négligeable pour surmonter les difficultés d'enracinement enregistrées chez certaines espèces d'arbres fruitiers tels que l'olivier. Ceci ne peut être réalisé que par l'intégration expérimentale des gènes de la rhizogénèse dans le génome des variétés récalcitrantes au bouturage en vue d'améliorer leur propagation par voie végétative.

Lors du transfert de gènes, les gènes vir d'*Agrobacterium rhizogenes* sont activés par trois signaux chimiques provenant de la plante blessée, parmi lesquels: l'acétosyringone (Li et al, 1996). L'origine de la bouture et/ou la feuille herbacée de l'Olivier, le type de la souche utilisée (Ercan et al, 1999; Park et Facchini, 2000) et la concentration bactérienne (Giri et Narasu, 2000) jouent un rôle important dans la

transformation génétique. La réaction de la plante à l'infection se traduit toujours par la formation de chevelus racinaires (Bradbury, 1986) qui sont le plus souvent caractérisés par une croissance rapide et indéfinie (Kavalenko et Maluita, 2003; Souret et *al*, 2003).

En Algérie, les variétés Chemlal de Kabylie, Ferkani de la région Tébessa et Boukaila du Constantinois sont reconnues par l'excellente qualité de l'huile qu'elles offrent (Mendil et Sebai, 2006). Cependant, ces variétés sont aussi reconnues pour leurs très faibles capacités organogènes, car elles présentent de grandes difficultés de multiplication par bouturage dues à leurs faibles aptitudes rhizogènes y compris en présence de traitements auxiniques (Loussert, 1981).

L'objectif visé par le présent mémoire est l'étude des possibilités d'adaptation des techniques du transfert de gènes par l'utilisation d'*Agrobacterium rhizogenes* pour améliorer le bouturage herbacé des trois variétés (Chemlal, Ferkani et Boukaila) présentant des difficultés d'enracinement. Afin d'évaluer la qualité de l'enracinement induit et la qualité des plants obtenus, de nombreux paramètres, liés au système racinaire ainsi qu'à la partie aérienne du plant, sont pris en considération. L'objet de recherche à plus long terme est de savoir s'il est possible d'envisager raisonnablement le développement de la démarche biotechnologique dans la production de plants issus du bouturage d'olivier par l'utilisation d'*Agrobacterium rhizogenes* comme inducteur de la rhizogenèse.

Synthèse bibliographique

I. Données générales sur l'olivier (*Olea europaea*)

En raison sans doute de son implantation géographique dans une zone qui comprend beaucoup de régions en développement, ainsi que son importance économique, sociale et commerciale; un intérêt particulier est accordé à l'olivier.

1. Origine, botanique et caractéristiques de l'olivier

1.1. Origine de l'olivier

L'olivier est un arbre originaire du proche orient (Ereteo, 1988), cultivé depuis environs 6000 ans dans le bassin méditerranéen (Civantos, 1988) où se trouve concentré 95% du patrimoine oléicole mondial (Touzani, 2001).

Son habitat est déterminé précisément par le climat méditerranéen, caractérisé par des hivers relativement doux et des étés secs et chauds (Marrakchi, 1988; COI, 2000). Il constitue par les superficies qu'il occupe le principal groupe d'espèces fruitières dans les pays méditerranéens (Khelifi et al, 2007).

1.2. Données botaniques sur l'olivier

L'olivier (*Olea europaea*) appartient à la famille des Oléacées et le genre *oleae* qui comporte 30 espèces différentes réparties à la surface du globe (Claire, 1999). L'olivier cultivé appartient au genre *Olea*, espèce européenne, sous-espèce *sativa* (objet de ce travail), qui se différencie de l'autre sous-espèce oléastre à laquelle appartiennent les oliviers sauvages répandus dans des zones circumméditerranéennes. Ce dernier groupe aurait pris naissance de l'*Olea europaea sativa* par dissémination spontanée et ségrégation des caractères (Giuseppe, 1990).

1.3. Caractéristiques de l'olivier

L'olivier est toujours vert, ses dimensions et ses formes sont extrêmement variables. Les feuilles sont persistantes avec une durée de vie de l'ordre de 3 ans. Elles sont disposées de façon opposée sur le rameau. Leur face supérieure est d'un vert foncé, luisant et la face inférieure est d'un aspect argenté. L'olivier supporte des sols pauvres, une relative aridité et il peut être lent à entrer en production (de 10 à 15 ans)

s'il est cultivé en sec, mais 4 à 5 ans seulement s'il est cultivé dans des conditions favorables (Claire, 1999). Il fleurit en mai-juin-juillet, suivant les variétés et donne des fruits pendants, gros à formes variées mais peu nombreux (Pagnol, 1975). L'olivier peut être considéré comme exceptionnel vu sa longévité et sa résistance aux aléas du milieu (Ereteo, 1988).

De ce fait, des preuves archéologiques indiquent que parmi les premiers arbres fruitiers cultivés par l'homme se trouvaient l'Olivier, la Vigne, le Figuier et le Palmier dattier (COI, 2000).

2. L'olivier dans le monde

2.1. Importance économique

Le patrimoine oléicole mondial est constitué de 850 millions d'arbres, occupant une surface d'environ 8,7 millions d'hectares (Claire, 1999). La production atteint environ 10 millions de tonnes d'olivier dont 90% sont destinées à l'extraction d'huile dont la production varie du simple au double suivant les années (Claire, 1999).

L'Europe arrive en tête des pays producteurs mondiaux (Figure 1), grâce aux olivettes cultivées dans le bassin méditerranéen suivi par l'Asie, l'Amérique, l'Océanie, et l'Afrique comme pays producteurs moyen (Pagnol, 1975; Prestamburgo, 1988).

Il existe trois systèmes de culture correspondant aux différentes zones :

- **Système I (Oléiculture intensive)**

Système de culture situé dans des zones favorables, utilisant des technologies modernes d'implantation et de culture, étant en mesure d'obtenir de hauts niveaux de production en quantité et en qualité (Touzani, 2001; Kadhum et *al*, 2004).

- **Système II (Oléiculture traditionnelle)**

Dû à une carence d'ordre agronomique, elle ne permet pas à l'espèce d'offrir les résultats de production dont elle est capable. C'est dans ces zones qu'il faut réaliser tous les efforts d'intervention, consistant surtout en sa restructuration totale (Touzani, 2001; Kadhum et *al*, 2004).

- **Système III (Zones marginales)**

Ce sont des zones qui se caractérisent par une faible production due à des problèmes d'ordre pédologique, topographiques et climatiques.

Elles sont caractérisées par des sols squelettiques de grandes pentes, d'une pluviométrie faible et irrégulière. Sa culture dans ces zones, ne présente pas une incidence économique significative, sa justification est d'ordre écologique pour la protection du sol et la conservation du paysage (Touzani, 2001).

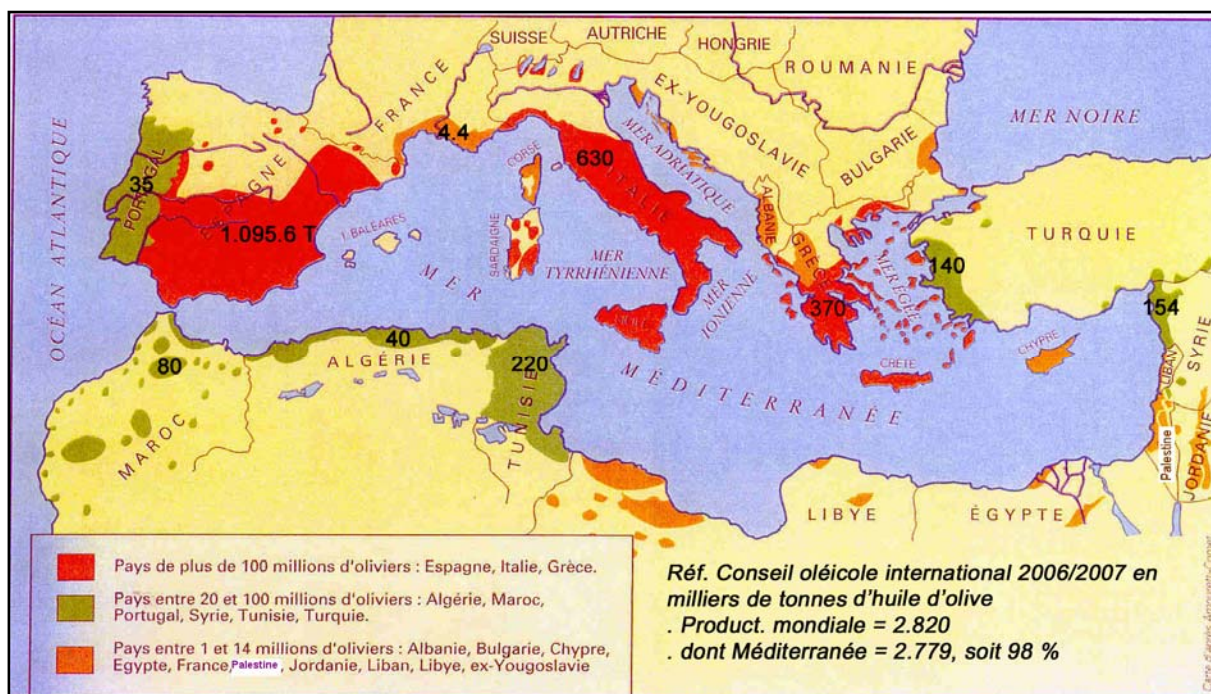


Figure 1: Carte des Pays Oléicoles dans le Bassin Méditerranéen (COI, 2007)

2.2. Culture de l'olivier

2.2.1. Techniques de multiplication

L'olivier se caractérise par deux techniques de multiplication:

- **Multiplication sexuée**

Utilise les semis de noyaux d'olives, elle est peu employée car elle ne conserve pas la variété cultivée. Comme l'olivier est une espèce très hétérozygote, ce mode de multiplication n'est pas le moyen propice pour le propager sauf si les poutres sont utilisées comme parque à bois. L'inconvénient de ce mode de multiplication est qu'il demande beaucoup de technicité (Charri Rkhissi, 2003) engendrant des surcoûts de production.

- **Multiplication végétative**

En dépit de leur importance et sa relative facilité d'exécution (Charri Rkhissi, 2003), cette méthode reste la plus pratiquée par la plus part des pays oléicoles (Hartmanne, 1946; Loussert et Brousse, 1978).

Elle fait appel aux différents modes de bouturage, assurant la conformité de la descendance à la plante mère, mais elle offre souvent un nombre limité de plants dont l'état sanitaire n'est pas toujours garanti entraînant la transmission des maladies (Charri Rkhisssi, 2003) en cas d'absence de programmes de sélection sanitaire.

2.2.2. Importance de la culture de l'olivier

La culture de l'olivier est caractéristique du bassin méditerranéen où elle revêt une grande importance :

La culture de l'olivier constitue un moyen de valorisation des terrains marginaux (Civantos, 1988; Berrichi, 2001). Elle offre une source de revenus par le travail qu'elle génère lors de la récolte (Civantos 1988; Marrakchi, 1988).

En outre les prix intéressants de l'huile d'olive, d'olive de table et la demande croissante de nouveaux pays consommateurs hors de la zone méditerranéenne (Prestamburgo, 1988; COI, 2000) offrent de grandes possibilités commerciales.

Ceci constitue autant d'arguments favorables pour une meilleure recherche scientifique conduisant à la création de nouvelles oliveraies capables de maintenir une offre considérable et répondant à la demande sans cesse croissante en produits oléicoles (Nefzaoui, 1999).

2.2.3. Intérêts de l'olivier

L'olivier fait actuellement l'objet d'un regain d'intérêt particulier non seulement, au niveau de la Méditerranée, mais aussi au niveau d'autres continents, notamment américains, et ce pour différentes raisons (Viola, 1997; Leva, 2004; Abousalim, 2005):

- sa valeur sur le plan de la production.
- Son rôle dans la conservation du paysage.
- ses qualités sanitaires et nutritionnelles particulières.

L'olivier procure à l'homme deux principaux produits:

- **L'Olive** : est une matière première qui se présente sous deux formes : olives vertes et noires où la verte est la plus demandée (Touzani, 2001).
- **L'huile** : constitue la plus grosse part de la production de l'olivier, elle se classe au 5ème rang parmi les huiles végétales comestibles (Husson, 1930 ; Pagnol, 1975).

En outre, divers sous produits sont tirés de l'olivier (Pagnol, 1975; Touzani, 2001):

- **Grignons** : employés comme engrais et combustible, ils aussi servent d'aliments pour le bétail.
- **Bois** : très apprécié des ébénistes.
- **Feuilles** : utilisées en pharmacie et servaient d'aliments verts aux animaux.
- **Noyaux** : intéressent des industries spécialisées comme le moulage et les matériaux plastiques.

3. L'olivier en Algérie

L'histoire de l'olivier se confond avec l'histoire de l'Algérie (Mendil et Sebai, 2006). Le patrimoine oléicole national est constitué de 29.995.980 arbres dont 17.533.390 arbres sont en production, soit l'équivalent de 58,42 % du verger (MADR, 2006). La culture de cet arbre représente 2,3% de la surface Agricole utile de l'Algérie (Kadhun et al 2004; Moussaoui et Youyou, 2006).

3.1. Espèces existantes

Il existe trois espèces d'*Olea europae* (Chouaki, 2006) :

- ***Olea europae ssp. Oleaster***, ou Oléastre, spontané, à fruits ordinairement petits, utilisé comme porte greffe.
- ***Olea europae ssp. Sativa***, olivier cultivé, constitué par un grand nombre de variétés améliorées.
- ***Olea europae ssp. Laperrini***, se rencontre en Afrique septentrionale de l'Atlas Marocain à la Libye en passant par le Massif du Hoggar et le Tassili des Adjers où on le trouve à l'état spontané jusqu'à 2700 m d'altitude (Loussert et Brousse, 1978 in Chouaki, 2006).

3.2. Place de l'olivier en Algérie

L'Algérie est à la fois un pays producteur d'huile d'olive et d'olives de table (Chouaki, 2006). L'oléiculture Algérienne est divisée en trois zones (Douzane, 2002; Mendil et Sebai, 2006) où le taux de la production réelle est plus bas que le taux estimé théoriquement en rapport avec les serres fonctionnelles en Algérie (Tableau 1).

Le tableau 1 montre les 3 grandes zones de production en Algérie:

- **Région Centre:** Béjaïa, Bouira, Tizi ouzou et un faible pourcentage à Boumerdès.
- **Région Est:** Guelma, Tébessa, Skikda, Jijel.
- **Région Ouest:** Mascara, Tlemcen, Sidi bel abbés et Relizane.

C'est la zone centre qui abrite le plus grand verger oléicole national (Chouaki, 2006).

En 1996/1997 la production en plants d'olivier était de 471000. Elle s'est développée à 2.738000 plants en 2006/2007 (MADR, 2007) répartie comme suit:

- 34% produits au sol;
- 61% produits en hors sol, dont seulement 3,70% sont produits en milieu contrôlé (en serre);
- seulement 96000 plants sont multipliés par bouturage (boutures ligneuses et/ou herbacées) ce qui représente 2,1% (Yvon, 2006) de la quantité totale de plant produits pour la même période.

Le Tableau 1 montre les différentes capacités Algériennes (estimées et réalisées) concernant les plants produits issus du bouturage en rapport avec le nombre de serres opérationnelles.

Tableau (1): Capacités de production en nombre de plants produits par région (ITAFV, 2007).

Région	Nombre Total de serres	Nbre de serres Opérationnelle	Capacités en Nombre de plants produits		
			Capacités optimales de production totale	Capacité de production en serres opérationnelles	Production fin 2005
Centre	05	04	96 000	76 800	17 500
Est	07	03	134 400	57600	18 000
Ouest	16	04	307 200	76 800	59 500
Sud	02	0	38 400	-	-
Total	30	12	576 000	211 200	95 000

Il faut noter ainsi que la production réelle est très limitée malgré la disponibilité d'infrastructures. Cette situation serait-elle dû aux habitudes des pépiniéristes qui continuent à produire du plant greffé, ou à la non maîtrise des techniques de bouturage.

La multiplication de l'*Olea europaea*. L en Algérie est généralement faite par la voie végétative, notamment par le greffage (Kadhum et al, 2004); mais ces deux modes ne sont pas utilisés pour une plantation intensive où le premier exige une grande quantité de bois et souvent donne l'effet de vieillissement des clones et le second donne très souvent naissance à des plantes hétérogènes (Trigui, 1987 in Kadhum et al, 2004).

3.3. Exigences climatiques et culture de l'olivier

Les processus de floraison des bourgeons reproducteurs de l'olivier de l'année précédente démarre en hiver à cause de l'action du froid déterminé par des températures nocturnes basses et des températures diurnes douces (Caballero, 1981). De plus l'arbre n'est pas sensible aux températures élevées (+40 C°) lorsque son alimentation en eau est assurée. Cependant au-delà de + 30C° son activité végétative est considérablement réduite (INAF, 1981).

3.4. Variétés d'oliviers les plus cultivées en Algérie

Parmi les 36 cultivars connus en Algérie on citera seulement quelques variétés (Tableau 2). La figure 2 illustre l'aspect des fruits des variétés les plus cultivées en Algérie, ayant fait l'objet de ce travail.

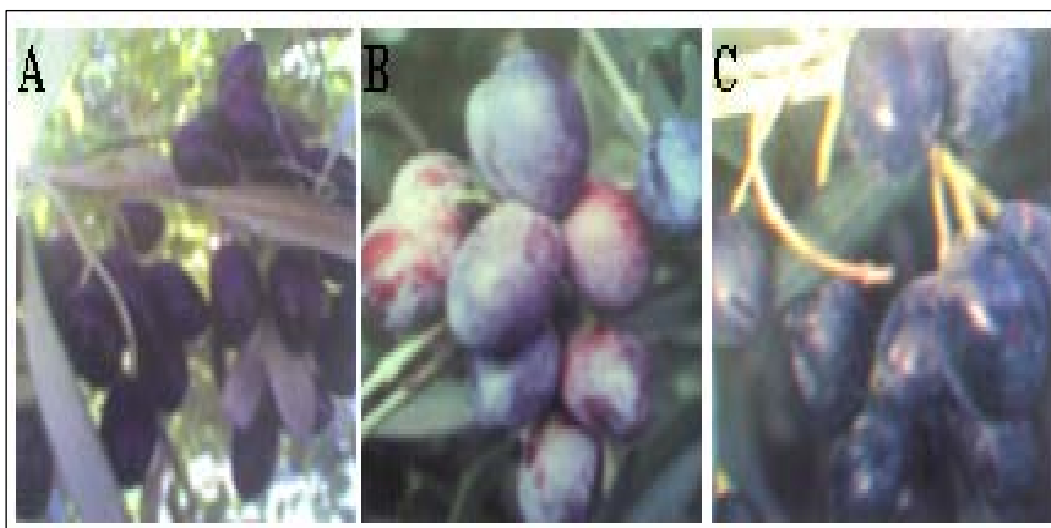


Figure 2: Aspects des fruits des variétés ayant fait l'objet de ce travail (Photos: Mendil et Sebai, 2006).

A: la variété Chemlal, **B:** la variété Ferkani, **C:** la variété Boukaila.

Tableau 2: Caractéristiques de quelques variétés Algériennes d'oliviers (COI, 2000; Mendil et Sebai, 2006).

Variétés Caractéristiques	Chemlal de Kabylie	Ferkani de Tébessa	Boukaila de Constanyine	Azeradj	Sigoise
Synonymes	-Achamlal; -Achamli ;	pas de synonyme connus	Pas de synonymes connus	Aradj «Adjeraz»	-Olive de Tlemcen; -Olive du Tell.
Origine	Kabylie	Ferkane (Tébessa)	Constantine	Kabylie (région sedouk-w de Bouira).	Plaine de sig (Mascara)
Diffusion	Occupe 40% du vergé oléicole National	Région des Aurès	Restreinte	Occupe 10% de la superficie oléicole nationale	Occupe 25% du vergé oléicole Algérien
Utilisation	Huile	Huile	Huile	Double aptitude (huile et olive de table)	Double aptitude (huile et olive de table)
Capacité rhizogène	Faible	–	Faible	Faible	Moyenne
Productivité	Elevée et alternante	Bonne et peu alternante	élevée et alternante	Moyenne et alternante	Moyenne et alternante
Qualité de l'huile	Excellente	–	–	Bonne qualité	–
Tolérance climatique	Résistante au froid et à la sécheresse	Résistante au froid et à la sécheresse	Résistante au froid et à la sécheresse	Résistance à la sécheresse et à la salinité	Tolérante aux eaux salées. Moyennement résistante au froid et à la sécheresse.

3.5. Propagation de l'olivier

3.5.1. Modes de propagation

Face aux problèmes de production de plants de qualité, trois méthodes de propagation de plants sont pratiquées en pépinière (Loussert, 1981) où la multiplication fait désormais partie intégrante de l'activité oléicole et constitue la première étape pour la réalisation de nouvelles oliveraies et /ou la rénovation des oliveraies existantes (Leva, 2004)

• **Par bouturage ligneux**

- **Avantages**

C'est un mode de multiplication utilisé pour les variétés possédant le pouvoir d'émettre facilement des racines de néoformation à partir des boutures ligneuses. Ce mode ne présente pas des difficultés techniques, vu l'absence d'installations particulières. Il permet d'obtenir de jeunes plants d'oliviers en 18 à 24 mois (Loussert, 1981).

- **Inconvénients**

Le problème majeur auquel se trouve confronté le pépiniériste est l'approvisionnement en boutures à partir de pied-mères répondants à l'authenticité variétale, la régularité de production et à un parfait état sanitaire (Loussert, 1981).

• **Par greffage**

- **Avantages**

Cette technique est principalement utilisée pour les plants qui se bouturent difficilement comme le cas de la variété Chemlal et d'autres variétés (Loussert, 1981).

- **Inconvénients**

- La germination très hétérogène des semences d'olivier;
- La nécessité d'une main d'œuvre qualifiée pour l'exécution du greffage;
- Le temps nécessaire à la production d'un plant d'olivier est relativement long (3 à 4 ans).

• **Par bouturage semi-ligneux (bouturage herbacé)**

La multiplication commerciale de l'olivier est faite essentiellement au Maroc par bouturage semi ligneux sous mist-system (Abousalim et *al*, 1993). Ce mode de propagation permet de prélever sur des arbres (pied-mères) de jeunes rameaux feuillés de l'année en cours de lignification. Sous certaines conditions définies de température et d'humidité, l'émission des racines de néoformation est favorisée, par un trempage de la base des boutures dans une solution hormonale rhizogène (Loussert, 1981).

- **Avantages du bouturage herbacé (ITAFV, 2004):**

- Rapidité d'obtention des plants;
- Homogénéité des plants;

- Elimination de l'handicap du greffage.
- Intensification de la production de plants;
- Travaux d'amélioration (sélection –variétale et clonale).
 - **Inconvénients du bouturage herbacé** (ITAFV, 2004):
- Un investissement coûteux (serre de brumisation) au départ;
- Main d'œuvre qualifiée.

3.5.2. Structures de propagation intensive

La technique de propagation chez l'olivier nécessite deux types d'installations majeures, qui garantissent la production d'une importante quantité de bouture racinées de qualité (Loussert, 1981; Giueseppe et *al*, 2001):

• Serre à nébulisation ou de propagation

C'est une serre vitrée où les conditions (Température et Humidité) du milieu ambiant sont contrôlées. Elle est équipée de bacs à multiplications où seront placées les boutures dans un substrat adéquat pour faciliter l'émission des racines de néoformation (Loussert, 1981; Giueseppe et *al*, 2001, ITAFV 2004).

• Serre à durcissement

Comme son nom l'indique elle est destinée, pour durcir les jeunes boutures en provenance de la serre à nébulisation, et ce, avant de les placer dans le milieu naturel.

Ces installations sont hautement sophistiquées, nécessitant un personnel technique compétant pour en assurer le fonctionnement et la maintenance (Loussert, 1981; Giueseppe et *al*, 2001, ITAFV 2004).

4. Culture de tissus

L'olivier a peu à peu intégré les techniques de culture *in vitro* principalement le microbouturage (Brhadda et *al*, 2003). Ainsi des travaux de recherche ont été entrepris depuis 1970 sur la multiplication végétative de l'olivier à l'aide des cultures de tissus *in vitro* (Belkoura et *al*, 2007).

4.1. Grands axes des techniques *in vitro*

Les techniques *in vitro* trouvent leur fondement dans la totipotence cellulaire. D'une manière générale, ces techniques peuvent être divisées en deux grands axes:

• Multiplication *in vitro* (Micro-propagation)

Elle concerne le développement des bourgeons axillaires, l'embryogenèse somatique, la culture des méristèmes (plants sains), le micro-greffage, l'organogénèse et la conservation du germoplasme (Belkoura, 2007).

La réussite du micro bouturage via la culture *in vitro*, est influencée par plusieurs facteurs (Brhadda, 2003):

- La composition minérale du milieu de culture (Rugini, 1984; Bartolini et al, 1989; Berenguer Gonzalez, 1989; Leva et al, 1992) ;
- Le facteur hormonal du milieu (Rama et Pontikis, 1990; Leva et al, 1992, Mencuccini, 1995);
- Le génotype (Rugini, 1984; Leva et al, 1992);
- L'âge de l'explant (Porlingis et Therios, 1976; Rugini, 1986).

• Amélioration génétique

Les cultures *in vitro* dans ce cas sont destinées à :

- La création d'une nouvelle diversité génétique via la variation somaclonale, l'hybridation somatique et la transformation génétique...etc (Belkoura et al, 2007).
- La conservation de génotypes à caractères particuliers (Belkoura et al, 2007);
- La réussite des programmes d'amélioration génétique de certaines espèces par l'établissement de combinaisons génétiques irréalisables par les techniques classiques de croisement (Chaari Rkhissi, 2003).

4.2. Avantages de la micro propagation de l'olivier

Par rapport aux méthodes conventionnelles de multiplication, la technique de micro- propagation présente les avantages suivants (Leva, 2004):

- La multiplication clonale rapide de génotypes sélectionnés (Cimato, 1999; Leva, 2004; Belkoura et al, 2007) ;

- La production du matériel uniforme sur le plan génétique, physiologique et phénotypique (Leva, 2004; Belkoura et al, 2007) ;
- La multiplication de plants sains même à partir de plantes infectés, cas de l'assainissement viral par culture de méristèmes (Leva, 2004);
- La possibilité d'obtenir rapidement un grand nombre de plants, même à partir d'une seule plante mère et d'éliminer les longues périodes de quarantaines lors des exportations (Belkoura et al, 2007);
- La possibilité de multiplier des génotypes d'élite difficiles à multiplier par bouturage ou par greffage (Leva, 2004);
- La production de plantes autoracinées *in vitro*, plus vigoureuses et plus résistantes aux maladies (Cimato, 1999);
- L'obtention d'un matériel pouvant être acclimaté rapidement et à peu de frais (Leva, 2004);
- La possibilité d'adapter rapidement la production à la demande du marché (Leva, 2004);

II. Processus de la rhizogénèse chez l'olivier

Les bases des boutures traitées aux hormones de croissance sont placées sur les tablettes à multiplication qui contiennent le substrat nécessaire, le plus souvent de la vermiculite ou la perlite ou styromousse ou un mélange de ces constituants (Loussert, 1981).

La capacité rhizogène est un caractère qui fait preuve d'une variabilité fort élevée chez l'olivier, en ce sens qu'il y a des cultivars qui ne se multiplient pas par bouturage, ne prennent absolument pas de racines, alors que d'autres présentent des taux d'enracinement proche de 100% (Giuseppe et al, 1990).

À signaler que la capacité d'enracinement des boutures de l'olivier est proportionnelle à leur âge (Jacoboni, 1989).

1. Facteurs impliqués dans la formation de nouvelles racines

Il existe deux types de facteurs qui sont impliqués dans la formation de nouvelles racines :

1.1. Facteurs dits fixes

Ils dépendent de l'aptitude de la plante ou d'une partie de la plante à la rhizogénèse, comme la partie subterminale des rameaux. Les variétés ainsi que les différentes parties d'un même arbre ne présentent pas toujours la même aptitude à la rhizogénèse (ITAFV, 2004).

1.2. Facteurs mobiles

Sont mal connus comme le rapport C/N et la présence d'hormones liées au stade végétatif au moment du prélèvement des boutures (ITAFV, 2004).

2. Durées et étapes de l'enracinement sous serre

Les boutures placées dans les conditions favorables développent à leurs bases des racines de néoformation :

- Entre 8^{ème} et 16^{ème} jour**: Formation d'un cal de cicatrisation
- Entre 16^{ème} et 20^{ème} jour**: Apparition des premières ébauches de racines.
- A partir du 30^{ème} jour**: Emission et croissance des premières racines.

Au bout de 60 à 75 jours, les boutures sont enracinées, à la base de chacune d'elle, développe un système racinaire fasciculé constitué de racines blanchâtres, grêles et très fragiles (Loussert, 1981).

3. Taux d'enracinement de quelques variétés Algériennes d'olivier

Comme il a déjà été mentionné, toutes les variétés de l'olivier ne donnent pas de résultats homogènes au bouturage herbacé. Les essais effectués sur 2 variétés algériennes (Loussert, 1981 in Mendil et Sebai, 2006), ont permis d'obtenir les résultats du tableau 3.

La variété Chemlal qui occupe 40% du patrimoine oléicole Algérien ne présente finalement que 19% d'enracinement.

Tableau 3: Taux d'enracinement de deux variétés Algériennes de l'olivier (Loussert, 1981).

Nom des variétés	% d'enracinement/ traitement hormonal à A.I.B	
	5000 Ppm	2500 Ppm
CHEMLAL	19	08
SIGOISE	71	65

4. Physiologie de la rhizogénèse

L'étude de la néoformation des racines tient compte des interactions complexes des facteurs endogènes et en particulier la régulation hormonale (Augé, 1989).

4.1. Rhizogenes en serre / pépinière

4.1.1. Facteurs agissant sur la rhizogénèse

Il existe plusieurs facteurs agissant sur la rhizogénèse (Margara, 1989):

• Facteurs de l'environnement

- La présence de l'O₂ dans le milieu est indispensable;
- Le substrat doit assurer à la fois l'humidification et le drainage;
- La température doit être adéquate (20-25°C);
- Le pH du substrat doit être optimal en fonction de l'espèce;
- L'éclairage est important pour le photopériodisme;
- L'arrosage par «mist» en brouillard artificiel est conseillé pour l'obtention d'excellents résultats.

• Facteurs liés à l'origine de la bouture

- Les facteurs intrinsèques de la bouture: chez une même espèce certains cultivars s'enracinent aisément, d'autre difficilement;
- Les réserves disponibles dans la bouture (en particulier les glucides) favorisent la rhizogénèse;
- L'âge de la plante-mère: les boutures issues de plantes jeunes ont généralement une meilleure rhizogénèse;
- Gradients d'aptitude à la rhizogénèse: où il n'existe aucune règle précise concernant ces gradients, cependant pour certaines espèces les boutures médianes s'enracinent nettement mieux que les boutures apicales ou basales (Khelifi et *al*, 2007).

• **Corrélations physiologiques et rhizogénèse**

La rhizogénèse est influencée par les régions plus ou moins éloignées du site de la néoformation des racines, qui exercent souvent une action inhibitrice sur la néoformation ultérieure des racines adventives, mais stimulatrice de la néoformation des bourgeons.

4.1.2. Régulation hormonale de la rhizogénèse

La formation des racines est souvent la phase la plus délicate et se trouve à l'origine de bien des échecs liés aux génotypes ou aux espèces concernées.

De ce fait, il existe un petit nombre d'hormones chez les plantes, responsables du développement; où chaque type d'hormone a de multiples effets liés aux récepteurs spécifiques, d'hormones associées, qui déclenchent une série de réactions biochimiques y compris les gènes « On » et « Off ».

Ces événements biochimiques sont appelés message de transduction, responsables de la production des enzymes au niveau des tissus et de leur transport à travers les membranes. Les hormones végétales les plus utilisées dans l'induction de l'enracinement sont les auxines. Ces dernières sont des molécules présentant deux propriétés essentielles (la multiplication cellulaire et l'effet rhizogène). Elles sont produites au niveau des méristèmes apicaux (bourgeons), les jeunes feuilles, et dans les autres parties jeunes de la plante, où ils circulent du sommet vers la base de la plante. Elles sont nécessaires pour le développement des racines.

Elles dérivent de la voie de biosynthèse du tryptophane. On peut citer: l'AIB, ANA, ANOA et le NAD (Augé, 1989, Tourte, 2005).

4.2. Rhizogénèse *in vitro*

Pour beaucoup de plantes, il s'agit de l'ensemble des techniques permettant de faire croître *in vitro* des racines sur différentes parties d'une plante (bourgeon, feuille) (Evans, 1983; Vilain, 1997; Tourte 2005).

De ce fait, toute cellule végétale vivante, quelle que soit sa «spécialisation», du moment qu'elle possède un noyau, est capable de reproduire la plante entière, c'est la totipotence cellulaire végétale (Augé, 1989; Geneves, 1992).

La multiplication végétative pose un réel problème quand il s'agit des plantes qui présentent une faible aptitude à la rhizogénèse (Lambert et *al*, 1988; Walali, 2001).

In vitro les influences provenant des bourgeons et des feuilles sont limitées par l'isolement de l'explant. Cependant, l'apport exogène d'hormones de croissance peut compenser les substances chimiques provenant des feuilles et des bourgeons (Vilain, 1997). Pour l'olivier l'hormone la plus utilisée est l'AIB (Abousalim et *al*, 2005).

III. *Agrobacterium rhizogenes* et la rhizogénèse

Il existe plusieurs espèces d'*Agrobactéries* communes du sol (Turcotte, 2000), mais les plus connues sont *Agrobacterium tumefaciens* et *Agrobacterium rhizogenes* (Dobigny, 1994, Primrose, 2004). Le présent travail accorde une attention particulière à cette dernière espèce.

1. Caractéristiques d'*Agrobacterium rhizogenes*

C'est une Eubactéries du sol, Gram négatif, aérobie et mobile par ses flagelles (Perry et *al*, 2004). Elle provoque la formation de racines sur les plantes supérieures (Demarly et Sidbi, 1996), grâce à un plasmide bactérien, le plasmide Ri (inducteur racinaire) (Tempe et Schell, 1982; Tepfer, 1982; Casse et Bretler, 2001).

Elle est responsable du «chevelu racinaire» marqué par un développement anormal (Lambert et *al*, 1988; Davet, 1996) à la fois sur le plan quantitatif (nombreuses racines) et qualitatif (racines grêles) de l'appareil racinaire (Tepfer, 1982; Gamborg et Philips, 1995; Tourte, 2002).

• Plasmide Ri

Ri signifie inducteur racinaire (Root- inducing) (Weller et *al*, 2004). Le plasmide porté par *Agrobacterium rhizogenes*, a une taille de 200 à 800 kpb (Gelvin, 1990). Il comporte un segment d'ADN transférable et intégrable (Ercan et Taskin, 1999) dans le génome de la cellule végétale hôte conduisant à la formation d'un chevelu racinaire (Tempé, 1994).

La capacité d'*A. rhizogenes* à induire le chevelu racinaire est déterminée par la virulence de son plasmide similaire à celui trouvé chez *A. tumefaciens* qui provoque chez les plantes la Tumeur du collet (White et *al*, 1985 in Tao et li, 2006).

• Le T-DNA

C'est un segment d'ADN porté par le plasmide Ri (Statuti et al. 1996). Il porte des gènes codant pour la prolifération de la cellule et la synthèse de dérivés d'arginine (Weller et al, 2004).

La taille de la région T est de 10 à 30 kpb (Gelvin, 2003). Il peut servir de vecteur de transformation chez les plantes, où il est plus utilisé maintenant en raison de l'homogénéité des transformants qu'il permet d'obtenir (Augé, 1989; Gamborg et Philips, 1995; Tourte 2002).

Le transfert de ce segment dans le génome de la plante est sous le contrôle de la région de virulence (*vir*) (White et al, 1982; Vilas et al, 1987; Statuti et al, 1996; Liang et al, 1998).

• Gènes *vir*

Situés sur le plasmide Ri, mais en dehors de la région de l'ADN-T. Ils sont indispensables au transfert du segment d'ADN-T dans le végétal (Berg et Singer, 1993). La région *vir* comporte plusieurs gènes *vir* (au moins six) situés linéairement sur le plasmide (Cuperus et al, 2007), dans une région voisine de l'origine de réplication, chacun d'eux est affecté de l'une des premières lettres de l'alphabet pour les distinguer. Ces gènes sont successivement: *virA*, *virB*, *virC*, *virD*, *virE*, *virG* (Augé, 1989; Tourte, 2002):

-*virA*: responsable de la synthèse d'un récepteur du signal de la blessure de la plante.

-*virB*: code la synthèse d'une protéine membranaire intervenant dans la formation du canal par le quel doit transiter la molécule d'ADN-T vers la cellule végétale.

-*virC*: responsable de la synthèse d'une protéine capable de diriger le transfert de l'ADN-T en se plaçant en tête de la molécule.

-*virD*: responsable de la synthèse d'une endonucléase, qui agit au niveau des bordures pour la libération de l'ADN-T.

-*virE*: responsable de la synthèse de protéines de protection de l'ADN-T de l'attaque des nucléases. Elles servent à emballer progressivement cette molécule durant son transfert jusqu'au noyau de la cellule végétale.

-*virG*: responsable de la synthèse d'un facteur d'activation de la virulence.

2. Organisation du plasmide Ri de la souche A₄

Il existe de nombreuses souches d'*Agrobacterium rhizogenes*, celle qui nous intéresse plus particulièrement est la souche A₄.

Sur le plasmide Ri (Figure 3) sont repérés deux (T-DNA) comme deux régions discontinues, indépendamment transférables (Martins et al, 2003): Le (TR-DNA) droit et le (TL-DNA) gauche, où le premier (TR-DNA) contient des gènes homologues aux gènes du plasmide Ti (White et al, 1985 in Tao et Li, 2006), ils interviennent dans la synthèse d'opines (Giri, 2000).

Le TL-DNA porte 4 loci (*rolA*, *rolB*, *rolC*, *rolD*) (Tepfer, 1982; Casse-Delbart, 1990; Martins, 2003; Tao et Li, 2006) codant la synthèse des substances indispensables pour la différenciation des cellules en racines sous l'influence de la synthèse d'auxines endogènes (Ooms et al, 1986; Shen et al, 1988 in Giri 2000).

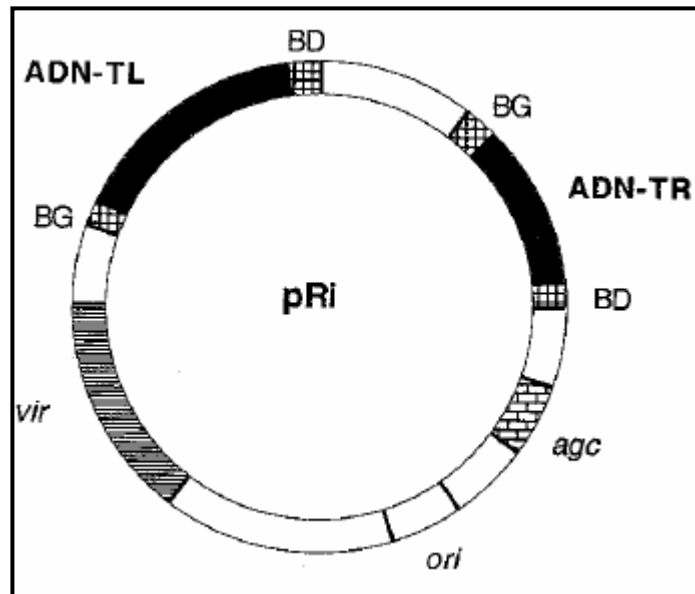


Figure 3: Organisation générale du plasmide Ri (Crété, 2007).

agc: gènes de catabolisme de l'agropine. **BD:** bordure droite. **BG:** bordure gauche. **ori:** origine de réplication. **vir:** région de virulence **ADN-TL:** partie gauche du T-DNA. **ADN-TR:** partie droite du T-DNA.

3. Cycle infectieux de l'*Agrobacterium rhizogenes*.

Lors de l'infection d'une plante par l'*Agrobacterium rhizogenes*, un nombre important de gènes est transféré vers le génome de celle-ci (Ercan et al, 1999).

Le mécanisme général de l'infection est résumé dans la figure 4. L'*Agrobacterium rhizogenes* intègre une partie de son plasmide (TR-DNA + TL-DNA) au génome des plantes qu'il infecte (Durant, 1997). Le T-DNA (Figure 5) est exprimé dans les cellules végétales transformées; où il est transcrit et traduit (Tepfer, 1982, Murray, 1999).

La plante blessée secrète des substances qui attirent la bactérie. Cette dernière injecte une partie de son plasmide dans les cellules de la plante (Tzfira et al, 2006). Le plasmide Ri contient des gènes qui ne peuvent s'exprimer que dans les organismes eucaryotes, hors bactérie. Grâce aux gènes plasmidiaux, la plante synthétise de nouvelles molécules (Zhu et al, 2003): l'auxine, hormone de croissance favorise la prolifération racinaire où seront produites des opines qui servent à nourrir la bactérie.

Ce processus d'infection est détourné par l'homme pour la création de végétaux génétiquement modifiés (Desmond, 1994; Murray, 1999; Tourte, 2002; Deabys, 2003; FAO, 2005; Weil, 2006). Le mécanisme d'infection via l'*Agrobacterium rhizogenes* est semblable à celui d'*Agrobacterium tumefaciens* (Demarly et al, 1996 ; Kovalenko et Maliuta, 2003) et il se fait en trois étapes :

1. Adhésion bactérie-plante (Figure 4);
2. Activation des gènes vir et synthèse de l'ADN-T (Figures 5 et 6);
3. Insertion de l'ADN-T dans le génome de la cellule végétale infectée (Figure 7).

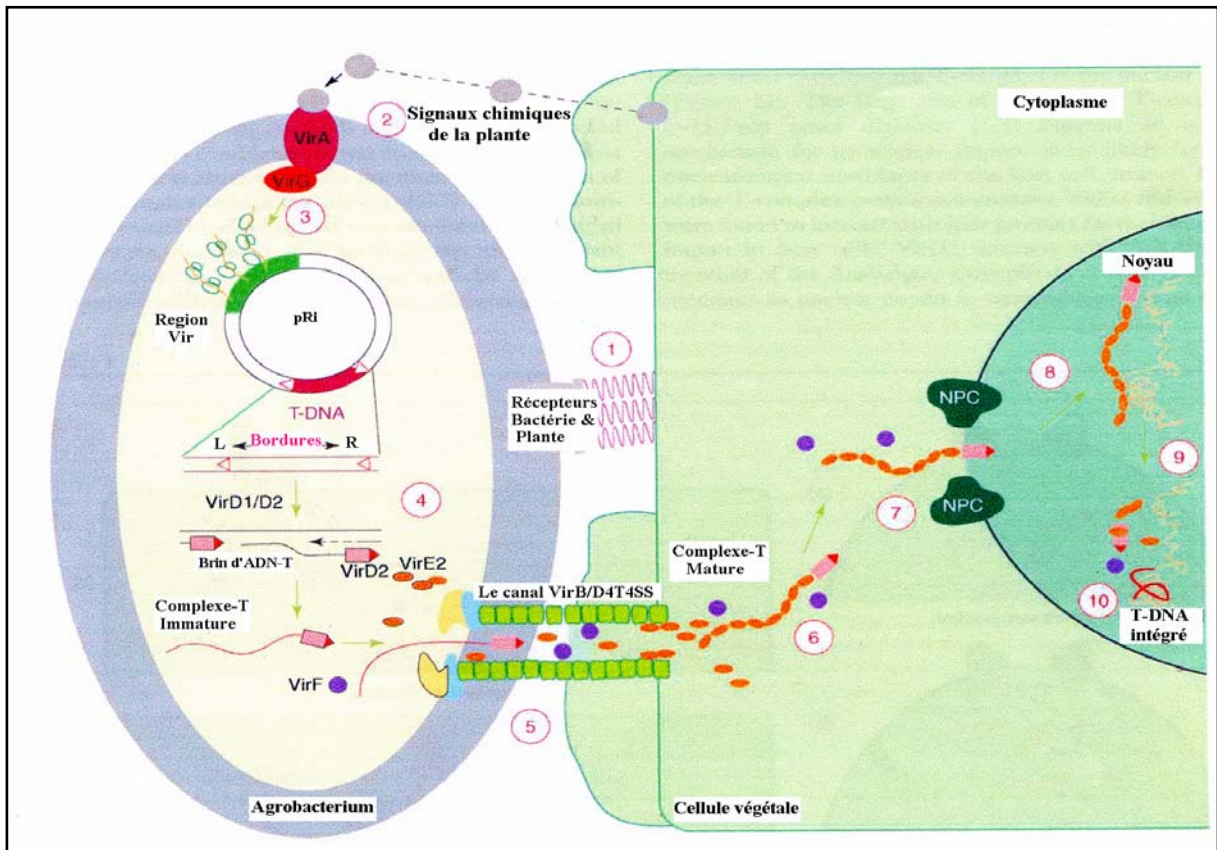


Figure 4: Mécanisme d'infection des cellules végétales par *Agrobacterium rhizogenes*; Transfert et intégration du T-DNA (Tzfira et Citovsky, 2006).

3.1. Adhésion bactérie-plante

La reconnaissance cellules végétales-bactéries suit quelques événements:

Blessure au niveau de la plante (Crété, 2006);



La plante secrète des composés phénoliques (Gelvin, 2003; Brencic et Winans, 2005) et des monosaccharides (Scriban, 1999; Crété, 2006);



Par un chimiotactisme, la bactérie se déplace à l'aide de son flagelle vers l'endroit de la blessure (Crété, 2006) et ses gènes responsables de l'attachement porté par son chromosome sont activés (Casse-Delbar, 1990; Scriban, 1999; Casse et Brietler, 2001);



Fixation de la bactérie à la cellule végétale grâce aux récepteurs spécifiques (Crété, 2006); Synthèse de filaments de cellulose par le locus *cel* pour stabiliser l'adhésion bactérie-plante une fois qu'elle a été initiée, et les loci *chvA*, *chvB* et *exoC* sont responsables de la synthèse d'un polysaccharide, b1, 2-glucane, qui serait impliqué dans la capacité d'adhésion (Tikhomiroff, 2002);



Induction des gènes *vir*, présenté sur la figure 6 (Crété, 2006).

3.2. Activation des gènes vir et synthèse de l'ADN-T

L'initiation du processus d'infection *Agrobacterium*-plante, nécessite plusieurs facteurs pour la stabilisation de l'interaction plante-bactérie (Winans, 1992), où les gènes de virulence (vir) se situent sur le plasmide (Tao et al, 1998; Tikhomiroff, 2002). Les gènes vir sont activés par trois types de signaux chimiques provenant de la plante blessée, qui, dans la nature et au niveau du sol sont perçus par 3 protéines:

- **VirA**: expression constitutive, chimiorécepteur membranaire.
- **chvE**: nécessaire dans l'induction par les sucres monosaccharides.
- **VirG**: interagit avec la boîte vir dans la région promotrice des opérons (12pb conservées) autorégulation de virG, Souche hypervirulente = forte quantité de virG (quand la croissance est libre, nécessite peu de virG).

Trois facteurs jouent un rôle prépondérant pour l'activation des gènes vir:

- Les composées phénoliques de type syringone (acétosyringone) qui augmentent la fréquence des plantes transformées et joue un grand rôle dans l'activation de l'*Agrobacterium* (Cangelosi et al, 1990; Liang et al, 1998; Giri et Narasu, 2000; Chupeau, 2001; Somleva et al, 2002; Gelvin, 2003; Tzfira et al, 2004; Kumar et al, 2006).
- Les monosaccharides (Stachel et al, 1985; Machida et al, 1989; Cangelosi et al, 1990; Giri et Narasu, 2000; Gelvin, 2003; Tzfira et al, 2004; Wise et al, 2005).
- Le pH acide et la température (Stachel et al, 1985; Stachel et al, 1986; Spencer et Towers, 1988; Machida et al, 1989; Matis et Winans, 1992; Li et al, 2002; Tikhomiroff, 2002).

Le sucre et les composés phénoliques sont assez importants et peuvent changer d'une espèce végétale à l'autre, où se produiront les différentes réponses (Damino, 1998).

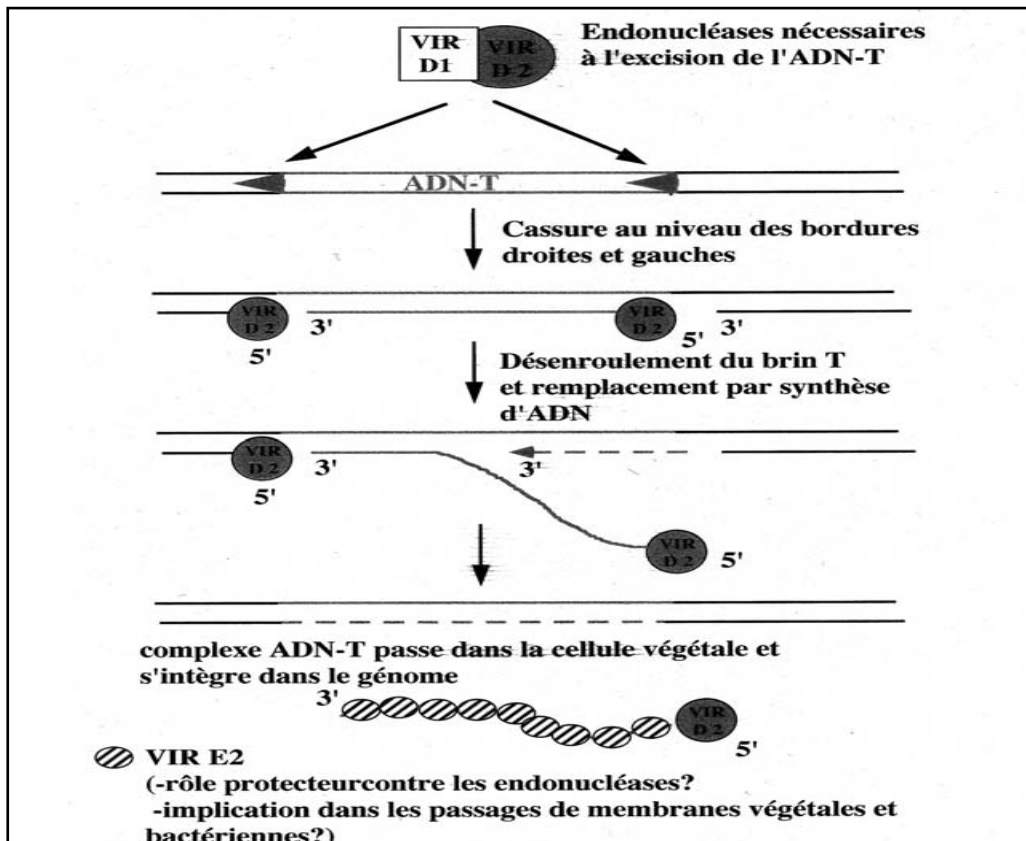


Figure 5: Modèle de synthèse de l'ADN-T (Crété, 2006).

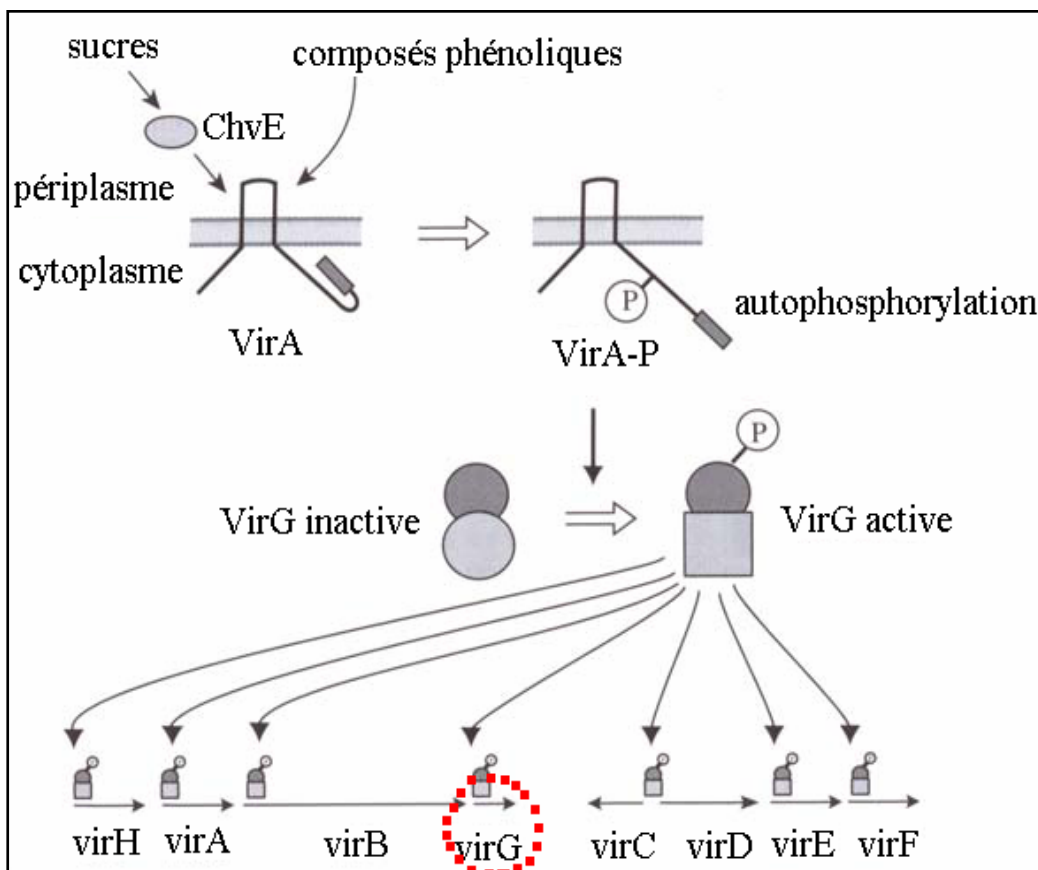


Figure 6: modèle d'activation des gènes de virulence (Crété, 2006).

3.3. Insertion de l'ADN-T dans le génome de la cellule végétale infectée

L'*Agrobacterium rhizogenes* fait insérer son ADN-T dans la cellule végétale cible selon 5 étapes (Figure 7):

A: Recombinaison aléatoire et non homologue, dont la VirD2 (nucléase spécifique), s'attache de manière covalente sur l'extrémité 5' du simple brin de l'ADN-T pour l'exciser. L'ADN-T est protégé contre les nucléases de la cellule végétale par VirE2 (Davet, 1996; Scriban, 1999; Casse et Brietler, 2001; Crété, 2006).

B: La portion de plasmide destinée à être adressée aux noyaux végétaux est excisée sous forme simple brin (Crété, 2006, White et *al*, 2000).

C: Re-synthèse de la portion coupée entre les sites de coupure, et régénération d'un plasmide complet (Chupeau, 2001).

D: délétion de l'ADN génomique par des éléments de régulation de la transcription, Pol II, et le complexe T (Scriban, 1999; Crété, 2006).

E: Intégration de l'ADN-T au sein du génome nucléaire, se fait au hasard dans les parties qui sont régulièrement transcrites. Plusieurs copies d'ADN-T peuvent se retrouver dans le génome de la cellule végétale (Tikhomiroff, 2002).

L'expression de l'ADN-T dans les cellules végétales (White et *al*, 1982) se traduit par, la formation abondante de chevelu racinaire au site de l'infection, et permet la synthèse d'opines correspondant au type de la souche bactérienne utilisée (agropine, nopaline, octopine, succinamopine, mannopine). Ces dernières constituent un substrat nutritif métabolisé uniquement par l'*Agrobacterium* (Davet, 1996).

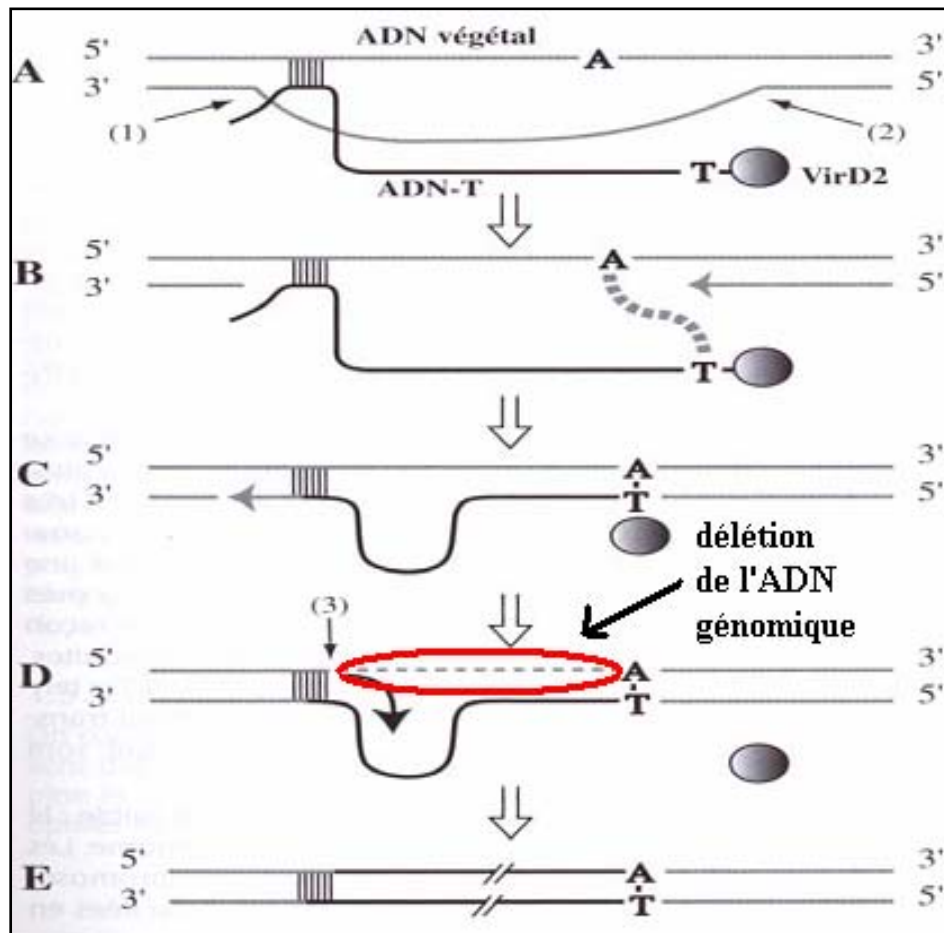


Figure 7: Modèle d'intégration de l'ADN-T dans l'ADN végétal (Crété, 2006).

4. Propriétés de la transformation génétique par *Agrobacterium rhizogenes* (A₄)

Le contact de *Agrobacterium rhizogenes* avec une plante blessée, induit des racines (Figure 8) qui sont :

- Transformées génétiquement: où une partie du plasmide Ri (le T-DNA) se trouve intégrée dans leur génome (Tepfer, 1982; Baiza et al, 1999; Giri et Narasu, 2000; Lanoue et al, 2002; Lanoue et al, 2004).
- Modifiées biochimiquement: le T-DNA s'exprime par la production d'agropine, une substance non produite par les racines normales (Tepfer, 1982; Maldonado-Mendoza et al, 1993; Baiza et al, 1999; Lanoue et al, 2002).
- Modifiée morphologiquement: marqué par une rapidité de la croissance, changement du géotropisme avec d'avantage de racines secondaires (Tepfer, 1982).

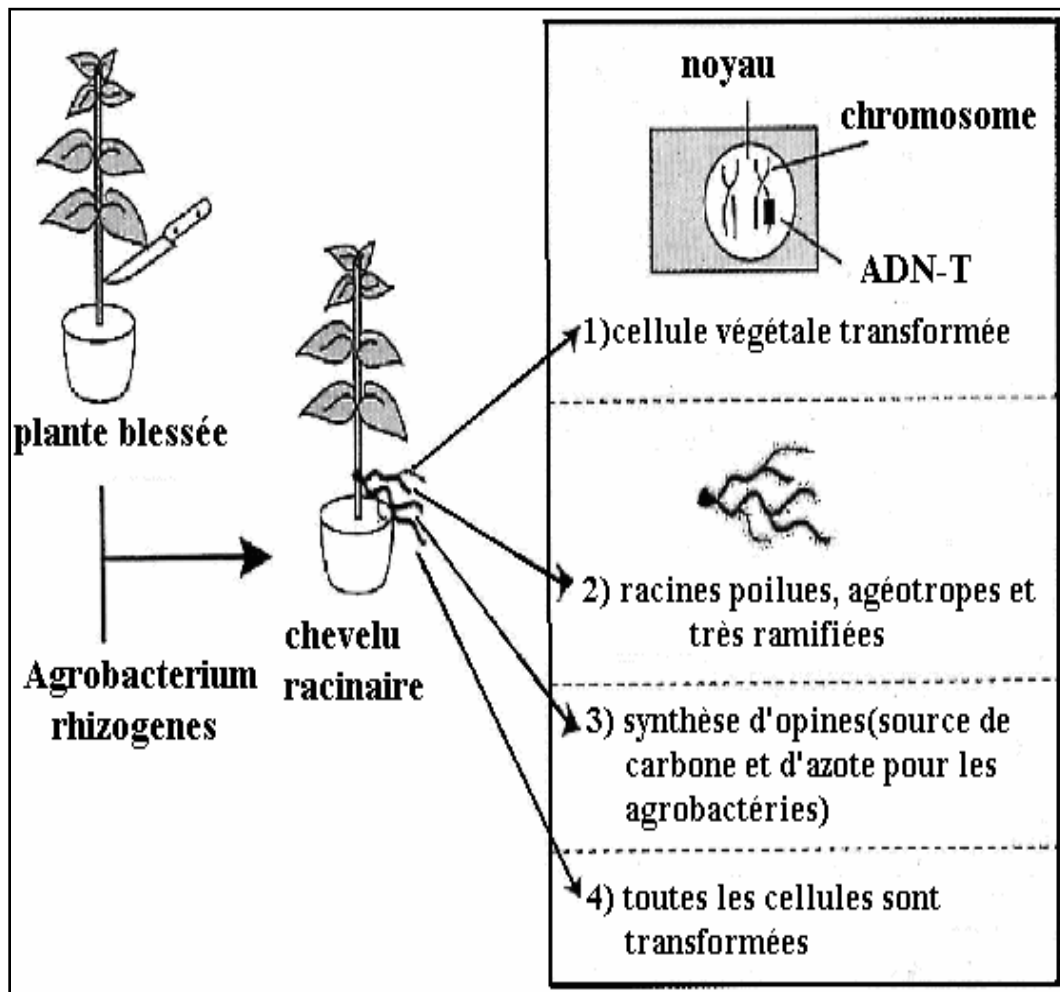


Figure 8: Propriétés des racines transformées (Crété, 2007).

VI. Utilisation d'*Agrobacterium rhizogenes* pour l'enracinement des plantes

Les techniques d'amélioration ont évolué grâce, en particulier, à l'apport de la génétique et la maîtrise d'un ensemble de techniques de transformation génétique destinées à modifier le génome des plantes, de résoudre certains problèmes chez les végétaux afin d'augmenter le potentiel de la production.

1. Cas des espèces ligneuses

L'enracinement correspond à une étape essentielle mais difficile de la multiplication végétative surtout chez les espèces ligneuses économiquement importantes (Damiano et Monticelli, 1998; Sané, 2001). Si l'aptitude à la rhizogénèse

apparaît généralement élevée sur le matériel végétal juvénile, celle-ci décroît très rapidement avec l'âge (Rugini et Mariotti, 1991).

La multiplication végétative n'étant pas naturelle chez certaines espèces elle pose souvent un problème de non réussite lors du bouturage, ainsi que le microbouturage (Lambert et al, 1988). Récemment, plusieurs recherches ont été effectuées pour résoudre ce problème majeur et limité principalement par le génotype de l'espèce (Rugini et Mariotti, 1991). De ce fait une nouvelle façon d'amélioration de l'enracinement chez les espèces ligneuses et en particulier chez les arbres fruitiers, où le bouturage n'est réalisable que sur un nombre limité de variétés est en train d'être établi.

Parmi ces techniques l'utilisation d'*Agrobacterium rhizogenes* pour améliorer la rhizogénèse d'arbres fruitiers, tels que l'amandier, le pommier, le prunier et de *Pyrus* (Lambert et al, 1988; Rugini et Mariotti, 1991, Carmine et Simona, 1998).

Le génome du Pommier à titre d'exemple d'espèces ligneuses a subi une amélioration de son enracinement par transformation génétique via l'*Agrobacterium rhizogenes* de la souche A₄. (Lambert et al, 1988 ; Claude et David, 1991).et la cerise (Pesce et al, 1998; Rugini et al, 1999).

L'inoculation de plusieurs clones de *Prunus* et d'Abricotiers par *Agrobacterium rhizogenes* a permis de sélectionner quelques clones dont l'enracinement est amélioré (Escalettes et al, 1993)

En outre, le Kiwi est de grandes difficultés d'enracinement a été transformé par l'*Agrobacterium rhizogenes* en introduisant les gènes rol qui favorisent la formation de chevelus racinaire servant à l'amélioration rhizogénèse chez cet arbre (Rugini et al, 1991).

2- Cas de l'olivier

L'olivier comme espèce fruitière ligneuse à intérêt économique dans de nombreux pays du Bassin méditerranéen, fait actuellement l'objet d'un regain d'intérêt, d'où la nécessité de l'amélioration de son enracinement.

Dans la décennie passée le progrès significatif a été accompli en développant l'olive par la réussite des techniques de transfert de gène offrent une stratégie plus puissante pour son amélioration génétique par l'introduction dans leurs génomes des gènes étrangers de l'*Agrobacterium rhizogenes* (Rugini et Pesca, 2006). Très

récemment, cet arbre a bénéficié en Algérie d'une première démarche de son amélioration génétique par l'utilisation d'*Agrobacterium rhizogenes* avec les boutures ligneuses et semi-ligneuses (Khelifi et *al*, 2007).

Matériel et méthodes

I. Objectif de l'étude

De nombreuses variétés algériennes d'olivier présentent de grandes difficultés à l'enracinement des boutures même en présence d'hormones de croissance (Loussert, 1978). Parmi ces variétés on peut citer les plus nobles, Chemlal de Kabylie, Boukaila de Constantine et Ferkani de Tébessa.

Il est à signaler que ces 3 variétés sont récalcitrantes au bouturage. Ainsi, l'étude consiste à prospecter une nouvelle voie d'induction de la rhizogenèse, à savoir la transformation génétique par *Agrobacterium rhizogenes* (souche A₄). Pour ce faire, l'induction a été faite en serre de nébulisation. L'objectif visé est l'amélioration de l'enracinement de ces variétés récalcitrantes.

II. Lieu de l'étude

L'étude a été menée au Laboratoire de Ressources Génétiques et Biotechnologie de l'INA d'Alger pour la partie *in vitro*, et à l'Institut Technique de l'Arboriculture fruitière et de la Vigne (ITAFV- siège Tessala El mardja) pour la partie serre.

III. Matériel Biologique

1. Matériel végétal

Le matériel végétal utilisé lors de cet essai est constitué de boutures et feuilles herbacées de 3 variétés : Chemlal, Ferkani et Boukaila.

Le matériel végétal est prélevé sur des plants cultivés en hors sol dans les serres de l'ITAFV. Il s'agit de boutures à plusieurs nœuds, de boutures à un seul nœud, ou de feuilles détachées, mais portant le bourgeon axillaire.

2. Souche bactérienne

La souche d'*Agrobacterium rhizogenes* utilisée dans cette étude est la souche A₄, originaire de la Californie (Etat-Unis). Elle est obtenue par Dubrin (Bouzar, 1983). C'est une souche à agropine (Lambert et *al*, 1988).

Elle porte un ADN-T composé de 2 segments, le segment droit:TR-DNA (right-DNA) portant les gènes de synthèse d'opines (Giri et Narasu, 2000 ; Tao et Li, 2006),

et le segment gauche: le TL-DNA, portant les gènes rolA, rolB, rolC et rolD qui dirigent la synthèse d'une substance responsable de la différenciation des cellules en racines sous l'influence d'auxines endogènes (Tao et Li, 2006).

Les segments TR et/ou TL sont transférables vers la cellule hôte avec un nombre variable de copies (Martins, 2003).

2.1. Préparation de la suspension bactérienne

Pour se développer, la souche A₄ de l'*Agrobacterium rhizogenes* est cultivée dans le milieu YEM (Vincent, 1970: Tableau 4) suivant deux étapes (Karmarkar, 2001): l'activation de la bactérie et sa remise en suspension.

Tableau 4 : Composition du milieu de culture YEM (Vincent, 1970)

Formule chimique	Concentration (mg/l)
K ₂ HPO ₄	500
MgSO ₄ , 7(H ₂ O)	200
NaCl	100
Extrait de levure	400
Mannitol	10000

2.2. Mise en culture de la bactérie (1^{ère} étape)

Transfert de la souche d'*Agrobacterium rhizogenes* (A₄) du milieu de conservation (Planche 1 : A, B) vers le milieu d'activation YEM solide contenant l'agar agar dont le pH est ajusté à 7 (Vincent, 1970).

Par la suite une incubation de la souche est nécessaire pendant 72h à 26°C±1 dans l'étuve à l'obscurité. A l'issue des 72h, la souche se développe considérablement (Planche 1: C, D).

2.3. Remise en suspension (2^{ème} étape)

Elle doit suivre directement l'incubation des souches pendant 72H. Cette étape consiste à l'ensemencement d'une goûte de Bactéries (Planche 1:E, F) dans le milieu YEM liquide contenant de l'Acétosyringone (polyphénol) à 10 µM où les Bactéries doivent être maintenues au moins 24H sous agitation à l'obscurité (Planche 1:G) et à une Température de 26°C±1. A l'issue de cette étape les gènes vir nécessaires au transfert du plasmide Ri sont activés (Planche 1:H).

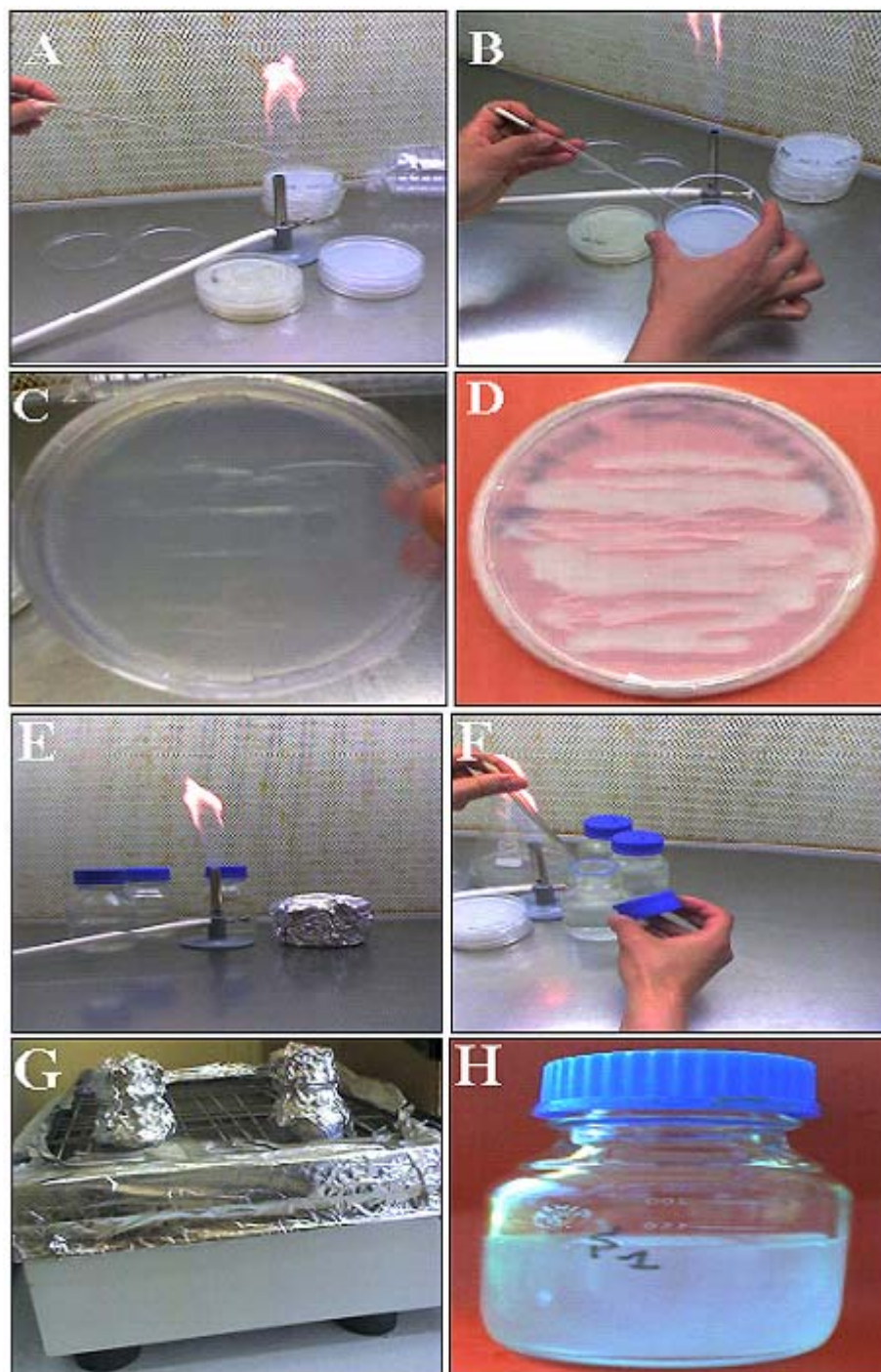


Planche 1: Activation de la souche A₄.

Etape 1: activation

A et B: préparation du transfert. C et D: développement sur milieu solide après 72h d'incubation.

Etape 2: Remise en suspension

E et F: opérations de remise en suspension. G: incubation sous agitation.

H: Suspension bactérienne prête à l'emploi.

V. Induction de l'enracinement

1. Effet de l'origine de la bouture ou de la feuille sur le rameau

Il s'agit de prélever des boutures herbacées et/ou des feuilles d'origines différentes sur les rameaux correspondant aux variétés étudiées (Chemlal, Frekani et Boukaila) afin de distinguer et de comparer les meilleures aptitudes à la rhizogénèse en présence d'*Agrobacterium rhizogenes* A₄ suractivée à l'aide de l'Acétoxyringone (10 µM). Le tableau 5, résume les facteurs étudiés dans ce travail.

Tableau 5 : Facteurs étudiés: type de l'explant x origine sur le rameau

Facteurs aléatoires		Facteurs fixes
Bouture	Feuilles	- Souche A ₄ suractivée. - Concentration de l'Acétoxyringone servant à l'activation des bactéries (10 µM). - Temps de trempage dans la solution bactérienne (10 sec).
Origine sur le rameau: Apicale, Médiane et/ou Basale	Origine sur le rameau: Apicale / Médiane	

2. Protocoles expérimentaux

2.1. Essai préliminaire : variété Chemlal

Sur un olivier cultivé hors sol, on prélève des rameaux herbacés de l'année. Ces derniers sont découpés en boutures de 10 à 15 cm, portant 5 à 6 nœuds, puis classées selon leur origine sur le rameau en boutures Apicales et Médianes. Les boutures basales n'étant pas retenues conformément aux travaux de (Khelifi et al, 2007), car elles donnent les résultats les plus médiocres en termes d'enracinement. Les boutures ainsi confectionnées sont débarrassées des paires de feuilles basales pour ne pas gêner leur mise en substrat (Figure 9).

Les boutures de la variété Chemlal ainsi préparées sont trempées dans la solution bactérienne pendant 10 sec puis placées dans le substrat composé de perlite sur une profondeur d'environ 6cm.

Quatre traitements sont prévus: origine de la bouture (M ou A) x Souche A₄ (présence=S₁ ou absence=S₀) d'où les combinaisons suivantes: AS₀–MS₀–AS₁ et MS₁ qui sont successivement T₁, T₂, T₃, T₄. Les boutures des 4 traitements sont placées

aléatoirement sur la perlite de la serre de nébulisation suivant un dispositif en randomisation totale (Figure 10). Le nombre de répétitions par traitement est de 70.

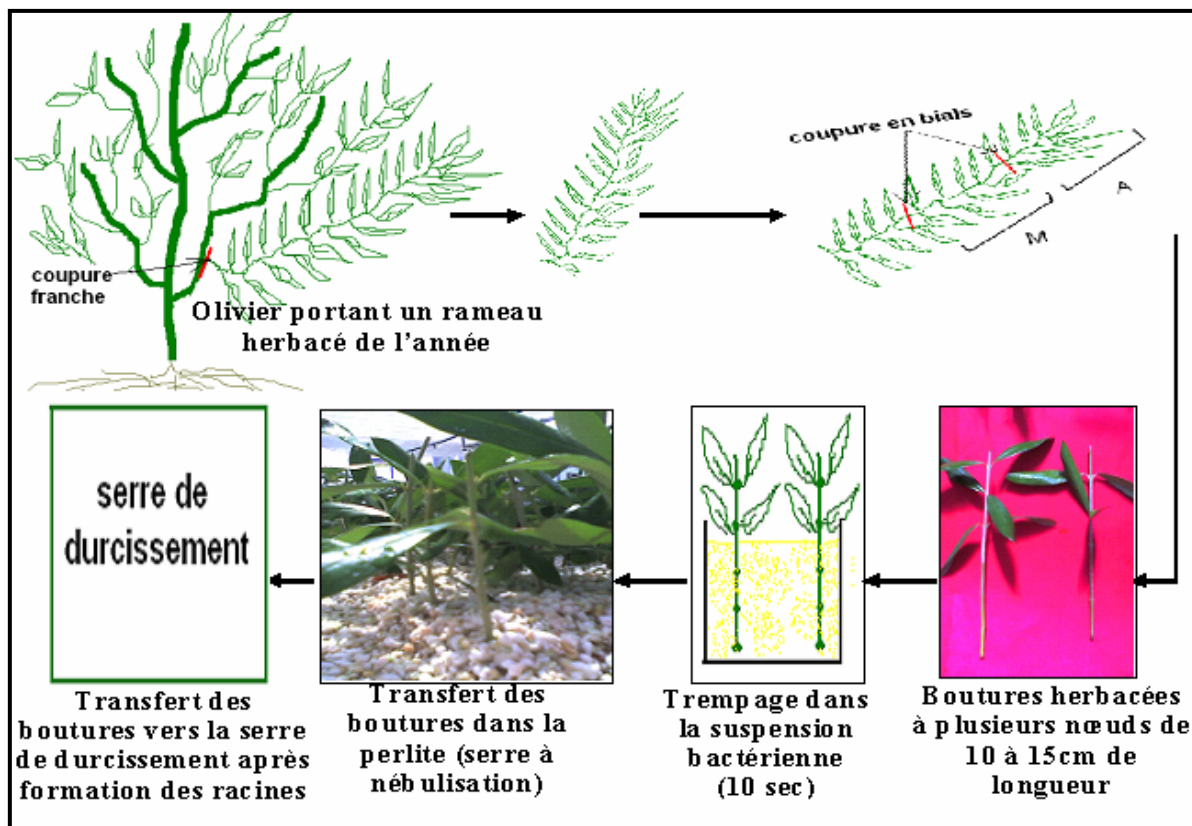


Figure 9: Opérations successives pour la mise en serre des boutures à plusieurs nœuds après traitement à la solution bactérienne.



Figure 10: Dispositif: boutures à plusieurs nœuds de la variété Chemlal

2.2. Extension de l'essai aux variétés Chemlal, Ferkani et Boukaila

Les boutures de ces trois variétés sont prélevées selon le même procédé que celui appliqué aux boutures de la variété Chemlal (Essai préliminaire). Le même dispositif est également appliqué (randomisation totale) dont le nombre de répétitions est de 40 pour Chemlal, 30 pour Ferkani et 28 pour Boukaila (Figure 11) selon la disponibilité du matériel végétal.

Les Traitements appliqués sont également les mêmes que pour l'essai préliminaire (AS_0 – MS_0 – AS_1 et MS_1).



Figure 11: Dispositif: boutures des variétés Chemlal, Ferkani et Boukaila.
CHL: Chemlal. **FK:** Ferkani. **BK:** Boukaila.

2.3. Essai feuilles herbacées des variétés Chemlal et Ferkani

Un soin particulier a été accordé au prélèvement des feuilles. Les feuilles sont prélevées en prenant soin de garder toujours à leurs bases le bourgeon axillaire qui constitue la future pousse.

La figure 12 résume les opérations successives pour la confection des explants et leur mise en serre

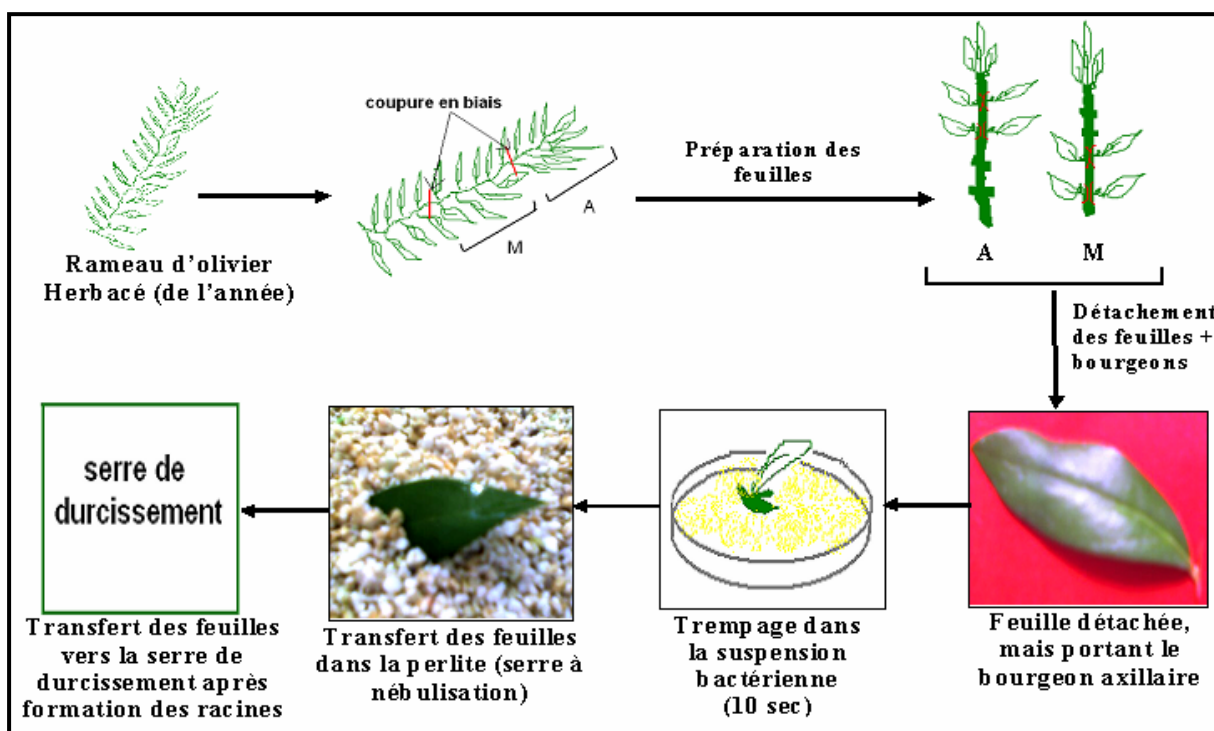


Figure 12: Opérations successives pour la mise en serre des feuilles après traitement à la solution bactérienne.

Les feuilles de la variété Chemlal sont placées dans un substrat artificiel (Perlite) au niveau de la serre à nébulisation, selon un dispositif en randomisation totale avec un nombre de répétition égal à 100 feuilles pour Chemlal et 40 pour Ferkani pour chaque traitement (Figure 13). Les traitements retenus sont toujours les mêmes ($AS_0 - MS_0 - AS_1$ et MS_1).

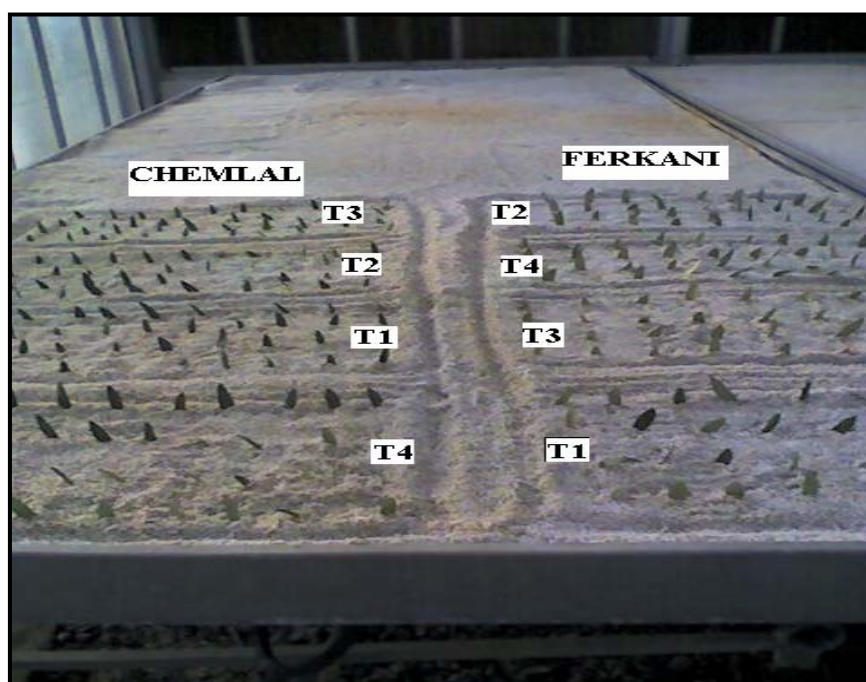


Figure 13: Dispositif: feuilles des variétés Ferkani et Chemlal

2.4. Essai boutures herbacées à un seul nœud (Chemlal)

Les boutures herbacées à un seul nœud de la variété Chemlal ont été prélevées à partir d'un rameau herbacé de l'année, aux différents niveaux (Apical, Médiane et Basal). Les opérations de prélèvement des boutures et de leur mise en culture sont résumées dans la figure 14. Les boutures d'origine basale sont introduites dans cet essai.

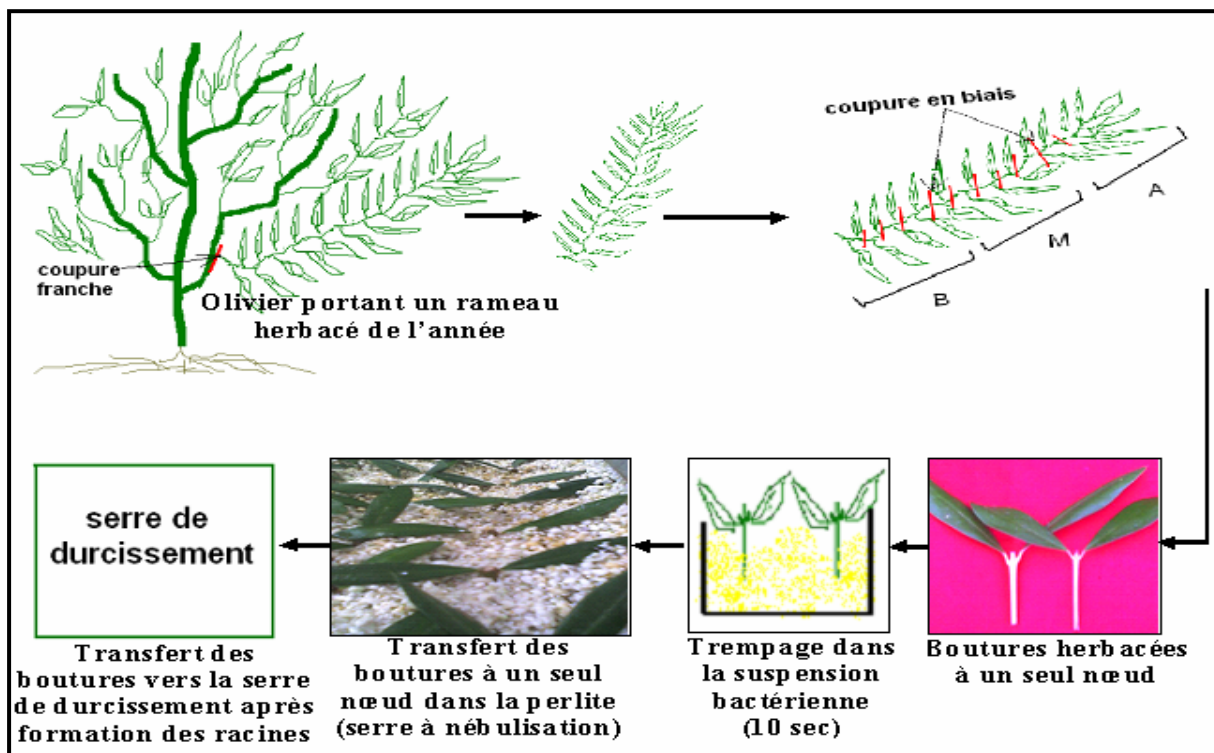


Figure 14: Opérations successives pour la mise en serre des boutures à un seul nœud après traitement à la solution bactérienne

Le dispositif en randomisation totale est maintenu avec 6 traitements, cette fois ci ($AS_0 - MS_0 - BS_0 - AS_1 - MS_1$ et BS_1). Le nombre de répétitions est de 70 boutures par traitement (Figure 15).

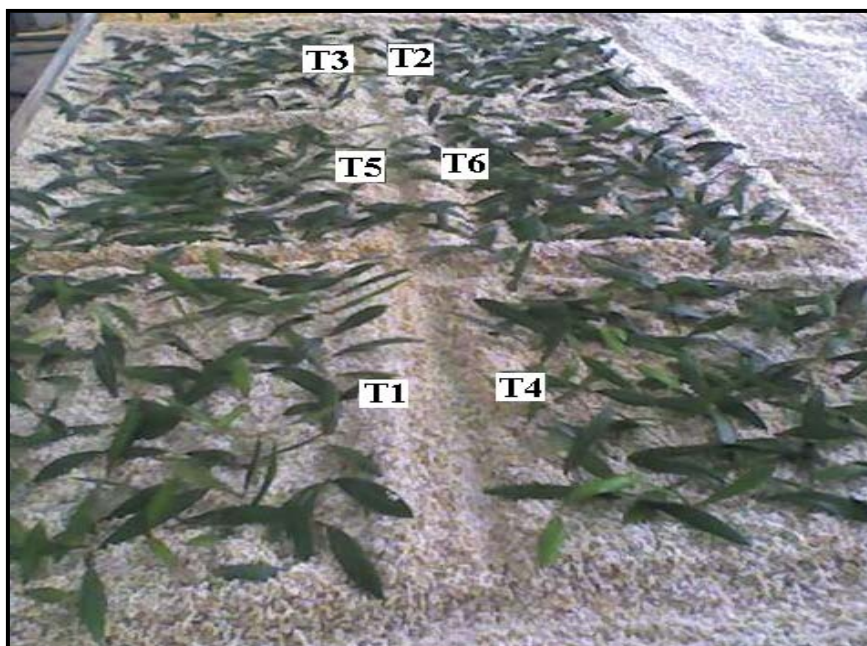


Figure 15: Dispositif: boutures à un seul nœud de la variété Chemlal

3. Paramètres observés lors de la phase d'enracinement

Avant d'être transplantés en serre d'acclimatation. Les boutures sont déterrées de la perlite, et les paramètres suivants sont observés :

- Nombre de boutures ou feuilles ayant formées un cal;
- Nombre de boutures et feuilles présentant des systèmes racinaires;
- Nombre moyen de racines par bouture;
- Longueur moyenne de racines par bouture;
- Pourcentage de ramifications des racines.

VI. Acclimatation des boutures et feuilles racinées

Les explants racinés (bouture à 1 nœud ou à plusieurs nœuds, et feuilles) sont placés après avoir mesuré les paramètres relatifs à la phase d'enracinement, dans un substrat composé d'un mélange de tourbe et perlite respectivement 2/3 et 1/3.

A l'issu de cette première opération ils sont transférés en serre de durcissement pour subir la phase d'acclimatation favorisant le développement de la partie aérienne. La Température de la serre de durcissement est réglée à 24°C et l'humidité à 70%, et après une période de 8 mois sont mesurés les paramètres suivants:

- **Paramètres de la partie aérienne**

- Longueur moyenne de la pousse principale par plant;
- Nombre moyen de feuilles par pousse;
- Diamètre moyen de la pousse;
- Poids frais de la partie aérienne;
- Poids sec de la partie aérienne.

- **Paramètres de la partie racinaire**

- Longueur moyenne de la racine principale par plant;
- Nombre moyen de racines par plant;
- Diamètre moyen de la racine principale;
- Poids frais de la partie racinaire;
- Poids sec de la partie racinaire.

- **Effet de l'élimination de la bactérie par la Céfotaxime**

Les boutures transformées par l'*Agrobacterium rhizogenes*, ainsi transférées en serre d'acclimatation et après 2 mois, leurs parties racinaires sont trempées dans une solution d'antibiotique (Céfotaxime 5mg/l) durant 48h, en parallèle d'autres parties sont trempées dans l'eau distillée (témoins)

L'objectif de ce traitement est d'éliminer les bactéries qui restent colées aux racines. Les boutures racinées ainsi traitées sont aussitôt placées dans le substrat (2/3 tourbe et 1/3 perlite) puis en serre d'acclimatation.

Après 6 mois, les paramètres suivants sont mesurés:

- Longueur moyenne de pousse par plant;
- Nombre moyen de feuilles par pousse;
- Diamètre moyen de la pousse;
- Poids frais de la partie aérienne;
- Poids sec de la partie aérienne;
- Longueur moyenne de la racine principale par plant;
- Nombre moyen de racines par plant;
- Diamètre moyen de la racine principale;
- Poids frais de la partie racinaire;
- Poids sec de la partie racinaire.

VIII. Analyse statistiques

L'analyse de la variance (ANOVA à un seul facteur) au seuil de 5% a été appliquée à l'ensemble des traitements ayant fait l'objet de ce travail. Lorsque l'ANOVA est significative, ceci indique qu'il existe des différences significatives entre les résultats des traitements appliquées. Dans ce cas, l'ANOVA est complétée par le test de la plus petite différence significative (PPDS) dans la perspective de dégager les groupes de traitements statistiquement homogènes.

Les lettres sur les graphiques correspondent aux groupes homogènes et les *, **, ***, NS, correspondent respectivement à l'ANOVA aux différents seuils de signification: significatif, hautement significatif, très hautement significatif et non significatif.

Résultats et interprétations

I. Phase d'enracinement

1. Essai préliminaire

Un premier essai a été réalisé en Juin 2007 portant sur la culture de boutures herbacées de la variété Chemlal, préalablement traitées avec la souche A₄ d'*Agrobacterium rhizogenes*. L'objectif de cet essai était de savoir comment les boutures, de cette variété, prélevées à des niveaux différents du rameau (apical, et médian), traitées ou pas avec la souche A₄, allez réagir.

Après 3 mois de culture en serre, une intense activité rhizogène a été observée. Ainsi pour évaluer l'efficacité de la technique, différents paramètres ont été étudiés:

1.1. Pourcentage de callogenèse

Le traitement des deux types de boutures, apicales et médianes, avec la souche A₄, (S₁A, S₁M), ou sans traitement (S₀A, S₀M) a permis de révéler des pourcentages de callogenèse importants. Les boutures traitées à la souche A₄ présentent les plus forts pourcentages de callogenèse avec 40 et 48,57% respectivement pour les boutures apicales et médianes. Cependant les boutures non traitées ne présentant que 12,85 et 17,14% de callogenèse. Les résultats ont été confirmés par l'analyse de la variance qui a mis en évidence un effet très hautement significatif du traitement associé à l'origine de la bouture.

En effet, le test de la PPDS révèle deux groupes homogènes: le premier est constitué par les boutures traitées S₁A et S₁M et le deuxième pour les boutures non traitées (S₀A, S₀M) (Figure 16).

Les photographies de la planche 3 montrent la callogenèse obtenue avec les différents traitements.

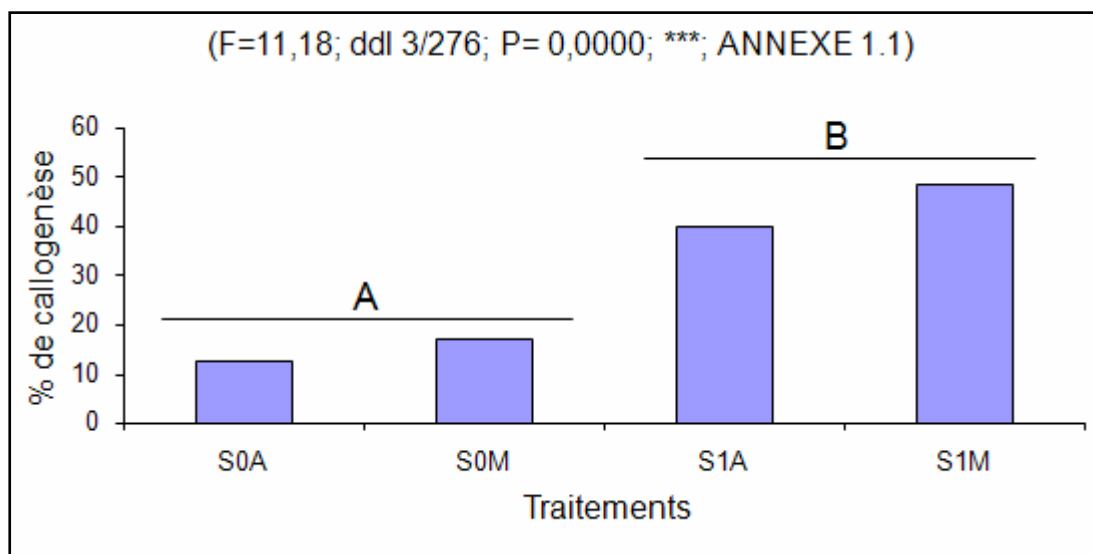


Figure 16: Variation du pourcentage de callogenèse en fonction du traitement à la souche A_4 et du type de bouture.

1.2. Pourcentage de rhizogenèse

La formation de racines en fonction des différents traitements (Figure 17 et planche 2) (S_0A , S_0M , S_1A et S_1M) donne respectivement les pourcentages suivants: 4,28%, 4,28%, 15,71% et 51,43%. La souche A_4 s'avère la plus efficace sur les boutures d'origine médiane.

L'analyse de la variance (Annexe 1.2) montre un effet très hautement significatif des traitements appliqués sur le pourcentage de racines formées. Le test de la PPDS révèle 3 groupes homogènes:

- Groupe A: comporte les témoins (S_0A et S_0M).
- Groupe B: comporte le traitement de boutures d'origine Apicale avec la souche A_4 (S_1A).
- Groupe C: comporte le traitement de boutures d'origine Médiane avec la souche A_4 (S_1M). Ce dernier groupe constitue le traitement le plus efficace ayant permis d'obtenir 51,43% d'enracinement.

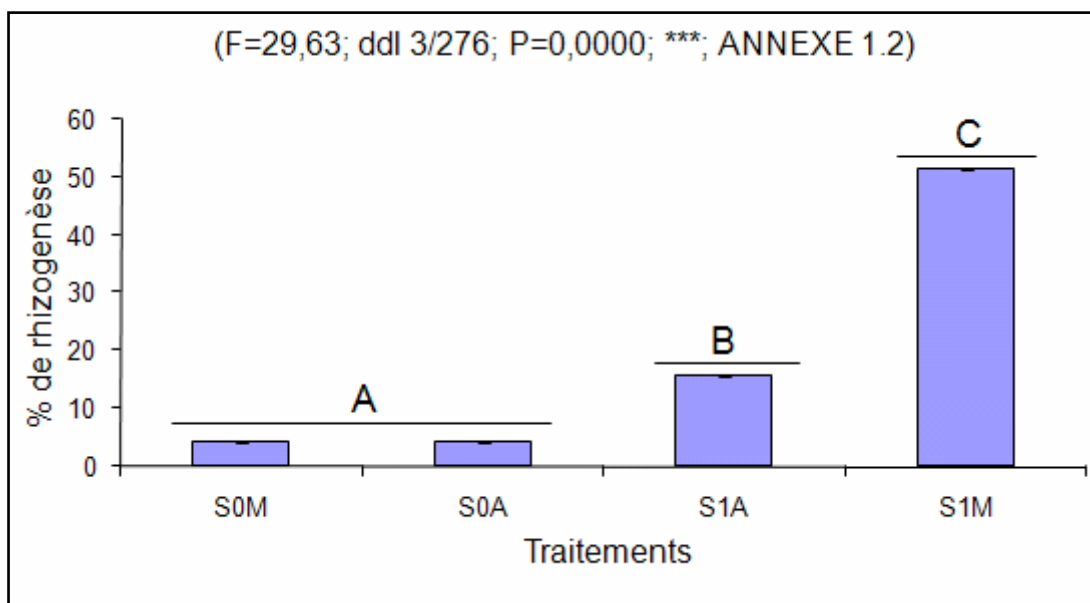


Figure 17: Variation du pourcentage d'enracinement en fonction du traitement à la souche A_4 et du type de bouture.

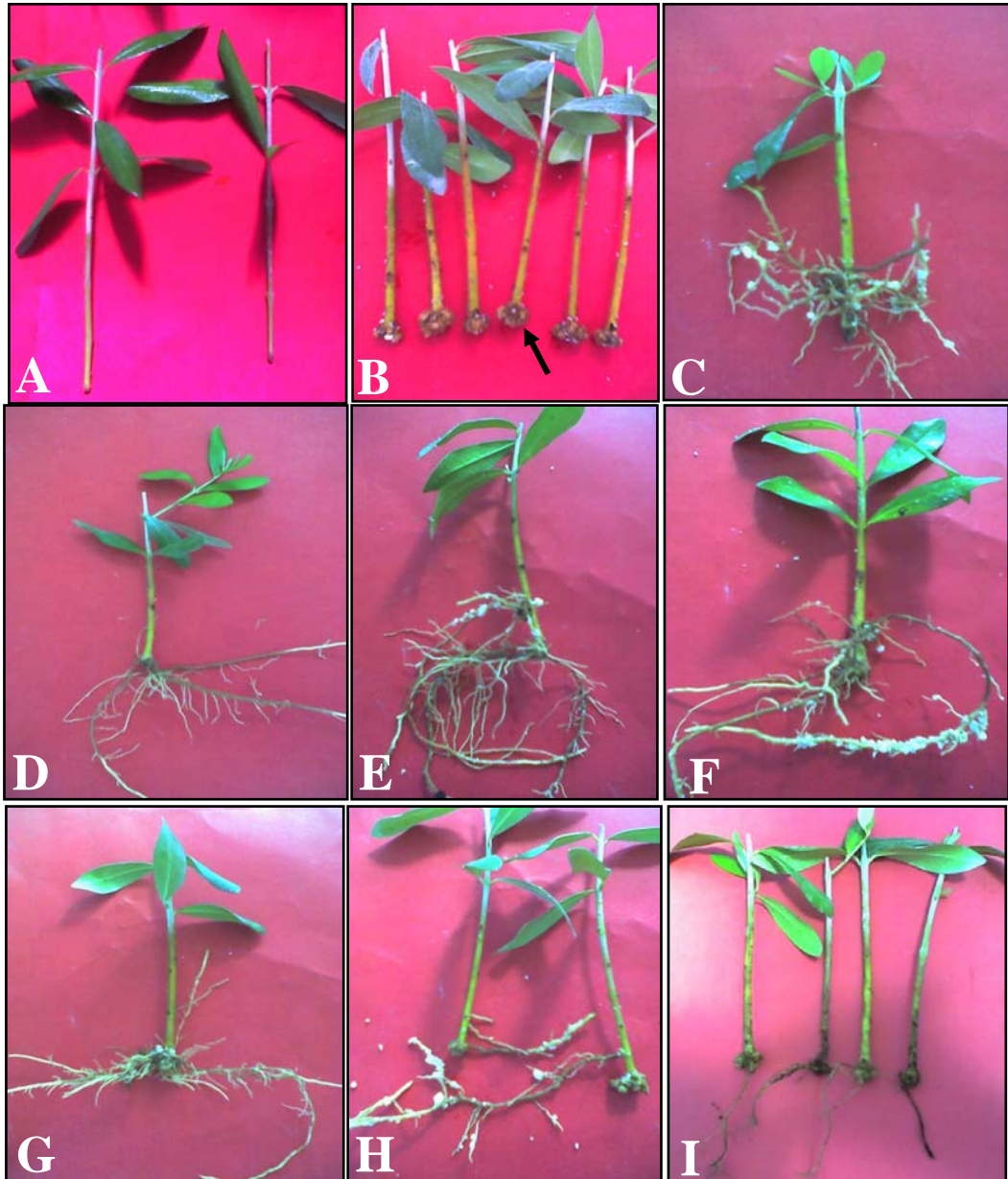


Planche 2: Effet de l'origine de la bouture herbacée de la variété Chemlal sur l'induction de l'enracinement.

A: boutures herbacées à plusieurs nœuds avant le traitement à la souche A₄.

B: Boutures herbacées d'origine Apicale et à plusieurs nœuds qui ont formé un cal sans traitement à la souche A₄ (G=3,37).

C, D, E, F, G, H: Boutures herbacées d'origine Médiane et à plusieurs nœuds présentant un enracinement induit par la souche A₄ (G_C=3,71 ; G_D=5,6 ; G_E=4,84 ; G_F=3,69 ; G_G=4,14 ; G_H=3,9)

I: Boutures herbacées d'origine Apicale et à plusieurs nœuds traitées avec A₄ ayant induit un enracinement peu intense (G=3,23).

1.3. Nombre moyen de racines par bouture

Le nombre moyen de racines formées en fonction des différents traitements S_0A , S_0M , S_1A et S_1M montre respectivement les valeurs suivantes: 1 et 1 et 3,09 et 10,08 (Figure 18).

L'analyse de la variance (Annexe 1.3) montre un effet très hautement significatif des traitements appliqués sur le nombre moyen de racines formées. Le test de la PPDS révèle 2 groupes homogènes:

- Groupe A: comporte les témoins ainsi que le traitement des boutures d'origine Apicale avec la souche A_4 successivement (S_0A , S_0M et S_1A).
- Groupe B: comporte le traitement de boutures d'origine Médiane à la souche A_4 : S_1M . Le groupe B est considéré comme le meilleur avec un nombre important de racines par bouture (environ 10).

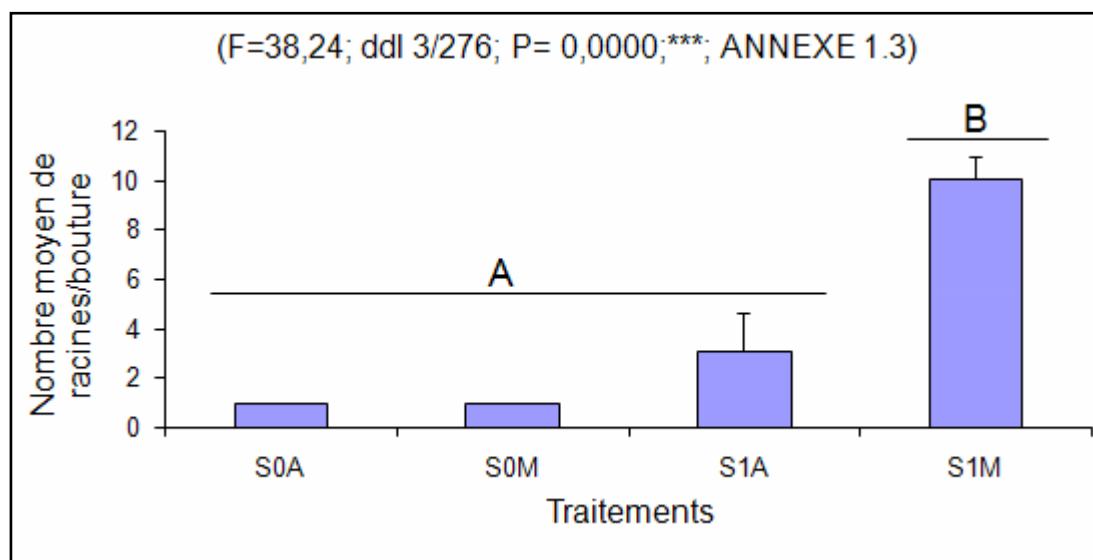


Figure 18: Variation du nombre moyen de racines en fonction du traitement à la souche A_4 et du type de bouture.

1.4. Longueur moyenne des racines principales

La longueur moyenne des racines formées en fonction des différents traitements (S_0A , S_0M , S_1A , S_1M) sont respectivement: 0,66 cm, 0,83 cm, 3,66 cm et 5,56 cm (figure 19).

L'analyse de la variance (Annexe 1.4) montre un effet très hautement significatif des traitements appliqués sur la longueur moyenne des racines formées. Le test de la PPDS révèle 3 groupes homogènes:

- Groupe A: comporte tous les témoins (S_0A et S_0M);
- Groupe B: comporte les boutures d'origine Apicale traitées à la souche A_4 (S_1A);
- Groupe C: comporte les boutures d'origine Médiane traitées à la souche A_4 (S_1M).

Ce groupe est considéré comme le meilleur.

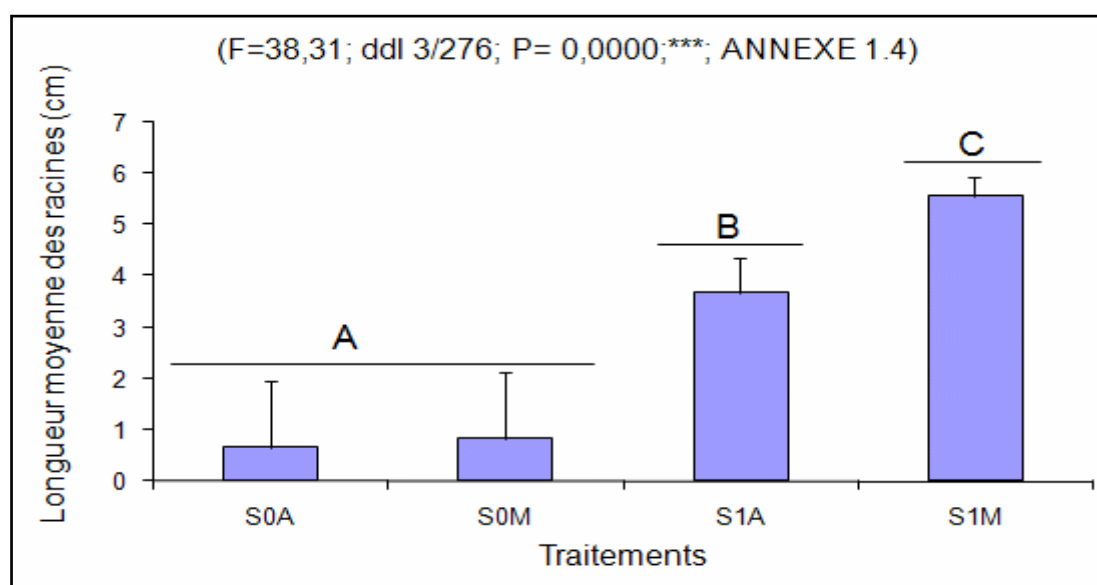


Figure 19: Variation de la longueur moyenne de racines en fonction du Traitement à la souche A_4 et du type de bouture.

1.5. Pourcentage de ramifications des racines

Ce paramètre désigne le pourcentage de racines ayant présenté des ramifications. Les pourcentages de ramification au niveau des racines en fonction des différents traitements (S_0A , S_0M , S_1A , S_1M) sont respectivement: 0, 30%, 0,43%, 2,85% et 38,28% (figure 20).

L'analyse de la variance (Annexe 1.5) montre un effet très hautement significatif des traitements appliqués sur le pourcentage de ramifications au niveau des racines formées.

Le test de la PPDS révèle 2 groupes homogènes:

- Groupe A: comporte les témoins ainsi que le traitement de boutures d'origine apicale avec la souche A_4 successivement: S_0A , S_0M et S_1A ;

- Groupe B: comporte les boutures d'origine médiane traitées à la souche A₄ (S₁M).

La figure 21 illustre la qualité des ramifications obtenues avec le traitement des boutures avec la souche A₄.

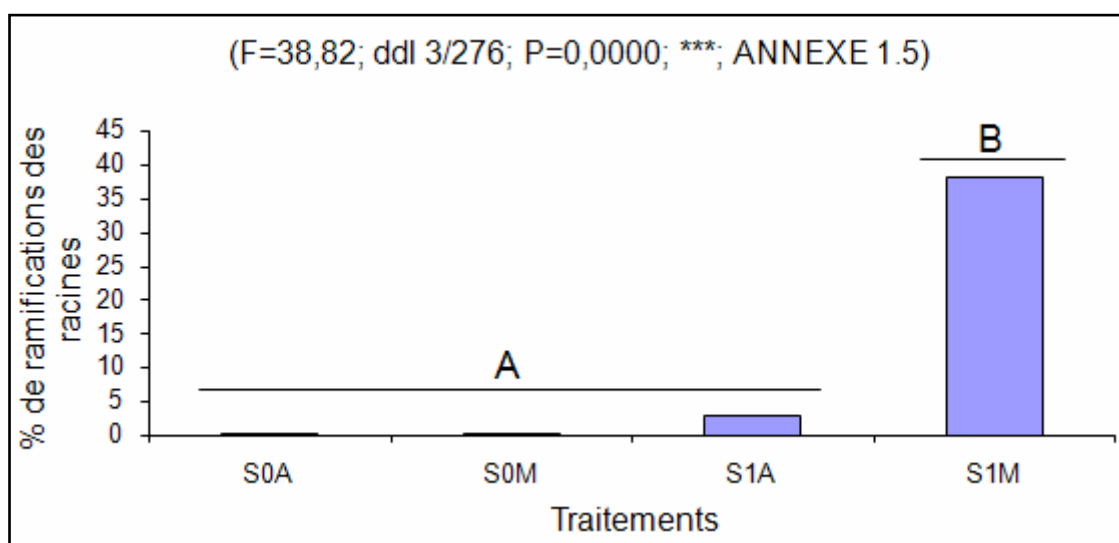


Figure 20: Variation du pourcentage de ramification des racines en fonction du traitement à la souche A₄ et du type de bouture.



Figure 21: Importance et qualité des ramifications obtenues avec le traitement à la souche A₄ des boutures médianes (G=2,66).

1.6. Conclusion

Les résultats obtenus lors de cet essai préliminaire, sont très encourageants (51,43% d'enracinement). Ceci correspond à une amélioration de l'enracinement de cette variété de l'ordre de 300%, les meilleurs résultats obtenus en bouturage de la

variété Chemlal étant de 19% (Loussert, 1981). Ceci nous a encouragé à étendre l'essai à deux autres variétés nobles: Ferkani et Boukaila.

2. Extension de l'essai à deux autres variétés

Suite à l'essai préliminaire des boutures herbacées à plusieurs noeuds de la variété Chemlal, une extension de cet essai a été effectuée le mois de Mars 2008 à deux autres variétés: Ferkani de la région de Tébessa et Boukaila du Constantinois tout en gardant la Chemlal. Les boutures utilisées sont toujours constituées de plusieurs noeuds.

L'étude de l'induction de l'enracinement est basée sur les mêmes paramètres que précédemment en prenant en considération l'origine de la bouture en association ou non avec la souche A₄.

2.1. Pourcentage de callogenèse

- Pour la variété Chemlal, le pourcentage de callogenèse varie considérablement en fonction de l'origine de la bouture, confirmant ainsi les résultats du test préliminaire. En effet les boutures médianes présentent les plus fort taux de callogenèse (82,5%).

L'analyse de la variance confirme bien ce résultat. Elle montre un effet très hautement significatif, et le test de la PPDS révèle en conséquence 3 groupes homogènes (Figure 22.A).

- Pour la variété Ferkani, le pourcentage de callogenèse varie aussi d'une façon remarquable en fonction de l'origine de la bouture, avec ou sans traitement à la souche A₄. Les boutures médianes présentent aussi les meilleurs taux de callogenèse (46,66%).

Ce résultat a été confirmé par l'analyse de la variance qui a mis en évidence un effet hautement significatif. En effet, le test de la PPDS révèle 2 groupes homogènes (Figure 22.B).

- Pour la variété Boukaila, le pourcentage de callogenèse est plus fort avec l'origine médiane principalement en présence de la souche A₄ (71,43%).

L'analyse de la variance a confirmé ce résultat avec un effet très hautement significatif. Le test de la PPDS a révélé 2 groupes homogènes (Figure 22.C).

Il ressort ainsi pour ce paramètre que la souche A₄ appliquée sur les boutures médianes induit le pourcentage le plus élevé de callogenèse.

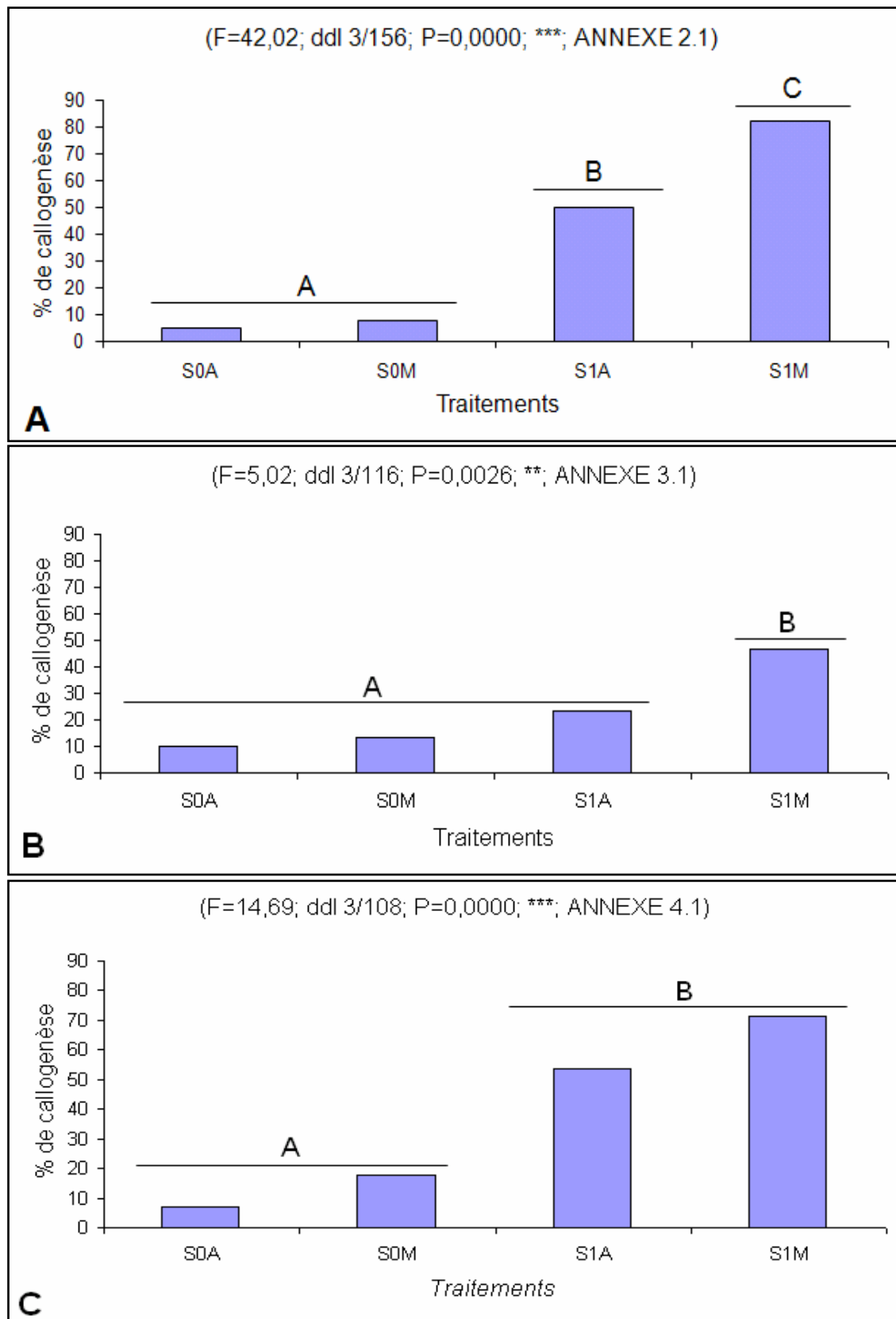


Figure 22: Variation du pourcentage de callogenèse en fonction du traitement à la souche A₄ et du type de bouture. **A:** Chemla, **B:** Ferkani, **C:** Boukaila.

2.2. Pourcentage de rhizogénèse

- Pour la variété Chemlal, le pourcentage d'enracinement est plus important que celui de l'essai préliminaire où il varie considérablement en fonction de l'origine de la bouture. En effet les boutures médianes présentent les plus fort taux d'enracinement (60%).

L'analyse de la variance confirme bien ce résultat par un effet très hautement significatif des traitements appliqués. De ce fait, le test de la PPDS révèle en conséquence 3 groupes homogènes (Figure 23.A et planche 3).

- Pour la variété Ferkani, le pourcentage varie aussi en fonction des traitements d'enracinement des boutures médianes présentent toujours les meilleurs taux pour l'enracinement (56, 66%).

L'analyse de la variance met en évidence un effet très hautement significatif. Le test de la PPDS révèle 2 groupes homogènes (Figure 23.B et planche 4).

- Pour la variété Boukaila, le pourcentage d'enracinement est moins important que pour les deux variétés précédentes. L'origine médiane, donne toujours le meilleur taux d'enracinement en présence de la souche A₄ (42,86%).

L'analyse de la variance confirme ce résultat avec un effet très hautement significatif et le test de la PPDS révèle 3 groupes homogènes (Figure 23.C et planche 5).

Ainsi, pour les trois variétés, c'est toujours les boutures d'origines médianes qui offrent les pourcentages d'enracinement les plus élevés lorsqu'elles sont traitées avec la souche A₄.

Les trois variétés réagissent cependant, différemment, pour ce paramètre. La variété Chemlal se classe en tête suivie de la variété Ferkani, puis la variété Boukaila.

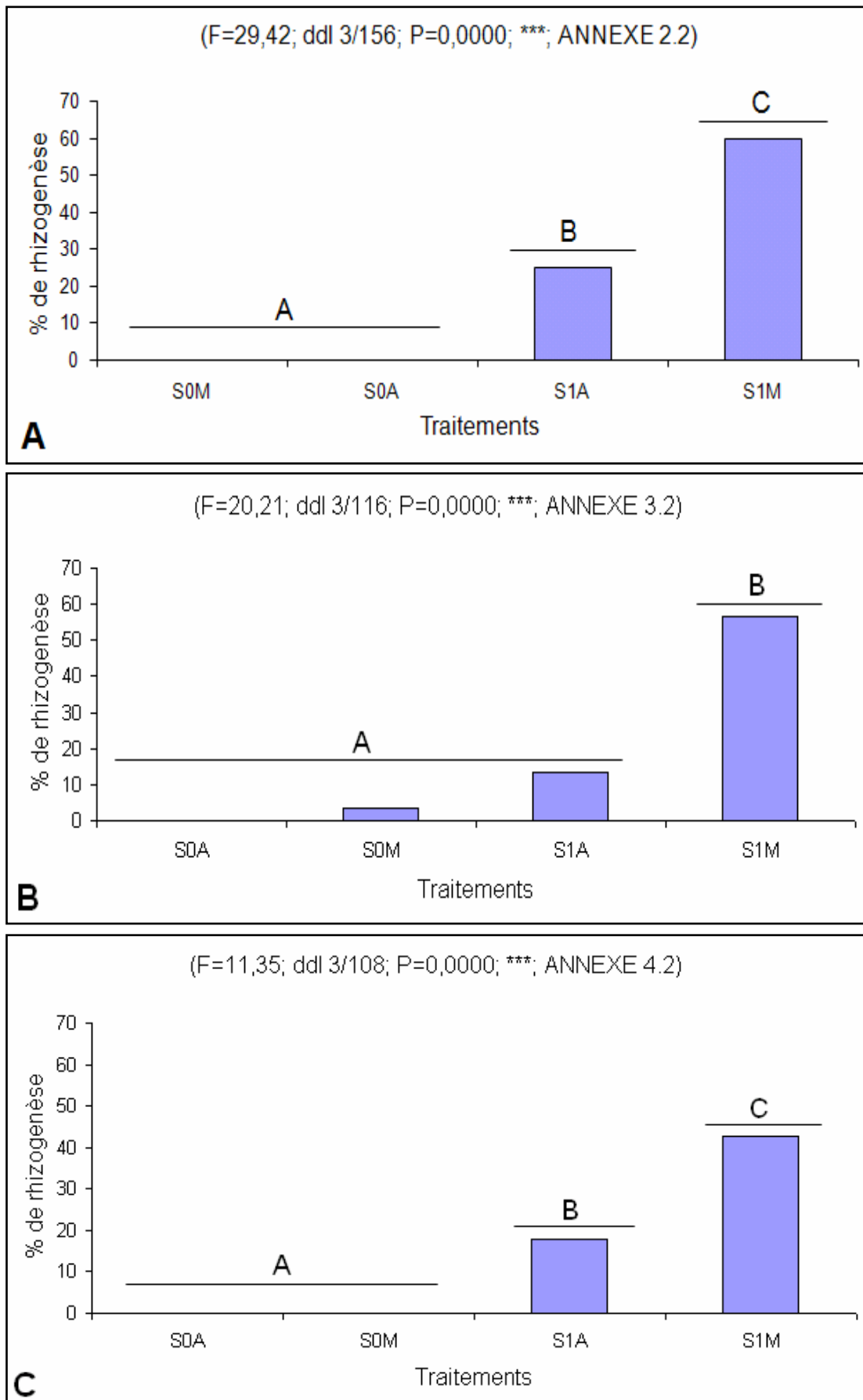


Figure 23: Variation du pourcentage d'enracinement en fonction du traitement à la souche A₄ et du type de bouture. **A:** Chemla, **B:** Ferkani, **C:** Boukaila.

2.3. Nombre moyen de racines par bouture

- Pour la variété Chemlal, le nombre moyen de racines par bouture varie considérablement en fonction de l'origine de la bouture et de la souche A₄. En effet les boutures médianes traitées avec la souche A₄ présentent les meilleurs résultats qui sont de 10 racines par bouture.

L'analyse de la variance confirme ce résultat en montrant un effet très hautement significatif. Le test de la PPDS révèle 3 groupes homogènes (Figure 24.A et planche 4).

- Pour la variété Ferkani, le nombre moyen de racines par bouture est variable en fonction de l'origine de la bouture, avec ou sans traitement à la souche A₄. L'origine médiane présente toujours les meilleurs résultats soit 4 racines par bouture.

L'analyse de la variance met en évidence un effet très hautement significatif et le test de la PPDS révèle 2 groupes homogènes (Figure 24.B).

- Pour la variété Boukaila, le nombre moyen de racines par bouture est moins important que les deux variétés précédentes. C'est l'origine médiane qui donne le meilleur nombre moyen de racines par bouture (3) en présence de la souche A₄.

L'analyse de la variance confirme ce résultat avec un effet très hautement significatif et le test de la PPDS révèle 3 groupes homogènes (Figure 24.C).

Il ressort ainsi pour ce paramètre que c'est encore les boutures d'origine médianes qui réagissent le mieux au traitement à la souche A₄.

Par ailleurs, les variétés présentant des capacités organogénétiques variables, les classant dans l'ordre décroissant suivant: Chemlal (10 racines / bouture), Ferkani (4 racines / bouture), et Boukaila (3 racines / bouture).

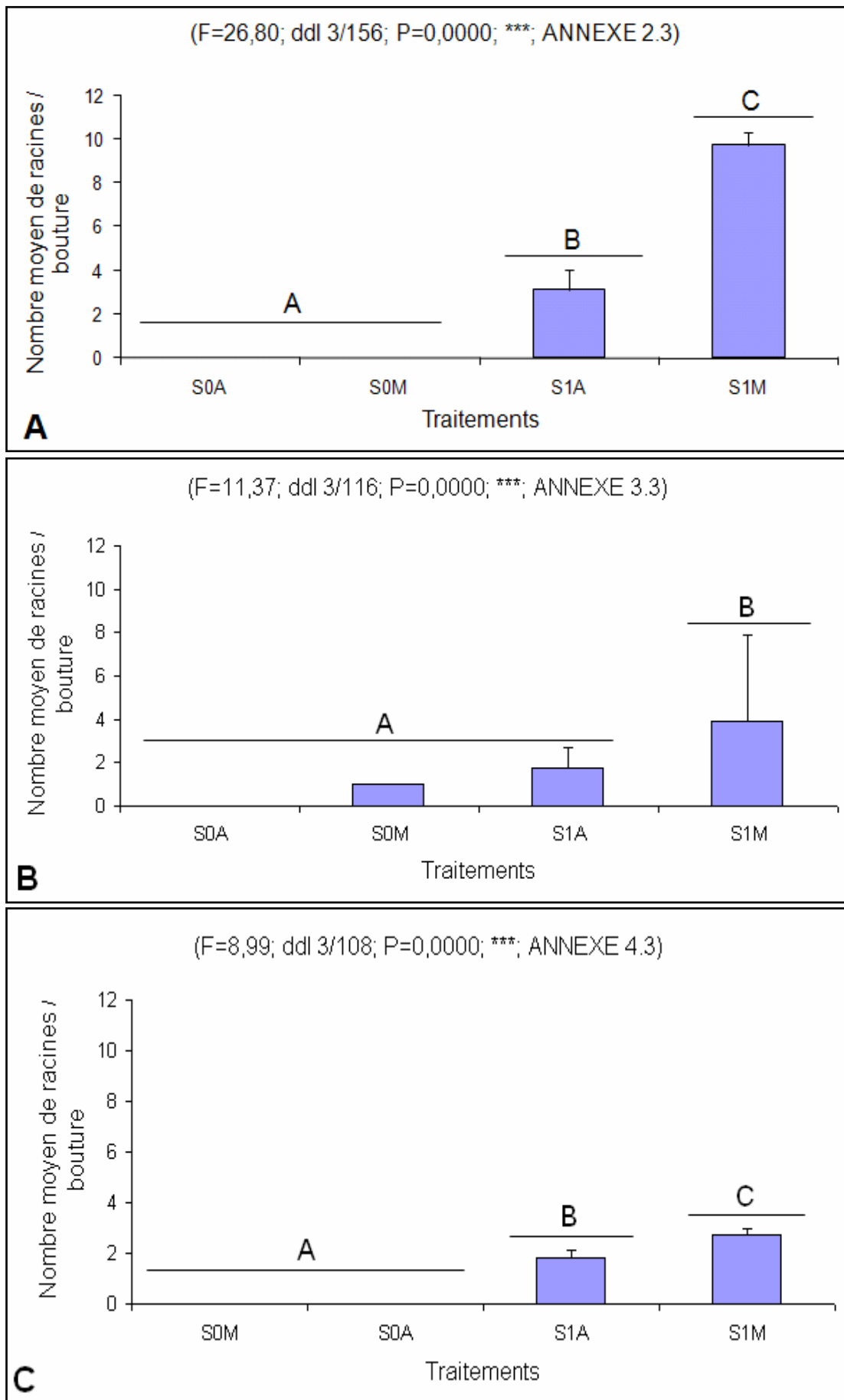


Figure 24: Variation du nombre moyen de racines par bouture en fonction du traitement à la souche A₄ et du type de bouture. **A:** Chemla, **B:** Ferkani, **C:** Boukaila.

2.4. Longueur moyenne des racines principales

- Pour la variété Chemlal, la longueur moyenne des racines par bouture varie considérablement en fonction de l'origine de la bouture et la souche A₄. En effet les boutures médianes présentent les meilleures longueurs de racines par bouture (6,51cm).

L'analyse de la variance confirme ce résultat et montre un effet très hautement significatif. Le test de la PPDS révèle 3 groupes homogènes (Figure 25.A).

- Pour la variété Ferkani, la longueur moyenne des racines par bouture est aussi variable en fonction de l'origine bouture et du traitement à la souche A₄. Les boutures d'origine médiane de donnent les meilleurs résultats avec la souche A₄ (3,53cm).

L'analyse de la variance, montre un effet très hautement significatif et le test de la PPDS révèle 2 groupes homogènes (Figure 25.B).

- Pour la variété Boukaila, la longueur moyenne des racines par bouture est moins importante que les deux variétés précédentes dont l'origine médiane présente la meilleure longueur moyenne de racine par bouture avec la souche A₄ (3, 26cm).

L'analyse de la variance confirme ce résultat avec un effet très hautement significatif et le test de la PPDS révèle 3 groupes homogènes (Figure 25.C).

La longueur moyenne des racines induites par la souche A₄ dépend de l'origine de la bouture. Ainsi, pour les 3 variétés c'est l'origine médiane qui offre les meilleures longueurs moyennes de racines. Concernant l'effet variétal, les capacités morphogénétiques de la variété Chemlal sont les meilleurs suivie par Ferkani puis Boukaila.

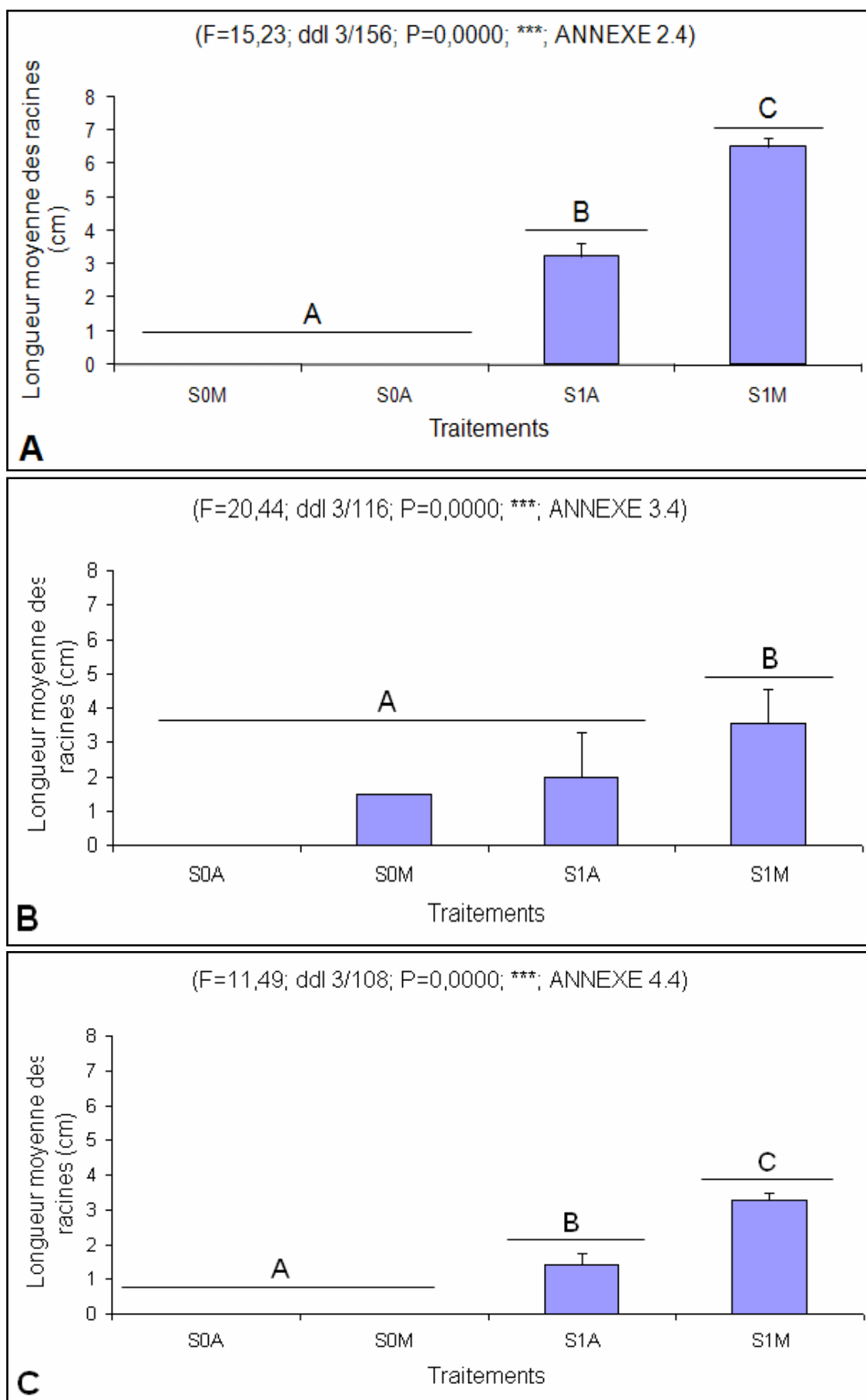


Figure 25: Variation de la longueur moyenne de racines en fonction du traitement à la souche A₄ et du type de bouture. **A:** Chemla, **B:** Ferkani, **C:** Boukaila.

2.5. Pourcentage de ramifications des racines

- Pour la variété Chemlal, le pourcentage de ramifications des racines par bouture varie considérablement en fonction de l'origine de la bouture avec la souche A₄. En effet les boutures médianes présentent les meilleurs taux de ramifications de racines par bouture (95%).

L'analyse de la variance confirme ce résultat et montre un effet très hautement significatif. Le test de la PPDS révèle 2 groupes homogènes (Figure 26.A et planche 3).

- Pour la variété Ferkani, le pourcentage de ramification de racines par bouture était aussi variable en fonction de l'origine bouture ainsi et la souche A₄. L'origine médiane de la bouture donne les meilleurs résultats avec la souche A₄ (96,66%).

L'analyse de la variance, montre un effet très hautement significatif et le test de la PPDS révèle 2 groupes homogènes (Figure 26.B).

- Pour la variété Boukaila, le pourcentage de ramification de racines par bouture est aussi important et l'origine médiane donne le meilleur pourcentage de ramification de racines par bouture avec la souche A₄ (85,71%).

L'analyse de la variance confirme ce résultat avec un effet très hautement significatif et le test de la PPDS révèle 3 groupes homogènes (Figure 26.C).

Le matériel végétal se comporte différemment sur le plan morphogénétique, les boutures médianes traitées à la souche A₄ montrent les aptitudes les plus élevées. Toutefois, pour ce paramètre les 3 variétés se comportent d'une manière homogène.

2.6. Conclusion

Il ressort des résultats obtenus avec les 3 variétés suite à l'application de la souche A₄ que:

- Les boutures médianes présentent les meilleures capacités rhizogènes.
- Les 3 variétés présentent un enracinement économiquement intéressant supérieur ou environ 50%. La variété Chemlal très récalcitrante en bouturage se classe cependant en tête.

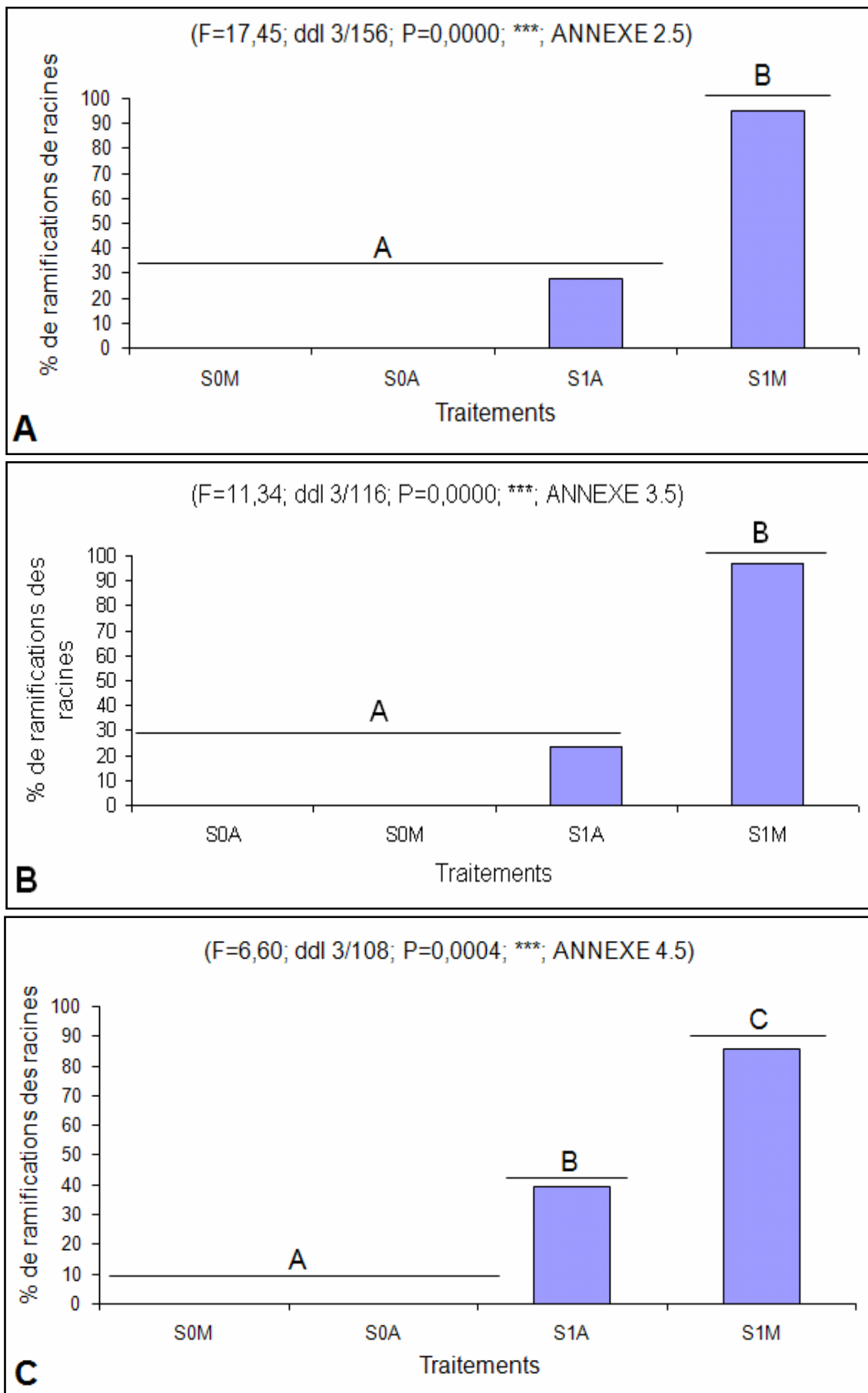


Figure 26: Variation du pourcentage de ramification des racines en fonction du traitement à la souche A₄ et du type de bouture. **A:** Chemla, **B:** Ferkani, **C:** Boukaila.

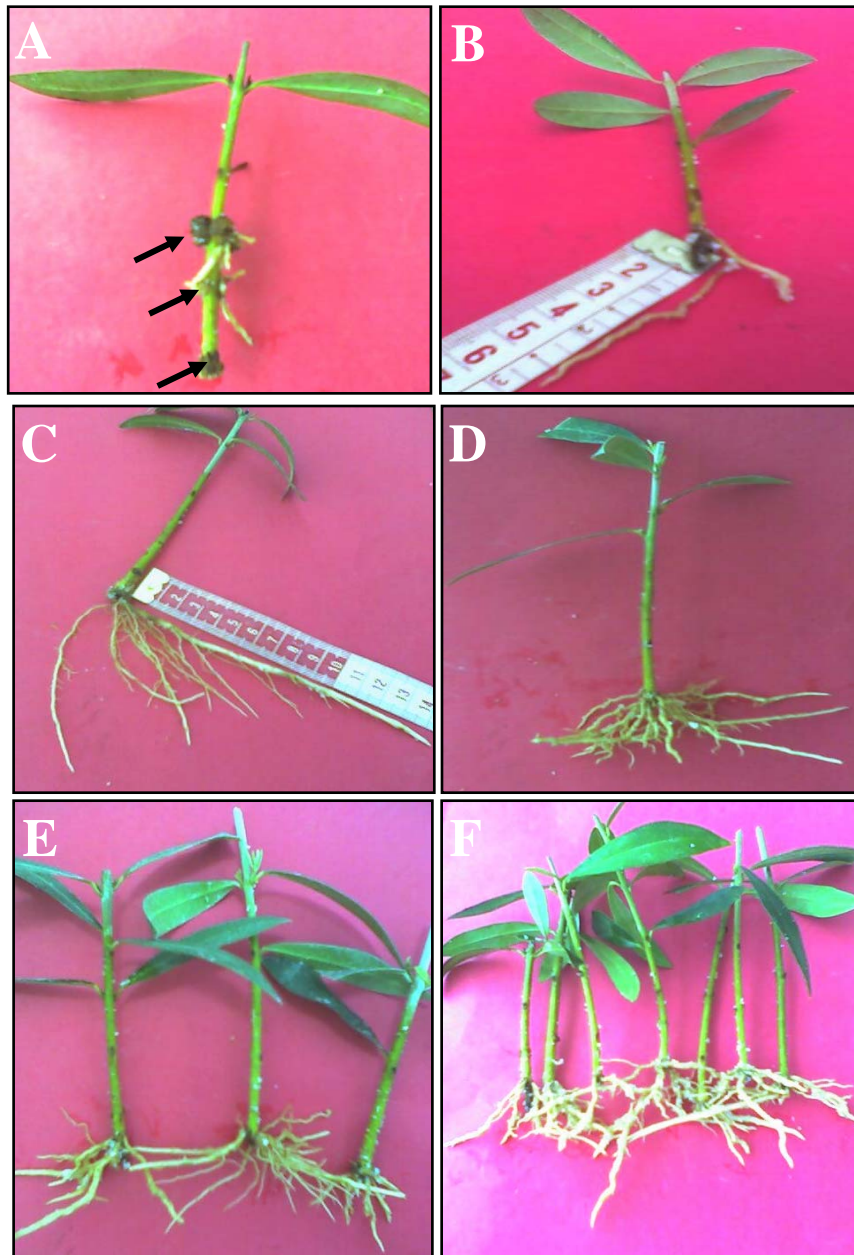


Planche 3: Aspect des racines obtenues sur des boutures d'origines différentes soumises à la souche A₄.

A: bouture d'origine médiane développant des au niveau de plusieurs Nouds ($G=2,77$). **B:** boutures apicales présentant une seule racine ramifiée ($G=1,96$).

C, D, E et F: boutures médianes avec des taux de ramifications racinaires variables ($G_C=3,22$; $G_D=3,97$; $G_E=2,90$; $G_F=4,16$).

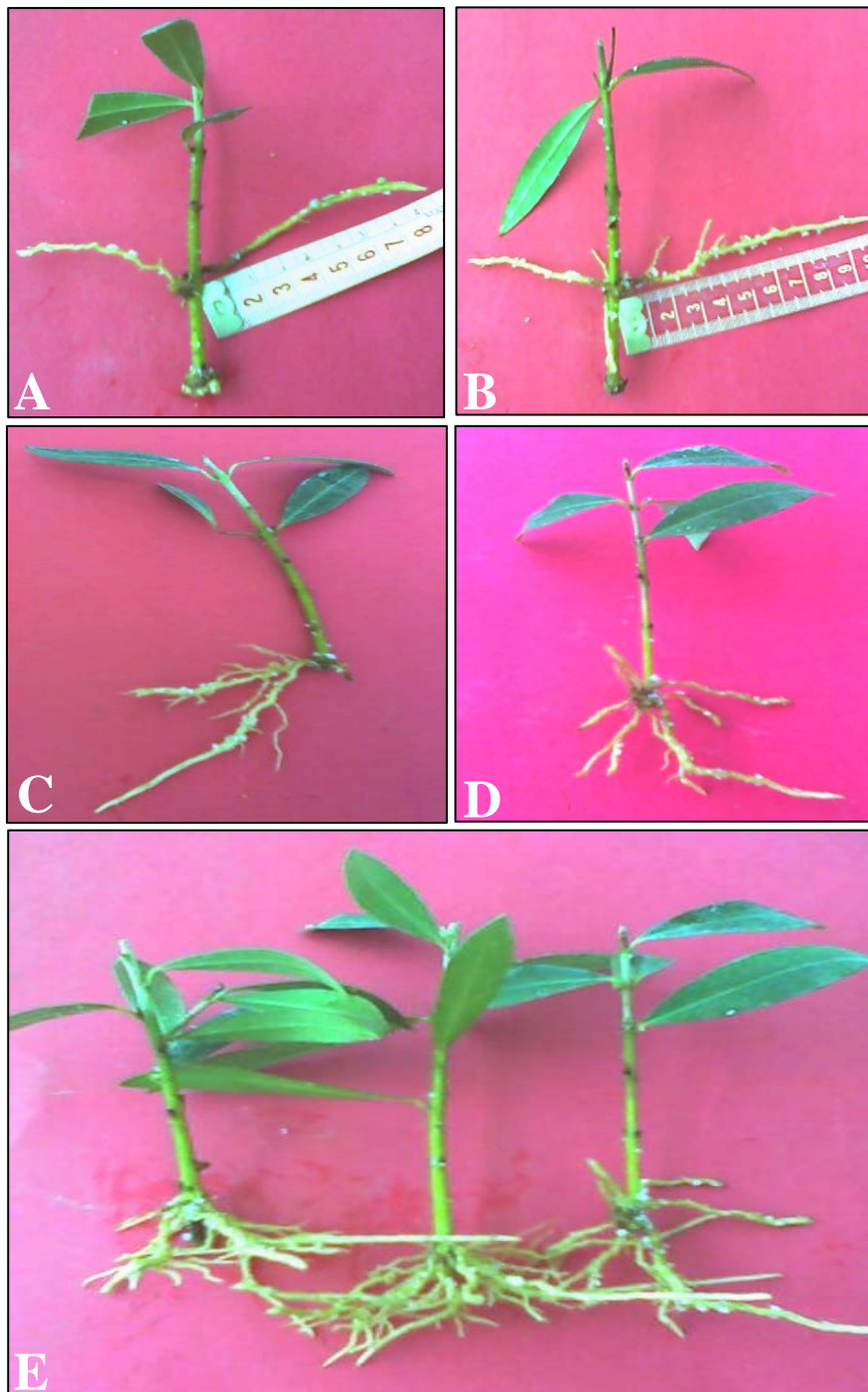


Planche 4: Aspect des racines obtenues sur des boutures d'origines différentes soumises à la souche A_4 chez la variété Ferkani .
A: bouture d'origine Apicale présentant des racines non ramifiées ($G=2,83$)
B, C, D et E: boutures médianes à plusieurs nœuds inoculées avec la souche A_4 , présentant des taux de ramifications racinaires variables ($G_B=2,83$; $G_C=3,58$; $G_D=3,01$; $G_E=3,14$).

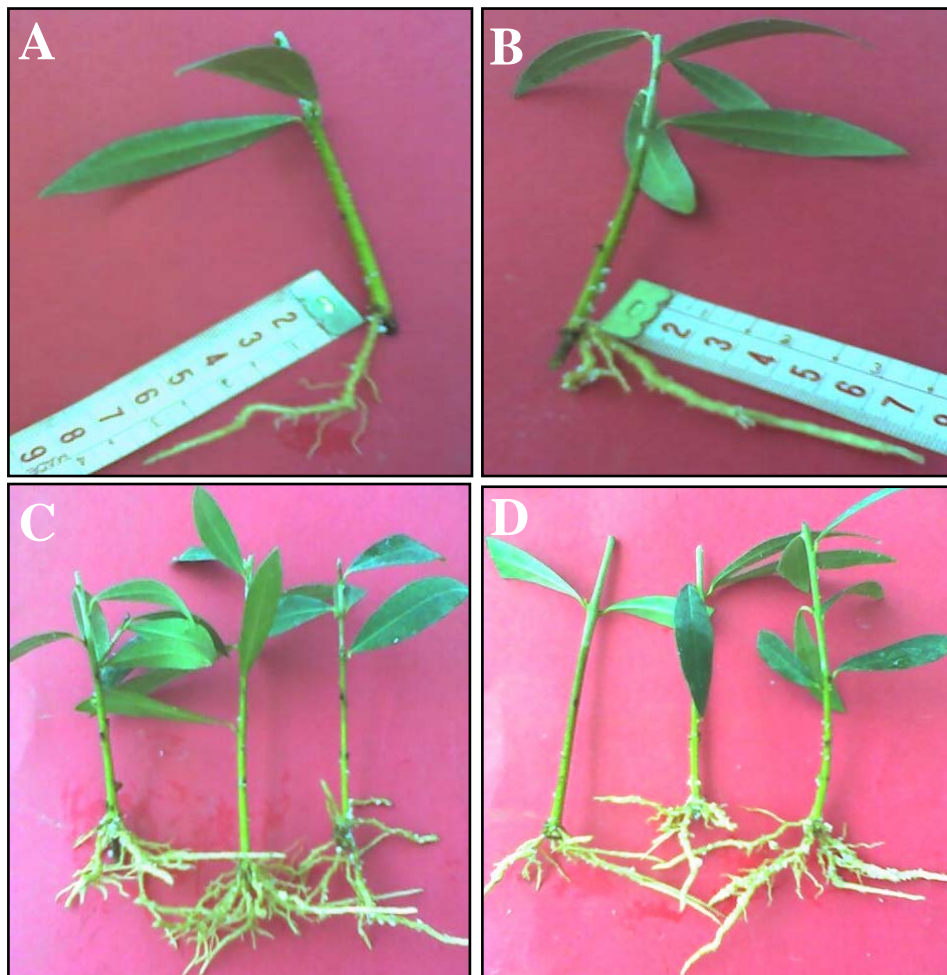


Planche 5: Aspect des racines obtenues sur des boutures d'origines différentes soumises à la souche A₄.

A et B: boutures d'origine apicale ($G_A=2$; $G_B=1,56$).

C et D: boutures d'origine médiane ($G_C=3,52$; $G_D=3,12$).

3. Bouturage de feuilles herbacées de deux variétés

Cet essai a porté sur l'utilisation de feuilles herbacées avec le bourgeon axillaire de deux variétés, Chemlal et Ferkani. L'objectif de l'essai consiste à savoir s'il est possible de bouturer ce type de matériel, dans la perspective d'éviter les boutures classiques très consommatrices de matériel végétal.

Deux types de feuilles sont utilisés, les feuilles d'origine apicale et les feuilles d'origine médiane. Le traitement rhizogène est effectué à base de la souche A₄. Avant d'observer les différents paramètres liés à la rhizogenèse, les feuilles traitées séjournent trois mois en serre de nébulisation.

3.1. Pourcentage de callogenèse

- Pour la variété Chemlal les pourcentages de callogenèse en fonction des traitements appliqués (Figure 27.A et Planche 6.B.C) (S₀M, S₁M, S₀A, S₁A) sont respectivement: 6%, 6%, 17% et 30%.

L'analyse de la variance (Annexe 5.1) montre un effet très hautement significatif des traitements appliqués sur le pourcentage de callogenèse, et le test de la PPDS révèle 3 groupes homogènes:

- Groupe A: comporte les feuilles d'origine médiane traitées ou non à la souche A₄ (S₀M et S₁M);
- Groupe B: comporte les feuilles d'origine apicale non traitées;
- Groupe C: comporte les feuilles d'origine apicale, traitées à la souche A₄.

- Pour la variété Ferkani le pourcentage de callogenèse varie considérablement en fonction de l'origine de la feuille et la souche A₄. En effet les feuilles apicales présentent le plus fort taux de callogenèse: 7,5% (figure 27.B).

L'analyse de la variance (Annexe 6) confirme bien ce résultat avec un effet significatif. Le test de la PPDS révèle 2 groupes homogènes:

- Groupe A: comporte les feuilles médianes traitées à la souche A₄ (S₀M et S₁M), ainsi les boutures apicales non traitées S₀A.
- Groupe B: comporte les feuilles apicales traitées à la souche A₄.

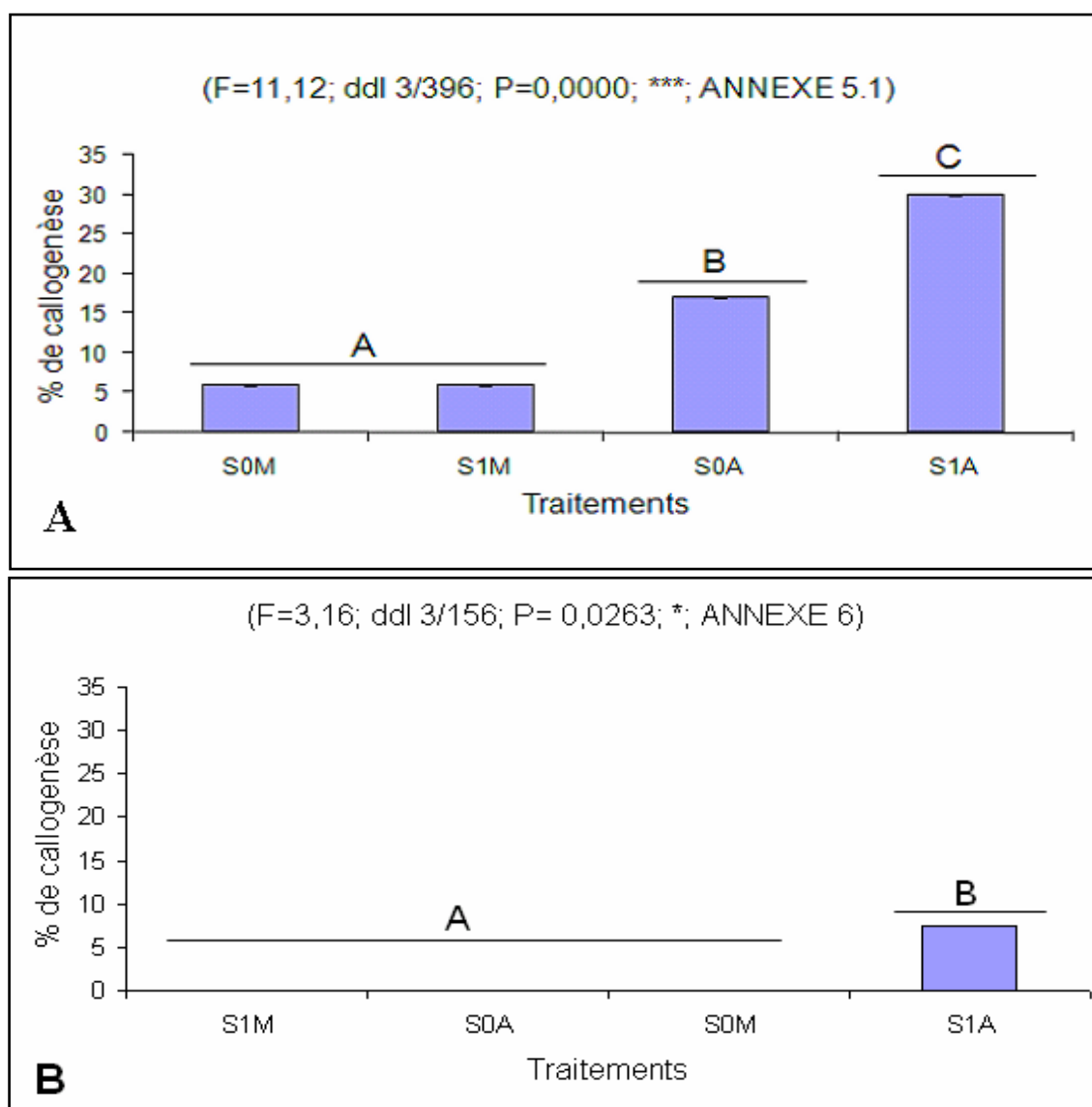


Figure 27: Variation du pourcentage de callogenèse en fonction du traitement à la souche A₄ et du type de feuille. **A:** Chemlal. **B:** Ferkani.

3.2. Pourcentage de rhizogénèse

- Pour la variété Ferkani, aucun enracinement n'a été observé. Les capacités organogénétiques sur ces feuilles semblent limitées à la formation de cal.

- Pour la variété Chemlal, cependant, les pourcentages de rhizogénèse en fonction des différents traitements (S₀A, S₀M, S₁M, S₁A) donnent respectivement de 0%, 0%, 1% et 14% (figure 28 et planche D et J).

L'analyse de la variance (Annexe 5.2) montre un effet très hautement significatif des traitements appliqués sur le pourcentage de rhizogénèse. Le test de la PPDS révèle 2 groupes homogènes:

- Groupe A: comporte les témoins ainsi que le traitement des feuilles d'origine médiane avec la souche A_4 successivement S_0A , S_0M et S_1M ;
- Groupe B: comporte les feuilles apicales traitées à la souche A_4 offrant le pourcentage de rhizogénèse le plus élevé (14%).

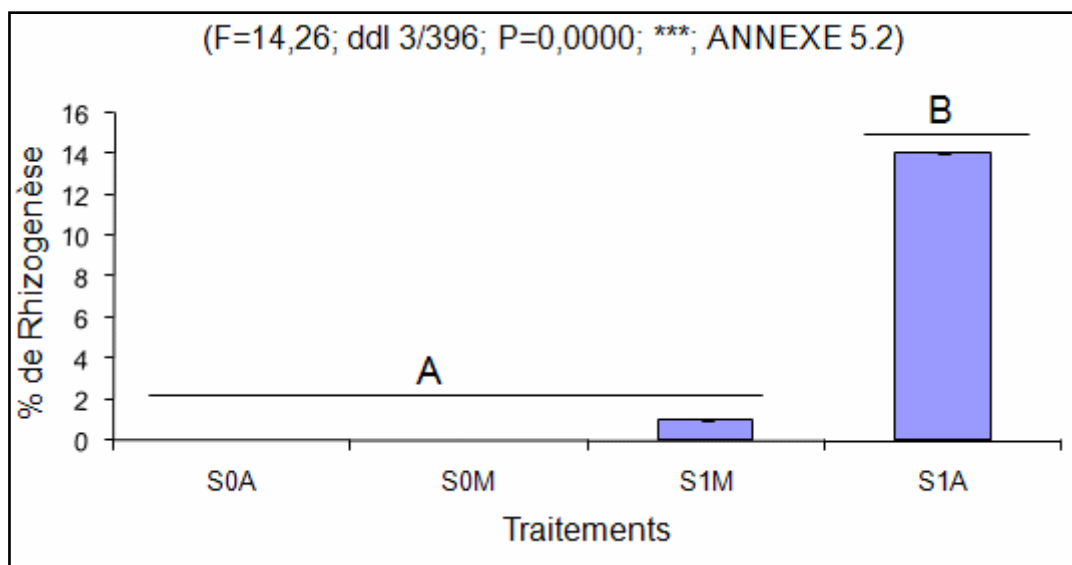


Figure (28): Variation du pourcentage d'enracinement des feuilles de la variété Chemlal en fonction du traitement à la souche A_4 et du type de feuille.

3.3. Nombre moyen de racines par feuille

Le nombre moyen de racines formées par feuille enracinée en fonction des différents traitements, S_0A , S_0M , S_1A et S_1M sont respectivement 0 et 0 et 1 et 4 (figure 29).

L'analyse de la variance (Annexe 5.3) montre un effet très hautement significatif des traitements appliqués sur le nombre moyen de racines formées par feuille. Le test de la PPDS révèle 2 groupes homogènes:

- Groupe A: comporte les témoins ainsi que le traitement des feuilles médianes traitées à la souche A_4 successivement : S_0M , S_0A et S_1M ;
- Groupe B: comporte les feuilles apicales traitées à la souche A_4 .

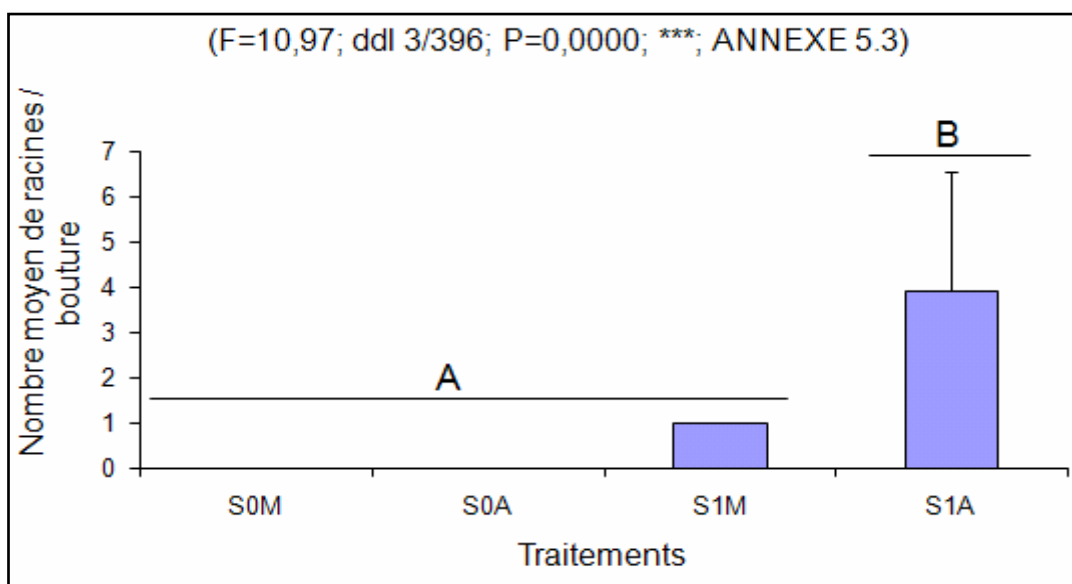


Figure (29): Variation du nombre moyen de racines par feuille de la variété Chemlal enracinée en fonction du traitement à la souche A₄ et du type de feuille.

3.4. Longueur moyenne des racines principales

La longueur moyenne des racines formées en fonction des différents traitements (S₀A, S₀M, S₁M, S₁A) sont de: 0cm, 0cm, 3,2cm et 3,79cm (figure 30 et Planche 6.F.G.L).

L'analyse de la variance (Annexe 5.4) montre un effet très hautement significatif des traitements appliqués sur la longueur moyenne des racines formées. Le test de la PPDS révèle 2 groupes homogènes:

- Groupe A: comporte les témoins ainsi que le traitement des feuilles d'origine médiane avec la souche A₄ successivement : S₀A, S₀M et S₁M;
- Groupe B: comporte les feuilles apicales traitées à la souche A₄ (S₁A).

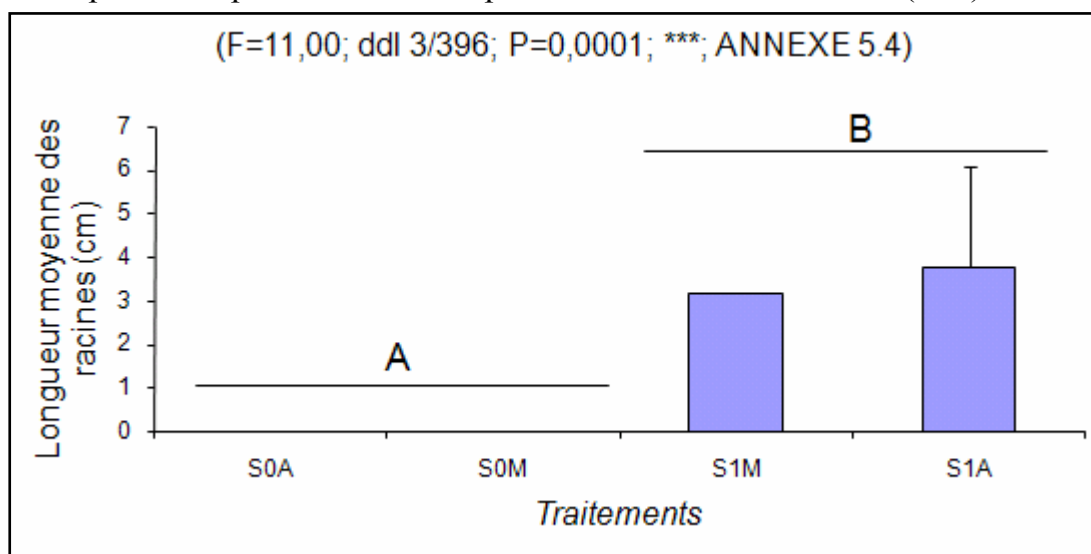


Figure (30): Variation de la longueur moyenne de racines des feuilles de la variété Chemlal racinées en fonction du traitement à la souche A₄ et du type de feuille.

3.5. Pourcentage de ramifications des racines / feuille

Les pourcentages de ramifications au niveau des racines formées en fonction des différents traitements (S_0M , S_0A , S_1M , S_1A) sont respectivement : 0%, 0%, 1% et 39% (figure 31 et planche 6.J.K.L).

L'analyse de la variance (Annexe 5.5) montre un effet très hautement significatif des traitements appliqués sur le pourcentage de ramifications au niveau des racines formées.

Le test de la PPDS révèle 2 groupes homogènes:

- Groupe A: comporte les témoins ainsi que le traitement des feuilles d'origine Médiane avec la souche A4 successivement: S_0M , S_0A et S_1M ;
- Groupe B: comporte les feuilles apicales traitées à la souche A_4 (S_1A).

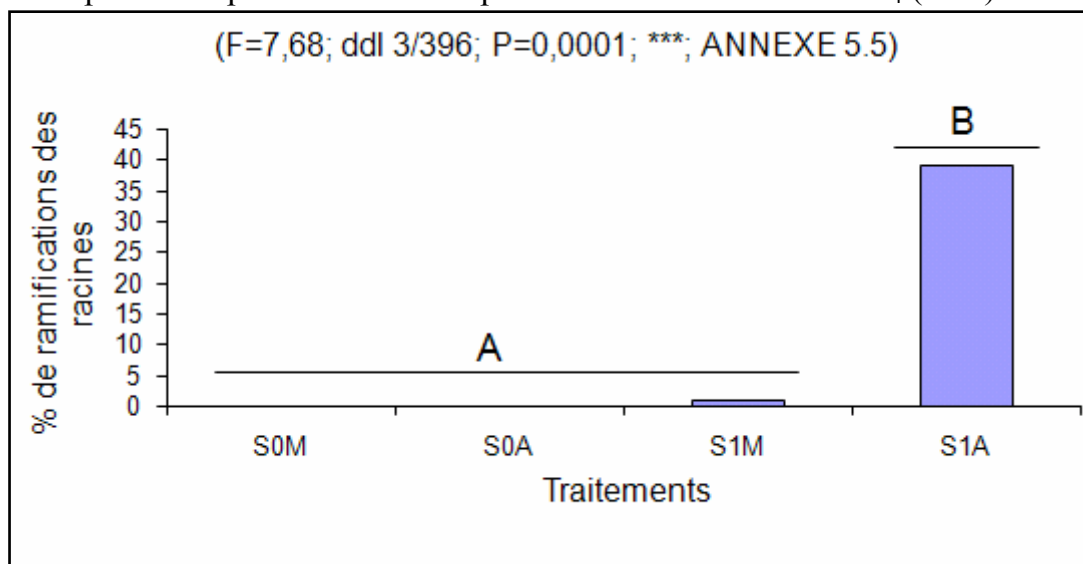


Figure (31): Variation du pourcentage de ramification des racines en fonction du traitement à la souche A_4 et du type de feuille.

3.6. Conclusion

Les capacités organogénétiques des feuilles traitées à la souche A_4 varient d'une variété à l'autre. Les feuilles de la variété Ferkani, mis à part une réaction de type callogène, n'ont montré aucun enracinement. Cependant les feuilles de la variété Chemlal, en plus d'une réaction de callogenèse, elles présentent un enracinement dont le pourcentage atteint dans le meilleur cas 14% (feuilles apicales traitées à la souches A_4), et un développement important du chevelu racinaire.



Planche 6 : Illustration des différentes réactions des feuilles herbacées.

A : feuille herbacée avec le bourgeon axillaire avant le traitement.

B et C : feuilles herbacées avec le bourgeon axillaire ayant formé des cals.

D et E : feuilles d'origine médiane racinées.

F, G, H, I, J, K et L : feuilles d'origine apicale racinées présentant des différentes longueurs et ramifications (G=3,4).

4. Utilisation de boutures à un seul nœud

La variété utilisée pour cet essai est la Chemlal. Les autres variétés n'ont pas été utilisées, faute de matériel végétal. Etant donné que l'essai bouturage de feuilles n'était pas concluant, nous nous sommes intéressés à l'utilisation de bouture à un seul nœud toujours dans l'esprit d'économiser le matériel végétal. Dans cet essai les boutures prélevées à 3 niveaux (apicale, médiane et basale) sont utilisées.

Après un séjour de deux mois dans la serre de nébulisation, les boutures sont déterrées et les paramètres liés à l'enracinement sont mesurés.

4.1. Pourcentage de callogenèse

Le pourcentage de callogenèse en fonction des différents traitements (Figure 32 et planche 7.B) concernant les origines apicales, médianes et basales traitées ou non à la souche A_4 de l'*Agrobacterium rhizogenes* (S_0B , S_0A , S_0M , S_1B , S_1A et S_1M) sont respectivement: 0%, 1,42%, 1,42%, 14,28%, 21,42% et 44,28%.

L'analyse de la variance (Annexe 7.1) montre un effet très hautement significatif des traitements appliqués sur le pourcentage de callogenèse, et le test de la PPDS révèle 3 groupes homogènes:

- Groupe A: comporte tous les témoins: S_0B , S_0A et S_0M ;
- Groupe B: comporte les boutures d'origine apicale et basale traitées à la souche A_4 : S_1B et S_1A .
- Groupe C: représenté par les boutures d'origine médiane traitées à la souche A_4 .

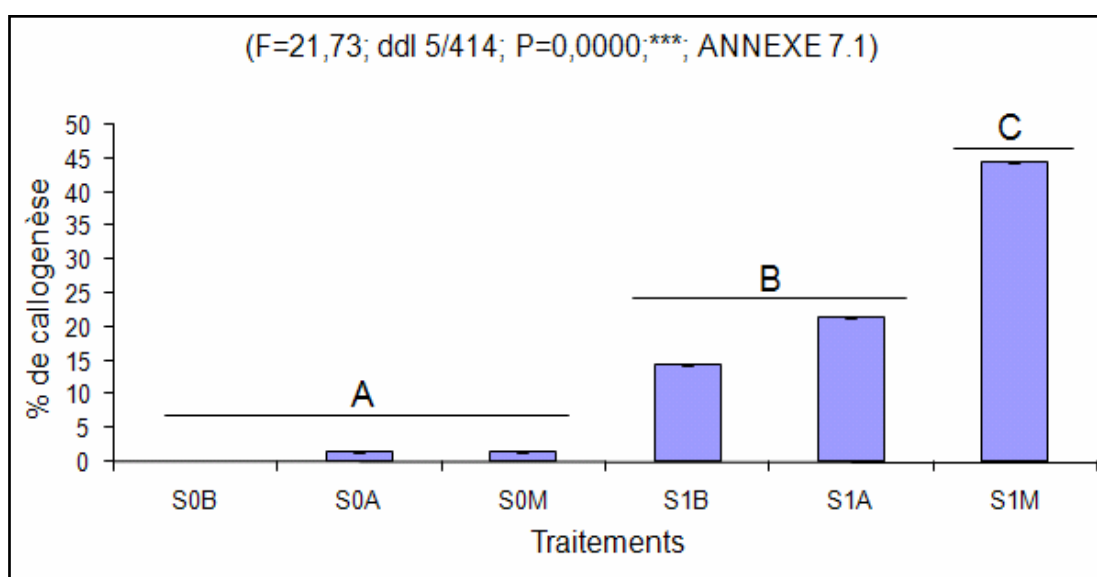


Figure 32: Variation du pourcentage de callogenèse des boutures à un nœud en fonction du traitement à la souche A_4 et du type de bouture.

4.2. Pourcentage de rhizogénèse

Le pourcentage de rhizogénèse en fonction des différents traitements (S_0A , S_0B , S_0M , S_1A , S_1B et S_1M) est respectivement de 0%, 0%, 0%, 0%, 0% et 5,71% (Figure 33 et planche 7.C.D).

L'analyse de la variance (Annexe 7.2) montre un effet hautement significatif des traitements appliqués sur les racines formées. Le test de la PPDS révèle 2 groupes homogènes:

- Groupe A: comporte tous les témoins ainsi que les boutures d'origine apicale et basale traitées avec la souche A_4 de l'*Agrobacterium rhizogenes*: S_1B , S_0B , S_0A , S_1A , S_0M .
- Groupe B: comporte les boutures d'origine médiane, traitées avec la souche A_4 .

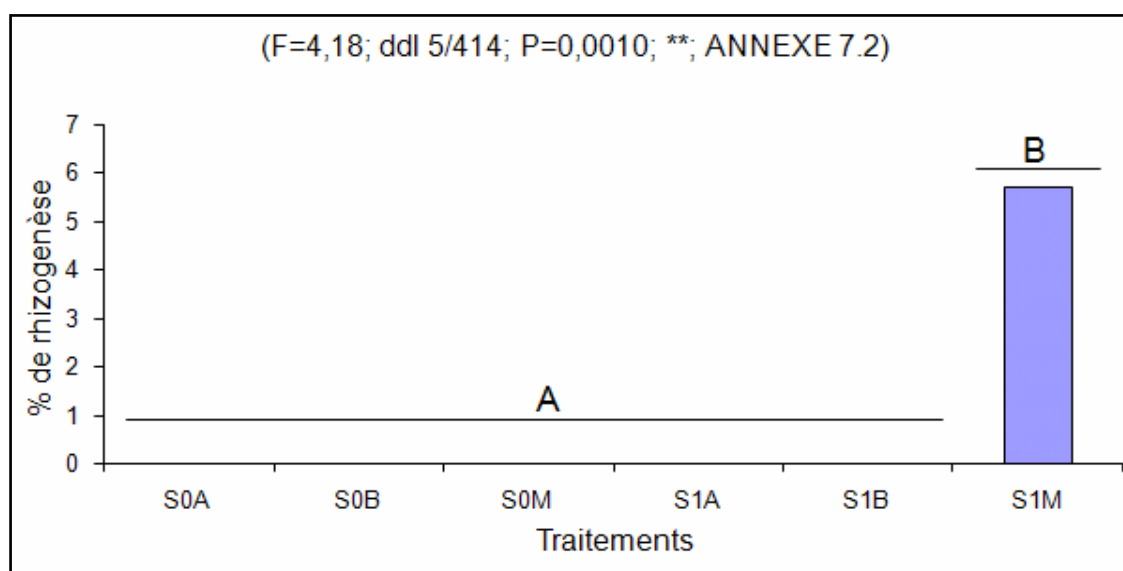


Figure 33: Variation du pourcentage d'enracinement des boutures à un seul nœud en fonction du traitement à la souche A_4 et du type de bouture.

4.3. Autres paramètres

Seules les boutures médianes traitées à la souche A_4 présentent un certain enracinement. Ainsi, pour les autres paramètres seul ce type de matériel est pris en considération. Le tableau n°6 et la planche 7 illustrent les résultats obtenus.

Tableau 6: Résultats statistiques des boutures à un seul noeud

Statistiques Paramètres	Moyennes	Analyse de la variance	Groupes homogènes
Nombre moyen de racines/bouture	S0A= 0. S0M= 0. S0B= 0. S1A= 0. S1B= 0. S1M= 1 racine.	(F=4,18; ddl 5/414; P=0,0010; **, ANNEXE 7.3)	2 groupes homogènes
longueur moyenne des racines principales (cm)	S0A= 0. S0M= 0. S0B= 0. S1A= 0. S1B= 0. S1M= 2, 75 ± 2, 63.	(F=2,42; ddl 5/414; P=0,0352; *, ANNEXE 7.4)	2 groupes homogènes
Pourcentage de ramifications des racines/bouture	S0A= 0. S0M= 0. S0B= 0. S1A= 0. S1B= 0. S1M=28, 57%.	(F=2,03; ddl 5/414; P=0,0735; *, ANNEXE 7.5)	2 groupes homogènes

4.4. Conclusion

L'utilisation des boutures à un nœud a montré des limites au niveau morphogénétique. En effet parmi les 3 types de boutures (apicale, médiane et basale), seules les boutures médianes traitées à la souche A₄ ont montré une certaine activité rhizogène (5,7%). Ce résultat bien que faible et ne répondant pas à notre objectif de départ (économiser le matériel végétal), il confirme néanmoins l'origine de boutures les plus réactives (médiane).

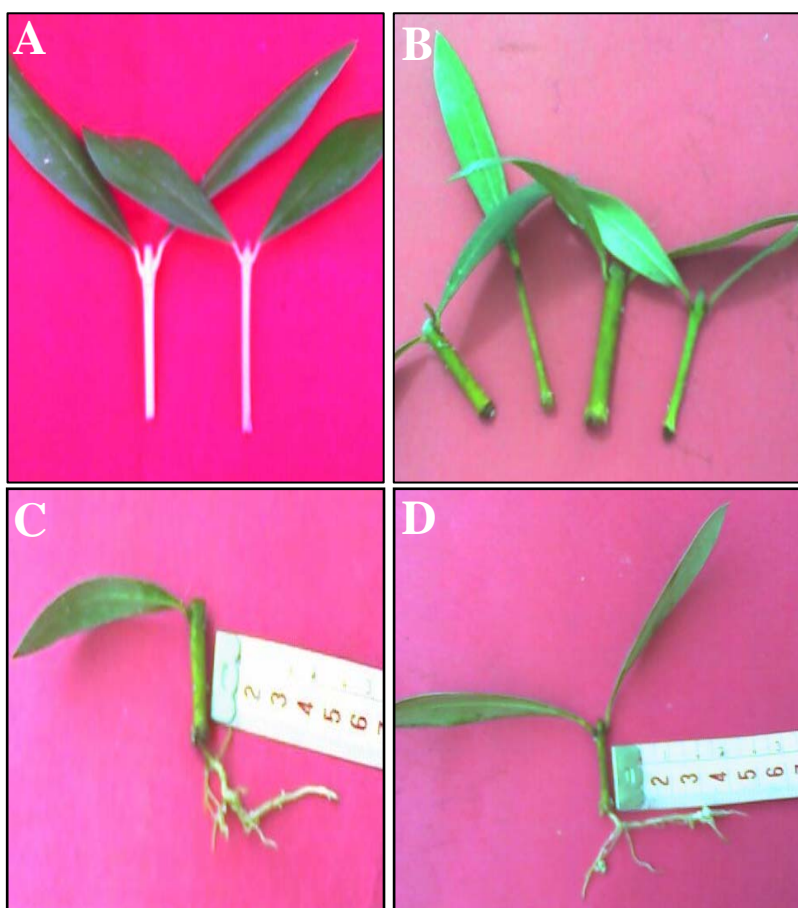


Planche 7: Illustration des différentes réactions des boutures à un nœud soumises à un traitement par la souche A₄.

A: bouture à un nœud avant le traitement à la souche A₄.

B: boutures apicales traitées (après 2 mois), faible callogenèse.

C et D: boutures médianes traitées à la souche A₄, enracinement obtenu après 2 mois en serre de nébulisation ($G_C=3; G_D=2,64$).

II. Phase d'acclimatation

Le 1^{er} lot de boutures de la variété Chemlal transformées le mois de juin 2007 a poursuivi un développement normalement au niveau de la serre d'acclimatation dans des conditions contrôlées (Planche 15). Par contre les feuilles ont subi des chocs lors du transfert et n'ont pas pu survécu.

Après un séjour de 8 mois en serre d'acclimatation, les boutures à plusieurs nœuds racinées issues du premier essai ont montré un développement plus ou moins normal, en fonction des traitements appliquées. En outre, une partie des boutures ayant survécu à l'acclimatation ont été soumises à un antibiotique (Céfotaxime) dans la perspective d'éliminer toute trace de la bactérie.

Un ensemble de paramètres (partie aérienne et racinaire) a été pris en considération pour évaluer le développement des boutures racinées en fonction du traitement de départ.

La planche 8, illustre les différents types de boutures en phase d'acclimatation.



Planche 8: Aspect des boutures racinées en acclimatation.

A: feuilles racinées en début d'acclimatation.

B: boutures à plusieurs nœuds racinées au début d'acclimatation.

C: boutures à plusieurs nœuds après 8 mois d'acclimatation.

1. Partie aérienne

1.1. Longueur moyenne des pousses

La longueur moyenne des pousses en fonction des différents traitements (S_0A , S_0M , S_1A et S_1M) sont respectivement: 1,00cm, 1,66cm, 4,58cm et 10,15cm (figure 34 et planche 9). Après combien de temps la souche A_4 s'avère efficace sur le développement des pousses des boutures traitées notamment les boutures médianes.

L'analyse de la variance (Annexe 8.1) confirme ce résultat en montrant un effet très hautement significatif des traitements appliqués sur la longueur moyenne de pousse. Le test de la PPDS révèle 3 groupes homogènes. Le meilleur résultat est obtenu avec les boutures médianes traitées avec la souche A_4 .

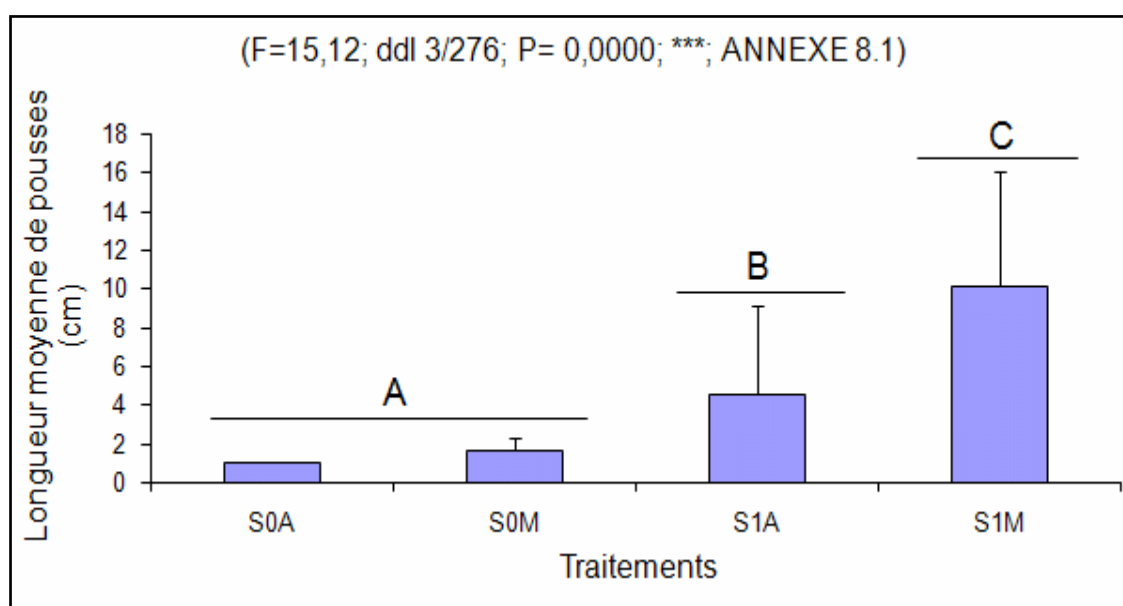


Figure 34: Variation de la longueur moyenne des pousses développées sur boutures racinées en fonction du traitement à la souche A_4 et du type de bouture.

1.2. Nombre moyen de feuilles par pousse

Le nombre moyen de feuilles par pousse en fonction des différents traitements S_0A , S_0M , S_1A et S_1M donne respectivement les valeurs suivantes: 1,66 et 2,33 et 4,58 et 12,20 (figure 35, planche 9).

L'analyse de la variance (Annexe 8.2) montre un effet très hautement significatif des traitements appliqués sur le nombre moyen de feuilles par pousse et le test de la PPDS révèle 3 groupes homogènes.

Le meilleur résultat est obtenu avec les boutures médianes traitées avec la souche A_4 .

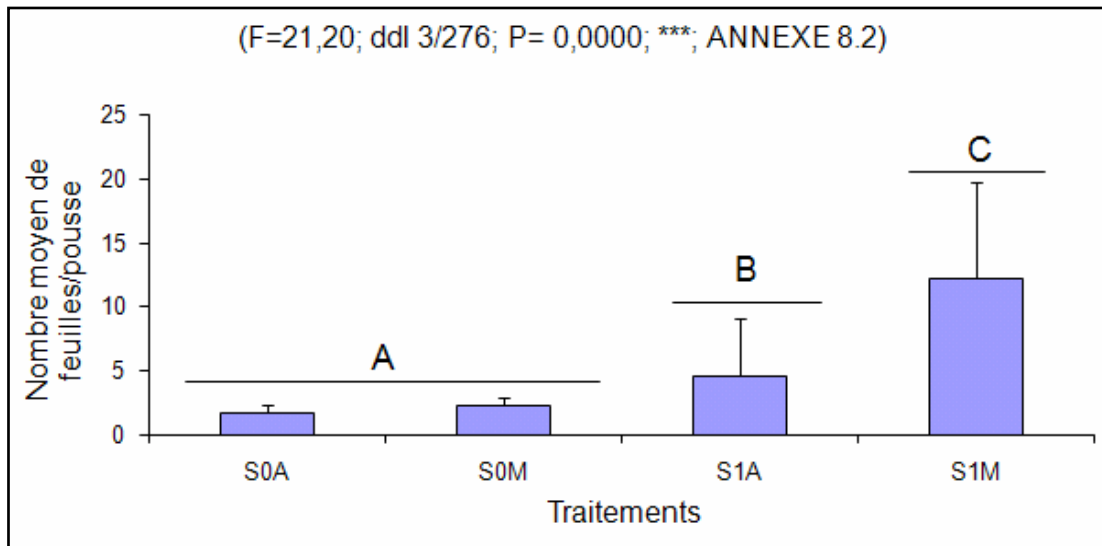


Figure 35: Variation du nombre moyen de feuilles par pousses issues de boutures racinées en fonction du traitement à la souche A_4 et du type de bouture.

1.3. Diamètre moyen de la pousse

Le diamètre moyen des pousses en fonction des différents traitements (S_0A , S_0M , S_1A et S_1M) montre respectivement les valeurs suivantes: 0,08cm et 0,10cm et 0,16cm et 0,26cm (figure 36 et planche 9).

L'analyse de la variance (Annexe 8.3) montre un effet très hautement significatif des traitements appliqués sur le diamètre de pousses, et test de la PPDS révèle 3 groupes homogènes:

Le meilleur résultat est obtenu avec les boutures médianes traitées avec la souche A_4 .

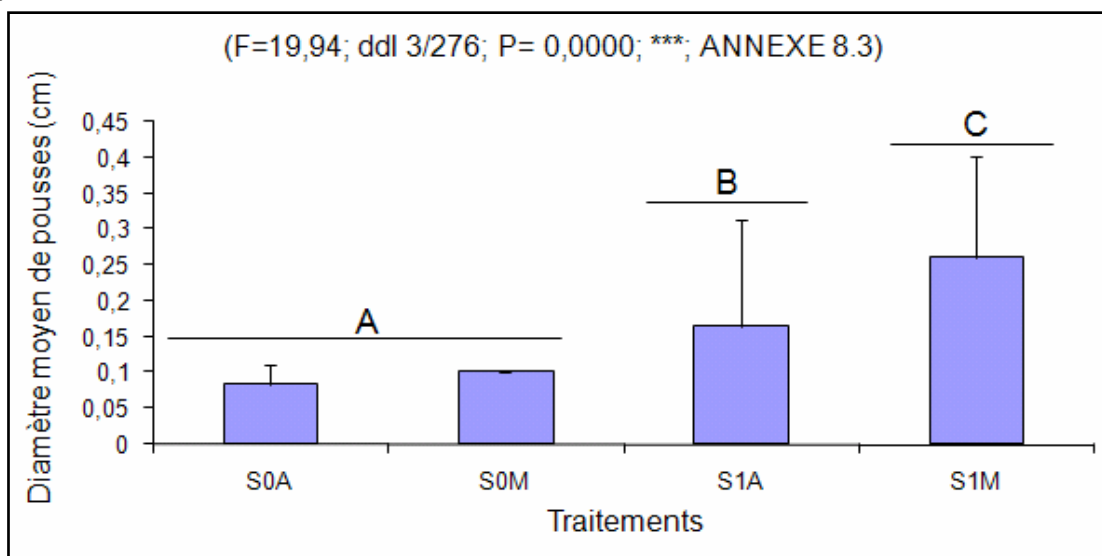


Figure 36: Variation du diamètre moyen de pousses issues de boutures racinées en fonction du traitement à la souche A_4 et du type de bouture.

1.4. Poids frais de la partie aérienne

Le poids frais de la partie aérienne en fonction des différents traitements (S_0A , S_0M , S_1A , S_1M) est respectivement de: 0,71g et 0,78g et 2,37g et 4,42g (figure 37).

L'analyse de la variance (Annexe 8.4) montre un effet très hautement significatif des traitements appliqués sur le poids frais de la partie aérienne. Le test de la PPDS révèle 3 groupes homogènes.

Le meilleur résultat est obtenu avec les boutures médianes traitées avec la souche A_4 .

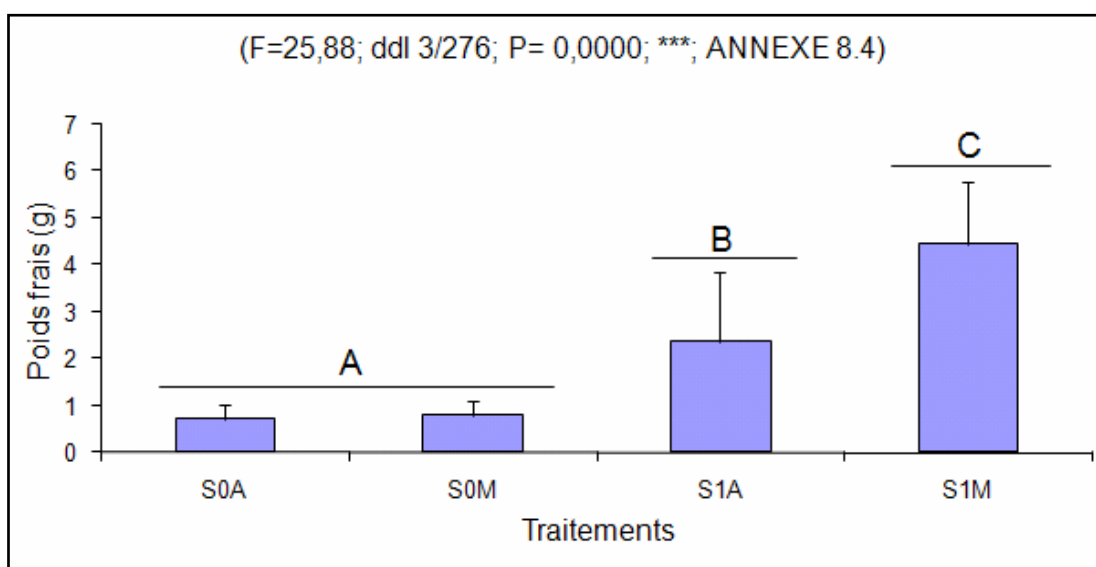


Figure 37: Variation du poids frais de la partie aérienne en fonction du traitement à la souche A_4 et du type de bouture.

1.5. Poids sec de la partie aérienne

Le séchage des parties aériennes dans l'étuve à 105°C jusqu'à la stabilisation du poids permet de mesurer le poids sec en fonction des différents traitements appliqués (S_0A , S_0M , S_1A et S_1M). Les résultats obtenus montrent respectivement les valeurs suivantes: 0,15g et 0,33g et 1,00g et 1,66g (figure 38).

L'analyse de la variance (Annexe 8.5) montre un effet très hautement significatif des traitements appliqués sur le poids sec de la partie aérienne. Le test de la PPDS révèle 3 groupes homogènes:

Le meilleur résultat est obtenu avec les boutures médianes traitées avec la souche A_4 .

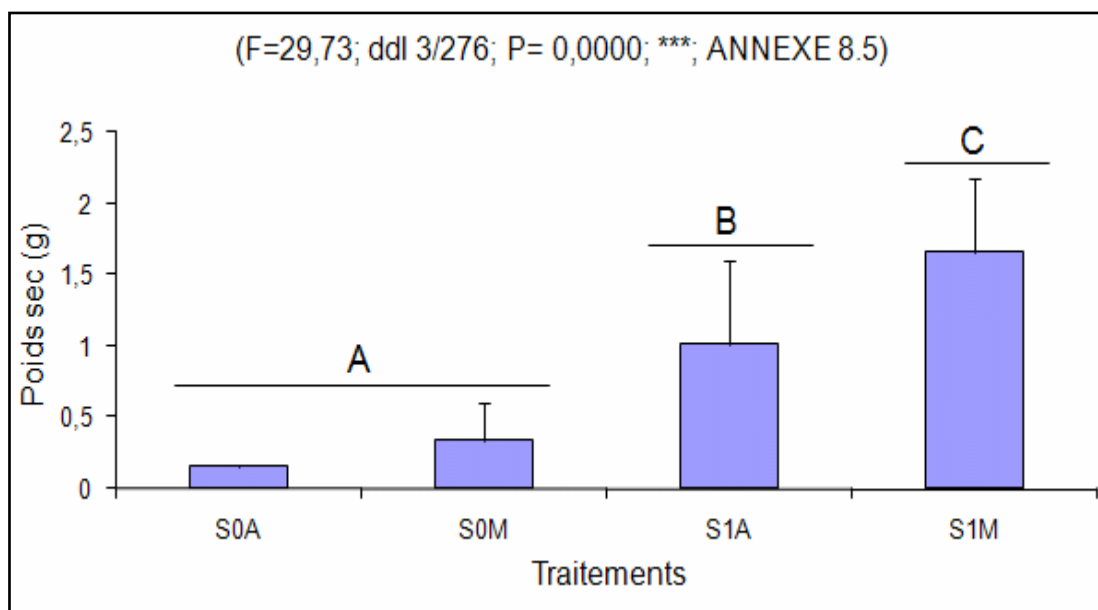


Figure 38: Variation du poids sec de la partie aérienne issu des boutures racinées en fonction du traitement à la souche A_4 et du type de bouture.

1.6. Conclusion

Le développement des boutures racinées en acclimatation a montré sur la supériorité des boutures médianes traités à la souche A_4 par rapport aux autres. Ce résultat confirme donc, ceux obtenus lors de la première partie du travail.

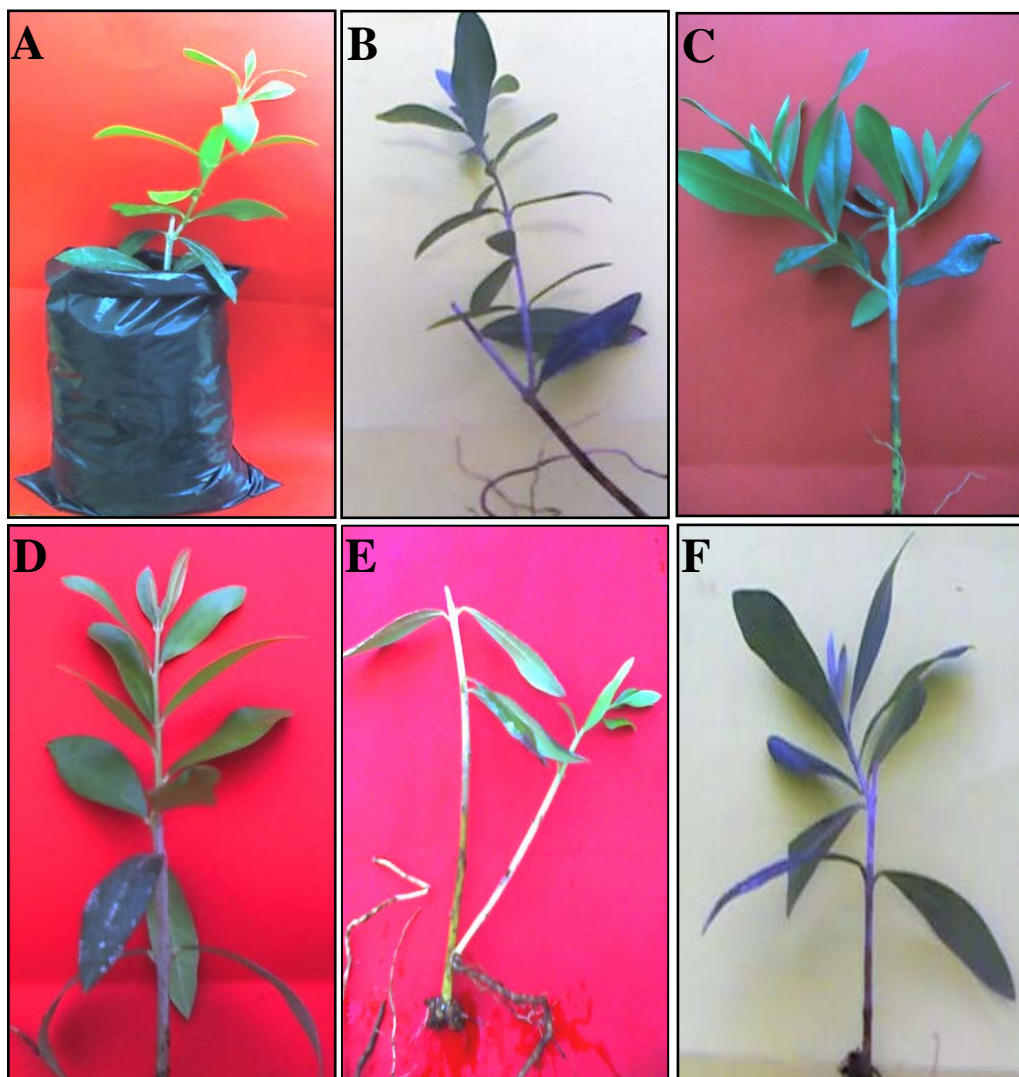


Planche 9: Pousses obtenues sur boutures racinées après traitement par la souche A₄.
A, B, C, D et E: pousses issues de boutures d'origine médiane ($G_A=4,16$, $G_B=3$, $G_C=3,37$, $G_D=3$, $G_E=2,73$).
F: pousses issues de boutures d'origine apicale ($G=3$).

2. Partie racinaire

2.1. Longueur moyenne de la racine principale

La longueur moyenne de la racine principale en fonction des différents traitements (S_0A , S_0M , S_1A et S_1M) montre respectivement les valeurs suivantes: 1,42cm et 2,50cm et 14,25cm et 19,86cm (figure 39, planche 10).

L'analyse de la variance (Annexe 9.1) montre un effet très hautement significatif des traitements appliqués sur la longueur moyenne de la racine principale et le test de la PPDS révèle 3 groupes homogènes.

Le meilleur résultat est obtenu avec les boutures médianes traitées avec la souche A_4 .

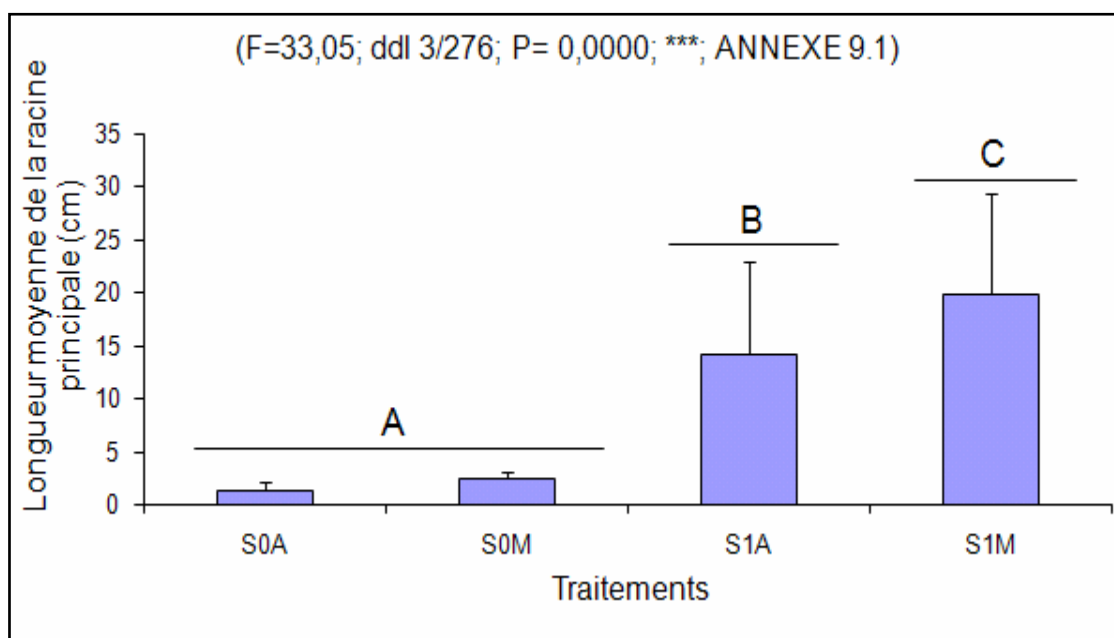


Figure 39: Variation de la longueur moyenne des racines principales en fonction du traitement à la souche A_4 et du type de bouture.

2.2. Nombre moyen de racines par bouture racinée

Le nombre moyen de racines par plant en fonction des différents traitements (S_0A , S_0M , S_1A et S_1M) est respectivement de: 1, 3, 7 et 12 (figure 40 et planche 10).

L'analyse de la variance (Annexe 9.2) montre un effet très hautement significatif des traitements appliqués sur le nombre de racines par plant. Le test de la PPDS révèle 3 groupes homogènes.

Le meilleur résultat est obtenu avec les boutures médianes traitées avec la souche A_4 .

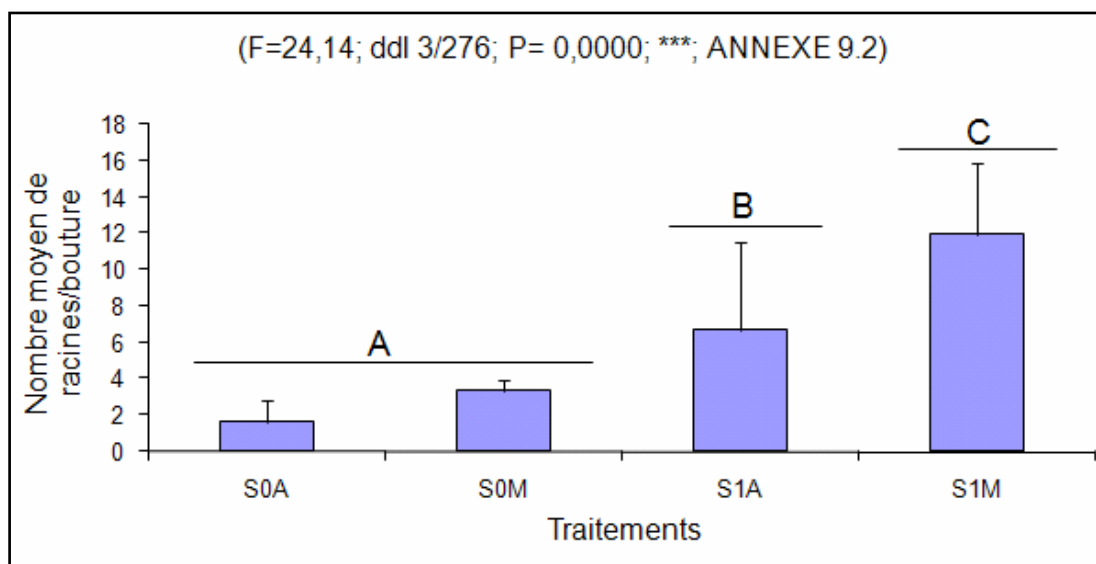


Figure 40: Variation du nombre moyen de racines par bouture racinée en fonction du traitement à la souche A_4 et du type de bouture.

2.3. Diamètre moyen de la racine principale

Le diamètre moyen de la racine principale en fonction des différents traitements (S_{0A} , S_{0M} , S_{1A} et S_{1M}) est respectivement de: 0,11cm et 0,13cm et 0,20cm et 0,24cm (figure 41).

L'analyse de la variance (Annexe 9.3) montre un effet très hautement significatif des traitements appliqués sur le diamètre de la racine principale. Le test de la PPDS révèle 3 groupes homogènes.

Le meilleur résultat est obtenu avec les boutures médianes traitées avec la souche A_4 .

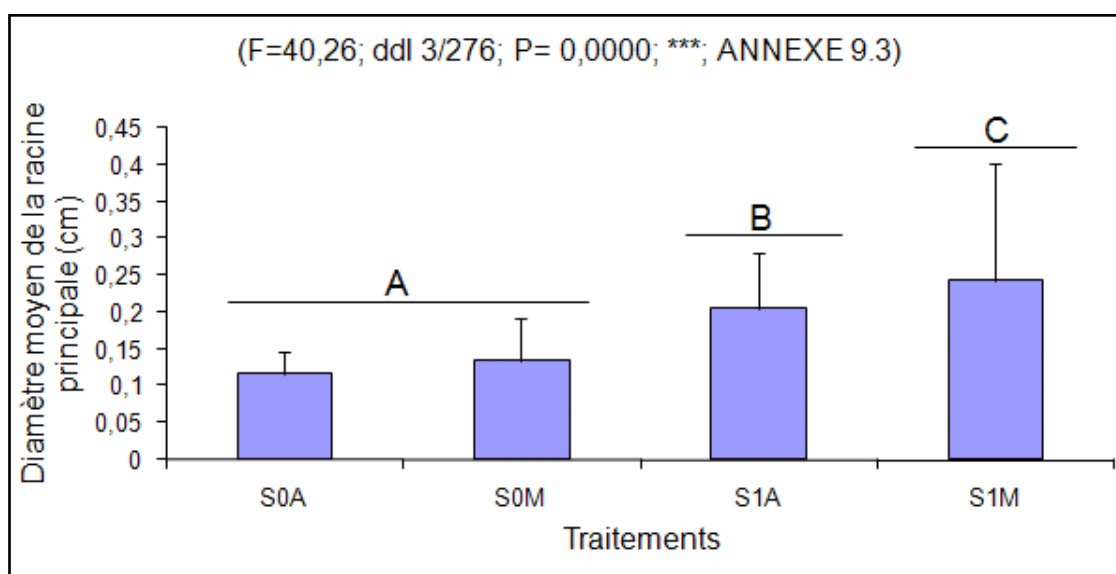


Figure 41: Variation du diamètre moyen des racines principales en fonction du traitement à la souche A_4 et du type de bouture.

2.4. Poids frais de la partie racinaire

Le poids frais de la partie racinaire en fonction des différents traitements (S_0A , S_0M , S_1A et S_1M) montre respectivement les valeurs suivantes: 0,93g et 1,00g et 2,64g et 3,43g (figure 42).

L'analyse de la variance (Annexe 9.4) montre un effet très hautement significatif des traitements appliqués sur le poids frais de la partie racinaire. Le test de la PPDS révèle 3 groupes homogènes.

Le meilleur résultat est obtenu avec les boutures médianes traitées avec la souche A_4 .

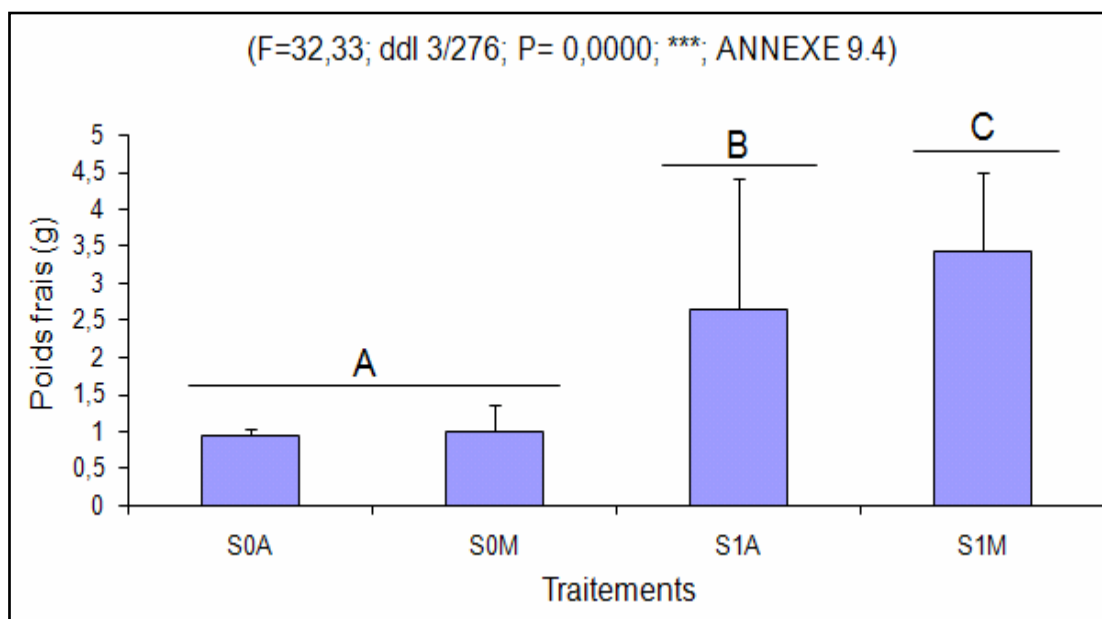


Figure 42: Variation du poids frais de la partie racinaire en fonction du traitement à la souche A_4 et du type de bouture.

2.5. Poids sec de la partie racinaire

Le poids sec racinaire varie en fonction des traitements appliqués (S_0A , S_0M , S_1A et S_1M). Il montre respectivement les valeurs suivantes: 0,24g et 0,30g et 0,55g et 0,78g (figure 43).

L'analyse de la variance (Annexe 9.5) montre un effet très hautement significatif des traitements appliqués sur le poids sec de la partie racinaire et le test de la PPDS révèle 3 groupes homogènes.

Le meilleur résultat est obtenu avec les boutures médianes traitées avec la souche A_4 .

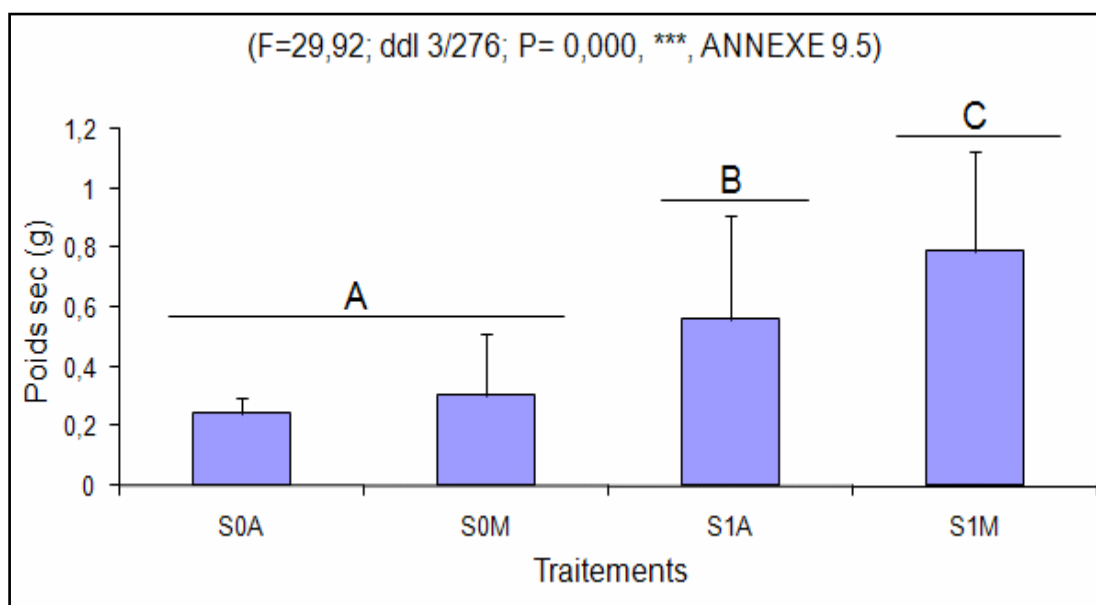


Figure 43: Variation du poids sec de la partie racinaire en fonction du traitement à la souche A₄ et du type de bouture.

2.6. Conclusion

Le développement des boutures racinées en acclimatation a montré la supériorité des boutures médianes traités à la souche A₄ par rapport aux autres. Ce résultat confirme donc, ceux obtenus lors de la première partie du travail.

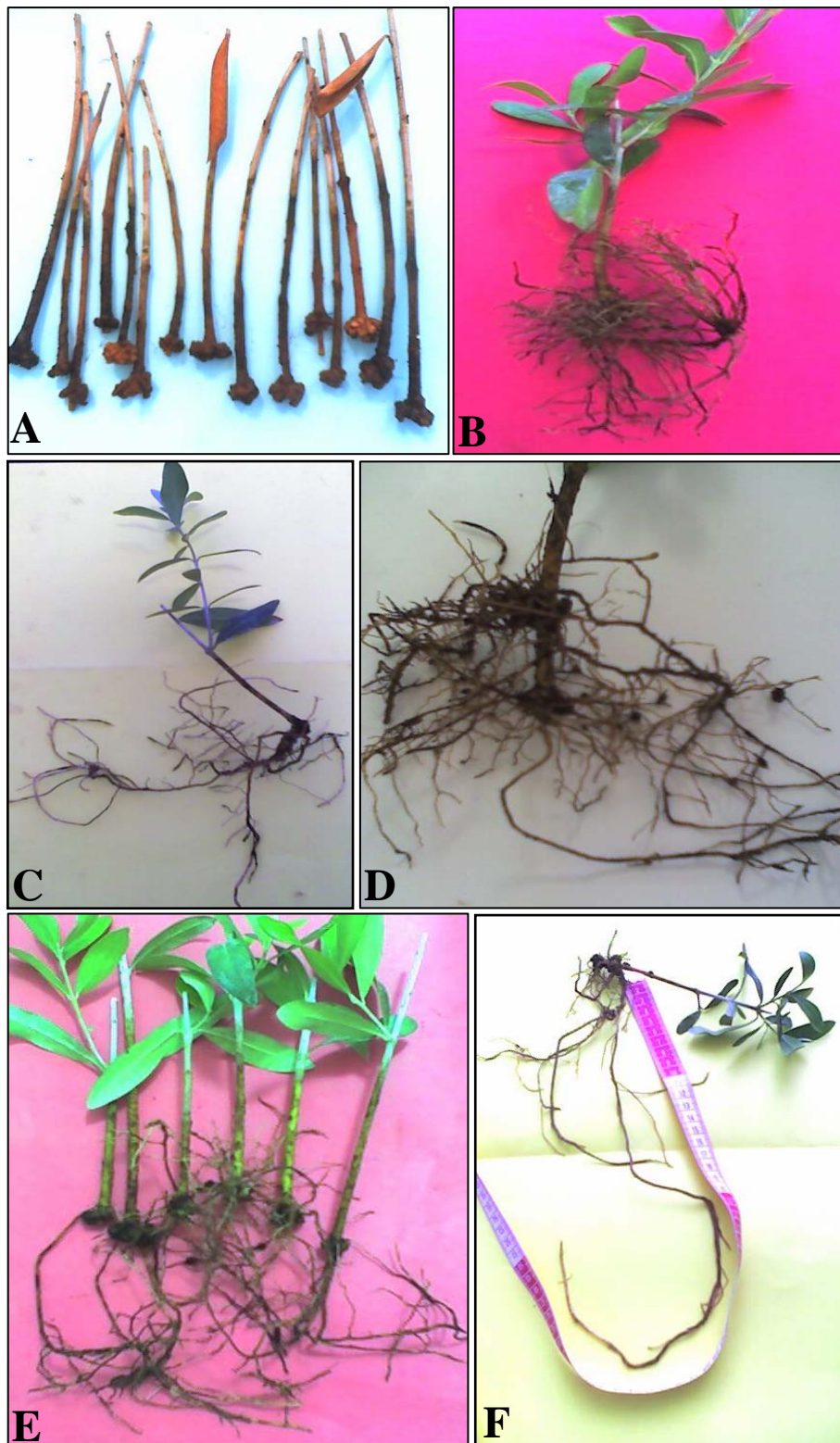


Planche 10: Aspect des boutures racinées en phase d'acclimatation.

A: bouture à plusieurs nœuds non traitées à la souche A₄.

B, C, D, E, F: boutures à plusieurs nœuds traitées à la souche A₄.

3. Effet de la Céfotaxime sur l'évolution des boutures racinées en acclimatation

Les boutures de la variété Chemlal enracinées ont été scindés en deux lots: lot témoin et lot dont le système racinaire est trempé pendant 48h dans une solution de céfotaxime (antibiotique à 5mg/l). Les résultats des deux lots ont été statistiquement en se basant sur les paramètres suivants (tableau 7):

Tableau 7: Paramètres mesurés pour l'effet de la Céfotaxime sur les boutures racinées

Partie aérienne	Partie racinaire
<ul style="list-style-type: none"> - Longueur moyenne de pousses; - Nombre moyen de feuilles par pousse; - Diamètre moyen de pousses; - Poids frais de la partie aérienne; - Poids sec de la partie aérienne. 	<ul style="list-style-type: none"> - Longueur moyenne de la racine principale; - Nombre moyen de racines par bouture racinée; - Diamètre moyen de la racine principale; - Poids frais de la partie racinaire; - Poids sec de la partie racinaire.

L'analyse des résultats obtenus ne montre aucun effet défavorable de l'élimination de la bactérie par la Céfotaxime. Bien au contraire, il semblerait que cette élimination présente un certain effet positif. Cependant, l'analyse de la variance ne montre pas d'effet significatif de l'utilisation de Céfotaxime, et ce, pour l'ensemble des paramètres mesurés (tableau 8).

Le développement des boutures racinées en acclimatation et en présence d'une dose élevée (5mg/l) de l'antibiotique (Céfotaxime), de plus, les résultats de l'analyse statistique confirment l'élimination des bactéries qui restent collées sur les boutures racinées, ainsi que la bonne expression des gènes exogènes du plasmide Ri, intégrés dans les tissus des variétés étudiées.

RÉSULTATS ET INTERPRÉTATIONS

Tableau 8: Résultats statistiques pour l'effet de l'élimination de la bactérie par la Céfotaxime.

Statistique Paramètres	Témoin (eau distillée)	Antibiotique (Céfotaxime)	Analyse de la variance
Longueur moyenne de pousse	3,42 ± 1,06	5,53 ± 1,06	(F=1,95; ddl 1/ 34; P=0,1712; NS; ANNEXE 10.1)
Nombre moyen de Feuille/pousse	7,88 ± 1,79	8,55 ± 1,79	(F=0,07; ddl 1/ 34; P=0,7947; NS; ANNEXE 10.2)
Diamètre moyen de pousse	0,20 ± 0,03	0,18 ± 0,20	(F=0,11; ddl 1/ 34; P=0,7445; NS; ANNEXE 10.3)
Poids frais partie aérienne	2,18 ± 0,38	2,44 ± 0,38	(F=0,24; ddl 1/ 34; P=0,6298; NS; ANNEXE 10.4)
Poids sec partie racinaire	0,86 ± 0,16	1,03 ± 0,16	(F=0,54; ddl 1/ 34; P=0,4664; NS; ANNEXE 10.5)
Longueur moyenne de la racine principale	12,96 ± 2,28	14,04 ± 2,28	(F=0,11; ddl 1/ 34; P=0,7399; NS; ANNEXE 10.6)
Nombre moyen de racines par bouture	5,27 ± 1,09	7,33 ± 1,09	(F=1,76; ddl 1/ 34; P=0,1938; NS; ANNEXE 10.7)
Diamètre moyen de la racine principale	0,22 ± 0,03	0,23 ± 0,03	(F=0,02; ddl 1/ 34; P=0,8984; NS; ANNEXE 10.8)
Poids frais de la partie racinaire	2,77 ± 0,45	2,75 ± 0,45	(F=0,00; ddl 1/ 34; P=0,9767; NS; ANNEXE 10.9)
Poids sec de la partie racinaire	0,51 ± 0,09	0,56 ± 0,09	(F=0,17; ddl 1/ 34; P=0,6808; NS; ANNEXE 10.10)

Discussions

Le présent travail a porté sur l'induction de l'enracinement par voie biotechnologique sur trois variétés Algériennes d'olivier (Chemlal de Kabylie, Ferkani de la région de Tébessa et Boukaila du Constantinois). Ces variétés sont reconnues récalcitrantes pour l'enracinement.

Des études menées par Mankessi (2005) ont montré que l'enracinement adventif pour les espèces ligneuses est influencé par l'âge des pied-mères et que le pourcentage de l'enracinement décroît avec l'âge du matériel végétal utilisé, d'où l'intérêt de faire appel au matériel herbacé juvénile. Le même auteur indique aussi que la multiplication des espèces ligneuses est conditionnée par la réponse du végétal aux facteurs (aussi bien endogènes qu'exogènes) contrôlant l'enracinement adventif. En effet, les boutures utilisées dans ce travail répondent à cette exigence. Elles sont herbacées ou semi ligneuses, prélevées sur du matériel juvénile conduit en serre d'élevage.

A la question posée au début du présent travail de recherche et qui consistait à savoir si l'induction de l'enracinement par voie transgénique est plus efficace ou non que les traitements hormonaux chez les trois variétés d'olivier en tant qu'espèce fruitière ligneuse d'un grand intérêt économique mais récalcitrante au bouturage ? Les premiers résultats permettent largement de mettre en évidence d'une part l'efficacité des gènes du plasmide Ri dans l'enracinement de l'olivier et d'autre part l'importance du génie génétique pour la production de plants transgéniques répondant aux besoins en plants sans cesse croissants (PNDRA, 2006).

1. Auxines et enracinement de l'olivier

D'après Loussert (1981) l'effet de la concentration en AIB sur l'enracinement de l'olivier a été mis en évidence, mais le gradient de réponse positive des capacités à l'enracinement de cette espèce en fonction de la concentration hormonale appliquée à des doses allant de 2500 et 5000 ppm d'AIB, et le pourcentage d'enracinement reste très faible (19%) lors des différents essais pour la variété chemlal (Caballero, 1981). Cependant, d'après Montarone (1997) des concentrations en AIB moins élevées de l'ordre de 500, 1000 ou 2000 ppm peuvent améliorer le pourcentage d'enracinement des Protéacées.

Falasca et *al.* (2000) ont pu prouver qu'aucune auxine n'est efficace pour induire la formation de racines chez les espèces ligneuses récalcitrantes. Toutefois, l'utilisation d'*Agrobacterium rhizogenes* pourrait constituer une stratégie alternative ou complémentaire pour palier aux problèmes de l'enracinement de certaines espèces.

2. *Agrobacterium rhizogenes* et l'enracinement de l'olivier et d'autres espèces fruitières ligneuses

Bien que posé depuis déjà des années, le problème de l'enracinement chez plusieurs variétés Algériennes d'olivier, dont celles que nous étudions dans le cadre de ce travail (Chemlal, Ferkani et Boukaila), préoccupe encore les multiplicateurs. Rugini (1984) a confirmé après plusieurs essais, les faibles capacités de certaines variétés d'olivier à l'enracinement, ce qui présente un inconvénient majeur pour sa multiplication végétative. Selon Damiano et Monticelli (1998) beaucoup d'espèces ligneuses, économiquement importantes sont souvent difficiles à enracer par les méthodes traditionnelles en serre et *in vitro* y compris avec l'application d'hormones et de traitements auxiniques. Cette difficulté de l'enracinement reste toujours un obstacle principal à la réussite de la propagation et de la micropropagation. Ce constat a également été fait par Abousalim et *al.* (2005). Falasca et *al.* (2000) pensent que la capacité de l'enracinement est dépendante du génotype. Ils suggèrent qu'en agriculture les génotypes les plus utiles sont souvent les plus récalcitrants pour la formation de racines.

Par ailleurs, Lambert et *al.* (1988) indiquent qu'en général les espèces difficiles à enracer sont aussi difficiles à transformer. En effet, d'après Hanson et *al.* (2008) la transformation de différents tissus végétaux est difficile vu qu'elle passe par différentes étapes qui exigent un état physiologique des tissus ainsi que des milieux très particuliers. Récemment, de nombreuses tentatives pour surmonter ce problème ont été effectuées sur les arbres fruitiers et les espèces ligneuses en utilisant *Agrobacterium rhizogenes* pour l'induction de l'enracinement par l'intégration d'une partie du génome bactérien (T-DNA) du plasmide Ri dans le génome de la cellule végétale.

L'inoculation des boutures d'olivier par la souche A₄ induit la formation en abondance de chevelus racinaires (hairy root). Ce phénomène est contrôlé par le T-

DNA provenant du plasmide Ri de la souche A₄ portant les gènes codant la synthèse des substances indispensables pour la différenciation des cellules en racines sous l'influence de la synthèse d'auxines endogènes (Tepfer, 1982; Ooms et al, 1986; Casse-Delbart, 1990; Martins, 2003 et Tao et Li, 2006). En effet, après 3 à 4 mois d'inoculation de nos boutures les trois variétés étudiées réagissent par la formation d'intenses chevelus racinaires qui se ramifient et s'allongent d'une manière intense par rapport aux boutures témoins.

Rugini et Pesce (2006) suggèrent que les techniques de transfert de gènes offrent une stratégie plus puissante pour l'amélioration génétique de l'olivier en respectant les méthodes de multiplications traditionnelles. Elles permettent l'introduction dans le génotype de cette espèce de un ou de plusieurs gènes sans modification énergétique des caractéristiques générales de l'arbre. Les techniques de transfert ont été développées avec quelques traits agronomiques souhaitables qui sont encore en cours d'évaluation. Les mêmes auteurs, ont démontré que l'efficacité de la transformation dépend de plusieurs facteurs qui incluent: la souche bactérienne, la compétence des cellules végétales réceptrices du génome étranger, la capacité d'*Agrobacterium rhizogenes* de transformer efficacement des cellules dans les tissus ciblés.

Monticelli et al (1997) ainsi que Damiano et al. (1995) confirment que l'inoculation avec *Agrobacterium rhizogenes* a toujours été utilisée pour l'amélioration de l'enracinement d'espèces récalcitrantes. Ainsi, de nombreux chercheurs ont rapporté la réussite de l'enracinement par la transformation génétique d'arbres fruitiers en utilisant *Agrobacterium rhizogenes*, tels que l'Amandier (Damiano et al, 1995), le Pommier (Sutter et Luza, 1993), le Kiwi (Rugini et al, 1991), le Noyer (Caboni et al, 1996) et bien d'autres espèces ligneuses forestières telles que le genre *Pinus* (McAFee et al, 1993; Magnussen et al, 1994; Mihalievic et al, 1996; Burns et Schwarz, 1996; Tzfira et al, 1996), le *Larix* (McAFee et al, 1993) et l'*Eucalyptus* (MacRae et Van Staden, 1993).

Felker et al (2005) et d'après les paramètres de l'enracinement qu'ils ont étudiés lors de leurs travaux sur le *Prosopis* démontrent que les jeunes plants donnent des réponses très favorables à l'inoculation avec la souche A₄ (80% d'enracinement avec un maximum de 12 racines par bouture). Ils suggèrent ainsi, que cette bactérie du

sol peut considérablement stimuler l'enracinement. De même, Caboni et *al* (1996) ayant travaillé sur le Noyer qui est une importante espèce pour la production du bois, dont la propagation par bouturage pose un problème d'enracinement. Cette difficulté a également été prouvée *in vitro* et a été expliquée comme étant principalement liée au génotype (Lambert et *al.* 1988). Ainsi, Caboni et *al* (1996) démontrent qu'il est possible de surmonter ce problème par l'inoculation des boutures de noyer par l'*Agrobacterium rhizogenes*. En effet les essais qu'ils effectués se sont soldés par la formation d'intenses chevelus racinaires au site d'infection.

La présence du plasmide Ri de l'*Agrobacterium rhizogenes* peut fournir un approvisionnement contenu en offrant une croissance stable biochimiquement et génétiquement des tissus racinaires. L'utilisation de l'*Agrobacterium rhizogenes* par Han et *al* (1997) a présenté le moyen efficace pour transformer divers génotypes de Peuplier. Étant donné que ce dernier est important pour la production de papier et de bois tendre. Son inoculation offre une place commerciale importante dont une croissance rapide, ainsi qu'une réduction du temps requis pour produire une lignée d'élite au Etats-Unis.

3. Origine histologique des racines

Bien que nous n'ayons pas réalisé de coupes histologiques, Falasca et *al* (2000) pensent que la genèse des racines adventives est de deux types: la première est indirecte, dans laquelle les cellules de l'explant primaire forment un cal qui donne par la suite les racines adventives, la deuxième est directe, dans la quelle les racines adventives se développent directement à partir des cellules de l'explant primaire principalement celles présentes à proximité étroite du système vasculaire. Mais, dans les deux types de rhizogenèse, la racine se développe toujours à partir des cellules méristématiques. Altamura (1996), pense que la difficulté de l'enracinement serait liée à l'incapacité des cellules de l'explant à s'organiser en méristèmes.

4. Effet variétal

Lambert et *al* (1988) rapportent que la multiplication végétative a des limites, en particulier d'ordre génétique chez les ligneux en particulier les arbres fruitiers où l'enracinement n'est inductible que sur un nombre limité de variétés. Les travaux de

recherches de ces auteurs ont porté sur le porte-greffe nanifiant M9b du Pommier qui présente des caractères agronomiques intéressants pour l'implantation de vergers à haute densité, vu ses caractères de floraison précoce. Mais son aptitude à l'enracinement est médiocre où il ne répond que très faiblement aux traitements auxiniques. Ainsi, pour améliorer sa rhizogénèse Lambert et *al* (1988) ont choisi l'inoculation des variétés ciblées avec l'*Agrobacterium rhizogenes* en champ, en serre et *in vitro* en vue de provoquer l'induction et l'initiation de la formation de racines.

Dans notre cas, la multiplication de l'olivier, tout comme celle des autres arbres fruitiers ligneux et récalcitrants, serait sous contrôle génétique. Les résultats obtenus plus ou moins variables en fonction de la variété nous incitent à adopter cette hypothèse. Les boutures de la variété la plus difficile à enraciner (Chemlal) ont donné un pourcentage de 60% avec l'inoculation, avec des variations saisonnières. En effet, la meilleure période pour l'induction est le mois d'avril où l'aptitude de cette variété est maximale, mieux que celle du mois de juin. La variété Ferkani vient en deuxième lieu du point de vue de sa capacité d'enracinement induit par la souche A₄ (56,66%). La variété Boukaila semble présenter les potentialités rhizogènes les plus faibles (42,85%).

Concernant les feuilles, celles de la variété Chemlal ont répondu à l'inoculation mais pas avec la même intensité. Ceci peut être expliqué par la sensibilité des feuilles détachées aux conditions de l'environnement ayant conduit à leur brunissement puis leur dessèchement total. A ce propos, les feuilles de la variété Ferkani semblent plus sensibles que la variété Chemlal, raison pour laquelle elles n'ont pu émettre de racines en présence de la souche A₄. Leur réaction est restée limitée à la callogenèse.

La variation des résultats obtenus peut avoir une autre origine en relation avec les conditions de l'environnement. En effet, Felker et *al* (2005) annonce que l'enracinement des espèces ligneuses récalcitrantes est influencé par plusieurs facteurs dont l'effet de la température au voisinage immédiat des racines et l'effet de l'âge de l'explant. Ainsi, selon ces mêmes auteurs, l'effet le plus important lors de la stimulation de l'enracinement par l'*Agrobacterium rhizogenes* a été obtenu en augmentant la température du substrat.

5. Effet de l'origine de la bouture et/ou feuille avec bourgeon axillaire

Les rameaux sur lesquels ont été prélevées les boutures sont débités en boutures de 10 à 15cm de longueur, tandis que les feuilles sont prélevées avec le bourgeon axillaire à 2 mm des extrémités de ce dernier. Le long de la bouture et/ou le bourgeon axillaire, seuls les points de blessures inoculés, émettent des racines.

Les explants d'origine médiane expriment une meilleure rhizogénèse en présence de la souche A₄. Ce résultat reste valable pour l'ensemble des variétés, sauf pour les feuilles où la variété Ferkani semble avoir une plus forte réactivité (callogenèse) avec celles issues de la partie apicale. L'origine médiane a donc été toujours la plus réactive se traduisant, en plus de l'enracinement, par de plus forts taux de callogenèse, de racines par bouture, de longueur des racines et de ramifications des racines principales. Cette origine donne toujours les meilleurs résultats pour l'ensemble des essais effectués (mois de juin, Mars et Avril). Nos résultats corroborent ainsi ceux de Montarone et al (1997) ayant travaillé sur le bouturage des *Protéacées*. La notion d'origine des boutures sur le rameau est donc en étroite relation avec l'efficacité de la souche A₄ sur l'induction de l'enracinement. Des résultats contradictoires ont cependant été obtenus avec les boutures du noyer dont l'origine basale a été la plus rhizogène (Falasca et al, 2000).

6. Effet type de bouture

Les résultats de cette étude montrent des différences significatives sur la rhizogénèse entre les types de boutures: boutures à plusieurs nœuds, boutures à un seul nœud et feuilles avec le bourgeon axillaire. Les résultats obtenus montrent qu'il est possible d'induire l'enracinement sur les trois types d'explant avec des niveaux de réponses variables. Les boutures multinodales, sont les plus rhizogènes. Ceci serait en relation avec le niveau de concentration interne en auxine dû à la présence de nombreuses feuilles et bourgeons siège de biosynthèse de cette hormone rhizogène. Les boutures à un seul nœud ainsi que les feuilles pourvues d'un bourgeon manifestent un faible taux d'enracinement. L'objectif visé par l'utilisation de ce type d'explant (économie de matériel végétal) n'a pas été atteint. Il serait donc indispensable de reprendre les essais en jouant sur d'autres facteurs de l'environnement dans la perspective d'améliorer les taux d'enracinement.

7. Acclimatation des plants enracinés

Après un séjour de 8 mois dans la serre d'endurcissement, les boutures racinées poursuivent leur développement. Elles développent un système racinaire pivotant avec de nombreuses ramifications, rappelant ainsi les systèmes racinaires caractérisant les francs, et les ramifications intenses rappellent les chevelus racinaires très caractéristiques de l'induction par gènes du plasmide Ri. Par ailleurs, la partie aérienne des boutures racinées poursuit un développement également ordinaire ne présentant aucune différence significative avec celle des boutures témoins, non traitées avec la souche A₄.

Le trempage des systèmes racinaires transformés durant 48h dans une solution contenant un antibiotique, la Céfotaxime à 500mg/l, n'entrave en rien le développement des plants racinés. Le but de l'utilisation de cet antibiotique est l'élimination des agrobactéries qui restent collées aux boutures et qui pourraient présenter une source de compétition vis-à-vis des éléments nutritifs normalement destinés à la plante. Rugini et Pesce (2006) confirment que l'antibiotique le plus approprié pour *Agrobacterium rhizogenes* est la Céfotaxime (200mg/l).

8- conséquences de la transformation génétique sur la qualité des plants d'olivier

L'induction de l'enracinement chez le pommier par Lambert et Tepfer (1991) en l'inoculant avec des souches A₄ d'*Agrobacterium rhizogenes* produit des plantes dont les racines et les pousses sont transformées. Ces auteurs, ont constaté que la mannopine, dont la synthèse est codée par l'ADN-T du plasmide Ri, est produite dans les racines et transférée aux parties aériennes des génotypes récalcitrants de pommiers transformés. Ainsi, pour l'olivier le même phénomène pourrait être observé : synthèse de l'agropine étant donné que la souche A₄ est une souche à agropine. Aucune analyse biochimique n'a jusqu'aujourd'hui été effectuée à ce sujet. Si l'agropine normalement synthétisée par les racines transformées est mobilisée vers la partie aérienne de la plante, des études sur la toxicité des produits destinés à la consommation humaine doivent alors être menées pour s'assurer que cette molécule ne présente aucun danger. Faute de quoi, les plants transformés ne doivent en aucun cas être destinés à l'usage commercial.

En cas de risque avéré, le problème peut encore être surmonté grâce à la transformation génétique du plasmide Ri lui-même par l'élimination des séquences responsables de la synthèse des opines, en l'occurrence le TR-DNA qui contient des gènes homologues aux gènes du plasmide Ti (White et *al*, 1985 in Tao et Li, 2006) et qui interviennent dans la synthèse des opines (Giri, 2000). En effet, un T-DNA simplifié réduit à la séquence du TL-DNA portant les 4 loci : rolA, rolB, rolC et rolD (Tepfer, 1982; Casse-Delbart, 1990; Martins, 2003; Tao et Li, 2006), serait suffisant pour induire l'enracinement sans risque de déclencher la biosynthèse des opines.

Conclusion

La multiplication de l'Olivier par bouturage herbacé revêt un grand intérêt pour le développement d'une oléiculture moderne à l'instar de ce qui se fait dans les pays développés. Cet objectif ne peut cependant, être atteint que par la maîtrise des techniques de production de plants aussi bien en quantité qu'en qualité. L'exploitation des possibilités offertes par le verger oléicole Algérien n'est pas suffisante (Imarazène, 2007) à cause des problèmes liés aux facteurs génétiques de certaines variétés à enracinement difficile, et ce, malgré leur grande importance économique.

Le présent travail constitue une contribution pour la multiplication du matériel végétal herbacé de quelques variétés d'Olivier utilisant des procédés biotechnologiques, en vue d'améliorer leur enracinement. Ainsi, le matériel herbacé utilisé est constitué de boutures à un seul nœud, à plusieurs nœuds ou de feuilles avec le bourgeon axillaire prélevées sur les rameaux de l'année en respectant leur origine sur le rameau. Seules les boutures ou feuilles apicales ou médianes ont été utilisées. Pour induire l'enracinement, les boutures de trois variétés, Chemlal de Kabylie, Ferkani de la région de Tébessa et Boukaila du Constantinois ont été soumises à un traitement à la souche A₄ de l'*Agrobacterium rhizogenes*.

Il ressort de l'étude un certain nombre d'informations pouvant être utilisées dans un programme de multiplication de l'olivier. En effet, nous avons pu montrer qu'il était possible d'induire la formation d'intenses chevelus racinaires aussi bien à partir des boutures que des feuilles. Cependant, les capacités morphogénétiques liées à la rhizogenèse du matériel utilisé dépendent du type d'explants, de sa position sur le rameau initial ainsi que de la variété. En outre, le trempage de la base du matériel végétal dans une solution de l'*Agrobacterium rhizogenes*, réactivée avec 10µg d'acétosyringone, pendant 10 secondes est largement suffisant.

Les résultats obtenus dans le cadre du présent travail de recherche montrent essentiellement que:

- Concernant l'origine des boutures, les boutures médianes offrent les meilleures possibilités d'enracinement (60%). Cependant pour les feuilles, c'est l'origine apicale qui donne les meilleurs résultats (14%).

- Les boutures à plusieurs nœuds sont plus réactives que les boutures à un seul nœud. Cependant, ce dernier type de boutures ainsi que les feuilles devraient être reprises et soumises aux traitements rhizogènes par *Agrobacterium rhizogenes* (A₄), en vue d'optimiser les conditions d'induction de l'enracinement. L'objectif de l'utilisation de ce type d'explant est l'économie de matériel végétal.
- Les trois variétés utilisées dans ce travail (récalcitrantes au bouturage) montrent une bonne réactivité suite à l'application de la souche A₄. Cependant, du point de vue pourcentage d'enracinement, les boutures de la variété Chemlal s'enracinent à 60 %, celles de Ferkani à 56,66% et celles de Boukaila à 42,85%. Ainsi par rapport aux traitements hormonaux, la variété Chemlal traitée à la souche A₄ montre une amélioration de l'ordre de 300 %. Pour cette variété le pourcentage d'enracinement maximum obtenu avec l'AIB est de 19% (Caballero, 1981).

Enfin, et vu les résultats obtenus, il demeure donc indispensable, de continuer à développer à l'aide de la transgénèse végétale le bouturage de l'olivier et d'autres espèces fruitières. Parmi les perspectives de recherche visées, l'élaboration via la transgénèse de variétés à enracinement spontané.

Références bibliographiques

- 1/ Abousalim A., Brhadda N. et Walali loudiyi D., 2005. Essais de prolifération et d'enracinement de matériel issu de rajeunissement par bouturage d'oliviers adultes *Olea europae* L et de germination *in vitro*: effet de cytokinines et d'auxines. *Biotechnol.* 237 p.
- 2/ Abousalim A., Walali LWD. et Slaoui K., 1993. Effet du stade phénologique sur l'enracinement des boutures semi-ligneuses de l'olivier en tablettes chauffantes. *Olivae.* N°46: 30-37.
- 3/ Altamura M., 1996. Histological events in adventitious rooting. *Agronomie.* N°16: 589-602.
- 4/ Amdoun R., Khilifi L., Zarouri B., Amroun S. et Khelifi-Slaoui M., 2006. Production de chevelus racinaires par transformation génétique *in vitro* de deux espèces de *Datura*. *Biotechnologie végétale.* Ed., Khelifi. Alger. N°0: 83-85.
- 5/ Augé R., Beauchesne G.J., Boccon-Gibod L., Decourty L., Get B, Jalouzout R., Minier R., Moran J., Reynord J, P., Strully D.G. et Vidalie H., 1989. La culture *in vitro* et ses applications horticoles. 3ème Ed., TEC. et DOC. Lavoisier. 207 p.
- 6/ Baiza A.M., Quiroz-Moreno.A., Ruiz J.A., et Loyola-Vargas V.M., 1999. Genetic stability of hairy root cultures of *Datura stramonium*. *Plant Cell Tissue Org Cult.*N°59: 7-17.
- 7/ Bartolini G., Leva A.R., et Benelli A., 1989. Advances *in vitro* culture of the olive: propagation of cv. *Maurino*. *Acta Hort.* N°286: 41-44.
- 8/ Belkoura I., Ouazzani N. et Sghir S., 2007. Application des techniques de multiplication *in vitro* chez l'olivier : pour une production de plants sains et la conservation de la biodiversité. Journées Méditerranéennes de l'Olivier. 22-26 octobre. Meknès. N°1: 2-6.
- 9/ Bellemare G. et Tremblay C., 1993. De l'étude des gènes à la modification des génomes. 3ème journées scientifiques du réseau Biotechnologies Végétales de l'UREF. Paris. 48 p.
- 10/ Berenguer B. et Gonzalez G., 1999. Ressources génétiques. Acte du séminaire international sur les innovations scientifiques et leurs applications en oléiculture et oléotechnie. Florence. 30 p.
- 11/ Berg P. et Singer M., 1993. Comprendre et maîtriser les gènes. Édition., VIGOT. Paris.134 p.
- 12/ Berrichi M., 2001. Oléiculture marocaine : orientations et perspectives d'avenir. Séminaire International. ENA Meknès. Maroc. 33 p.
- 13/ Bouzar H., 1983. A servey of *Agrobacterium* strains associated with Georgia pecan trees and an immunological study of the *bacterium*. These Master of Science. Oregon state university. 75 p.

- 14/ Bradbury J.F., 1986. Guide to plant pathogenic bacteria. C.M.I. International Mycological Institut. Ferry lane kew. Surrey. England. 332 p.
- 15/ Brencic A. et Winans S.C., 2005. Detection of Reponse to signals Involved in Host-Microbe Interactions by Plant-Associated Bacteria. Microbiology and Molecular Biology. American Society for Microbiology. N°1:132-156 p.
- 16/ Brhadda N., Abousalim A., Walali L. et Benali D., 2003. Effet du milieu de culture sur le microbouturage de l'olivier (*Olea europaea L.*). CV. Picholine Marocaine. Biotechnol. Agron. Environ. Soc. Environ. N°3-4:177-182.
- 17/ Burns J. et Schwarz O., 1996. Bacterial stimulation of adventitious rooting on *in vitro* cultured slash pine (*Pinus elliottii Engelm.*) seedling explants. Plant Cell Report. N°15:405-408.
- 18/ Caballero J.M., octobre 1981. Matériel végétal : Multiplication, variétés, sujets porte-greffes, Amélioration de la production oléicole, Rapport du séminaire international sur la culture de l'olivier. Marrakech-Maroc. Projet régional PNUD/FAO. Madrid-Espagne. 45 p.
- 19/ Caboni E., Lauri P., Tonelli M., Falasca G. et Damiano C., 1996. Root induction by *Agrobacterium rhizogenes* in walnut. Plant Science. N°8: 203-208.
- 20/ Callas L. et Benbadis A., 1988. *In vitro* plant regeneration from cotyledon fragments of the olive tree (*Olea europaea L.*). Plant Science. Paris (France). N°54: 65-74.
- 21/ Cangelosi G.A., Ankenbauer R.G. et Nester W.E., 1990. Sugars induce the *Agrobacterium* virulence genes through a periplasmic binding protein and a transmembrane signal protein. Genetics. PNAS. USA. 6708 p.
- 22/ Casse Delbart F., 1990. Utilisation d'*Agrobacterium* pour l'obtention de plantes transgéniques. Cinquantenaire des cultures *in vitro*. Les colloques de l'INRA. Versailles. Ed., Clair doré. Paris. N°51: 219-230.
- 23/ Casse F., et Breitler J.C., 2001. OGM : description, méthodes d'obtention, domaines d'application. Ed., France agricole. Paris. 166 p.
- 24/ Chaari Rkhissi A., Maalej M. et Drira N., 2003. Micro-propagation des variétés tunisiennes d'Olivier: synthèse des résultats préliminaires. Olivea. N°95: 1-19 p.
- 25/ Chouaki S., 2006. Deuxième rapport national sur l'état des ressources phytogénétiques. INRA. Organisation des nations unies pour l'alimentation et l'agriculture. 44 p.
- 26/ Chupeau Y., 2001. Les raffinements sexuels d'une bactérie du sol au service du génie génétique. Médecine/Sciences. Versailles. N°17: 856-866.
- 27/ Cimato A., 1999. Propagation et certification des plants. L'élevage des plants d'olivier en pépinière. Acte du Séminaire International sur les innovations scientifiques et leurs applications en oléiculture et oléotechnie. Florence. COI: 38 p.
- 28/ Civantos L., 1988. La situation et les tendances des techniques. Option Méditerranéennes sur l'économie de l'olivier. CIHEAM. Tunisie. 35 p.
- 29/ Claire M., 1999. Le livre de l'Olivier. ÉDISUD. France: 40 p.

- 30/ COI, 2000. Catalogue Mondiale des variétés d'olivier. Madrid-Espagne: 479 p.
- 31/ Crété P., 2006. La transgénèse Végétale. Université de la Méditerranée: N°3: 1-10 p.
- 32/ Crété P., 2007. La transgénèse Végétale. La galle du collet (crown gall) et le chevelu racinaire (hairy root). Cours publié.
- 33/ Cuperus J., Hodges L. et Ream W., 2007. Purification of a Secreted *Agrobacterium rhizogenes* Protein (GALLS) Required for Gene Transfer to Plants. Oregon State University. Cours publié.
- 34/ Damiano C. et Monticelli. S., 1998. In vitro fruit trees rooting by *Agrobacterium rhizogenes* wild type infection. Journal of Biotechnology.N°2:189-193.
- 35/ Damiano, C., Archilletti, T., Caboni, E., Lauri, P., Falasca, G., Mariotti, D. et Ferraiolo, G., 1995. *Agrobacterium* mediated transformation of almond: *In Vitro* rooting through localised infection of *A. rhizogenes* w.t. Acta Horticulturae N°392:161-169.
- 36/ Davet P., 1996. Vie microbienne du sol et production végétale. Ed., INRA. Paris: 483 p.
- 37/ Depaoli G., Rossi V. et Scozzoli A., 1994. Micropropagatione delle piante ortoflorofrutticole. Edagricole-Edizioni Agricole della Calderini S.R.L. Italy. 204 p.
- 38/ Deabys N., 2003. Les plantes transgéniques en agriculture: mission et activités de la station fédérale de changins. Revue suisse. Argic. 39 p.
- 39/ Demarly Y. et SIBI M., 1996. Amélioration des plantes et biotechnologies. 2ème édition., AUPELF. UREF. Paris. 345 p.
- 40/ Desmond S.T., 1994. An introduction to genetic engineering. CAMBRIDGE. University press. 235 p.
- 41/ Dobigny A., Truong V., Haïcour R., David C., Ambroise A., Gaisne C. et Rossignol L., 1994. Nouvelle possibilité de transformation avec *Agrobacterium rhizogenes* chez la pomme de terre. RCBVB. N°17: 1-45.
- 42/ Douzane M., 2002. Caractérisation Biochimique des huiles de quelques variétés populations d'Olives locales. Mémoire obtenu en vue de l'obtention du diplôme de magister en Agronomie - option sciences alimentaire. INA Alger.110 p.
- 43/ Durant J., 1997. Biotechnologie: ce que vous aimeriez savoir. Fédération Européenne de biotechnologie. N°6: 2-3.
- 44/ Ercan A.G. et Taşkin M., 1999. *Agrobacterium rhizogenes* mediated hairy root formation in some *Rubia tinctorum* L. population Grown in Turkey. Journal of Botany. N°23: 373-377.
- 45/ Ereteo F., 1988. L'olivier. Ed., Solar. France. 57 p.
- 46/ Escalettes V., Dahuron F., Ravelonandro M. et Dosba F., 1993. Utilisation de la transgénèse pour l'obtention de pruniers et d'abricotiers exprimant le gène de la protéine capsidale du plum pox potyvirus. Station de recherches fruitières. Communication présentée à la conférence OEPP sur le sharka. Bordeaux. France.N°3:705-711.

- 47/ Evans D.A., 1983. Hand book of plant cell culture. Macmillan Publishing. Canada. 560 p.
- 48/ Falasca G., Reverberi M., Lauri P., Caboni E., De Stradis A., et ALTAMURA M.M., 2000. How *Agrobacterium rhizogenes* triggers de novo root formation in a recalcitrant woody plant: an integrated histological. Ultra structural and molecular analysis. Research New Phytol. N°1:77-93.
- 49/ Fantanaza G., Bartolozzi F. et Cipriani M., 2001. Nouveau système de conduite des plantes mères pour la multiplication en continu de l'olivier. Olivea. N°89: 42-46.
- 50/ FAO., 2005. Consensus scientifique sur les plantes génétiquement modifiées. Green Facts. N°4: 1-20 p.
- 51/ Felker P., Medina D., Soulierb C., Veliccec G., Velardea M. et Gonzalezb C., 2005. A survey of environmental and biological factors (*Azospirillum* spp, *Agrobacterium rhizogenes*, *Pseudomonas aurantiaca*) for their influence in rooting cuttings of *Prosopis alba* clones. Journal of Arid Environments.N°2: 227-247.
- 52/ Freifelder D., 1990. Biologie Moléculaire. Ed., Masson. Paris: 311 p.
- 53/ Gamborg O.L. et PHILIPS G.C., 1995. Plant Cell Tissue and organ Culture-Fundamental Methods. Springer. Germany. N°181:182-281.
- 54/ Gelvin S.B., 1990. Crown Gall Disease and Hairy Root Disease. Plant physiology. N°92: 281-284.
- 55/ Gelvin S.B., 2003. *Agrobacterium*-mediated Plant Transformation: the Biology behind the "Gene-Jockeying" Tool. Microbiology. N°1: 18-23.
- 56/ Geneves L., 1992. Reproduction et développement des végétaux. Ed., DUNOD. Biosciences. Paris: 230.
- 57/ Giri A. et NARASU M.L., 2000. Transgenic hairy roots: recent trends and applications. Biotechnology advances. N°18: 1-22.
- 58/ Giuseppe F.L., 1990. Proposition pour un programme d'amélioration génétique de l'Olivier. Olivea. N°34: 32-36.
- 59/ Han K., Gordon M. et Strauss S., 1997. High-frequency transformation of cotton woods (*genus populus*) by *Agrobacterium rhizogenes*, journal for Researches. N°27: 464-468.
- 60/ Hanson R., Fulbright E. et Jaworski L., (2008) Methods for producing transgenic plants. Congress Avenue. US.
- 61/ Hartman H.T., 1946. The use of root-promoting substances in the propagation of olives by soft-wood cutting. PASHS. N°48: 303-308.
- 62/ Husson M., 1930. Les huiles d'Olives. Imprimerie algérienne. Alger. 30 p.
- 63/ Imarazene R., 2007. Rapport : Situation Potentielle des Infrastructures: Multiplications de l'olivier en milieu contrôlé. Non publié. ITAFV.35 p.
- 64/ INAF., 1981. La culture de l'olivier. Ed., INAF. Didouche Mourad. Alger.26 p.

- 65/ ITAFV (Institut technique de l'Arboriculture Fruitière et de la Vigne)., 2004. Techniques de multiplication de l'olivier par bouturage herbacé ou semi-ligneux. Journées Techniques à Ain-Temouchent.
- 66/ Jacoboni N., 1989. La propagation. *Olivae*. N°25: 20-26 p.
- 67/ Jansky S. et Bidlack G., 2003. *Introductory Plant Biology*. Ninth edition., The McGraw-Hill Companies. 283 p.
- 68/ Kadhum H., Abdul H. et Stela M.A.H., 2004. Influence of the Gibberelic Acid on the Germination of the Seeds of Olive-tree *Olea europaea* L. *Central European Agriculture*. N°1: 1-4.
- 69/ Karmarkar S.H., Keshavachandran R., Nazeem P.A. et Girija D., 2001. Hairy root induction in *Adapathiyan*. *Journal of Tropical Agriculture*. N°39:102-107.
- 70/ Khelifi L., Haddad B., Khelifi-Slaoui M., Mendil M. et Amdoun R., 2007. Transformation génétique de l'Olivier : une alternative pour sa multiplication végétative. Colloque International sur les Biotechnologies (Quelle Biotechnologie pour les pays du sud ?). p 21.
- 71/ Kovalenko P.G. et Maliuta S.S., 2003. An effect of transformation by Ri-plasmids and elicitors on licorice cells and secondary metabolites production. *Ukrainica bioorganica acta*. N°1: 50-60.
- 72/ Kumar V., Sharma A., Prasad B.C.N., Gururaj H.B. et Ravishankar G.A., 2006. *Agrobacterium rhizogenes* mediated genetic transformation resulting in hairy root formation is enhanced by ultrasonication and acetosyringone treatment. *Journal of biotechnology*. N°4: 349-357.
- 73/ Lacroix B., Tzfira T., Vainstein A. et Citousky V., 2006. A case of promiscuity: *Agrobacterium's* endless hunt for new partners. *TRENDS in Genetic*. N°1: 29-30.
- 74/ Lambert C. et Tepfer D., 1991. Use of *Agrobacterium rhizogenes* to Create Chimeric Apple Trees Through Genetic Grafting. *Bio-Technology*. N°9: 80-83
- 75/ Lambert C., Thomas G., Leger D., Pamboukdjian N. et Tepfer D., 1988. Utilisation de la transformation génétique par *Agrobacterium rhizogenes* pour améliorer la rhizogénèse d'arbre fruitiers. 8^{ème} Colloque sur les recherches fruitières. Bordeaux. Edition INRA. CTIFL.184 p.
- 76/ Lanoue A., Boitel-Conti M., Portais J.C., Laberche J.C., Barbotin J.N., Christen P. et Sangwan-Norreel B., 2002. Kinetic study of littorine rearrangement in *Datura innoxia* hairy roots by ¹³C NMR spectroscopy. *JNP*. N°65: 1131-1135.
- 77/ Lanoue A., Shakourzadeh K., Marison I., Marison I., Laberche J-C., Christen P., Sngwan-Norreel B. et Boitel-Conti M., 2004. Occurrence of circadian rhythms in hairy root cultures grown under controlled conditions. *Biotechnology and bioengineering*. N°6:722-731.
- 78/ Leva A.R., 2004. La multiplication végétative *in vitro* de l'olivier: du laboratoire à la production. *Olivae*. N°101: 19-24.

- 79/ Leva A.R., Petrucceli R., Goretti A. et Panicucci M., 1992. Ruolo di alcuni microelementi carboidrati nella proliferazione *in vitro* di cv. Di olivo (*Olea europaea L*) In Atti quattità olio extravergine di Olivae. 333 p.
- 80/ Li L., Jia Y., Hov Q., Charles C.T., Nester E.W. et Pan S.Q., 2002. A global pH sensor: *Agrobacterium* sensor protein ChvG regulates acid-inducible genes on its two chromosomes and Ti plasmid. PNAS. Sep 2002. N°19: 12369-12373.
- 81/ Liang Y., Aoyama T. et Oka A., 1998. Structural characterization of the virB operon hairy-root-inducing plasmid A4. DNA research. N°5: 85-93.
- 82/ Limami M., Sun L., Douat C., Helgeson J., et Tepfer D., 1998. Natural Genetic Transformation by *Agrobacterium rhizogenes*: Annual Flowering in Two Biennials, Belgian endive and Carrot. Plant Physiol. N°118: 543–550.
- 83/ Loussert R. et Brousse G., 1978. L'olivier. Edition G.P., Maisonneuve et Larose. Paris. 447 p.
- 84/ Loussert R., 1981. Réflexions sur l'intensification de la culture de l'olivier en Méditerranée. Intensification de l'Olivier. Ed., INAF. Didouche Mourad. Alger. 165 p.
- 85/ Machida Y., Okamoto S., Matsumoto S., Usami S., Yamamoto A., Niwa Y., Jeong S.D., Nagamine J., Shimoda N., Machida C. et Iwahashi M., 1989. Botany Magazine. Tokyo. N°10: 331-350.
- 86/ Macrae S. et Staden V., 1993. *Agrobacterium rhizogenes*-mediated transformation to improve rooting ability of eucalypts. Tree Physiology. N°12: 411-418.
- 87/ MADR., 2006. Série statistiques B. Ministère de l'Agriculture et du Développement Rural. Alger.
- 88/ Magnussen D., Clapham D., Gronroos R. et Arnold V., 1994. Induction of hairy and normal roots on *Picea abies*, *Pinus sylvestris* and *Pinus contorta* by *Agrobacterium rhizogenes*. Scandinavian Journal of Forest Research. N°9:46-51.
- 89/ Maldonado-Mendoza I., Ayora-Talavera T. et Loyola-Vargas V.M., 1993. Establishment of hairy root cultures of *Datura Stamonium*. Plant Cell Tissue Org Cult. N°33: 321-329.
- 90/ Mankessi F., 2005. Etude comparative de l'enracinement de boutures de Eucalyptus urophylla X Eucalyptus grandis issues de différents types de pieds-mères. Mémoire pour l'obtention du Diplôme d'Etudes Approfondies de Sciences Biologiques. Spécialité : Production végétale.43 p.
- 91/ Margara J., 1989. Bases de la multiplication végétative. INRA. Paris.254 p.
- 92/ Marrakchi M., 1988. Coopération internationale dans le secteur oléicole. Option méditerranéenne sur l'économie de l'olivier. CIHEAM. Tunisie. 227 p.
- 93/ Martins T.M., Domingos N.C. et Lourenço P.M.L., 2003. Effect of *Agrobacterium rhizogenes* infection on *in vitro* rooting of vitis vinifera. Journal of Bacteriology.N°3.132-159.

- 94/ Matis N.J et Winans S.C., 1992. The *Agrobacterium tumefaciens* vir Gene Transcriptional Activator virG Is Transcriptionally Induced by Acid pH and other Stress Stimuli. *Journal of Bacteriology*. N°4. 1175-1191.
- 95/ McAfee B., White E., Pelcher E. et Lapp M., 1993. Root induction in Pine (*Pinus*) and Larch (*Larix*) spp. using *Agrobacterium rhizogenes*. *Plant Cell. Tissue and Organ Culture*. N°34: 53-62.
- 96/ Mencuccini M., 1995. Micropropagazione e miglioramento genetico *in vitro* dell'olivo. Stato dell'arte e prospettive future. *Riv. Fruttic. Ortofloricolt.* N°12: 73-82.
- 97/ Mendil M. et Sebai A, 2006. L'olivier en Algérie. Ed., ITAFV. Alger. 104 p.
- 98/ Mihalicovic S., Stipkovic S. et Jelaska S., 1996. Increase of root induction in *Pinus nigra* explants using *Agrobacteria*. *Plant Cell Reports*. N°15: 610-614.
- 99/ Montarone M, Savignac D. et Maricot C., 1997. La multiplication par boutures dans le genre *Protea*. INRA. Colloque S^{te} Catherine. 45 p.
- 100/ Monticelli S., Damiano C. et Sciarroni R., 1997. *In vitro* localized infection by *Agrobacterium rhizogenes* w.t. and rooting of fruit trees species. Mededelingen Faculty Landbouwkundige of Agricultural and Applied Biological Sciences. University of Gent. N°62: 1421-1428.
- 101/ Moussaoui R. et Youyou A., 2006. Oil extraction from olive foot cake With acidic ethanol. WFL Publisher. N°2: 57-61.
- 102/ Murray R.K., 1999. Harper Biochimie. 24^{ème} édition. Ed., Mc Graw-Hill International. England. 598 p.
- 103/ Nefzaoui A., 1999. Olive tree by-products. International Centre for Agricultural Research in the Dry Areas. ICARDA. 69 p.
- 104/ Ooms G., Twell D., Bossen M.E., Hoge J.H.C. et Burrell M.M., 1986. Development regulation of Ri T-DNA gene expression in roots, shoots and tubers of transformed potato (*Solanum tuberosum* cv. *Desiree*) *Plant Mol Biol*. N°32: 6-30.
- 105/ Pagnol J., 1975. L'Olivier. 3^{ème} édition. Ed., Aubanel. France: 58 p.
- 106/ Park S-U et Facchini P.J., 2000. *Agrobacterium rhizogenes*-mediated transformation Opium poppy, *Papaver somniferum* L., and California poppy, *Eschscholzia californica* Cham. root cultures. *Journal of experimental botany*. N°51:1005-1016.
- 107/ Passarge E., 2007. Color Atlas of Genetics. 3rd edition. Ed., Thieme Stuttgart-New York. 100 p.
- 108/ Perry J.J., Staly J.T. et Lorus S., 2004. Microbiologie. Ed., DUNOD. 891 p.
- 109/ Pesce G.P., Taylor K., Muleo R., et Rugini E., 1998. Somatic embryogenesis and shoot regeneration from transgenic roots of the cherry rootstock "Colt" (*Prunus avium* x *P. pseudocerasus*) mediated by pRi 1855 T-DNA of *Agrobacterium rhizogenes*. *Plant Cell Rep*. N°17: 574-580.
- 110/ Porlingis I.C. et Therios I., 1976. Rooting response of juvenile and adult leafy olive cutting to various factors. *J. Hort. Sci.* N°51: 31-39.

- 111/ Prestamburgo M, 1988. La demande mondiale d'huile d'olive. Option Méditerranéennes sur l'économie de l'Olivier. Ed., CIHEAM. Tunisie.108 p.
- 112/ Primrose S., Twyman R. et Old R., 2004. Génie génétique. 1ère édition. Ed., De Boeck. Bruxelles. 262 p.
- 113/ Rama P. et Pontikis C.A., 1990. *In vitro* propagation of olive (*Olea europaea* L) Kalamon. J. Hort. Sci. N°65: 347-353.
- 114/ Rugini E. et Fontanazza G., 1981. *In vitro* propagation of "Dolce Agogia" olive. Hort science. N°4: 492-493.
- 115/ Rugini E. et Mariotti D., 1991 *Agrobacterium rhizogenes* T-DNA genes and rooting in woody species. Acta Horticulturae *in vitro* culture. N°2: 285-305.
- 116/ Rugini E. et Pesce P., 2006. Genetic improvement of olive. Original scientific paper. Pomologia croatica. N°1: 43-74.
- 117/ Rugini E. et Wang X.S., 1986. Effect of polyamines. 5-azacytidine and growth regulators on rooting *in vitro* of fruit trees. treated and untreated with *Agrobacterium rhizogenes*. Proc. Vith Intl. Cong. Plant Tissue and Cell Cult. Minneapolis.N°2: 368-374 p.
- 118/ Rugini E., Pellegrineschi A., Mencuccini A. et Mariotti D., 1991. Increase of rooting ability in the woody species kiwi (*Actinidia deliciosa a. chev.*) by transformation with *Agrobacterium rhizogenes* rol genes. Plant Cell Reports. N°7: 291-295.
- 119/ Rugini E., 1984. *In vitro* propagation of some olive (*Olea europaea sativa l.*) cultivars with different root-ability. andmedium development using analytical data from developing shoots and embryos. Scientia Horticulturae. Perugia. Italy. N°24: 123-134.
- 120/ Rugini E., 1986. Olive (*Olea europaea* L) In Bajaj YPS. Biotechnology in agriculture and forestry. N°1: 253-267.
- 121/ Rugini E., Gutiérrez-Pesce P., Spampinato P., Ciarmiello A. et D'ambrosio C., 1999. New perspective for Biotechnologies in olive breeding: morphogenesis, *in vitro* selection & gene transformation. Acta Hort. N°474: 107-110.
- 122/ Sané D., Borgel A., Chevallier M.H. et Gassma D.Y.K., 2001. Introduction *in vitro* de l'enracinement de microboutures d'*Acacia tortilis* subsp.raddian par traitement transitoire à l'auxine. EDP., Sciences. Ed., INRA. France. 432 p.
- 123/ Scriban R., 1999. Biotechnologie. 5ème édition. Ed., Tec et Doc. Paris.1050 p.
- 124/ Seyhan S et Özzambak E, 1994. Culture de tissus de deux variétés d'olivier turques. Sciences et techniques. Olivae. N°52: 28-29.
- 125/ Shimoda N., Yamamoto A.T., Aoki S. et Machida Y., 1993. Genetic Evidence for an interaction between the VirA sensor Protein and the ChvE Sugar-binding Protein of *Agrobatrium*. The journal of Biological Chemistry.N°35: 26534-26552 p.

- 126/ Silva J.A et Fukai S., 2001. The impact of carbenicillin, cefotaxime and vancomycin on chrysanthemum and tobacco TCL morphogenesis and *Agrobacterium* growth. J. Appl. Hort. N°1:3-12.
- 127/ Somleva M.N., Tomaszewski Z., et Conger B.V., (2002) *Agrobacterium*-Mediated Genetic Transformation of *Switchgrass*. Crops Sciences: N°42: 2084-2085.
- 128/ Souret F.F., Kim Y., Wyslouzil B.E., Wobbe K.K. et Weathers P.J., 2003. Scal-up of *Artimisia annua* L. hairy root cultures produces complex patterns of terpinoid gene expression. Biotechnology and bioengineering. N°83: 653-669.
- 129/ Spencer P.A. et Towers G.H.N., 1988. Phytochemistry. N°9: 2781-2785.
- 130/ Stachel S.E., Messens E., Montagu M.V. et Zambryski P., 1985. Nature. Pro.Natl .Acod . Sci. USA. N°318: 624-629.
- 131/ Stachel S.E., Nester E.W. et Zambryski P.C., 1986. Genetics. Pro.Natl .Acod . Sci. USA. N°83: 379-383.
- 132/ Uti N.H., Kazuki M., Megumi S., Miho K., Yasunobu M., Nobukazu T. et Kazuo Y., 1996. Genom structure of Ri plasmid. Sequencing analysis of the vir region of pRi 1724 in Japanese *Agrobacterium rhizogenes*. Nucleic Acids Symposium. N°44: 159-160.
- 133/ Sutter E., et Luza J., 1993. Developmental anatomy of roots induced by *Agrobacterium rhizogenes* in *Malus pumila* 'M26' shoots grown *in vitro*. International Journal of Plant Sciences. N°154: 59-67.
- 134/ Tao J. et Li L., 2006. Genetic transformation of *Torenia fournieri* L. mediated by *Agrobacterium rhizogenes*. South African journal of Botany. N°72: 211-215.
- 135/ Tao W.P., Yong-Woog L. et Nester E.W., 1998. The phenolic Recognition Profiles of the *Agrobacterium tumefaciens* VirA Protein are Broadened by a Hight level of the Sugar Binding Protein Chv E. American Society for Microbiology. Journal of Bacteriology. N°21: 5619-5632.
- 136/ Tempé J. et Schell J., 1982. Les plasmides pathogènes d'*Agrobacterium* : vecteurs naturels de gènes. Perspectives d'application industrielles du génie génétique. Ed., Tec et doc. Lavoisier: 285 p.
- 137/ Tempé J., 1994. Contribution des recherches sur *Agrobacterium rhizogenes* à la compréhension des phénomènes de morphogenèse. Le BOTANISTE (Revue de cytologie et de Biologie Végétale). N°17: 40-43 p.
- 138/ Tepfer D., 1982. La transformation génétique des plantes supérieures par *Agrobacterium rhizogenes*. 2ème colloque sur les recherches fruitières. Bordeaux. Édition., INRA. CTIFL. Bordeaux: 60 p.
- 139/ Tikhomiroff C., 2002. Mécanismes de transformation de plantes dicotylédones par *A. tumefaciens*. <http://tikho.com/tikho.php>.
- 140/ Touazzani N. et Belkoura I., 2001. Multiplication et certification des plants d'olivier. Un nouvel enjeu pour l'oléiculture du 3^{ème} Millénaire. Actes du séminaire International-Meknès-Maroc. 236 p.

- 141/ Tourte Y., 2002. Génie génétique et Biotechnologies: concept, méthodes et applications agronomiques. 2ème édition. Ed., DUNOD. Biotech-Info. Belgique. 434 p.
- 142/ Tourte Y., 2005. Le monde des végétaux. Organisation, physiologie et génomique. Ed., DUNOD. Paris. 394 p.
- 143/ Touzani A., 2001. Secteur oléicole dans le monde à l'aube du XXIème siècle. Multiplication et certification des plants d'Olivier. Un nouvel enjeu pour l'oléiculture du 3ème millénaire. Acte du séminaire International. Ecole National d'Agriculture de Meknès-Maroc. 236 p.
- 144/ Trigui A., 1987. Relations entre le climat et le sol et la production de la variété Chemlali dans la région de Sfax (Tunisie). Thèse de Doctorat. Montpellier. France. 433 p.
- 145/ Turcotte P., 2000. La Transgénèse: impacts actuels sur la diversité génétique des espèces agricoles. CEROM. N°0: 1-9.
- 146/ Tzfira T. et Citovsky V., 2006. *Agrobacterium*-mediate genetic transformation of plant: biology and biotechnology. Current Opinion in Biotechnology. N°17: 147-150.
- 147/ Tzfira T., Li J., Lacroix B. et Citovsky V., 2004. *Agrobacterium* T-DNA integration: molecules and models. TRENDS in Genetics. N°8: 362-375 p.
- 148/ Tzfira T., Yarnitzky O., Vainstein A., et Altman A., 1996. *Agrobacterium rhizogenes*-mediated DNA transfer in *Pinus halepensis* Mill. Plant Cell Reports. N°16: 26-31.
- 149/ Vilain M., 1997. La production végétale. 2ème édition. Ed., Lavoisier Tec. et Doc. Paris. 390 p.
- 150/ Vilas P., Sinkar E., White F. et Gordon M.P., 1987. Molecular biology of Ri plasmid. J. Biosci. N°4: 47-55.
- 151/ Vincent J.M., 1970. Manual for the practical study of the root nodule bacteria. Ed., IBP. 164 p.
- 152/ Viola P., 1997. L'huile d'olive et la santé. Conseil Oléicole International. Madrid. Espagne. 5 p.
- 153/ Walali D.M.L., 2001. Techniques de micropropagation *in vitro* : Outils pour la multiplication et l'assainissement des variétés d'olivier. Séminaire International. ENA Meknès-Maroc. 236 p.
- 154/ Weil J.H., 2006. Les plantes génétiquement modifiées sont-elles utiles et sûres? Congrès International de Biochimie. Agadir. 34 p.
- 155/ Weller S.A., Stead D.E. et Young J.P.W., 2004. Acquisition of an *Agrobacterium* Ri Plasmid and Pathogenicity by other α -Proteobacteria in Cucumber and Tomato Crops Affected by Root Mat. Applied and Environmental Microbiology. American Society of Microbiology. N° 05: 2756-2779.
- 156/ White F., Ghidossi G., Gordon M.P. et Nester E.W., 1982. Tumor induction by *Agrobacterium rhizogenes* involves the transfer of plasmid DNA to the plant genome

- (hairy root / plant tumorigenesis / root-inducing plasmid).PNAS. USA. N°79: 3193-3194.
- 157/ White F.F., Ghidossi G., Milton P., Gordon M.P. et Nester E.W., 1982. Tumor induction by *Agrobacterium rhizogenes* involves the transfer of plasmid DNA to the plant genome. Botany. N°79: 3193-3197.
- 158/ White F.F., Taylor B.H., Huffman G.A., Gordon M.P. et Nester E.W., 1985. Molecular and genetic analysis of the transferred DNA regions of the root inducing plasmid of *Agrobacterium rhizogenes*. The journal of Bacteriology. N°164: 33-44.
- 159/ Wians S.C., 1992. Two-way chemical signaling in *Agrobacterium*-plant interaction. Microbiological Reviews. N°12: 31-56.
- 160/ Winter P.C., Hickey G.I., et Fletcher H.L., 2000. L'essentiel en génétique. Ed., BERTI. Port Royal livres. Paris. 483 p.
- 161/ Wise A., Voinow L. et Binns A.N., 2005. Intersubunit Complementation of Sugar Signal Transduction in VirA Heterodimers and Posttranslational Regulation of VirA Activity in *Agrobacterium tumefaciens*. Journal of Bacteriology. American Society of Microbiology. N°1: 209-213.
- 162/ Yvon A., 2006. Etude sur la filière oléicole en Algérie, expertise effectuée par le groupe d'étude Geomar International, pour le compte du MADR, Algérie, 46 p.
- 163/ Zhu Y., Nam J., Carpita N.C., Mathysse A.G., et Gelvin S.B., 2003. *Agrobacterium*-Mediated Root Transformation Is Inhibited by Mutation of an *Arabidopsis* Cellulose Synthase-like gene, Nov 2003. Plant physiology. American society of plant Biologists. N°133:1000-1010 p.

Annexes

ANNEXE 1. Essai Préliminaire: boutures herbacées à plusieurs nœuds de la variété Chemlal

1.1. POURCENTAGE DE CALLOGENESE

Analyse de la variance

Tableau de l'ANOVA pour Cal par Souche / Origine bouture

Source	Somme des carrés	Ddl	Carré moyen	F	Probabilité
EFFETS PRINCIPAUX					
Souche /Origine bouture	6,325	3	2,10833	11,18	0,0000
RESIDU	52,0714	276	0,188665		
TOTAL (CORRIGE)	58,3964	279			

Comparaison des moyennes

Méthode: PPDS. 95,0 %

Traitements	Moyenne MC (%)	Groupe homogène
S0A	12,8571	x
S0M	17,1429	x
S1A	40,0000	x
S1M	48,5714	x

1.2. POURCENTAGE DE RHIZOGENESE

Analyse de la variance

Tableau de l'ANOVA pour Racine par Souche / Origine bouture

Source	Somme des carrés	Ddl	Carré moyen	F	Probabilité
EFFETS PRINCIPAUX					
Souche /Origine bouture	10,4679	3	3,48929	29,63	0,0000
RESIDU	32,5	276	0,117754		
TOTAL (CORRIGE)	42,9679	279			

Comparaison des moyennes

Méthode: PPDS. 95,0 %

Traitements	Moyenne MC (%)	Groupe homogène
S0A	4,2857	x
S0M	4,2857	x
S1A	15,714	x
S1M	51,428	x

1.3. NOMBRE MOYEN DE RACINES/BOUTURE

Analyse de la variance

Tableau de l'ANOVA pour Nombre de racines par Souche / Origine bouture

Source	Somme des carrés	Ddl	Carré moyen	F	Probabilité
EFFETS PRINCIPAUX					
Souche /Origine bouture	1319,15	3	439,718	38,24	0,0000
RESIDU	3173,81	276	11,4993		
TOTAL (CORRIGE)	4492,97	279			

Comparaison des moyennes

Méthode: PPDS. 95,0 %

Traitements	Moyenne MC	Ecart-type MC	Groupe homogène
S0A	1,0000	0,0000	x
S0M	1,0000	0,0000	x
S1A	3,0909	1,5540	x
S1M	10,0833	0,8590	x

1.4. LONGUEUR MOYENNE DE RACINES

Analyse de la variance

Tableau de l'ANOVA pour longueurs racines par Souche / Origine bouture

Source	Somme des carrés	Ddl	Carré moyen	F	Probabilité
EFFETS PRINCIPAUX					
Souche / Origine bouture	382,55	3	127,517	38,31	0,0000
RESIDU	918,734	276	3,32875		
TOTAL (CORRIGE)	1301,28	279			

Comparaison des moyennes

Méthode: PPDS. 95,0 %

Traitements	Moyenne MC (cm)	Ecart-type MC	Groupe homogène
S0A	0,6666	1,3015	x
S0M	0,8333	1,3015	x
S1A	3,6618	0,6797	x
S1M	5,5680	0,3757	x

1.5. POURCENTAGE DE RAMIFICATIONS

Analyse de la variance

Tableau de l'ANOVA pour ramifications de racines par Souche / Origine bouture

Source	Somme des carrés	Ddl	Carré moyen	F	Probabilité
EFFETS PRINCIPAUX					
Souche / Origine bouture	725,354	3	241,785	38,82	0,0000
RESIDU	1719,04	276	6,22842		
TOTAL (CORRIGE)	2444,4	279			

Comparaison des moyennes

Méthode: PPDS. 95,0 %

Traitements	Moyenne MC (%)	Groupe homogène
S0A	0,2857	x
S0M	0,4285	x
S1A	2,8571	x
S1M	38,2857	x

ANNEXE 2. Extension de l'essai préliminaire: boutures herbacées à plusieurs nœuds de la variété Chemlal

2.1. POURCENTAGE DE CALLOGENESE

Analyse de la variance

Tableau de l'ANOVA pour Cal par Souche / Origine bouture

Source	Somme des carrés	Ddl	Carré moyen	F	Probabilité
EFFETS PRINCIPAUX					
Souche / Origine bouture	16,525	3	5,50833	42,02	0,0000
RESIDU	20,45	156	0,13109		
TOTAL (CORRIGE)	36,975	159			

Comparaison des moyennes

Méthode: PPDS. 95,0 %

Traitements	Moyenne MC (%)	Groupe homogène
S0A	5,0000	X
S0M	7,5000	X
S1A	50,0000	X
S1M	82,5000	X

2.2. POURCENTAGE DE RHIZOGENESE

Analyse de la variance

Tableau de l'ANOVA pour Racine par Souche / Origine bouture

Source	Somme des carrés	Ddl	Carré moyen	F	Probabilité
EFFETS PRINCIPAUX					
Souche / Origine bouture	9,675	3	3,225	29,42	0,0000
RESIDU	17,1	156	0,109615		
TOTAL (CORRIGE)	26,775	159			

Comparaison des moyennes

Méthode: PPDS. 95,0 %

Traitements	Moyenne MC (%)	Groupe homogène
S0A	0,0000	X
S0M	0,0000	X
S1A	25,0000	X
S1M	60,0000	X

2.3. NOMBRE MOYEN DE RACINES/BOUTURE

Analyse de la variance

Tableau de l'ANOVA pour Nombre de racines par Souche / Origine bouture

Source	Somme des carrés	Ddl	Carré moyen	F	Probabilité
EFFETS PRINCIPAUX					
Souche / Origine bouture	1037,9	3	345,967	26,80	0,0000
RESIDU	2014,0	156	12,9103		
TOTAL (CORRIGE)	3051,9	159			

Comparaison des moyennes

Méthode: PPDS. 95,0 %

Traitements	Moyenne MC	Ecart-type MC	Groupe homogène
S0A	0,0000	0,0000	X
S0M	0,0000	0,0000	X
S1A	3,1000	0,9714	X
S1M	9,7600	0,6143	X

2.4. LONGUEUR MOYENNE DE RACINES

Analyse de la variance

Tableau de l'ANOVA pour longueur de racines par Souche / Origine bouture

Source	Somme des carrés	Ddl	Carré moyen	F	Probabilité
EFFETS PRINCIPAUX					
Souche / Origine bouture	241,492	3	80,4973	15,23	0,0000
RESIDU	824,76	156	5,28692		
TOTAL (CORRIGE)	1066,25	159			

Comparaison des moyennes

Méthode: PPDS. 95,0 %

Traitements	Moyenne MC (cm)	Ecart-type MC	Groupe homogène
S0A	0,0000	0,0000	X
S0M	0,0000	0,0000	X
S1A	3,2280	0,4111	X
S1M	6,5104	0,2600	X

2.5. POURCENTAGE DE RAMIFICATIONS

Analyse de la variance

Tableau de l'ANOVA pour ramifications de racines par Souche / Origine bouture

Source	Somme des carrés	Ddl	Carré moyen	F	Probabilité
EFFETS PRINCIPAUX					
Souche / Origine bouture	24,1188	3	8,03958	17,45	0,0000
RESIDU	71,875	156	0,460737		
TOTAL (CORRIGE)	95,9937	159			

Comparaison des moyennes

Méthode: PPDS. 95,0 %

Traitements	Moyenne MC (%)	Groupe homogène
S0A	0,0000	X
S0M	0,0000	X
S1A	27,5000	X
S1M	95,0000	X

ANNEXE 3. Boutures herbacées à plusieurs nœuds de la variété Ferkani.

3.1. POURCENTAGE DE CALLOGENESE

Analyse de la variance

Tableau de l'ANOVA pour Cal par Souche / Origine bouture

Source	Somme des carrés	Ddl	Carré moyen	F	Probabilité
EFFETS PRINCIPAUX					
Souche / origine bouture	2,46667	3	0,822222	5,02	0,0026
RESIDU	19,0	116	0,163793		
TOTAL (CORRIGE)	21,4667	119			

Comparaison des moyennes

Méthode: PPDS. 95,0 %

Traitements	Moyenne MC (%)	Groupe homogène
S0A	10,0000	X
S0M	13,3333	X
S1A	23,3333	X
S1M	46,6667	X

3.2. POURCENTAGE DE RHIZOGENESE

Analyse de la variance

Tableau de l'ANOVA pour Racine par Souche / Origine bouture

Source	Somme des carrés	Ddl	Carré moyen	F	Probabilité
EFFETS PRINCIPAUX					
Souche / origine bouture	6,16667	3	2,05556	20,21	0,0000
RESIDU	11,8	116	0,101724		
TOTAL (CORRIGE)	17,9667	119			

Comparaison des moyennes

Méthode: PPDS. 95,0 %

Traitements	Moyenne MC (%)	Groupe homogène
S0A	0,0000	X
S0M	3,3333	X
S1A	13,3333	X
S1M	56,6667	X

3.3. NOMBRE MOYEN DE RACINES/BOUTURE

Analyse de la variance

Tableau de l'ANOVA pour Nombre de racines par Souche / Origine bouture

Source	Somme des carrés	Ddl	Carré moyen	F	Probabilité
EFFETS PRINCIPAUX					
Souche / origine bouture	61,6667	3	20,5556	11,37	0,0000
RESIDU	209,8	116	1,80862		
TOTAL (CORRIGE)	271,467	119			

Comparaison des moyennes

Méthode: PPDS. 95,0 %

<i>Traitements</i>	<i>Moyenne MC</i>	<i>Ecart-type MC</i>	<i>Groupe homogène</i>
S0A	0,0000	0,0000	X
S0M	1,0000	0,0000	X
S1A	1,7500	0,9574	X
S1M	3,9411	3,9411	X

3.4. LONGUEUR MOYENNE DE RACINES

Analyse de la variance

Tableau de l'ANOVA pour longueurs racines par Souche / Origine bouture

<i>Source</i>	<i>Somme des carrés</i>	<i>Ddl</i>	<i>Carré moyen</i>	<i>F</i>	<i>Probabilité</i>
EFFETS PRINCIPAUX					
Souche / origine bouture	79,8206	3	26,6069	20,44	0,0000
RESIDU	151,013	116	1,30184		
TOTAL (CORRIGE)	230,834	119			

Comparaison des moyennes

Méthode: PPDS. 95,0 %

<i>Traitements</i>	<i>Moyenne MC (cm)</i>	<i>Ecart-type MC</i>	<i>Groupe homogène</i>
S0A	0,0000	0,0000	X
S0M	1,5000	0,0000	X
S1A	1,9625	1,3110	X
S1M	3,5323	1,0125	X

3.5. POURCENTAGE DE RAMIFICATIONS

Analyse de la variance

Tableau de l'ANOVA pour ramifications de racines par Souche / Origine bouture

<i>Source</i>	<i>Somme des carrés</i>	<i>Ddl</i>	<i>Carré moyen</i>	<i>F</i>	<i>Probabilité</i>
EFFETS PRINCIPAUX					
Souche / origine bouture	18,8667	3	6,28889	11,34	0,0000
RESIDU	64,3333	116	0,554598		
TOTAL (CORRIGE)	83,2	119			

Comparaison des moyennes

Méthode: PPDS. 95,0 %

<i>Traitements</i>	<i>Moyenne MC (%)</i>	<i>Groupe homogène</i>
S0A	0,0000	X
S0M	0,0000	X
S1A	23,3333	X
S1M	96,6667	X

ANNEXE 4. Boutures herbacées à plusieurs nœuds de la variété Boukaila

4.1. POURCENTAGE DE CALLOGENESE

Analyse de la variance

Tableau de l'ANOVA pour Cal par Souche / Origine bouture

Source	Somme des carrés	Ddl	Carré moyen	F	Probabilité
EFFETS PRINCIPAUX					
Souche / origine bouture	7,60714	3	2,53571	14,69	0,0000
RESIDU	18,6429	108	0,172619		
TOTAL (CORRIGE)	26,25	111			

Comparaison des moyennes

Méthode: PPDS. 95,0 %

Traitements	Moyenne MC (%)	Groupe homogène
S0A	7,1428	X
S0M	17,8571	X
S1A	53,5714	X
S1M	71,4286	X

4.2. POURCENTAGE DE RHIZOGENESE

Analyse de la variance

Tableau de l'ANOVA pour Racine par Souche / Origine bouture

Source	Somme des carrés	Ddl	Carré moyen	F	Probabilité
EFFETS PRINCIPAUX					
Souche / origine bouture	3,45536	3	1,15179	11,35	0,0000
RESIDU	10,9643	108	0,101521		
TOTAL (CORRIGE)	14,4196	111			

Comparaison des moyennes

Méthode: PPDS. 95,0 %

Traitements	Moyenne MC (%)	Groupe homogène
S0A	0,0000	X
S0M	0,0000	X
S1A	17,8571	X
S1M	42,8571	X

4.3. NOMBRE MOYEN DE RACINES/BOUTURE

Analyse de la variance

Tableau de l'ANOVA pour Nombre de racines par Souche / Origine bouture

Source	Somme des carrés	Ddl	Carré moyen	F	Probabilité
EFFETS PRINCIPAUX					
Souche / origine bouture	26,0357	3	8,67857	8,99	0,0000
RESIDU	104,214	108	0,964947		
TOTAL (CORRIGE)	130,25	111			

Comparaison des moyennes

Méthode: PPDS. 95,0 %

Traitements	Moyenne MC	Ecart-type MC	Groupe homogène
S0A	0,0000	0,0000	X
S0M	0,0000	0,0000	X
S1A	1,8000	0,3364	X
S1M	2,7500	0,2171	X

4.4. LONGUEUR MOYENNE DE RACINES

Analyse de la variance

Tableau de l'ANOVA pour longueur racines par Souche / Origine bouture

Source	Somme des carrés	Ddl	Carré moyen	F	Probabilité
EFFETS PRINCIPAUX					
Souche / origine bouture	37,4541	3	12,4847	11,49	0,0000
RESIDU	117,337	108	1,08646		
TOTAL (CORRIGE)	154,792	111			

Comparaison des moyennes

Méthode: PPDS. 95,0 %

Traitements	Moyenne MC (cm)	Ecart-type MC	Groupe homogène
S0A	0,0000	0,0000	X
S0M	0,0000	0,0000	X
S1A	1,4000	0,3245	X
S1M	3,2616	0,2094	X

4.5. POURCENTAGE DE RAMIFICATIONS

Analyse de la variance

Tableau de l'ANOVA pour ramifications de racines par Souche / Origine bouture

Source	Somme des carrés	Ddl	Carré moyen	F	Probabilité
EFFETS PRINCIPAUX					
Souche / origine bouture	13,9554	3	4,65179	6,60	0,0004
RESIDU	76,1071	108	0,704696		
TOTAL (CORRIGE)	90,0625	111			

Comparaison des moyennes

Méthode: PPDS. 95,0 %

Traitements	Moyenne MC (%)	Groupe homogène
S0A	0,0000	X
S0M	0,0000	X
S1A	39,2857	X
S1M	85,7143	X

ANNEXE 5. Essai préliminaire: Feuilles herbacées avec le bourgeon axillaire de la variété Chemlal

5.1. POURCENTAGE DE CALLOGENESE

Analyse de la variance

Tableau de l'ANOVA pour Cal par Souche / Origine feuille

<i>Source</i>	<i>Somme des carrés</i>	<i>Ddl</i>	<i>Carré moyen</i>	<i>F</i>	<i>Probabilité</i>
EFFETS PRINCIPAUX					
Souche / Origine feuille	3,9075	3	1,3025	11,12	0,0000
RESIDU	46,39	396	0,117146		
TOTAL (CORRIGE)	50,2975	399			

Comparaison des moyennes

Méthode: PPDS. 95,0 %

<i>Traitements</i>	<i>Moyenne MC (%)</i>	<i>Groupe homogène</i>
S0M	6,0000	X
S1M	6,0000	X
S0A	17,0000	X
S1A	30,0000	X

5.2. POURCENTAGE DE RHIZOGENESE

Analyse de la variance

Tableau de l'ANOVA pour Racine par Souche / Origine feuille

<i>Source</i>	<i>Somme des carrés</i>	<i>Ddl</i>	<i>Carré moyen</i>	<i>F</i>	<i>Probabilité</i>
EFFETS PRINCIPAUX					
Souche/ Origine feuille	1,4075	3	0,469167	14,26	0,0000
RESIDU	13,03	396	0,032904		
TOTAL (CORRIGE)	14,4375	399			

Comparaison des moyennes

Méthode: PPDS. 95,0 %

<i>Traitements</i>	<i>Moyenne MC (%)</i>	<i>Groupe homogène</i>
S0A	0,0000	X
S0M	0,0000	X
S1M	1,0000	X
S1A	14,0000	X

5.3. NOMBRE MOYEN DE RACINES/FEUILLE

Analyse de la variance

Tableau de l'ANOVA pour nombre de racines par Souche / Origine feuille

<i>Source</i>	<i>Somme des carrés</i>	<i>Ddl</i>	<i>Carré moyen</i>	<i>F</i>	<i>Probabilité</i>
EFFETS PRINCIPAUX					
Souche / Origine feuille	22,42	3	7,47333	10,97	0,0000
RESIDU	269,74	396	0,681162		
TOTAL (CORRIGE)	292,16	399			

Comparaison des moyennes

Méthode: PPDS 95,0 %

<i>Traitements</i>	<i>Moyenne MC</i>	<i>Ecart-type MC</i>	<i>Groupe homogène</i>
S0A	0,0000	0,0000	X
S0M	0,0000	0,0000	X
S1M	1,0000	0,0000	X
S1A	3,9230	2,6287	X

5.4. LONGUEUR MOYENNE DE RACINES

Analyse de la variance

Tableau de l'ANOVA pour Longueur de racines par Souche / Origine feuille

<i>Source</i>	<i>Somme des carrés</i>	<i>Ddl</i>	<i>Carré moyen</i>	<i>F</i>	<i>Probabilité</i>
EFFETS PRINCIPAUX					
Souche / Origine feuille	20,5777	3	6,85924	11,00	0,0000
RESIDU	247,039	396	0,623835		
TOTAL (CORRIGE)	267,616	399			

Comparaison des moyennes

Méthode: PPDS. 95,0 %

<i>Traitements</i>	<i>Moyenne MC (cm)</i>	<i>Ecart-type MC</i>	<i>Groupe homogène</i>
S0A	0,0000	0,0000	X
S0M	0,0000	0,0000	X
S1M	3,2000	0,0000	X
S1A	3,7969	2,2722	X

5.5. POURCENTAGE DE RAMIFICATIONS

Analyse de la variance

Tableau de l'ANOVA pour ramifications de racines par Souche / Origine feuille

<i>Source</i>	<i>Somme des carrés</i>	<i>Ddl</i>	<i>Carré moyen</i>	<i>F</i>	<i>Probabilité</i>
EFFETS PRINCIPAUX					
Souche / Origine feuille	11,22	3	3,74	7,68	0,0001
RESIDU	192,78	396	0,486818		
TOTAL (CORRIGE)	204,0	399			

Comparaison des moyennes

Méthode: PPDS. 95,0 %

Traitements	Moyenne MC (%)	Groupe homogène
S0A	0,0000	X
S0M	0,0000	X
S1M	1,0000	X
S1A	39,0000	X

ANNEXE 6. Feuilles herbacées avec le bourgeon axillaire de la variété Ferkani

6.1. POURCENTAGE DE CALLOGENESE

Analyse de la variance

Tableau de l'ANOVA pour Cal par Souche/ Origine feuille

Source	Somme des carrés	Ddl	Carré moyen	F	Probabilité
EFFETS PRINCIPAUX					
Souche /Origine feuille	0,16875	3	0,05625	3,16	0,0263
RESIDU	2,775	156	0,0177885		
TOTAL (CORRIGE)	2,94375	159			

Comparaison des moyennes

Méthode: PPDS. 95,0 %

Traitements	Moyenne MC (%)	Groupe homogène
S0A	0,0000	X
S0M	0,0000	X
S1M	0,0000	X
S1A	7,5000	X

ANNEXE 7. Essai préliminaire: boutures herbacées à un seul nœud de la variété Chemlal

7.1. POURCENTAGE DE CALLOGENESE

Analyse de la variance

Tableau de l'ANOVA pour Cal par Souche / Origine bouture

Source	Somme des carrés	Ddl	Carré moyen	F	Probabilité
EFFETS PRINCIPAUX					
Souche / origine bouture	10,3905	5	2,0781	21,73	0,0000
RESIDU	39,6	414	0,0956522		
TOTAL (CORRIGE)	49,9905	419			

Comparaison des moyennes

Méthode: PPDS. 95,0 %

Traitements	Moyenne MC (%)	Groupe homogène
S0B	1,4285	X
S0A	1,4285	X
S0M	1,4285	X
S1B	14,2857	X
S1A	21,4286	X
S1M	44,2857	X

7.2. POURCENTAGE DE RHIZOGENESE

Analyse de la variance

Tableau de l'ANOVA pour Racine par Souche / Origine bouture

Source	Somme des carrés	Ddl	Carré moyen	F	Probabilité
EFFETS PRINCIPAUX					
Souche / origine bouture	0,190476	5	0,0380952	4,18	0,0010
RESIDU	3,77143	414	0,00910973		
TOTAL (CORRIGE)	3,9619	419			

Comparaison des moyennes

Méthode: PPDS. 95,0 %

Traitements	Moyenne MC (%)	Groupe homogène
S0A	0,0000	X
S0B	0,0000	X
S0M	0,0000	X
S1A	0,0000	X
S1B	0,0000	X
S1M	5,7142	X

7.3. NOMBRE MOYEN DE RACINES/BOUTURE

Analyse de la variance

Tableau de l'ANOVA pour Nombre de racines par Souche / Origine bouture

Source	Somme des carrés	Ddl	Carré moyen	F	Probabilité
EFFETS PRINCIPAUX					
Souche / origine bouture	0,190476	5	0,0380952	4,18	0,0010
RESIDU	3,77143	414	0,00910973		
TOTAL (CORRIGE)	3,9619	419			

Comparaison des moyennes

Méthode: PPDS. 95,0 %

Traitements	Moyenne MC	Ecart-type MC	Groupe homogène
S0A	0,0000	0,0000	X
S0M	0,0000	0,0000	X
S0B	0,0000	0,0000	X
S1B	0,0000	0,0000	X
S1A	0,0000	0,0000	X
S1M	1,0000	0,0000	X

7.4. LONGUEUR MOYENNE DE RACINES

Analyse de la variance

Tableau de l'ANOVA pour longueurs racines par Souche / Origine bouture

Source	Somme des carrés	Ddl	Carré moyen	F	Probabilité
EFFETS PRINCIPAUX					
Souche / origine bouture	1,44048	5	0,288095	2,42	0,0352
RESIDU	49,2714	414	0,119013		
TOTAL (CORRIGE)	50,7119	419			

Comparaison des moyennes

Méthode: PPDS. 95,0 %

Traitements	Moyenne MC (cm)	Ecart-type MC	Groupe homogène
S0A	0,0000	0,0000	X
S0M	0,0000	0,0000	X
S0B	0,0000	0,0000	X
S1A	0,0000	0,0000	X
S1B	0,0000	0,0000	X
S1M	2,7500	2,6299	X

7.5. POURCENTAGE DE RAMIFICATIONS

Analyse de la variance

Tableau de l'ANOVA pour ramifications de racines par Souche / Origine bouture

Source	Somme des carrés	Ddl	Carré moyen	F	Probabilité
EFFETS PRINCIPAUX					
Souche / origine bouture	0,047619	5	0,00952381	2,03	0,0735
RESIDU	1,94286	414	0,00469289		
TOTAL (CORRIGE)	1,99048	419			

Comparaison des moyennes

Méthode: PPDS. 95,0 %

Traitements	Moyenne MC (%)	Groupe homogène
S0A	0,0000	X
S0M	0,0000	X
S0B	0,0000	X
S1A	0,0000	X
S1B	0,0000	X
S1M	28,5714	X

ANNEXE 8. Effet de l'origine bouture sur la partie aérienne**8.1. LONGUEUR DE POUSSE/BOUTURE RACINÉE****Analyse de la variance**

Tableau de l'ANOVA pour longueur de pousse par Souche / Origine bouture

<i>Source</i>	<i>Somme des carrés</i>	<i>Ddl</i>	<i>Carré moyen</i>	<i>F</i>	<i>Probabilité</i>
EFFETS PRINCIPAUX					
Souches / Origines bouture	400,207	3	133,402	15,12	0,0000
RESIDU	2435,16	276	8,82306		
TOTAL (CORRIGE)	2835,37	279			

Comparaison des moyennes

Méthode: PPDS. 95,0 %

<i>Traitements</i>	<i>Moyenne MC (cm)</i>	<i>Ecart-type MC</i>	<i>Groupe homogène</i>
S0A	1,0000	0,0000	X
S0M	1,6666	0,5773	X
S1A	4,5888	4,5041	X
S1M	10,1500	5,8644	X

8.2. NOMBRE DE FEUILLES PAR POUSSE**Analyse de la variance**

Tableau de l'ANOVA pour Nombre Feuilles par Souche / Origine bouture

<i>Source</i>	<i>Somme des carrés</i>	<i>Ddl</i>	<i>Carré moyen</i>	<i>F</i>	<i>Probabilité</i>
EFFETS PRINCIPAUX					
Souches / Origines bouture	1153,4	3	384,467	21,20	0,0000
RESIDU	5006,09	276	18,138		
TOTAL (CORRIGE)	6159,49	279			

Comparaison des moyennes

Méthode: PPDS. 95,0 %

<i>Traitements</i>	<i>Moyenne MC</i>	<i>Ecart-type MC</i>	<i>Groupe homogène</i>
S0A	1,6666	0,5773	X
S0M	2,3333	0,5773	X
S1A	4,5888	4,5041	X
S1M	12,2000	7,5099	X

8.3. DIAMETRE MOYEN DE POUSES

Analyse de la variance

Tableau de l'ANOVA pour Diamètre de pousses par Souche / Origine bouture

Source	Somme des carrés	Ddl	Carré moyen	F	Probabilité
EFFETS PRINCIPAUX					
Souches / Origines bouture	0,483527	3	0,161176	19,94	0,0000
RESIDU	2,23146	276	0,00808502		
TOTAL (CORRIGE)	2,71499	279			

Comparaison des moyennes

Méthode: PPDS. 95,0 %

Traitements	Moyenne MC (cm)	Ecart-type MC	Groupe homogène
S0A	0,0833	0,0288	X
S0M	0,1000	0,0000	X
S1A	0,1644	0,1494	X
S1M	0,2600	0,1429	X

8.4. POIDS FRAIS DE LA PARTIE AERIENNE

Analyse de la variance

Tableau de l'ANOVA pour poids frais partie aérienne par Souche / Origine bouture

Source	Somme des carrés	Ddl	Carré moyen	F	Probabilité
EFFETS PRINCIPAUX					
Souches / Origines bouture	104,818	3	34,9394	25,88	0,0000
RESIDU	372,59	276	1,34997		
TOTAL (CORRIGE)	477,409	279			

Comparaison des moyennes

Méthode: PPDS. 95,0 %

Traitements	Moyenne MC (g)	Ecart-type MC	Groupe homogène
S0A	0,7143	0,3013	X
S0M	0,7853	0,3200	X
S1A	2,3752	1,4608	X
S1M	4,4251	1,3561	X

8.5. POIDS SEC DE LA PARTIE AERIENNE

Analyse de la variance

Tableau de l'ANOVA pour poids sec partie aérienne par Souche / Origine bouture

Source	Somme des carrés	Ddl	Carré moyen	F	Probabilité
EFFETS PRINCIPAUX					
Souches / Origines bouture	18,9409	3	6,31364	29,73	0,0000
RESIDU	58,6065	276	0,212342		
TOTAL (CORRIGE)	77,5474	279			

Comparaison des moyennes

Méthode: PPDS. 95,0 %

Traitements	Moyenne MC (g)	Ecart-type MC	Groupe homogène
S0A	0,1540	0,0157	X
S0M	0,3340	0,2633	X
S1A	1,0069	0,5974	X
S1M	1,6626	0,5145	X

ANNEXE 9. Effet de l'origine de la bouture sur la partie racinaire

9.1. LONGUEUR DE LA RACINE PRINCIPALE/ BOUTURE RACINÉE

Analyse de la variance

Tableau de l'ANOVA pour longueur racine principale par Souche / Origine bouture

Source	Somme des carrés	Ddl	Carré moyen	F	Probabilité
EFFETS PRINCIPAUX					
Souches / Origines bouture	3850,43	3	1283,48	33,05	0,0000
RESIDU	10717,3	276	38,8308		
TOTAL (CORRIGE)	14567,7	279			

Comparaison des moyennes

Méthode: PPDS. 95,0 %

Traitements	Moyenne MC (cm)	Ecart-type MC	Groupe homogène
S0A	1,4166	0,6291	X
S0M	2,5000	0,5000	X
S1A	14,2531	8,5618	X
S1M	19,8660	9,5403	X

9.2. NOMBRE DE RACINES/ BOUTURE RACINÉE

Analyse de la variance

Tableau de l'ANOVA pour nombre de racines par Souche / Origine bouture

Source	Somme des carrés	Ddl	Carré moyen	F	Probabilité
EFFETS PRINCIPAUX					
Souches / Origines bouture	822,582	3	274,194	24,14	0,0000
RESIDU	3134,61	276	11,3573		
TOTAL (CORRIGE)	3957,2	279			

Comparaison des moyennes

Méthode: PPDS. 95,0 %

Traitements	Moyenne MC	Ecart-type MC	Groupe homogène
S0A	1,6666	1,1547	X
S0M	3,3333	0,5773	X
S1A	6,6888	4,8091	X
S1M	11,9000	3,9567	X

9.3. DIAMETRE MOYEN DE LA RACINE PRINCIPALE

Analyse de la variance

Tableau de l'ANOVA pour diamètre racine principale par Souche / Origine bouture

Source	Somme des carrés	Ddl	Carré moyen	F	Probabilité
EFFETS PRINCIPAUX					
Souches / Origines bouture	1,11278	3	0,370925	40,26	0,0000
RESIDU	2,53371	275	0,00921348		
TOTAL (CORRIGE)	3,64648	278			

Comparaison des moyennes

Méthode: PPDS. 95,0 %

Traitements	Moyenne MC (cm)	Ecart-type MC	Groupe homogène
S0A	0,1166	0,0288	X
S0M	0,1333	0,0577	X
S1A	0,2050	0,0761	X
S1M	0,2437	0,1579	X

9.4. POIDS FRAIS DE LA PARTIE RACINAIRE

Analyse de la variance

Tableau de l'ANOVA pour poids frais partie racinaire par Souche / Origine bouture

Source	Somme des carrés	Ddl	Carré moyen	F	Probabilité
EFFETS PRINCIPAUX					
Souches / Origines bouture	128,791	3	42,9303	32,33	0,0000
RESIDU	366,523	276	1,32798		
TOTAL (CORRIGE)	495,313	279			

Comparaison des moyennes

Méthode: PPDS. 95,0 %

Traitements	Moyenne MC (g)	Ecart-type MC	Groupe homogène
S0A	0,9326	0,1016	X
S0M	1,0090	0,3395	X
S1A	2,6432	1,7673	X
S1M	3,4306	1,0676	X

9.5. POIDS SEC DE LA PARTIE RACINAIRE

Analyse de la variance

Tableau de l'ANOVA pour poids sec partie racinaire par Souche / Origine bouture

Source	Somme des carrés	Ddl	Carré moyen	F	Probabilité
EFFETS PRINCIPAUX					
Souches / Origines bouture	5,6468	3	1,88227	29,92	0,0000
RESIDU	17,3646	276	0,0629154		
TOTAL (CORRIGE)	23,0114	279			

Comparaison des moyennes

Méthode: PPDS. 95,0 %

Traitements	Moyenne MC (g)	Ecart-type MC	Groupe homogène
S0A	0,2433	0,0534	x
S0M	0,3053	0,2094	x
S1A	0,5588	0,3524	x
S1M	0,7864	0,3411	x

ANNEXE 10. Effet de l'antibiotique sur le développement des plants transformés

10.1. LONGUEUR DE POUSSE/ BOUTURE RACINÉE

Analyse de la variance

Tableau de l'ANOVA pour longueur de pousse par Souche / Origine bouture

Source	Somme des carrés	Ddl	Carré moyen	F	Probabilité
EFFETS PRINCIPAUX					
Souches / Origines bouture	40,1111	1	40,1111	1,95	0,1712
RESIDU	697,861	34	20,5253		
TOTAL (CORRIGE)	737,972	35			

Résumés statistiques

Traitements	Moyenne MC (cm)	Ecart-type MC
Eau distillée	3,4166	1,0678
Antibiotique	5,5277	1,0678

10.2. NOMBRE DE FEUILLES/POUSSE

Analyse de la variance

Tableau de l'ANOVA pour nombre de feuilles par Souche / Origine bouture

Source	Somme des carrés	Ddl	Carré moyen	F	Probabilité
EFFETS PRINCIPAUX					
Souches / Origines bouture	4,0	1	4,0	0,07	0,7947
RESIDU	1978,22	34	58,183		
TOTAL (CORRIGE)	1982,22	35			

Résumés statistiques

<i>Traitements</i>	<i>Moyenne MC</i>	<i>Ecart-type MC</i>
Eau distillée	7,8888	1,7978
Antibiotique	8,5555	1,7978

10.3. DIAMETRE MOYEN DE POUSES

Analyse de la variance

Tableau de l'ANOVA pour diamètre de pousses par Souche / Origine bouture

<i>Source</i>	<i>Somme des carrés</i>	<i>Ddl</i>	<i>Carré moyen</i>	<i>F</i>	<i>Probabilité</i>
EFFETS PRINCIPAUX					
Souches / Origines bouture	0,0025	1	0,0025	0,11	0,7445
RESIDU	0,787222	34	0,0231536		
TOTAL (CORRIGE)	0,789722	35			

Résumés statistiques

<i>Traitements</i>	<i>Moyenne MC(cm)</i>	<i>Ecart-type MC</i>
Antibiotique	0,1888	0,0358
Eau distillée	0,2055	0,0358

10.4. POIDS FRAIS DE LA PARTIE AERIENNE

Analyse de la variance

Tableau de l'ANOVA pour poids frais de la partie aérienne par Souche / Origine bouture

<i>Source</i>	<i>Somme des carrés</i>	<i>Ddl</i>	<i>Carré moyen</i>	<i>F</i>	<i>Probabilité</i>
EFFETS PRINCIPAUX					
Souches / Origines bouture	0,610742	1	0,610742	0,24	0,6298
RESIDU	87,7875	34	2,58198		
TOTAL (CORRIGE)	88,3982	35			

Résumés statistiques

<i>Traitements</i>	<i>Moyenne MC(g)</i>	<i>Ecart-type MC</i>
Eau distillée	2,1863	0,3787
Antibiotique	2,4468	0,3787

10.5. POIDS SEC DE LA PARTIE AERIENNE

Analyse de la variance

Tableau de l'ANOVA pour poids sec partie aérienne par Souche / Origine bouture

<i>Source</i>	<i>Somme des carrés</i>	<i>Ddl</i>	<i>Carré moyen</i>	<i>F</i>	<i>Probabilité</i>
EFFETS PRINCIPAUX					
Souches / Origines bouture	0,255025	1	0,255025	0,54	0,4664
RESIDU	15,9786	34	0,469958		
TOTAL (CORRIGE)	16,2336	35			

Résumés statistiques

Traitements	Moyenne MC (g)	Ecart-type MC
Eau distillée	0,8630	0,1615
Antibiotique	1,0313	0,1615

10.6. LONGUEUR DE LA RACINE PRINCIPALE

Analyse de la variance

Tableau de l'ANOVA pour longueur de racine par Souche / Origine bouture

Source	Somme des carrés	Ddl	Carré moyen	F	Probabilité
EFFETS PRINCIPAUX					
Souches / Origines bouture	10,5625	1	10,5625	0,11	0,7399
RESIDU	3205,57	34	94,2816		
TOTAL (CORRIGE)	3216,14	35			

Résumés statistiques

Traitements	Moyenne MC(cm)	Ecart-type MC
Eau distillée	12,9622	2,2886
Antibiotique	14,0456	2,2886

10.7. NOMBRE DE RACINES/ BOUTURE RACINÉE

Analyse de la variance

Tableau de l'ANOVA pour nombre de racines par Souche / Origine bouture

Source	Somme des carrés	Ddl	Carré moyen	F	Probabilité
EFFETS PRINCIPAUX					
Souches / Origines bouture	38,0278	1	38,0278	1,76	0,1938
RESIDU	735,611	34	21,6356		
TOTAL (CORRIGE)	773,639	35			

Résumés statistiques

Traitements	Moyenne MC	Ecart-type MC
Eau distillée	5,2777	1,0963
Antibiotique	7,3333	1,0963

10.8. DIAMETRE DE LA RACINE PRINCIPALE

Analyse de la variance

Tableau de l'ANOVA pour diamètre racine principale par Souche / Origine bouture

Source	Somme des carrés	Ddl	Carré moyen	F	Probabilité
EFFETS PRINCIPAUX					
Souches / Origines bouture	0,0004	1	0,0004	0,02	0,8984
RESIDU	0,8217	34	0,0241676		
TOTAL (CORRIGE)	0,8221	35			

Résumés statistiques

<i>Traitements</i>	<i>Moyenne MC (cm)</i>	<i>Ecart-type MC</i>
Eau distillée	0,2250	0,0366
Antibiotique	0,2316	0,0366

10.9. POIDS FRAIS DE LA PARTIE RACINAIRE**Analyse de la variance**

Tableau de l'ANOVA pour poids frais de la partie racinaire par Souche / Origine bouture

<i>Source</i>	<i>Somme des carrés</i>	<i>Ddl</i>	<i>Carré moyen</i>	<i>F</i>	<i>Probabilité</i>
EFFETS PRINCIPAUX					
Souches / Origines bouture	0,00315469	1	0,00315469	0,00	0,9767
RESIDU	123,769	34	3,64027		
TOTAL (CORRIGE)	123,772	35			

Résumés statistiques

<i>Traitements</i>	<i>Moyenne MC (g)</i>	<i>Ecart-type MC</i>
Antibiotique	2,7522	0,4497
Eau distillée	2,7709	0,4497

10.10. POIDS SEC DE LA PARTIE RACINAIRE**Analyse de la variance**

Tableau de l'ANOVA pour poids sec de la partie racinaire par Souche / Origine bouture

<i>Source</i>	<i>Somme des carrés</i>	<i>Ddl</i>	<i>Carré moyen</i>	<i>F</i>	<i>Probabilité</i>
EFFETS PRINCIPAUX					
Souches / Origines bouture	0,0279447	1	0,0279447	0,17	0,6808
RESIDU	5,51976	34	0,162346		
TOTAL (CORRIGE)	5,5477	35			

Résumés statistiques

<i>Traitements</i>	<i>Moyenne MC (g)</i>	<i>Ecart-type MC</i>
Eau distillée	0,5121	0,0949
Antibiotique	0,5678	0,0949