

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

المدرسة الوطنية العليا للفلاحة – الحراش - الجزائر

ECOLE NATIONALE SUPERIEURE AGRONOMIQUE

EL HARRACH – ALGER (ENSA)

THESE

En vue de l'obtention du diplôme de MAGISTER en Sciences agronomiques

Spécialité : Phytopathologie

Option : Amélioration des plantes à la résistance aux maladies.

THEME

REGENERATION *IN VITRO* DE PLANTS SAINS A PARTIR D'APEX CAULINAIRES D'OLIVIER *Olea europea* L. var. CHEMLAL.

Présentée par :

Mme. TABTI Dalila

Membres du jury :

Mr. KHELIFI L.	Professeur	ENSA	Président
Mme. YAKOUB-BOUGDAL S.	Maître de conférences	UMMTO	Directeur de thèse
Mr. BELARBI B.	Maître de conférences	ENSA	Examineur

ANNEE UNIVERSITAIRE 2008-2009

REMERCIEMENTS

- Je commence par exprimer ma profonde reconnaissance à Mme. Yakoub-Bougdal S. qui m'a accueillie dans son laboratoire de culture *in vitro*. C'est grâce à elle que j'ai pu mener à bien mon expérimentation, elle m'a fait profiter de ses enseignements, de son expérience et de sa grande compétence dans ce domaine.
- Ma gratitude va également à M. Khelifi L. professeur à l'ENSA, qui a avec beaucoup d'amabilité accepté de présider le jury.
- Que M. Belarbi B. Maître de conférences à l'ENSA, trouve ici mes remerciements les plus vifs pour avoir accepté de faire partie du jury.
- Un remerciement particulier s'adresse à M. Allili N. chargé de cours à l'UMMTO pour son aide précieuse dans les analyses statistiques.
- Mes profonds sentiments de gratitude vont à mon mari M. Chelli M. chargé de cours à l'université A. Mira de Bejaia, pour ses précieux conseils et l'aide constante qu'il m'a fournie.
- Que toute ma très chère famille et ma belle-mère trouvent ici mes sentiments les plus profonds.
- Je ne cesserai de remercier mon petit trésor Moumouh, qui m'a apporté bonheur et qui a été pendant ses années patientes avec sa maman.
- Ma reconnaissance va également à tous mes collègues du laboratoire de culture *in vitro* de Tizi-Ouzou.
- Je remercie vivement M. Abdelkrim H. professeur à l'ENSA.

Il m'est particulièrement agréable de remercier ici tous ceux qui m'ont à titre divers, facilité la tâche par leurs conseils et leurs aides.

Résumé

Nos essais ont concerné le matériel adulte de l'olivier *Olea europea* L. var. Chemlal. Des apex caulinaires et axillaires, issus de plants mères atteints de la maladie dite tuberculose de l'olivier, provoquée par la bactérie *Pseudomonas syringae* subsps. *savastanoi*, sont excisés et mis en culture sur le milieu de Murashige et Skoog 1962 (M.S) additionné de BAP à 1, 1.5 et 2 mg/l. Les apex axillaires sont prélevés des boutures médianes.

Le taux de réactivité des bourgeons est plus élevé avec les concentrations de 1 et 2 mg/l de BAP soit respectivement 63.63 % et 73.64%. Le meilleur taux de développement des pousses est obtenu avec 1mg/l (71.42%).

L'induction racinaire des pousses feuillées est réalisée sur le milieu MS/2 (dilué de moitié), additionné d'ANA (0.01mg/l). Après quatre semaines de culture, un enracinement de 80% a été obtenu.

Mots clés : *Olea europea* L., apex, phytohormones, caulogénèse, rhizogénèse.

Abstract

Our trials conducted concerned adult material from the olive tree *Olea europea* L. var. Chemlal. Apices and axillary buds, resulting from seedlings mothers are excised and put in culture on the medium of Murashige and Skoog 1962 (MS) added with BAP with 1, 1.5 and 2mg/l.

The rate of reactivity of the buds is higher with the concentrations of 1 and 2mg/l BAP is respectively 63, 63% and 73, 64%. The best rate of development of the growths is obtained with 1mg/l (71, 42%).

Roots induction of the broken into leaf growths is carried out on medium MS/2 (diluted half), added with NAA (0,01mg/l). After four weeks of culture, 80% of the vitroplants are rooted..

Key words: *Olea europea* L., apices, phytohormones, caulogenesis, rhizogenesis.

الملخص

تجاربنا تخص المادة النباتية لشجر الزيتون الهالغ، من نوع " شمالال". وضعت البراعم الجانبية و المحورية المنزوعة من الشجرة الأم التي قد تعرضت لمرض سل الزيتون الذي تسببه بكتيريا *Pseudomonas syringae subsp Savastanoi* للزراعت في الوسط الحيوي MS (1962) المضاف إليه الهرمون النباتي PAB بتركيز 1, 1,5 و 2 مغ/ل. نزلت البراعم الجانبية من الأغصان الواقعة في وسط الشجرة. نسب نمو و تطور البراعم التي زرعت في الوسط MS المضاف إليه PAB بتركيز 1 و 2 مغ/ل هي على التوالي: 63,63 و 64,73%. النسبة الأفضل لنمو البراعم، تحصلنا عليها بإضافة 1مغ/ل من PAB و التي بلغت 71,42%. لتحريض نمو الجذور قمنا بزراعة البراعم المورقة في الوسط الحيوي MS /2 أي في الوسط MS المخفف مرتين، هذا الأخير الذي أضفنا له الهرمون النباتي ANA بتركيز 0,01 مغ/ل. بعد أربعة أسابيع من الزراعة لحضنا نمو الجذور بنسبة قدرها 80%.

كلمات البحث: براعم ، هرمونات نباتية , تكوين الساق , تكوين الجذور.

Liste des tableaux

N° page

Tab1	: Production d'huile d'olive en milliers de tonnes.....	4
Tab.2	: Evolution des surfaces oléicoles en Algérie.....	5
Tab.3	: Evolution de la production d'olives totales, d'olives de table et d'olives à huile en Algérie.....	6
Tab.4	: Les constituants de la pulpe d'olive (<i>Olea europea</i> L.).....	17
Tab.5	: Critères thermiques de l'olivier (<i>Olea europea</i> L.).....	23
Tab.6	: Comparaison statistique deux à deux du bourgeonnement en fonction du milieu de culture.....	58
Tab.7	: Comparaison statistique deux à deux du développement des bourgeons en pousses en fonction du milieu de culture.....	58

Liste des figures

Fig.1	: Origine et expansion de l'olivier.....	3
Fig.2	: Carences observées sur les feuilles.....	12
Fig.3	: Schéma d'un rameau fructifère de l'olivier.....	13
Fig.4	: Rameau fructifère de l'olivier.....	13
Fig.5	: Grappes florales de l'olivier.....	14
Fig.6	: Fleurs de l'olivier.....	14
Fig.7	: Schéma d'une fleur d'olivier avec deux pétales rabattus.....	14
Fig.8	: Détail d'une semence d'olivier var. Chemlal.....	15
Fig.9	: Coupe longitudinale axiale du fruit de l'olivier (var. Chemlal).....	16
Fig.10	: Les stades repères de l'évolution de la fleur de l'olivier.....	20
Fig.11	: Effets organogènes des régulateurs de croissance <i>in vitro</i>	33
Fig.12	: a: Méristème caulinaire de l' <i>Olea europea</i> L. (var. Chemlal)..... b: Section axiale du dôme caulinaire (MC) du bourgeon terminal.	37
Fig.13	: a: Méristème caulinaire d'un bourgeon axillaire..... b: Coupe longitudinale axiale du dôme caulinaire du bourgeon axillaire.	38
Fig.14	: <i>Olea europea</i> L. var. Chemlal.....	41
Fig.15	: Bouture de la variété Chemlal.....	43
Fig.16	: Tumeurs au niveau d'un rameau de l'olivier <i>Olea europea</i> L. var. Chemlal.....	42
Fig.17	: Imbibition des graines après 4 jours.....	44
Fig.18	: Schéma général de la micropropagation de l'olivier <i>Olea europea</i> L.....	46

Fig.19 : Influence des milieux de base sur la réactivité des embryons de l'olivier.....	47
Fig.20 : Influence de la combinaison hormonale ANA (0,1mg/l)+BAP (1mg/l) sur la réactivité des embryons de l'olivier.....	50
Fig.21 : Influence de la combinaison hormonale ANA (0,1mg/l)K+KIN (1mg/l) sur la réactivité des embryons de l'olivier.....	51
Fig.22 : Action du milieu de culture sur le bourgeonnement et le développement des bourgeons en pousses.....	57
Fig.23 : Action des différentes concentrations de la BAP et de la GA ₃ en milieu MS sur le bourgeonnement et le développement des bourgeons en pousses.....	60
Fig.24 : Action des différentes concentrations de la BAP et de la GA ₃ en milieu DKW sur le bourgeonnement et le développement des bourgeons en pousses.....	61
Fig.25 : Microbouture cultivée sur MS + BAP (2 mg/l).....	62

Liste des planches

Planche 1 : Embryons d'olivier <i>Olea europea</i> L. var .Chemlalensemencés sur les milieux de base.....	49
Planche 2 : Embryons d'olivier (var. Chemlal)ensemencés sur les différents milieux de culture avec la combinaison hormonale : ANA (0.1mg/l) + BAP (1mg/l).....	53
Planche 3 : Embryons d'olivier (var. Chemlal)ensemencés sur les différents milieux de culture avec la combinaison hormonale : ANA (0.1mg/l) + KIN (1mg/l).....	55
Planche 4 : Microboutures d'olivier <i>Olea europea</i> . L cultivées sur les milieux de base.....	59
Planche 5 : Apex caulinaires cultivés sur le milieu MS + BAP (1 mg/l) et MS + BAP (1 mg/l) + GA ₃ (0,1mg/l).....	64
Planche 6 : Prolifération de cals sur le milieu DKW + BAP (1mg/l) (Gx8) et sur MS + BAP (1mg/l).....	65
Planche 7 : Transfert des vitroplants sur le milieu MS/2 + A.N.A. (0,01mg/l).....	68

Abréviations

ANA	: Acide α naphtalène acétique
BAP	: 6 – benzyl-aminopurine
CG	: Capacité de germination
COI	: Conseil Oléicole International.
DKW	: Driver et Kuniyuki.
EG	: Eau gélosée.
FNRDA	: Fonds National de Régularisation et de Développement Agricole.
GA ₃	: Acide gibbéréllique
HgCl ₂	: Bichlorure mercurique.
INRA	: Institut National de la Recherche Agronomique.
KIN	: 6- furfuryl- aminopurine = Kinétine.
MADR	: Ministère de l'Agriculture et du Développement Rural.
MS	: Murashige et Skoog.
MS/2	: MS dilué de moitié.
OEPP	: Organisation Européenne pour la protection des plantes.
PNDA	: Plan National de Développement Agricole.
SAU	: Surface Agricole Utile.
TL	: Temps de latence
UMMTO	: Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou.
Var.	: Variété.

SOMMAIRE

Introduction	1
Chapitre 1 : Synthèse bibliographique	
1-Importance économique de l'olivier.....	3
1-1- Origine et expansion de l'olivier.....	3
1-2- Superficie et production du patrimoine oléicole dans le monde.....	4
1-3- Le patrimoine oléicole en Algérie.....	5
1-3-1 - Superficie et production.....	5
1-3-2 - Distribution des zones de production.....	6
2 - Caractéristiques morphologiques et physiologiques de l'olivier	7
2-1- Systématique	7
2-2- Les différentes variétés d'olivier en Algérie et les variétés introduites	8
2-3- Les variétés d'olivier cultivées dans le monde.....	9
2-4- Caractéristiques morphologiques.....	9
2-4-1- Le système racinaire.....	9
2-4-2- Le système aérien.....	10
2-4-2-1- Le tronc.....	10
2-4-2-2- Les charpentières.....	10
2-4-2-3- La frondaison.....	10
2-4-2-4- Les rameaux fructifères.....	13
2-4-2-5- Les inflorescences et fleurs.....	14
2-4-2-6- Le fruit de la chemlal (l'olive).....	15
2-5- Caractéristiques physiologiques et cycle végétatif annuel	18
2-6- Alternance.....	19
3 - Les techniques de propagation de l'olivier.....	19
3-1- Méthodes traditionnelles.....	21
3-1-1 - Bouturage ligneux.....	21
3-1-2 - Bouturage par souchets.....	21
3-1-3 - Drageonnage.....	21
3-1-4 - Marcottage en cépée.....	21
3-1-5 - Greffage sur oléastre.....	21
3-1-6 - Bouturage semi-ligneux.....	21

3-1-7 - Semi de noyaux suivis de greffage.....	21
3-2 -Exigences écologiques de l'olivier.....	23
3-2-1- Exigences climatiques.....	23
- La température.....	23
- La pluviométrie.....	23
- L'hygrométrie.....	24
- La lumière.....	24
- Les vents.....	24
- Les brouillards.....	24
- La grêle.....	24
- La neige.....	25
3-2-2- Exigences édaphiques.....	25
3-2-3- L'altitude.....	25
4- Ravageurs, nématodes et maladies de l'olivier.....	25
4-1- Les ravageurs.....	25
4-2- Les nématodes phytoparasites.....	25
4-3- Les maladies fongiques.....	26
4-4- Les maladies bactériennes.....	26
4-5- Les maladies virales.....	27
5- La culture <i>in vitro</i>	27
5-1-Historique.....	28
5-2- Fondements de la culture <i>in vitro</i>	30
5-3- Les avantages et les inconvénients de la culture <i>in vitro</i>	30
5-4- Techniques de réalisation des cultures.....	31
5-4-1- Conditions d'asepsie.....	31
5-4-2- Milieux de culture.....	31
5-4-3 - Composition chimique.....	31
5-4-4- Les substances organiques.....	31
5-4-5- Les régulateurs de croissance (phytohormones).....	32
5-5-Les techniques de la culture <i>in vitro</i>	35
5-5-1- Culture de méristèmes.....	36
5-5-2-La micropropagation.....	39
5-5-3-Embryogenèse somatique.....	39
5-5-4-Haplodiploïdisation.....	40
5-5-5-Création de variabilité.....	40

5-5-6-Les protoplastes.....	40
Chapitre 2 : Matériels et méthodes	
1- Matériel végétal.....	41
1-1- Les graines.....	43
1-2- Les embryons.....	43
1-3- Les explants : microboutures et apex issus de plants adultes.....	43
2- Stérilisation	43
2-1- Les graines	43
2-2- Les explants : microboutures et apex issus de plants adultes.....	44
3- Conditions de culture.....	44
4- Protocole expérimental.....	45
4-1-Les embryons.....	45
4-2-Les apex axillaires et caulinares.....	45
5- Observations.....	46
6- L'analyse statistique.....	46
Chapitre 3 : Résultats et discussion	
1-Modes d'expression de la germination.....	47
1-1-Temps de latence.....	47
1-2-Capacité de germination.....	47
2- Influence des milieux de base (EG, MS, DKW, RUGINI) sur la culture des embryons....	47
3- Influence des régulateurs de croissance auxine / cytokinines (ANA (0.1mg/l), BAP (1mg/l), KIN (1mg/l)) sur la culture des embryons.....	50
4- Action des milieux de base (EG, MS, DKW) sur la culture des apex axillaires et caulinares.....	57
5-Action des régulateurs de croissance (BAP (1, 1.5 , 2mg/l), GA ₃ (0.1mg/l)) sur la culture des apex axillaires et caulinares.....	60
5-1- Phase de caulogénèse.....	60
5-2- Induction de la callogénèse.....	63
5-3- Induction de la rhizogénèse.....	66
Conclusion.....	71
Références bibliographiques.....	73
ANNEXES	

INTRODUCTION

L'olivier constitue une ressource économique et sociale importante dans de nombreux pays du bassin méditerranéen et fait partie intégrante de l'histoire et des paysages de notre pays.

Il s'adapte aux conditions édapho-climatiques des zones sèches et chaudes, voir même arides, à faibles précipitations. Cette grande capacité d'adaptation est due à ses caractéristiques morphologiques particulièrement l'anatomie de ses feuilles, le développement de son système racinaire et son potentiel de régénération morphogénétique. (Monji, 2002).

La propagation des arbres fruitiers et forestiers est assurée par la multiplication sexuée qui fait intervenir des structures reproductives particulières. Ces dernières, après fécondation, forment des graines. Les graines donnent naissance à des arbres différents des pieds mères et différents entre eux. En revanche, les arbres fruitiers qui sont multipliés par la voie asexuée, par laquelle un organisme est capable de régénérer un autre sans intervention de structures reproductrices spécifiques, maintiennent les caractéristiques de leur parent. Ce mode de reproduction est largement pratiqué par les arboriculteurs et comprend plusieurs techniques, comme le marcottage, le bouturage et le greffage.

L'olivier fait actuellement l'objet d'intérêt pour différentes raisons ; sa valeur sur le plan de la production, l'enthousiasme des nutritionnistes à l'égard de l'huile d'olive et le rôle de l'oléiculture pour la conservation du paysage.

Or, les oliviers sont atteints de nombreuses maladies, qui ont souvent de très grandes répercussions, non seulement sur le rendement en fruits, mais aussi sur la vie de l'arbre (Maïza, 1980). C'est cette situation, parfois alarmante, dans certaines régions du globe, qui a poussé les chercheurs à faire appel aux techniques de culture *in vitro*, pour tenter d'obtenir des plants indemnes, afin de reconstituer des vergers sains et reproductifs.

Dans ce travail, pour la multiplication d'apex caulinaires nous avons choisi la variété Chemlal de l'olivier, variété vigoureuse de Kabylie, particulièrement réputée pour la qualité et les propriétés de son huile. (Yakoub-Bougdal, 2007).

L'utilisation de cette biotechnologie est satisfaisante par rapport aux méthodes traditionnelles et offre plusieurs avantages, notamment la rapidité dans les réponses obtenues.

A cet égard, plusieurs études ont montré l'utilité de la culture d'apex pour la multiplication et l'assainissement des arbres fruitiers virosés : Cornaggia, 1986 ; Deogratias et Dosba (1986). A l'origine cette technique fut mise au point par Gautheret (1954) sur les Dahlia et la pomme de terre, pour les agrumes par Murashige et al., (1972) et Navarro et al., (1975), ensuite par Roistacher et al., (1986).

L'olivier a fait l'objet de plusieurs travaux : Fontanazza et Rugini (1981), Walali et Boulouha (1981) ont travaillé sur les microboutures de la partie médiane de la variété Picholine marocaine. Walalli et al., (1984) ont étudié les caractères morphologiques et physiologiques des clones de la variété Picholine marocaine, Allam (1985) a travaillé sur la rhizogenèse des microboutures de quelques espèces. Hamlat (1995) a étudié l'influence des phytohormones sur les embryons et les microboutures d'olivier *Olea europea* L. var. Chemlal cultivés in-vitro. Yakoub-Bougdal et al., (1998) ont étudié les potentialités organogènes des embryons d'olivier (*Olea europea* L.) var Chemlal, cultivés in vitro. Yakoub-Bougdal et al. (2000) ont étudié la rhizogenèse des microboutures de l'olivier (*Olea europea* L. var. Chemlal) cultivée in vitro. Yakoub-Bougdal, (2005) a travaillé sur la morphogenèse in vitro du palmier dattier (*Phoenix dactylifera* L.) et de l'olivier (*Olea europea* L. var. Chemlal). Yakoub-Bougdal, et al., (2007) ont étudié la production de vitroplants d'*Olea europea* L. var. Chemlal. Khelifi et al., (2007) ont étudié l'efficacité de deux souches d'*Agrobacterium* rhizogènes sur l'induction d'une rhizogenèse sur des boutures semi-ligneuses de la variété Chemlal.

Les objectifs de notre travail sont :

D'améliorer les techniques de propagation en se référant à la multiplication végétative in-vitro.

L'enracinement de cette variété réfractaire au bouturage classique (méthode traditionnelle).

Obtention de matériel sain.

Notre travail comportera trois chapitres :

Le premier consiste en une synthèse bibliographique présentant l'espèce, son intérêt ainsi que les modes de sa multiplication y compris des généralités sur la culture in vitro.

Dans un deuxième chapitre, une étude expérimentale comprenant une description du matériel végétal, pour comprendre d'abord les réponses des organes à savoir les embryons, afin de passer aux explants : microboutures et apex, le troisième chapitre est réservé à la présentation des résultats et leur discussion.

SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

1- Importance économique de l'olivier

1-1- Origine et expansion de l'olivier

L'olivier est par excellence la spéculation végétale historiquement la plus connue, son origine se perd dans la nuit des temps ; et son histoire se confond avec celle des civilisations qui ont vu le jour autour du bassin Méditerranéen.

Plusieurs origines ont été attribuées à l'olivier par divers auteurs, mais la thèse la plus retenue est celle de De Candolle citée par Brousse et Loussert (1978), qui désigne la frontière Irano-Syrienne comme lieu d'origine. Coran : شجرة مباركة تخرج في طور سيناء

Selon le conseil oléicole international (COI, 2007), l'origine de l'olivier se situe en Asie mineure où il est très abondant et forme de véritables forêts. Il semble s'être étendu de la Syrie vers la Grèce, à travers l'Anatolie.

A partir du XVI^e siècle av. J.C., les Phéniciens diffusent l'olivier dans les îles grecques, puis du XIV^e au XII^e siècle av. J.C., dans la péninsule Hellénique, où sa culture s'étend. A partir du VI^e siècle av. J.C., sa culture s'est étendue à tout le bassin Méditerranéen en passant par Tripoli, la Tunisie, la Sicile et l'Italie méridionale (Fig. 1).

La culture de l'olivier fait un bond en dehors du bassin Méditerranéen avec la découverte de l'Amérique (1492). Pour De Séville, les premiers oliviers arrivent aux Antilles, puis gagnent l'ensemble du continent américain. En 1560, on trouve les oliviers au Mexique, au Pérou, en Californie, au Chili et en Argentine.

L'olivier a poursuivi son expansion au-delà de la Méditerranée, s'implantant dans des régions fort éloignées de son lieu d'origine comme l'Afrique du sud, l'Australie, le Japon et la Chine.

La figure 1, montre l'origine et l'expansion de l'olivier dans les pays Méditerranéens.

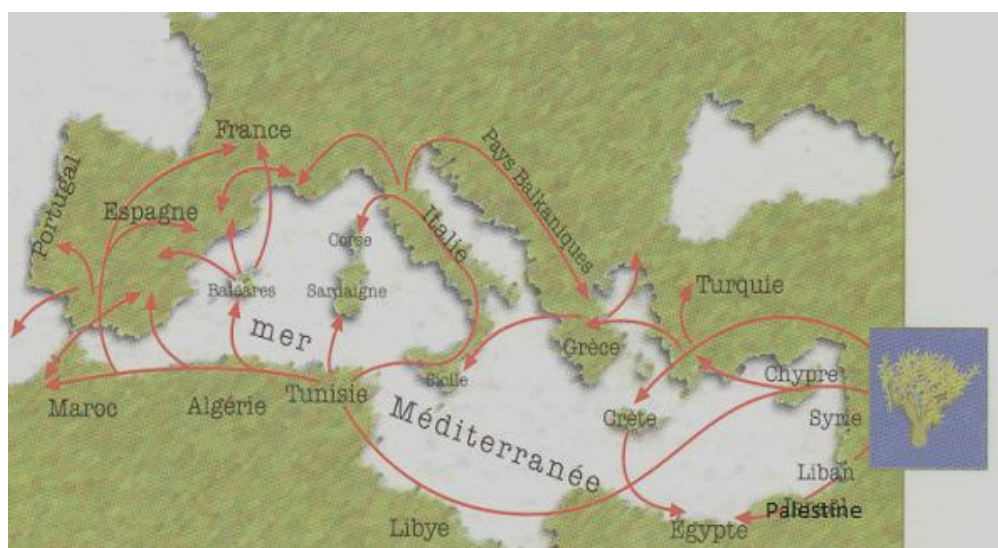


Fig. 1 : Origine et expansion de l'olivier, d'après Civantos 1998. (Modifiée)

I-2- Superficie et production du patrimoine oléicole dans le monde

L'olivier est une des plantes les plus cultivées; il arrive au 24^e rang des 35 espèces les plus répandues dans le monde. La diversité phénologique des cultivars est remarquable et l'intérêt économique de l'espèce est majeur.

Les productions mondiales d'huile d'olive et d'olives de table, cultivées sur une surface d'environ 10 127 101 millions d'hectares d'oliviers, atteignent 2 820 000 T, respectivement pour la campagne 2006/2007 (Mendil, 2009).

Plus de 98% de cette production se trouve localisée dans le bassin Méditerranéen, où s'est développé depuis les millénaires ce système agricole, qui se caractérise par son adaptation au milieu (Mendil, 2009).

La principale production est l'huile d'olive, puisque plus de 90% de la production mondiale est destinée à l'huilerie (COI, 2005).

Le tableau 1 montre l'évolution mondiale d'huile d'olive.

Tab.1 : Production d'huile d'olive (milliers de tonnes).

Pays producteurs	Moyenne 1990/1991-1993/1994	Moyenne 1995/1996-1999/2000	Moyenne 2000/2001-2004/2005	Estimation 2007/2008	Estimation 2010/2011
Espagne	589.0	764.6	1118.1	1302.8	1398.6
Italie	448.2	549.7	649.0	771.4	815.9
Grèce	293.8	411.6	386.1	456.3	474.7
Tunisie	176.0	169.6	125.0	121.5	125.0
Algérie	21.5	41.0	35.3	46.5	49.3
Argentine	8.3	9.6	9.1	9.7	9.9
Chypre	2.5	2.4	6.6	7.8	8.6
Croatie	-	2.8	5.1	3.4	4.0
Jordanie	10.6	15.8	23.0	27.8	30.0
Liban	5.2	5.4	6.1	6.3	6.4
Maroc	41.8	64.0	58.0	70.6	73.8
Palestine	13.3	8.1	14.9	10.7	10.4
Syrie	3.2	93.4	141.8	166.9	179.7
Portugal	33.7	43.2	30.1	32.7	32.1
Turquie	80.8	104.0	120.8	142.3	150.4

(COI, 2005)

La production mondiale d'huile d'olive au cours des années 90 (moyenne 1990/1991-1999/2000) est de 2 071 320T. Au cours des années 2000/2001-2004/2005, elle a été en moyenne de 2 763 100T, avec une nette progression par rapport aux années 90, soit une augmentation de plus de 33% (COI, 2005).

Les projections à partir des campagnes 19990/1991-2004/2005 indiquent des productions en 2007/2008 et 2010/2011 de 3 207 600 et 3 399 400T (COI, 2005).

L'Algérie fait partie des principaux pays méditerranéens dont le climat est des plus propices à la culture. Elle se positionne après l'Espagne, l'Italie, la Grèce, le Portugal et la Tunisie qui sont par ordre d'importance décroissant, les plus gros producteurs d'huile d'olive (Mendil, 2009).

I-3- Le patrimoine oléicole en Algérie

1-3-1-Superficie et production du patrimoine oléicole en Algérie

La surface oléicole actuelle de l'Algérie est de 263 521ha, soit 2.3% de la surface agricole utile (SAU) du pays, et 37% des plantations fruitières et compte environ 29 995 580 arbres (MADR, 2006).

L'évolution des surfaces oléicoles pour la période 2000/2006 est indiquée dans le tab. 2.

Tab.2 : Evolution des surfaces oléicoles en Algérie

Années	2000	2001	2002	2003	2004	2005	2006
Superficie (ha)	168 080	177 220	190 550	209 730	226 337	239 352	263 352

(MADR, 2006)

L'analyse des données statistiques concernant la superficie oléicole de cette période (2000-2006), montre que la surface a augmenté, cette tendance s'est confirmée avec la relance du plan national de développement agricole (PNDA) en 2000, et grâce au financement de la filière par le fond national de régularisation et de développement agricole (FNRDA).

L'Algérie produit en moyenne 2 647 330Qx d'olives totales, et permet de générer 1 962 580Qx d'olives à huile (MADR, 2006).

La production d'olives totales, d'olives de table et d'olives à huile de la période 2000-2006 est représentée dans le tableau 3.

Tab. 3 : Evolution de la production d'olives totales, d'olives de table et d'olives à huile en Algérie.

Années Produit (Qx)	2000	2001	2002	2003	2004	2005	2006
Olives totales	2 171 120	2 003 390	1 919 280	1 676 270	4 688 000	3 148 890	2 647 330
Olives de table	346 730	335 460	477 690	634 740	587 980	857 035	684 750
Olives à huile	1 824 390	1 667 930	1 441 570	1 041 530	4 100 020	2 302 855	1 962 580

(MADR, 2006)

Cette production fluctue énormément selon les années, plusieurs facteurs sont à l'origine de ces fluctuations dont principalement l'alternance, les caractéristiques de l'olivier ; l'importance de la pluviométrie, la variabilité, la sécheresse et le niveau des soins culturaux.

Les sous produits de l'olivier sont aussi une source potentielle de revenus complémentaires susceptibles de contribuer à l'amélioration de la rentabilité des exploitations oléicoles. Ils constituent une source d'approvisionnement (Selmi et al.2001) en :

- Aliments de bétail (feuilles, brindilles, grignons) ;
- Energie (combustion du bois,...) ;
- Fertilisants (margines, grignons,...) ;
- Bois (menuiserie).

1-3-2- Distribution des zones de production

La carte oléicole Algérienne est répartie en trois zones (Est, Ouest, centre). D'après Sadoudi (1996), dans la région centre, 95% du verger est occupées par les wilayas de Bejaia, Bouira et Tizi-Ouzou. Dans la région Ouest, 71% du verger se trouve dans les wilayas de Mascara, Tlemcen, Sidi Bel Abbès et Relizane, et dans la région Est, 68% du verger oléicole sont implanté au niveau des wilayas de Skikda, Guelma, Jijel et Mila (Sadoudi, 1996).

2- Caractéristiques morphologiques et physiologiques de l'olivier

2-1- Systématique

L'olivier appartient à la famille des Oléacées, qui comporte environ 30 genres et 600 espèces (Cronquist, 1981).

Selon Breton et *al.* (2006), l'olivier et l'oléastre, pour des raisons culturelles (traditions, paysages) et économiques (huiles et olives), représentent un très bon exemple de biodiversité, Ils forment dans la sous-espèce *europaea* de *Olea europaea* un ensemble complexe de formes cultivées (var. *europaea*) et sauvages (var. *Sylvestris*).

La classification retenue est celle de Guignard et Dupont (2004) :

Embranchement :	Spermaphytes
Sous-embranchement :	Euangiospermes
Classe :	Eudicots
Sous-classe :	Euastéridées
Ordre :	Lamiales
Famille :	Oléacées
Genre :	<i>Olea</i>
Espèce :	<i>Olea europaea</i> L.
Série :	Sativa

Le nombre de chromosomes qui se situe à 23 ($2n=46$), est caractéristique de toutes les espèces du genre *Olea* Taylor, 1945).

La famille des oléacées, appartient aussi des espèces ornementales tels les Lilas (*Syringa*), les Forsythias , les Roènes (*ligustrum*), les Filaires, l'Alavert (*Phyllirea*), mais aussi les Frênes (*Fraxinus*),... (Argenson , 1999).

2-2- les différentes variétés d'olivier en Algérie et les variétés introduites

L'olivier offre une multitude de variétés distinctes qui s'adaptent aux conditions naturelles.

On rencontre des variétés nationales et des variétés étrangères introduites depuis plusieurs années.

Les travaux de Mendil et Sebai (2006), ont permis de décrire les principales variétés existantes en Algérie, nous allons citer les plus importantes.

- Variété Chemlal (Achemlal, Achemli) « variété étudiée »

C'est l'une des plus estimée pour la fabrication de l'huile, cette dernière est d'une excellente qualité. Elle s'étend de l'Atlas de la Mitidja jusqu'aux Bibans.

La variété Chemlal est très vigoureuse, le port est dressé, les fruits sont petits, ovoïdes d'un poids de 2.5g. Elle présente environ 40% des oliviers cultivés en Algérie, et son rendement en huile est de 18 à 22%.

Elle est autostérile et se trouve toujours associée à d'autres variétés qui assurent sa pollinisation comme Azeradj. La plupart des arbres sont greffés sur semis d'Oléastre. Elle est sensible aux attaques de la bactérie *Pseudomonas savastanoi*, provoquant la tuberculose de l'olivier (Monji, 2002).

- Variété Azeradj (Adjeraz)

Variété estimée pour la conserve en vert mais aussi pour l'huilerie avec un rendement en huile de 24 à 28%. Les fruits sont gros (3 à 5g).

- Variété Rougette

Elle existe dans la plaine de la Mitidja et sur le piedmont de l'Atlas, à une faible altitude. C'est une variété à huile.

- Variété Limli (Imli, Imeli)

Variété précoce, concentrée sur les versants montagneux de la vallée de la Soummam. Elle occupe le flanc nord de Sidi-aïch. Les fruits sont petits (2g), avec un rendement en huile de 20 à 24%. Elle représente 8% des oliviers cultivés. C'est une variété légèrement acide.

- Variété Blanquette de Guelma

C'est une variété tardive, résistante, elle est le complément de la Rougette pour l'huilerie avec un rendement de 18 à 22%.

- Variété Sigoise (Olive du Tell)

C'est une variété à double aptitude, qui fournit la majeure partie de nos olives de conserve pour l'exportation. Elle est dominante dans l'Oued Rhiou jusqu'à Tlemcen. Les fruits sont moyens (3.5g). On la trouve également dans la région du Sig.

- Variété Bouchouk

On distingue la Bouchouk de la Soummam (Sidi-Aïch), la Bouchouk de Guergour (Sétif) et celle de Lafayette (Bougaa, Sétif). Les fruits sont gros (3 à 5g), destinés à la conserverie et l'huilerie.

- Boukaïla (Est) et Ferkani (Sud).

Les variétés espagnoles comme la Cornicabra, la Sévillane (ou Gordal) ont été introduites par les colons dans l'ouest algérien. Elles sont cultivées dans l'aire de production de la Sigoise. De même, les variétés françaises Lucques et Verdale sont également associées à la Sigoise dans l'Oranie.

Dans les années 80, de nouvelles introductions variétales ont eu lieu en Algérie à partir de l'Italie. Il s'agit en l'occurrence des variétés : Frantoïo, Leccino, Pendolino, Manzanilla, Maraiolo et la Coratina.

2-3- Les variétés d'olivier cultivées dans le monde

D'après Luchetti (2000), il existe 139 variétés provenant de 23 pays oléicoles qui présentent près de 85% de la surface consacrée à la culture d'olivier. Le nombre de variétés décrites dans chaque pays a été déterminé par l'importance de la culture de l'olivier dans le pays et l'extension de la variété.

2-4- Caractéristiques morphologiques

C'est un arbre de taille moyenne, compris entre 4 et 8m de hauteur selon les variétés, il est qualifié de séculaire, sa longévité et sa productivité dépassant une centaine d'années. (Villemeur et *al.*, 1997).

Selon Argenson et *al.*, (1999), l'arbre a un feuillage persistant. L'olivier, présente une cime arrondie avec des rameaux étalés très nombreux, enchevêtrés les uns dans les autres, plus ou moins épineux ou inermes. Les dimensions et les formes varient avec les conditions climatiques, l'exposition, la fertilité du sol et les variétés.

2-4-1- le système racinaire

Selon Loussert et Brousse (1978), le développement du système racinaire de l'arbre est surtout fonction des caractéristiques physico-chimiques du sol. En fait l'olivier adaptera son système racinaire à la profondeur du sol, suivant sa texture et sa structure. Il peut atteindre 6m de longueur dans les sols sablonneux avec un système pivotant. Dans les sols argileux, les racines ont un développement latéral fasciculé pouvant atteindre 60m. Lorsque les terrains sont lourds, les racines sont proches de la surface de 0.1 à 0.6m de profondeur.

2-4-2- le système aérien

2-4-2-1- le tronc

C'est le principal support de l'arbre, reliant les racines aux charpentières. Il est droit, souvent fissuré, avec une écorce grise et à croissance lente (Chiez, 1982).

Selon Loussert et Brousse (1978), sur les jeunes arbres, le tronc est droit et circulaire, et à mesure de son vieillissement, il se déforme en donnant naissance à des cordes qui sont des zones successives de dépressions lui donnant un aspect tourmenté, caractéristique de l'olivier.

La hauteur du tronc varie d'une zone de culture à une autre, selon la conduite adoptée. En Algérie, les nouveaux vergers sont conduits suivant le système du gobelet, à partir d'un tronc de 0.40 à 0.60m de haut. Par contre en Kabylie, la variété Chemlal était traditionnellement conduite sur un tronc élevé à 2 ou 3m de hauteur.

2-4-2-2-Les charpentières

Ce sont de grosses ramifications destinées à former la charpente de l'arbre.

On distingue :

- ▶ Les charpentières maîtresses ou branches mères

Elles prennent naissance sur le tronc. C'est au moment des premières tailles de formation qu'elles commencent leur développement (Loussert et Brousse, 1978).

- ▶ Les sous-charpentières ou branches sous-mères

Ce sont des ramifications de second ordre qui se développent sur les branches mères.

Ces branches sous-mères porteront des rameaux feuillés et des rameaux fructifères.

Le port de l'arbre dépend de la croissance de l'ensemble de ces rameaux, c'est un caractère variétal, qui peut être soit érigé, soit pendant ou pleureur (Loussert et Brousse, 1978).

2-4-2-3-La frondaison

C'est l'ensemble du feuillage. De forme oblongue ou ovale lancéolée, la feuille est simple, entière, dénuée de stipules, avec une durée de vie de trois ans. Le pétiole est court, le limbe est glabre sur la surface supérieure, lancéolée se terminant par un mucron. Cette dernière est luisante et coriace, de couleur vert foncée. La face inférieure présente un aspect argenté consécutif à la présence de poils tecteur.

Les éléments minéraux, essentiellement, les éléments majeurs (N, P, K) sont nécessaires à la réalisation du cycle de vie du végétal, leurs carences entraînent des symptômes spécifiques sur les feuilles (Meyer et *al.*, 2004).

Le Potassium (K) revêt une importance majeure chez l'olivier. Son rôle fondamental est de promouvoir l'accumulation de réserves sous forme d'amidon et améliore l'activité photosynthétique. Sa déficience débute par une chlorose apicale de la feuille, la décoloration progresse vers la base et confère au limbe une coloration bronzée (Yakoub-Bougdal, 2005). (Fig. 2 a).

Ces manifestations foliaires apparaissent généralement à l'automne ou en hiver.

La chlorose apicale pourrait être confondue avec une carence en Bore (B), (Fig. 2 b), mais celle-ci n'affecte que l'extrémité de la feuille.

Le phosphore (P) intervient au niveau de la construction des membranes cellulaires, il participe à la formation des composés intermédiaires du métabolisme, aux transferts d'énergie, à la synthèse des constituants génétiques du noyau (ADN et ARN) au développement des tissus méristématiques. La carence s'exprime d'abord par une coloration vert sombre et une chlorose du sommet du limbe qui s'étendra vers le bas à partir des bords de la feuille (Fig. 2 c) (Yakoub-Bougdal, 2005).

L'azote (N) est nécessaire à la formation des protéines intervenant dans la construction de la plante. Il intervient dans la croissance végétative, et dans la formation des fleurs et des fruits. Les carences en azote se manifestent par une chlorose plus ou moins poussée des feuilles qui peuvent chuter, par une réduction globale de la croissance, par une diminution de la floraison, de la fructification et de la récolte (Fig. 2 d) (Yakoub-Bougdal, 2005).

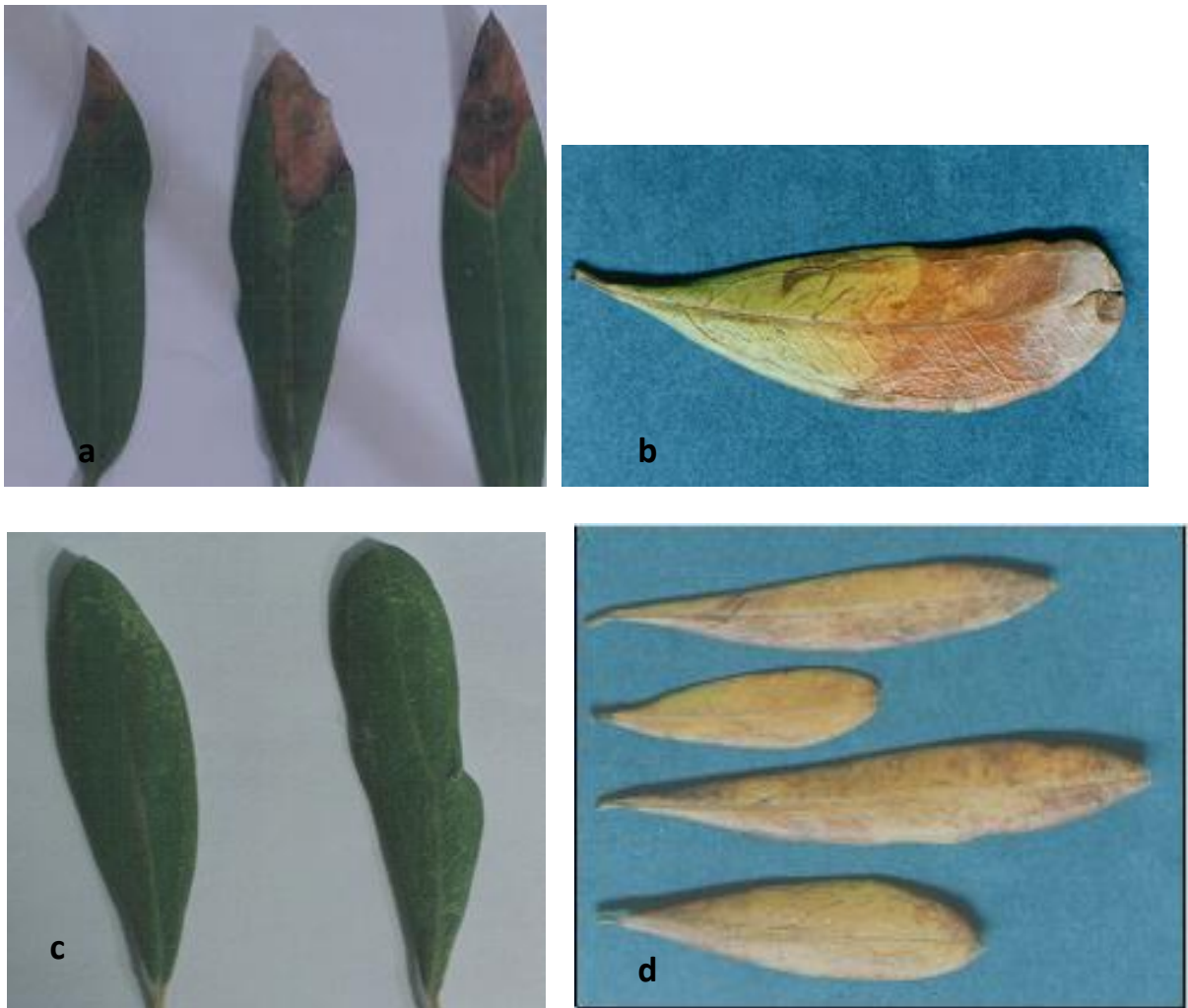


Fig.2 : Carences observées sur les feuilles. (Source : Yakoub-Bougdal, 2005)

- a- Carence en potassium.
- b- Carence en bore
- c- Carence en phosphore
- d- Carence en azote

2-4-2-4- -Les rameaux fructifères

Ce sont des rameaux dont la croissance s'est poursuivie tout au long du printemps et de l'automne de l'année précédente, ils portent les fleurs puis les fruits (Fig. 3 et 4). Leur longueur est de l'ordre de quelques centimètres suivant la vigueur de l'arbre et de la variété (Loussert et Brousse, 1978).

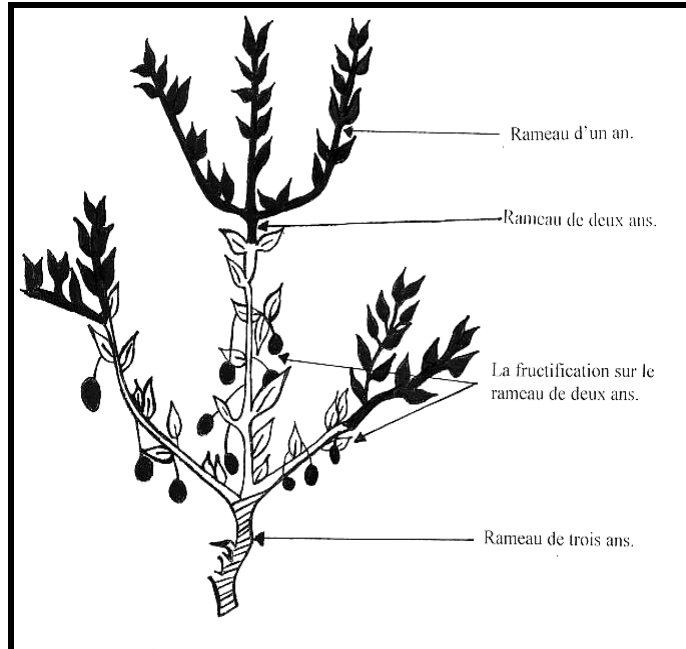


Fig. 3- Schéma d'un rameau fructifère de l'olivier. D'après Loussert et Brousse, 1978.



Fig. 4- Rameau fructifère de l'olivier var. Chemlal (Original)

2-4-2-5- Les inflorescences et fleurs

Les inflorescences sont constituées par des grappes longues pouvant comporter de 4 à 6 ramifications secondaires (Fig.5).

Le nombre de fleurs est variable en fonction de la position de la grappe sur le rameau. (Ouksili, 1983). Les fleurs sont régulières, constituées de 4 sépales soudés, 4 pétales soudés, 2 étamines et 2 carpelles (Fig. 6). La fleur d'olivier a été observée par Loussert et Brousse, 1978 (Fig. 7).

La formule florale est : $4 (S) + 4 (P) + 2E + 2C$



Fig. 5. Grappes florales de l'olivier var. Chemlal. (Original)

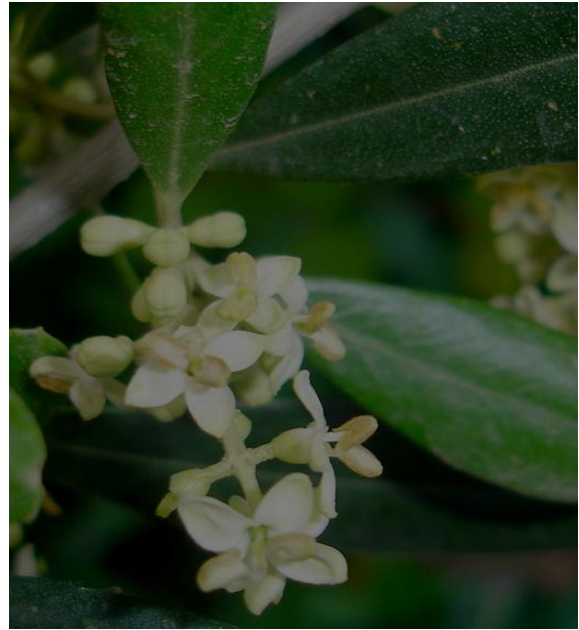


Fig. 6. Fleurs de l'olivier var. Chemlal (Original)

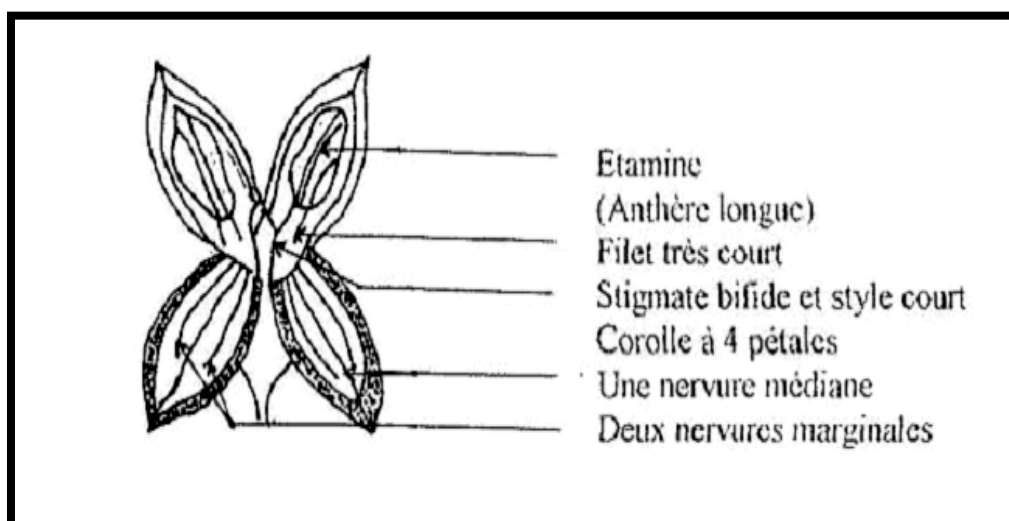


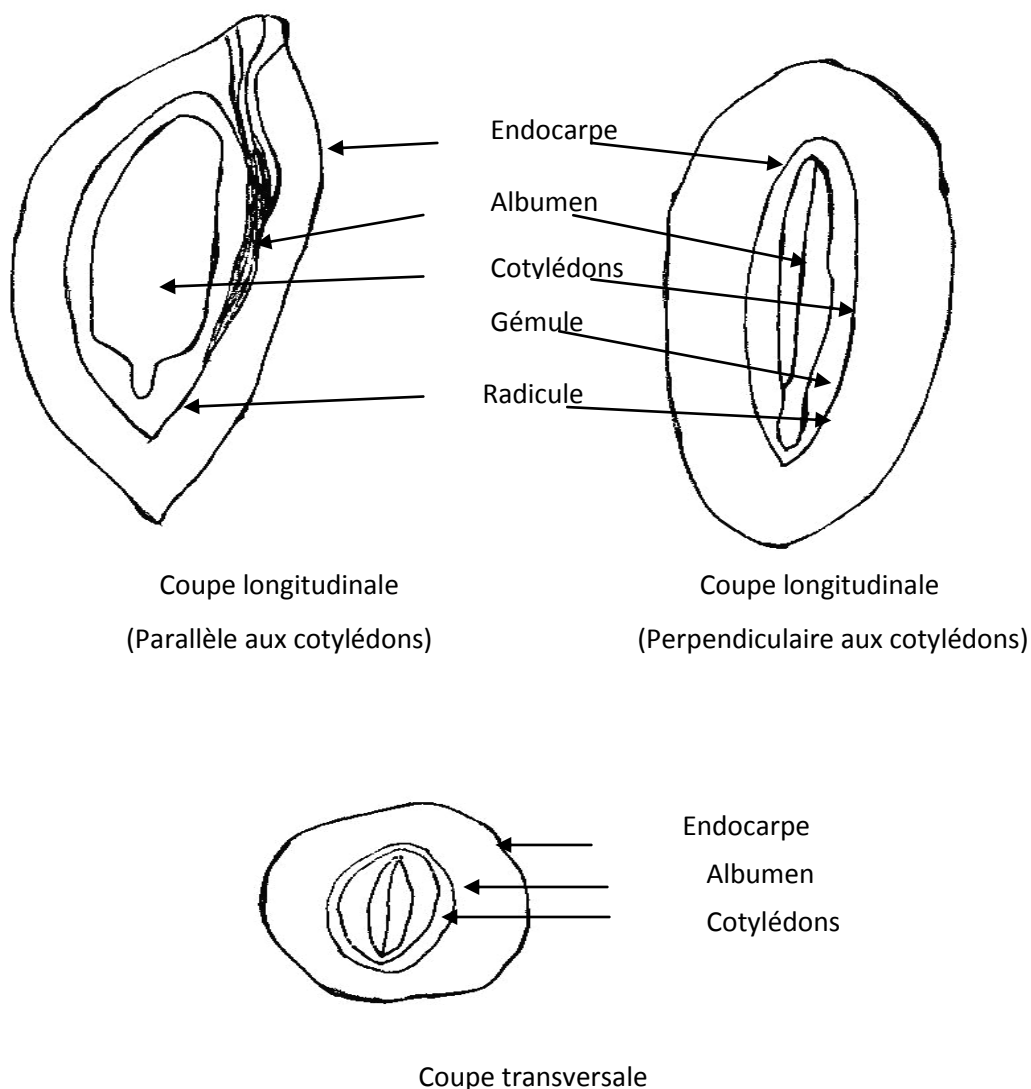
Fig. 7 : Schéma d'une fleur d'olivier avec deux pétales rabattus (D'après Loussert et Brousse 1978).

2-4-2-6-Le fruit de la Chemlal (l'olive)

Le fruit est une drupe charnue, ellipsoïde, d'abord verts, puis noire en mûrissent, à mésocarpe charnu et endocarpe ligneux (Chiez, 1982). Sa forme est très variable selon les variétés. Son diamètre est compris entre 1 et 3cm.

L'épicarpe reste très attaché au mésocarpe (ou pulpe). A maturation l'épicarpe passe de la couleur vert tendre (olive verte), à la couleur violette ou rouge (olive tournante), puis à la coloration noirâtre (olive noire).

L'endocarpe est constitué par un noyau fusiforme, très dur, protégeant une seule graine à albumen cellulaire : l'amandon. Ce noyau est de forme très variable, selon les variétés. (Loussert et Brousse, 1978) (Fig.8 et 9).



**Fig.8 : Détail d'une semence d'olivier (var. Chemlal)
(G.x 6). (Hamlat, 1995).**

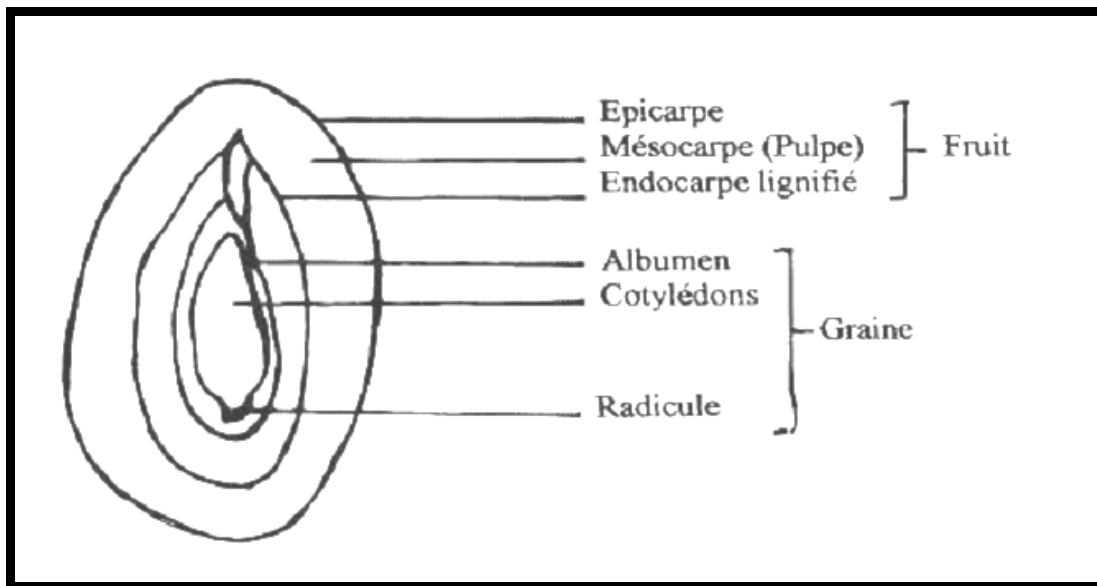


Fig.9: Coupe longitudinale axiale du fruit de l'olivier (Var. Chemlal) (G.x 4).

D'après Yakoub-Bougdal, 2005.

Selon Fontanazza (1988), les différents constituants du fruit par rapport au poids total est la suivante :

- Epicarpe : 1.5 à 2% ;
- Mésocarpe : 65 à 83% ;
- Endocarpe : 13 à 30% ;
- L'huile : 15 à 30% ;
- L'eau dans la pulpe : 25 à 60%.

D'après Loussert et Brousse (1978), les différents constituants de la pulpe d'olive sont les suivants :

Tab.4- Les constituants de la pulpe d'olive.

Eau	la partie la plus importante de la pulpe, représente 25 à 60% du poids du fruit.
Acides organiques	Acide citrique, malique et organique.
Substances grasses	représentent 17 à 30% du poids du fruit, comme les triglycérides et la cutine.
Sucres simples	glucose, fructose (plus dominant) et le mannitol, représentent 5 à 6 % du poids de la pulpe.
Polysaccharides	la cellulose, hémicellulose (3 à 6 %)
Les pectines	représentent 1.5 à 2 % du poids de fruit.
Les protéines	reforment 1.5% de protéines, sous formes d'acides aminés.
Les tannins	ils représentent 1.5 à 2 % du poids de la pulpe.
Les substances colorantes	la chlorophylle (a et b), les caroténoïdes et les anthocyanes.
Substances minérales	l'olive contient suffisamment d'éléments minéraux comme le : Ca, Fer....
Vitamines	vitamines A, B1, B2 ...

Selon Ghedira (2008), l'olive est riche en acides gras insaturés, en vitamine E et en polyphénols (notamment en hydroxytyrosol), l'huile d'olive présente essentiellement des propriétés antioxydantes, antihypertensives, antiagrégantes plaquettaires responsables d'effets préventifs des maladies cardiovasculaires. La consommation régulière de cette huile a des effets bénéfiques dans certains troubles de l'appareil digestif et hépatobiliaire, dans l'ostéoporose, dans la prévention du vieillissement et dans le renforcement du système immunitaire. L'huile d'olive exerce un effet protecteur vis-à-vis de certaines tumeurs malignes et diminue l'incidence de certains types de cancer.

La feuille d'olivier est riche en triterpènes, flavonoïdes. Elle exerce des activités antioxydantes, hypotensives, spasmolytiques, hypoglycémiantes, hypocholestérolémiantes et antiseptiques, outre les propriétés diurétiques pour lesquelles elle est utilisée sous forme de spécialité phytothérapeutique.

2-5- Caractéristiques physiologiques et cycle végétatif annuel

Au cours de son cycle annuel de développement, l'olivier passe par les phases suivantes : (Anonyme, 2003) :

1. Janvier, février : induction, initiation et différenciation florale ;
2. Courant mars : croissance et développement des inflorescences à l'aisselle des feuilles que portent les rameaux de l'année précédente ;
3. Avril : pleine floraison ;
4. Fin avril- début mai : fécondation et nouaison des fruits ;
5. Juin : Début de développement et grossissement des fruits ;
6. Septembre : véraison ;
7. Octobre : Maturation du fruit et enrichissement en huile ;
8. Mi-novembre à janvier : récolte des fruits.

La période la plus intense du cycle annuel se déroule de mars à juin. Au cours de cette phase, les besoins en eau et en nutriments de l'arbre sont les plus intenses.

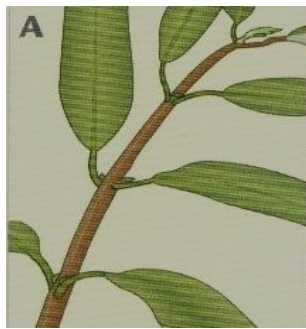
Le déroulement du cycle végétatif de l'olivier est en étroite relation avec les conditions climatiques de son aire d'adaptation. Les stades repères de l'olivier sont, selon Loussert et Brousse (1978), résumés comme suit (Fig. 10)

- Stade A : stade hivernal, le bourgeon terminal et les axillaires sont au repos végétatif.
- Stade B : réveil végétatif, le bourgeon terminal et les axillaires amorcent un début d'allongement.
- Stade C : formation de grappes florales, en s'allongeant la grappe forme les différents étages de boutons.
- Stade D : gonflement des boutons floraux, les boutons s'arrondissent, ils sont portés par un pédicelle court. Les bractées à leur base s'écartent de la hampe florale.
- Stade E : différenciation des corolles, la séparation du calice et de la corolle est visible. Les pédicelles s'allongent, écartant les boutons floraux de l'axe de la grappe.

- Stade F : début de floraison, les premières fleurs s'épanouissent après que leurs corolles soient passées du vert au blanc.
- Stade F1 : pleine floraison, la majorité des fleurs sont épanouies.
- Stade G : chute des pétales ; les pétales brunissent, se séparent du calice. Ils peuvent subsister un certain temps au sein de la grappe florale.
- Stade H : nouaison, les jeunes fruits apparaissent mais dépassent peu la cupule formée par le calice.
- Stade I : grossissement des fruits (1^{er} stade), les fruits grossissent pour atteindre la taille d'un grain de blé.
- Stade II : grossissement des fruits (2^{ème} stade), les fruits les plus développés Atteignent 8 à 10mm de long avec un début de lignification des noyaux.

2-6- Alternance

L'alternance est un phénomène physiologique très répandu chez les arbres fruitiers. Au sein d'une même espèce, certains cultivars sont très alternants, d'autres le sont moins ou pas du tout. De même, on note que cette alternance est le plus souvent bisannuelle, mais pour certaines espèces, elle peut être pluriannuelle (Loussert et Brousse, 1978).



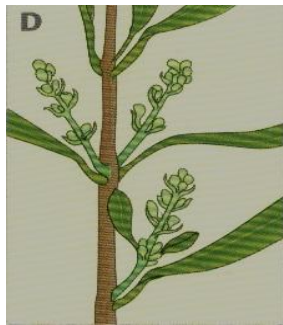
Stade hivernal



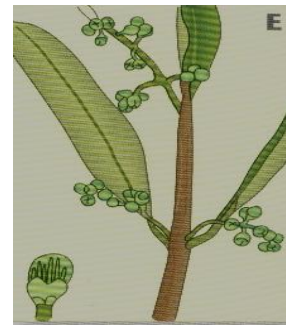
Réveil végétatif



Formation des Grappes



Gonflement des



Différenciation des



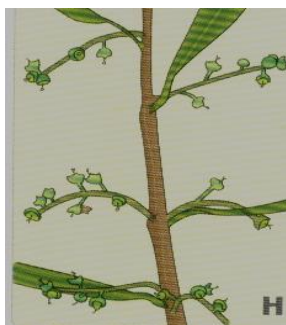
Début de floraison



Pleine floraison



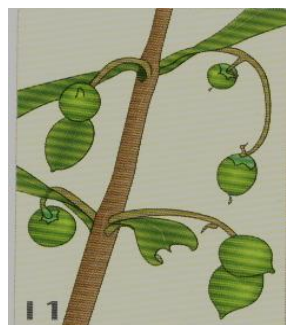
Chute des pétales



Nouaison



Grossissement des fruits



Grossissement des fruits

Fig.10 : Les stades repères de l'évolution de la fleur de l'olivier d'après Colbrant et Fabre cité par Loussert et Brousse (1978).

3. Les techniques de propagation de l'olivier

L'olivier se multiplie selon deux types de procédés, les méthodes traditionnelles et les méthodes modernes.

3-1- Méthodes traditionnelles

3-1-1- Bouturage ligneux

Selon Loussert et Brousse (1978), ce mode de multiplication se pratique en pépinière, pour produire de jeunes plants à partir de pieds-mères sélectionnés pour leur qualité de production et leur état sanitaire.

3-1-2- Bouturage par souchets

Ce mode de multiplication se pratique sur les racines des oliviers cultivés, sur ces derniers on pratique la fragmentation des excroissances qui se développent au niveau du collet des arbres âgés. Le souchet a le pouvoir d'émettre rapidement des racines et des tiges qui constitueront un nouvel arbre (Loussert et Brousse, 1978).

3-1-3- Drageonnage

Il consiste à prélever de jeunes rejets avec un fragment de racine que l'on met directement en place dans le verger (Loussert et Brousse, 1978).

3-1-4- Marcottage en cépée

Consiste à butter les jeunes rejets qui se développent sur le pied-mère de façon à favoriser l'apparition de jeunes racines. Ces marcottes sont mises en place, en verger (Loussert et Brousse, 1978).

3-1-5- Greffage sur oléastre

Il est pratiqué dans plusieurs pays méditerranéens, afin de faciliter l'adaptation et d'obtenir une réponse rapide des nouveaux cultivars introduits (Breton et *al.*, 2006).

Le système de greffage utilisé est la greffe en couronne sous écorce, réalisée en mars-avril ou la greffe en placage d'écorce, en mai-juin (Loussert et Brousse, 1978).

3-1-6- Bouturage semi-ligneux (herbacé)

Selon Jacoboni, 1989, la méthode consiste à placer des boutures de 20cm de long au minimum, provenant de jeunes rameaux d'une année en cours de lignification, dans un milieu d'enracinement, avec une humidité relative de 90% .Le châssis où elles sont logées doit avoir une température, à la base du substrat de 22 à 25°C selon le cultivar et l'époque à laquelle est pratiquée la multiplication.

Les boutures restent dans la chambre de nébulisation pendant la période nécessaire pour l'émission des racines et des pousses. L'enracinement varie en fonction du cultivar, de la période à laquelle les boutures ont été prélevées et selon la quantité de phytohormones, de lumière et de température.

Cette méthode offre la possibilité du prélèvement d'un très grand nombre de boutures sur un même sujet et accélère sensiblement la production de plants (Argenson et *al.*, 1999).

3-1-7- Semis de noyaux suivis de greffage

C'est une propagation par voie sexuée (semis), qui fait intervenir le greffage.

L'olivier qui est multiplié intensivement en pépinière, est destiné aux plantations modernes, à densité élevée où ses productions (huiles ou olives de table) servent à alimenter les marchés nationaux et les marchés d'exportation.

L'obtention de plants d'olivier par semis présente l'avantage de donner des arbres vigoureux. Il a par contre l'inconvénient d'être un procédé de multiplication lent.

Cette pratique est utilisée au niveau des pépinières, elle nécessite plusieurs étapes :

- Préparation des noyaux

Avant le semis, les noyaux sont nettoyés et laissés à l'air libre afin d'achever leur post-maturation.

- Semis

Selon Loussert et Brousse (1978), il est recommandé de semer les noyaux en août-septembre, période où l'on obtient les meilleurs pourcentages de germination par rapport aux semis plus tardifs d'octobre- novembre.

- Le repiquage

Il se fait à partir du mois de Novembre jusqu'au mois de Mars. Les pourettes sont triées, habillées, traitées puis repiquées en ligne dans les vases.

-Le greffage

C'est au printemps suivant, soit 14 mois après le repiquage, que les jeunes plants sont greffés en couronne.

- L'arrachage

Selon Loussert et Brousse (1978), l'arrachage pourra avoir lieu en hiver, suivant la vigueur du développement des jeunes arbres greffés.

3-2- Exigences écologiques de l'olivier

L'olivier est présent à travers l'ensemble du territoire national en raison de ses capacités d'adaptation à tous les étages bioclimatiques, allant des zones de montagne aux zones arides et sahariennes (Zakari et *al.*, 2004).

3-2-1- Exigences climatiques

-La température

La résistance de l'olivier au froid varie selon son stade végétatif (Anonyme, 1993).

L'olivier résiste de -8 à -10°C en repos végétatif hivernal. Mais à 0 et à -1°C, les dégâts peuvent être très importants sur la floraison. Entre 35-38°C, la croissance végétative s'arrête et à 40°C et plus, des brûlures endommagent les feuilles et peuvent faire tomber les fruits, surtout si l'irrigation est insuffisante (Anonyme, 2003).

Selon Loussert (1989), pendant le repos hivernal, les besoins en froid varient de 130 à 150h de températures inférieures à 9°C. Le tableau 5 résume les critères thermiques de l'olivier selon les stades de développement.

Tab. 5 : Critères thermiques de l'olivier

Stades de développement	Températures (°C)
➤ Mort de l'arbre par gel	< -17
➤ Gelée des parties aériennes en hiver	< -12
➤ Risque du gel des parties aériennes au printemps	-5 à -7
➤ Zéro de végétation	9 à 10
➤ Températures moyennes pendant le développement des inflorescences	14 à 15
➤ Températures moyennes optimales pendant la fécondation	20 à 25
➤ Arrêt de végétation	> 38
➤ Risque de brûlures des feuilles	> 40

(D'après Baldy, 1990)

- La pluviométrie

Bien que l'olivier soit réputé pour sa rusticité et sa résistance à la sécheresse, l'irrigation permet d'augmenter le rendement. En effet une pluviométrie de 450 à 650mm permettra à l'olivier de se trouver dans un milieu favorable à sa croissance et à son développement. (Loussert, 1989). Avec une pluviométrie inférieure à 200mm, l'oléiculture est économiquement non rentable (Anonyme, 2003). D'après Baldy (1990), si les déficits hydriques sont importants en automne et en hiver, ils affecteront non seulement la récolte de l'année, mais aussi les deux récoltes ultérieures.

Les pluies d'hiver – printemps, assurent un pourcentage élevé de nouaison. Les pluies automnales favorisent le grossissement et la maturation du fruit (Loussert et Brousse, 1978).

- L'hygrométrie

L'humidité atmosphérique peut être utile dans la mesure où elle n'est pas excessive et permanente. Elle favorise le développement de certains parasites (maladies cryptogamiques) (Loussert et Brousse, 1978).

L'humidité peut provoquer l'agglutination des grains de pollen au moment de la pollinisation, ce qui nuit à la fécondation (Maillard, 1975).

- La lumière

L'olivier étant exigeant en lumière, l'insolation est à considérer dans le choix de l'orientation des arbres, la densité de plantation et les tailles d'éclaircie (Anonyme, 2003).

En effet, il ne donne une meilleure production sur les coteaux bien exposés au soleil (Loussert et Brousse, 1978).

D'après Fontanazza (1988), les olives exposées à la lumière ont un meilleur calibre et une maturité uniforme.

- Le vent

Il joue un rôle dans la dissémination du pollen. Les vents chauds et secs (sirocco), peuvent causer des brûlures sur les arbres (Loussert et Brousse, 1978).

- Le brouillard

Il est néfaste pour l'olivier, il provoque la chute des fleurs en période de floraison.

- La grêle

Les zones où les chutes de grêle sont fréquentes doivent être écartées, pour les risques de destruction du jeune bois, du feuillage et des fruits (Anonyme, 1993).

Elle provoque des plaies au niveau des rameaux et les branches, ce qui facilite l'attaque parasitaire (Tuberculose).

- La neige

La neige par son poids peut provoquer la rupture des charpentières.

3-2-2- Exigences édaphiques

La faculté d'adaptation de l'olivier aux différents types de sol est grande, mais les sols fortement argileux, compacts, humides, pH=8 peuvent lui convenir, par contre les sols acides pH=5.5 sont à proscrire (Anonyme, 1993).

3-2-3- L'altitude

La culture de l'olivier est possible en altitude jusqu'à 900m environ. (Anonyme, 1993).

Selon Loussert et Brousse (1978), elle ne doit pas dépasser 800m en exposition sud et 600m en exposition nord.

4- Ravageurs, nématodes et maladies de l'olivier

L'olivier présente une remarquable rusticité et une plasticité lui permettant de produire dans des conditions difficiles (adaptation à une large gamme de sol et une insuffisance de l'irrigation), mais sa productivité reste toujours limitée par plusieurs facteurs biotiques et abiotiques.

4-1- Les ravageurs

- La mouche d'olive (*Bactrocera oleae* ou *Dacus oleae*)

Elle pond des larves dans la pulpe des fruits et entraîne leur dépréciation (Anonyme, 2003).

Les dégâts suscités par cette mouche sont la perte de la récolte par la chute des fruits, diminution du rendement en huile et détérioration de la qualité de l'huile par augmentation de son acidité due à l'oxydation des fruits atteints (Argenson et *al.*, 1999).

- La teigne de l'olivier (*Prays oleae*)

C'est un papillon dont les larves dévorent les organes floraux, les amandes des fruits et les feuilles. Il peut causer de graves dégâts sur la productivité des arbre : grappes florales desséchées, olives à terre trouées à la hauteur du pédoncule (Anonyme, 2003).

- La cochenille noire de l'olivier (*Saissetia oleae*)

Une forte population de cochenilles affaiblit l'arbre en absorbant des quantités appréciables de sève ; les sécrétions de miellat entraînent le développement de fumagine (Loussert et Brousse, 1978).

Le psylle (*Euphyllura olivina*), le neïroun (*Phloetribus scarabeoides*), la Pyrale du Jasmin (*Glyphodes unionalis*), le thrips (*Liothrips oleae*),...etc. sont des ravageurs d'importance secondaire, leurs attaques sont très irrégulières suivant les régions (Loussert et Brousse, 1978).

4-2- Les nématodes phytoparasites

Les plants d'oliviers infectés par des nématodes phytoparasites constituent un milieu approprié pour la dispersion de ces agents à de nouvelles aires de culture. Les plus importants d'après Nico et *al.*, (2003) sur le plan phytopathologique sont :

- Les nématodes à galle de racines
 - *Meloidogyne arenaria*
 - *Meloidogyne javanica*
 - *Meloidogyne incognita*
- Les nématodes des racines
 - *Pratylenchus penetrans*
 - *Pratylenchus vulnus*

4-3- Les maladies fongiques

- Maladie de l'œil de Paon (*Cycloconium oleaginum* (CAM)ou *Spilocaea oleagina* CAST.) HUGHES. La maladie se manifeste par des tâches arrondies sur les feuilles adultes pouvant entraîner la défoliation de l'arbre (Anonyme, 2003). Ces dégâts peuvent aller jusqu'à 60 à 80 % (Ouaza, 2001).

Ces taches circulaires de coloration brune, jaunâtre à verdâtre apparaissent à la face supérieure du limbe d'où la dénomination « œil de Paon ».

- La fumagine (*Capnodium oleaginum*, *Cladosporium fumago*, *Alternaria tenuis*).

Ce champignon de couleur noire est très reconnaissable sur l'olivier, recouvrant totalement, ou partiellement les feuilles en fonction du miellat émis par les larves de la cochenille noire. Elle limite la photosynthèse et la respiration des feuilles, et par conséquent, la production (Loussert et Brousse, 1978).

- La verticilliose (*Verticillium dahliae*)

Ce champignon pénètre par les racines et diffuse dans les parties supérieures, les feuilles se recroquevillent vers la face inférieure, virent au brun clair et se dessèchent (Loussert et Brousse, 1978).

Selon Ouaza (2001), les autres maladies dues aux champignons sont :

- Anthracnose (*Macrosporium olea*) : formation de tâches blanches grisâtres sur les feuilles.
- Caries (*Polyporus gilvus*, *P.olea*, *P.arcularius*) : attaquent le tronc de l'olivier.
- Chlorose (*Aschochyta olea*, *Septoria olea*) : tâches décolorées ou blanchâtres sur les feuilles.
- Fonte de semis (*Pithium sp.*) : pourriture des jeunes plantes et nécrose du collet.
- Lèpre ou déshydratation des olives (*gloeosporium olivarum*, *Cylindrosporium olivae*) : formation de tâches brunes et déprimées sur les olives.
- Pourridie ou dessèchement de l'olivier (*Armillaria mellea*) : l'attaque se fait au niveau du collet des racines.
- Pourriture des fruits (*botryosphaeria ribis*) : apparition de petites tâches circulaires à la surface des fruits.
- Trachéomycose (*verticillium albatrum*) : l'attaque est fréquente chez les sujets jeunes, les tiges sont jaunâtres ou brunâtres.

4-4- les maladies bactériennes

- la tuberculose de l'olivier (*Pseudomonas syringae* subsp.*savastanoi*)

Cette maladie bactérienne est pratiquement répandue dans tout le bassin méditerranéen.

La bactérie pénètre dans les tissus végétaux à l'occasion d'une blessure provoquée par le gel et les plaies de taille. Elle provoque des tumeurs sur les jeunes brindilles, puis sur les rameaux (Loussert et Brousse, 1978).

4-5- Les maladies virales

Plusieurs virus sont latents sur l'olivier et aucune méthode de détection n'existe (OEPP, 1998).

5- La culture *in vitro*

5-1- Historique de la culture *in vitro*

Sont retracées ci-dessous les grandes étapes de l'histoire des cultures *in vitro* végétales dans le monde.

- 1902, Haberlandt, chercheur allemand, énonce le concept de la totipotence cellulaire végétale. Il réussit à faire survivre *in vitro*, quelques mois, de petits amas cellulaires (poils staminaux ou glanduleux ou des fragments d'épiderme) mais sans multiplication.
- 1912, Carrel réussissait la culture indéfinie de cellules de cœur d'embryon de poulet par repiquages successifs.
- 1922, Aux Etats-Unis, Robbins et en Allemagne : Kott, obtiennent la croissance de pointes de racines pendant quelques mois seulement.
- 1932, White (U.S.A.), réussit une culture de racines de tomates.
- 1934, Gautheret, en France, cultive et multiplie des cellules cambiales de saule en introduisant des auxines dans le milieu.
- 1936, Orsos en Hongrie induit des cals et des organes à partir de tissus de tubercule de chou-navet. F.G. Gustafson obtient avec un grand succès les premiers fruits parthénocarpiques, (tomate, raisin, figue), par application d'auxine sur des ovaires non fécondés.
- 1939, Gautheret réussit des cultures indéfinies de tissus de carotte.
- 1941, BRAUN en étudiant les tumeurs végétales ou crown-gall, a amorcé les travaux qui ont conduit aux premières manipulations génétiques végétales.
- 1944, Buvat par les techniques de culture de tissus met en évidence le phénomène de dédifférenciation: la rejuvénation.
- 1946, Ball aux Etats-Unis obtient la régénération de plants de lupin et de capucine à partir d'apex.
- 1949, Limasset et Cornuet notent l'absence de virus dans les méristèmes de tabacs virosés.
- 1952, Mettant à profit les travaux précédents, Morel et Martin à l'I.N.R.A. de Versailles, régénèrent des plantes entières saines de Dahlia, variété «le Rêve» indemne de virus à partir de culture de méristèmes de plants infectés par trois virus différents. De la même manière ils sauveront la variété de pomme de terre "la Belle de Fontenay" en 1954.
- 1954, Muir obtient les premières cultures de cellules isolées à partir de cals friables, cultivées en milieu liquide agité.

- 1957, Skoog et Muller régénèrent des racines et des tiges à partir de cals sous l'influence de l'auxine et de cytokinine.
- 1958, Stewart et Reinert obtiennent des embryons somatiques de carottes à partir de culture de racines et mettent ainsi en évidence le principe de totipotence cellulaire énoncé par Haberlandt en 1902.
- 1962, Murashige et Skoog mettent au point pour des cultures de tissus de tabac le fameux milieu de culture M.S. utilisé largement en culture *in vitro*.
- 1964, Guha et Maheshwari, en Inde, obtiennent des plantes haploïdes de *Datura innoxia* Mill. à partir de culture d'anthères.
- 1971, Au Japon, Takebe régénère des plantes entières de *Nicotiana tabacum* à partir de protoplastes.
- 1972, Carlson obtient le premier hybride somatique interspécifique par fusion de protoplastes entre différentes espèces de tabac.
- 1975, Pandey utilise du pollen irradié de tabac pour réaliser des croisements interspécifiques.
- 1976, San Noeumdans (l'équipe du Pr. Demarly à Orsay) réussit la première culture d'ovaires d'orge non fécondés. Cette même année, Seibert réussit à initier des pousses d'œillets à partir d'apex conservés à -196°C. C'est le début de la cryoconservation pouvant être utilisée pour la constitution de banques de gènes.
- 1983, Van Montaigne crée en Belgique les premières plantes transgéniques transformées par *Agrobacterium tumefaciens*.

Depuis le début du XXème siècle avec les travaux d'Haberlandt, de nombreux chercheurs ont œuvré et continuent à travailler au sein de leur laboratoire afin d'améliorer les techniques mises au point par les pionniers dans les différentes techniques de cultures *in vitro*. L'objectif étant d'utiliser ces outils sur le plus grand nombre d'espèces possibles et avec le meilleur rendement, à des fins d'amélioration des plantes au service de l'homme et de son environnement.

5-2- Fondements de la culture *in vitro*

La technique de culture *in vitro*, est un mode de multiplication végétative artificielle des plantes. Il s'agit d'un ensemble de méthodes faisant intervenir d'une part l'asepsie et d'autre part des conditions de culture parfaitement contrôlées.

Toute cellule végétale vivante, quelque soit sa spécialisation, du moment qu'elle est vivante et possède un noyau, est capable de reproduire la plante entière dont elle provient (Auge et *al.* 1989). La différenciation des cellules vivantes est souvent réversible, elles peuvent retourner à un état méristématique et se différencier dans une nouvelle voie. Cette capacité est appelée « totipotence » (Meyer et *al.* 2004).

Les explants peuvent être des parties d'organes ou des organes entiers (tiges, feuille, racines, fleurs, ...), des tissus, des graines ou des embryons, des bourgeons ou des apex ou méristèmes, des cellules somatiques ou sexuelles, des protoplastes. Le choix de l'explant sera fonction de la technique utilisée, de l'objectif et de l'espèce choisie (Auge et *al.*, 1989).

5-3- Les avantages et les inconvénients de la culture *in vitro*

Par rapport aux méthodes conventionnelles de multiplication, la technique de la culture *in vitro* présente les avantages suivants selon Leva et *al.* (2004).

- La multiplication clonale rapide de génotypes sélectionnés ;
- La production de matériel uniforme sur le plan génétique et phénotypique ; La multiplication de plantes saines même à partir de plants infectés (lutte phytosanitaire) ;
- La possibilité de multiplier des génotypes d'élite difficiles à multiplier par un bouturage ou par greffage ;
- Les cultures peuvent se conserver au froid, ce qui facilite la constitution de « Banque de gènes ».

Son défaut majeur est de permettre l'apparition d'individus nettement différents que l'on désigne généralement sous le nom de « variants », qui peuvent provenir de perturbations dans le nombre chromosomique, modifications affectant les organites cellulaires ou le cytoplasme (Margara, 1984).

5-4- Techniques de réalisation des cultures

5-4-1- Conditions d'asepsie

La première condition de la réussite d'une culture est l'asepsie. En effet, les milieux de culture sont très favorables au développement des bactéries et des champignons dont la croissance aboutit à l'envahissement de la culture (Margara, 1984).

5-4-2- Milieux de culture

Le milieu de culture est constitué principalement d'eau, de sels minéraux (macro et micro-éléments, fer), d'éléments organiques (vitamines, sucre, parfois des acides aminés), et de phytohormones. Cette solution aqueuse est solidifiée avec de l'agar agar.

5-4-3- Composition chimique

- **Les sels minéraux**

Parmi les éléments nécessaires à la vie de la plante on distingue généralement les macro et les micro-éléments

- **Les macro-éléments**

Il s'agit des 6 éléments indispensables : l'azote (N), le phosphore (P), le soufre (S), qui sont des constituants fondamentaux des tissus végétaux (protéines, acides nucléiques...). Le potassium (K), le magnésium (Mg), et le calcium (Ca) interviennent en particulier dans le maintien de l'équilibre entre cations et anions dans la plante (Margara, 1984).

- **Les micro-éléments**

Ils jouent un rôle essentiel dans les mécanismes enzymatiques comme activateurs ou constituants des coenzymes. Les principaux d'entre eux sont : le cuivre (Cu), le zinc (Zn), le manganèse (Mn), le molybdène (Mo) et le bore (B) (Margara, 1984). Le fer (Fe) est ajouté en présence d'un chélateur, l'acide éthylène di-amine tétraacétique (E. D. T. A.).

5-4-4- Les substances organiques

- **Les sucres**

Les tissus en culture *in vitro* sont largement hétérotrophes au carbone en raison de l'absence ou de l'insuffisance de l'assimilation chlorophyllienne. Il est donc généralement indispensable d'ajouter des glucides au milieu de culture. Les deux sucres les plus utilisés sont le saccharose et le glucose (Margara, 1984).

Dans notre essai, nous avons utilisé du saccharose à une concentration de 30g/l.

- **Les vitamines**

Elles favorisent l'organogenèse. L'acide aminé le plus couramment utilisé est la glycine (C₂H₅O₂) notamment retrouvé dans les composants organiques du milieu MS.

- **La gélose (l'agar-agar)**

C'est un polysaccharide (glucide) de haut poids moléculaire, qui est extrait des algues du genre *Gelidium* (Auge et *al.*, 1989).

Elle permet l'obtention d'un milieu solide dans lequel les explants peuvent être repiqués. Elle a l'avantage de retenir très peu d'ions, mais en contre partie elle fournit un milieu de vie pauvre en oxygène lorsqu'elle est utilisée à une forte concentration.

La concentration d'agar variera avec le type d'organe cultivé, la qualité de l'agar et le pH du milieu. Généralement, plus le pH est bas, plus l'agar tend à devenir liquide (Auge et *al.*, 1989).

- **Le charbon actif**

Selon Hamlat (1995), le charbon actif absorbe les phénols, les produits de leur oxydation, accélère la croissance des cultures et favorise l'enracinement.

Dans d'autres cas, il possède un effet inhibiteur sur l'effet des auxines et les cytokinines contenus dans le milieu (Margara, 1984).

5-4-5- Les régulateurs de croissance (Phytohormones)

Selon Ross (1969) et Salisbury (1994) in Meyer et *al.*, 2004, une phytohormone est une substance organique végétale qui régule la croissance et le développement. Ces régulateurs de croissance appartiennent à cinq grands groupes :

- **Les auxines**

Les auxines agissent sur l'élongation cellulaire et inhibent la croissance des racines en induisant la formation d'éthylène dans ces organes. Elles sont, par ailleurs, impliquées dans les phénomènes physiologiques : tropisme, dominance apicale, division et différenciation cellulaire, abscission, développement du péricarpe des fruits charnus et la différenciation d'organes (Mazliak, 1999).

Selon Auge et *al.*, 1989, on a :

- L'acide indole -3- acétique (AIA) : C'est une auxine naturelle pouvant être obtenue par synthèse chimique. Elle se dégrade rapidement à la lumière.

- L'acide α -naphthalène – acétique (ANA) : Produit de synthèse, stable en milieu aqueux et à la chaleur.

- 2,4-dichlorophénoxyacétique (2,4-D) : C'est un herbicide de synthèse à effet auxinique très puissant, presque insoluble dans l'eau. Elle devient toxique à une concentration élevée, en provoquant la réaction hyperhydrique des tissus (Margara, 1984).

- Acide indole – butyrique (AIB) : C'est une substance de synthèse relativement stable.

- **Les cytokinines (CKs)**

Elles sont utilisées pour stimuler la prolifération des tissus en culture. A une forte concentration elles déclenchent la néoformation de bourgeons sur cals et favorise la prolifération des méristèmes axillaires en culture d'apex (Margara, 1984).

- Zéatine : Cytokinine naturelle, stable en milieu aqueux et à la chaleur.
- 2-isopentényladénine (2 ip) : Cytokinine naturelle.
- Benzylaminopurine ou 6-benzyladénine (BAP ou BA)
Cytokinine de synthèse.
- Kinétine ou 6-furfurylaminopurine (KIN, KN) : Cytokinine de synthèse stable à la chaleur.

Le schéma suivant représente les niveaux relatifs d'une auxine et d'une cytokinine nécessaires pour obtenir différentes réponses morphogénétiques.

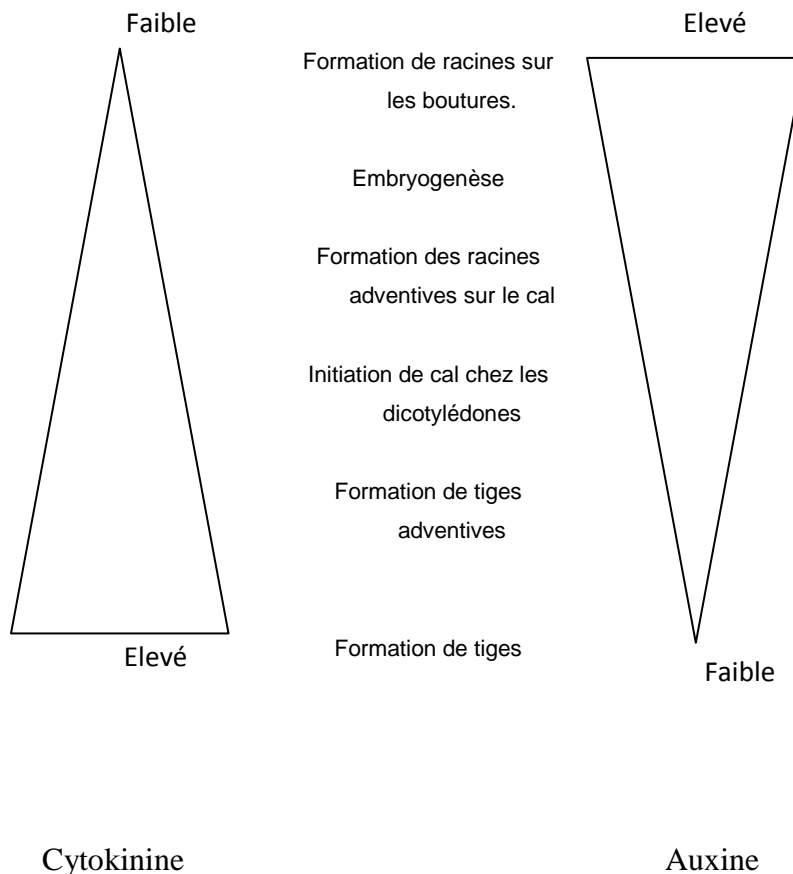


Fig.11: Effets organogènes des régulateurs de croissance *in vitro*.

Le comportement physiologique d'un explant mis en culture serait le suivant d'après Auge et *al.*, 1989.

- Si le rapport auxine/cytokinine est élevé, on obtiendra un fonctionnement de type rhizogène ;
- Si ce rapport est faible, l'explant évoluera vers un fonctionnement caulogène ;
- Si le rapport est voisin de l'unité, on aura un comportement callogène.

- **Les gibberellines (GAs)**

Selon Auge et *al.*, 1989, les premières observations (1926) ont été faites sur des plants de riz attaqués par un champignon (*Gibberella*) ; les tiges avaient des entre-nœuds beaucoup plus allongés et les feuilles étaient chlorotiques. Des extraits aqueux du champignon provoquaient les mêmes symptômes, d'où l'idée de l'existence d'une substance responsable de ces effets.

La première gibbérelline identifiée est l'acide gibbérellique GA₃, c'est un produit naturel, qui se dégrade rapidement en solution aqueuse.

Les gibbérellines favorisent l'allongement des entre-nœuds de tige, lèvent la dormance des graines.

- **Acide abscissique (ABA)**

C'est un inhibiteur naturel très répandu dans les plantes, il favorise l'abscission des feuilles et des fruits et exerce une inhibition de la croissance (Heller, 1995).

Il a aussi une action sur la perméabilité cellulaire aux ions potassium ; par cette action il provoque la fermeture des stomates (Auge et *al.*, 1989).

- **L'éthylène CH₂ = CH₂**

Il est produit à partir de la méthionine dans les tissus sénescents ou soumis à un stress (Meyer et *al.*, 2004).

L'éthylène est un composé gazeux identifié dans les enceintes de stockage des fruits, les principales propriétés de ce régulateur selon Auge et *al.*, 1989 sont :

- Déclenchement du processus de maturation des fruits.
- Accélération du processus d'abscission des feuilles et des fruits.
- Induction de la floraison.

D'autres phytohormones ont été récemment découvertes. Certaines sont impliquées dans la morphogenèse, d'autres dans la défense contre les agents pathogènes : (Meyer et *al.*, 2004).

- **Polyamines (PA)**

Toutes les cellules contiennent des polyamines comme la putrescine (Put) (H₂N (CH₂)₄ NH₂) et la spermine (Spm) (H₂N (CH₂)₃ NH (CH₂)₄ NH (CH₂)₃ NH₂). Les cellules eucaryotes contiennent la spermine (Spm). Les polyamines ont un effet antisénescence. Elles affectent la division cellulaire, la différenciation vasculaire, la formation d'embryoïdes,

l'initiation des racines, de tiges adventives et de fleurs, le mûrissement et la sénescence des fruits. Elles agissent à des concentrations plus élevées par rapport aux régulateurs de croissance traditionnels.

- Acide jasmonique (JA)

L'acide jasmonique contrôle la réaction aux blessures et l'expression des gènes des PR (pathogenesis related proteins) impliqués dans la défense de la plante. L'ABA et la JA inhibent la croissance, la germination et induisent la sénescence.

- Acide salicylique (SA)

L'isolement de cet acide chez le Saule date du XIX^e Siècle. La synthèse du dérivé acétylé, l'aspirine, est à l'origine de nombreuses applications thérapeutiques. Il fait partie des composés phénoliques, supposés comme étant des métabolites secondaires, non essentiels, alors qu'ils jouent un rôle clé chez les plantes. Ils interviennent dans la synthèse de la lignine, composant structural important des parois. Les phytoalexines contribuent à la défense des plantes contre les microbes, les insectes et les herbivores.

- Brassinolides (BR)

C'est la première hormone stéroïde découverte chez les végétaux. Il existe une trentaine de brassinostéroïdes (BR) dans les différentes parties des plantes, chez les monocotylédones, les dicotylédones, les conifères et les algues. Dans les tests biologiques, ils miment l'effet de l'AIA, de GA_s, ou des CKs. Ils peuvent aussi avoir une réponse différente. Les GAs et les CKs retardent la sénescence des feuilles, les BR l'accélèrent. Ils stimulent l'élongation des tiges et inhibent celle des racines. Ils contrôlent la photomorphogénèse.

5- 5- Les techniques de la culture *in vitro*

L'utilisation d'un fragment de plante pour reproduire un individu comme dans le bouturage, ou pour l'associer à une autre plante, comme dans la greffe, fait partie des biotechnologies anciennes. De nos jours il existe des techniques qui sont des méthodes plus fines, partant de fragments de plus en plus réduits, jusqu'à la cellule isolée.

Les applications sont nombreuses aujourd'hui tant dans le domaine de l'horticulture, de la recherche, notamment en amélioration des plantes, pour conserver la diversité variétale ou sauvegarder des espèces menacées.

5-5-1- Culture de méristèmes.

Les méristèmes sont des zones de cellules à division intenses, situés au cœur des bourgeons et des extrémités des racine. (Auge et *al.*, 1989).

L'apex caulinaire présente des territoires caractérisés par différentes activités mitotiques, différents plans de division et d'organisation des cellules.

La structure du méristème caulinaire de l'olivier (*Olea europea* Var. Chemlal) a été examinée par Yakoub-Bougdal (2005) par l'intermédiaire de coupes cytologiques :

Où l'on distingue :

- La zone axiale (ZA) : C'est une zone peu active à capacité histogène, elle occupe le sommet du méristème, et est très pauvre en mitoses.
- Le méristème médullaire ou zone centrale (ZM) : Les divisions transversales assurent la croissance en longueur de la tige, région d'élongation, sa moelle est entourée de bases foliaires et de faisceaux libéro-ligneux.
- L'anneau initial ou zone périphérique : Les cellules typiquement méristématiques ont une intense activité mitotique, il se présente sous forme d'un manchon cylindrique. A ce niveau, apparaissent les primordiums foliaires, la partie inférieure édifie les soubassements foliaires.

L'organisation de l'apex caulinaire est aussi classiquement décrite en terme de tunica et de corpus.

La tunica est généralement constituée de deux couches cellulaires (T₁, T₂) sur les bords de l'aire apicale, il édifie les feuilles et tous les tissus de la tige.

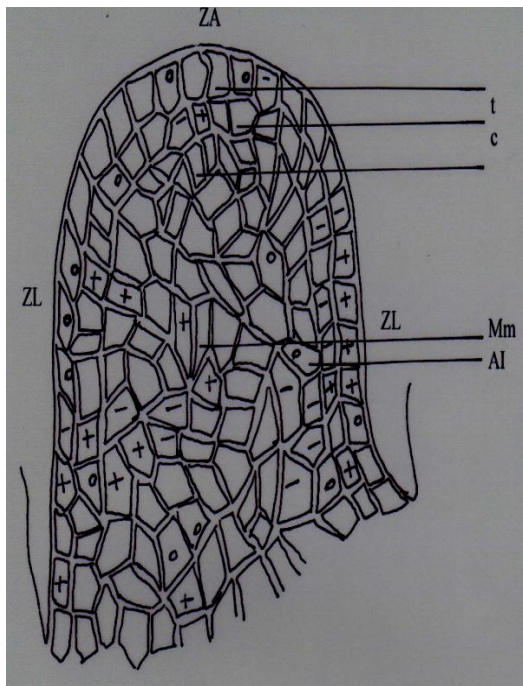
Le corpus, est un massif cellulaire situé à la base de la région axiale, qui édifie la moelle.

La figure 12, nous montre la zonation des méristèmes caulinaires issus des bourgeons terminaux, d'après Yakoub-Bougdal (2005).

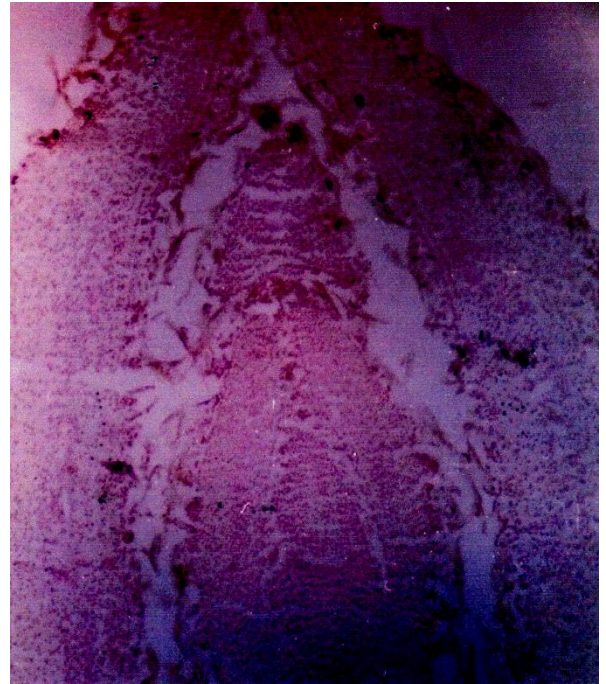
Sur les deux flancs de l'anneau initial, il y a de nombreuses mitoses. Les divisions dans ce massif cellulaire se font dans tous les sens. Cette intense prolifération est liée au fait que le méristème primaire exerce une dominance sur la prolifération des axillaires.

La figure 13, nous montre la zonation des méristèmes caulinaires issus des bourgeons axillaires.

Les divisions mitotiques se font au niveau des deux bandes latérales de l'anneau initial.



a



b

Fig. 12

a: Méristème caulinaire de *Olea europaea* L. (var. Chemlal)

Superposition de relevés de mitoses pour 10 sections longitudinales axiales. Bourgeon terminal.

T : Tunica

C : corpus

Mm : méristème médullaire

AI : Anneau initial

O : Prophase

+ : Métaphase

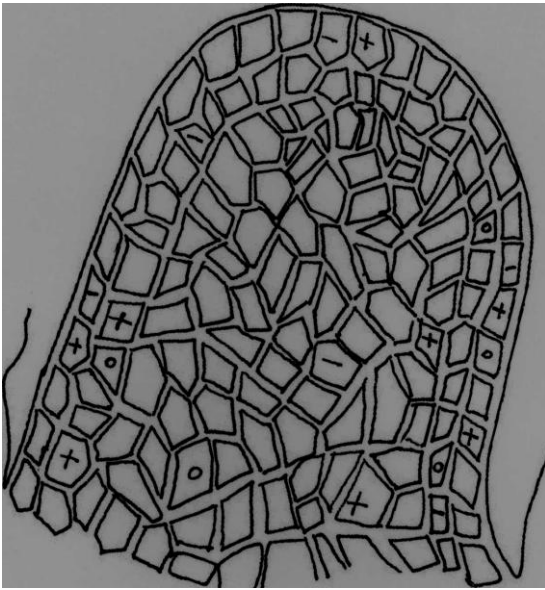
- : Anaphase

X : Télophase.

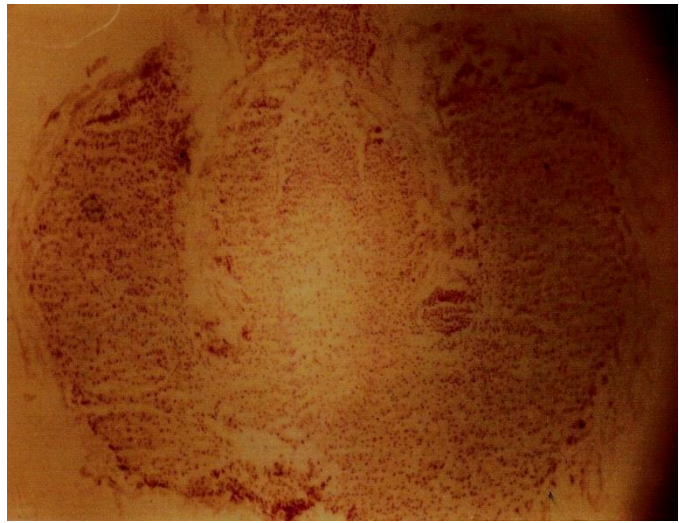
b: Section axiale du dôme caulinaire (MC) du bourgeon terminal.

Coloration : Feulgen – Rossenbeck (Gr. :10x10)

D'après Yakoub-Bougdal (2005)



a



b

Fig.13

a : Méristème caulinaire d'un bourgeon axillaire.

Superposition de relevés de mitoses pour 10 sections longitudinales axiales.

b: Coupe longitudinale axiale du dôme caulinaire du bourgeon axillaire.

Coloration : Feulgen – Rossenbeck Gr. :(10x10)

D'après Yakoub-Bougdal (2005)

La culture de méristèmes a été réalisée dans trois perspectives différentes :

1. L'étude du fonctionnement du méristème.
2. La propagation végétative avec un taux de multiplication élevé et le risque d'obtention de variants est réduit.
3. La reconstitution de clones indemnes de virus ou de mycoplasmes à partir de plants mères infestés. (Margara, 1989). (objectif de notre travail).

5-5-2- La micropropagation

Elle consiste à reproduire des plantes semblables à la plante-mère, c'est le clonage végétal (Auge et *al.*, 1989).

Le principe consiste à prélever sur la plante un organe ou un explant, à le cultiver en conditions aseptiques sur un premier milieu, puis le repiquer sur un deuxième milieu dont le rôle est de provoquer soit le développement de bourgeons pré-existants, soit la néoformation de bourgeons ou d'embryons somatiques, qui, une fois repiqués, pourront donner une plante (Auge et *al.*, 1989).

5-5-3- Embryogenèse somatique

C'est l'obtention d'embryons à partir des cellules non zygotiques.

Les embryons somatiques sont morphologiquement et anatomiquement similaires aux embryons zygotiques ; ils se développent à partir d'une seule ou d'un amas de cellules et présentent une bipolarité dès les premières divisions (Marquis, 1998).

D'après Auge et *al.* (1989), deux étapes importantes pour l'induction, l'entretien et la germination des embryons :

1. Un cal est initié sur un milieu d'induction, riche en auxine et en azote. Ce cal est fragmenté et repiqué sur le même milieu pendant plusieurs cycles.
2. Les cals sont transférés sur un deuxième milieu pauvre ou sans auxine, les embryons s'y développent.

Les résultats obtenus chez l'olivier jusqu'à présent laissent présager un avenir prometteur pour certains cultivars, notamment 'Dolce agogia', 'Leccino', 'Frantoio' et 'Moraiolo' (Rugini, 1988), 'Canino' (Lambardi et *al.*, 1995 ; Rugini et *al.*, 1995) et chez l'olivier sauvage var. 'sylvestris' (Orinos et *al.*, 1991). Cependant, il reste à développer certains aspects, en particulier les besoins nutritifs et hormonaux de l'embryon, de même que les conditions de survie et de développement des plantules issues de ces embryons (Brahadda et *al.*, 2008)

5-5-4- Haplodiploïdisation

L'utilisation des plantes haploïdes en amélioration des plantes, présente des avantages considérables se traduisant, pour les plus importants, par des gains de temps et une meilleure efficacité de sélection. Cette technique est la plus performante pour obtenir des plantes totalement homozygotes et, par conséquent, constituer des races pures.

Il existe deux voies de réalisation, la voie mâle ou androgenèse et la voie femelle ou gynogenèse.

5-5-5- Création de variabilité

Les mutations conduisent à la création d'un nombre croissant de nouvelles variétés. Ces mutations peuvent être induites par le biais de diverses techniques :

- Les radiations ionisantes.
- La variation somaclonale ou les vitrovariants

5-5-6- Les protoplastes

Le terme protoplaste désigne une cellule végétale débarrassée de sa paroi : elle apparaît alors sous forme d'une cellule sphérique, limitée par sa membrane plasmique. L'intérêt de ces cellules réside dans le fait qu'il est possible de faire introduire dans la cellule des molécules diverses dont l'ADN, des organites, des noyaux (fusion) et effectuer des manipulations génétiques (Auge et *al.*, 1989).

Cependant, le développement d'un protocole efficace de fusion de protoplastes nécessite la réalisation d'un certain nombre d'étapes pouvant chacune constituer une barrière (El Hamdouni et *al.*, 1999) :

- Choix de la source des explants et du tissu.
- Développement d'un système enzymatique efficace pour se débarrasser de la paroi pectocellulosique.
- Développement d'un milieu approprié pour la survie des protoplastes.
- Exécution du protocole de fusion pour la production d'hybrides somatiques.
- Sélection du produit de fusion.
- Développement d'un milieu permettant la régénération de la paroi des cellules sélectionnées et éventuellement de plantes complètes.

MATERIELS ET METHODES

Notre expérimentation s'est déroulée au niveau du laboratoire de culture *in vitro*, Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou (UMMTO), situé à la faculté de médecine, département de pharmacie.

1. Matériel végétal

Nous avons utilisé la variété Chemlal d'olivier *Olea europea* L.

Notre travail a porté sur trois types de matériel : les fruits dont on extrait les graines et les embryons pour comprendre le comportement des organes entiers (Fig.14), puis les microboutures d'où l'on prélève les apex caulinaires et axillaires (Fig. 15). Les apex axillaires sont prélevés des boutures médianes. Les arbres sont âgés de 10ans.

Les graines ainsi que les pousses annuelles de l'olivier proviennent d'un verger oléicole de Tikobain (wilaya de Tizi-Ouzou).

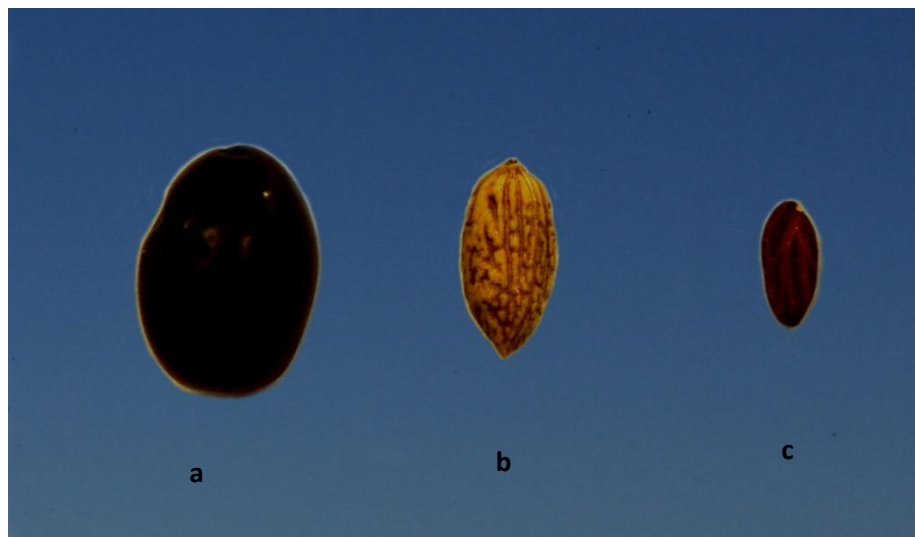


Fig. 14: *Olea europea* L. var. Chemlal.

a : Fruit.

b : Graine avec l'endocarpe lignifié.

c : Graine contenant l'embryon



Fig. 15 : Bouture de la variété Chemlal.

Nous nous sommes intéressés à un matériel végétal qui présente des symptômes de maladies essentiellement des excroissances au niveau des rameaux (fig. 16).



Fig. 16 : Tumeurs au niveau d'un rameau de l'olivier *Olea europea* var. Chemlal

Méthodologie

1-1- Les graines

Les graines sont débarrassées de leur pulpe, lavées abondamment pour éliminer toute trace de matières grasses puis séchées à la température ambiante du laboratoire et mises dans des bocaux.

1-2- Les embryons

L'extraction des embryons à partir des graines imbibées se fait grâce à une double incision de la partie radicaire de la graine (Canas *et al.*, 1987).

1-3- Les explants : microboutures et apex issus de plants adultes

Les pousses ont été prélevées à partir de matériel adulte malade, âgé de 10 ans, le choix est porté sur les jeunes rameaux d'une année, en cours de lignification.

2- Stérilisation

La stérilisation du matériel végétal avant la mise en culture est délicate. La difficulté de stérilisation vient de la nécessité absolue de la destruction totale des microorganismes par les produits employés sans que les cellules des tissus ne soient tuées (Auge *et al.*, 1989).

Les cultures sont réalisées dans des tubes à essai en verre. Les milieux de culture sont stérilisés par autoclavage (phase vapeur) à 120°C pendant 20mn. La verrerie est stérilisée à l'étuve (phase sèche) à 127°C pendant 30mn. L'ensemencement et la stérilisation du matériel végétal sont réalisés sous une hotte à flux laminaire verticale.

Les scalpels et les pinces sont flambés à l'aide d'un bec bunsen après un trempage dans l'alcool.

2-1- Les graines

Les graines sont stérilisées de la manière suivante :

- Lavage par un détergent liquide.
- Rinçage à l'eau distillée stérile.
- Bain d'alcool 70°.
- Bain d'hypochlorite de calcium.
- Trois bains d'eau distillée stérile.

On les place dans des boites de pétri pour les hydrater, à raison de 4 graines par boite. Ces boites sont scellées par du papier film (fig. 17).

L'imbibition des graines permet une séparation aisée de l'embryon (Yakoub- Bougdal, 1998).



Fig.17 : Imbibition des graines après 4 jours.

2-2- Les explants : microboutures et apex issus de plants adultes

Les pousses prélevées mesurent en moyenne 10 à 15cm de longueur.

La méthode de désinfection retenue est la suivante :

- Lavage par un détergent liquide.
- Rinçage à l'eau distillée stérile.
- Bain d'alcool 70°.
- Bain au bichlorure mercurique (HgCl_2).
- Trois bains d'eau distillée stérile.

3- Conditions de culture

L'asepsie est la première condition de la réussite d'une culture, avant l'ensemencement tout le matériel doit être stérilisé à savoir : tubes à essai, boîtes de pétri, béchers, erlen-meyer, entonnoir, pincettes, scalpels, les bocal. La stérilisation se fait à 127°C en phase sèche.

Les cultures sont placées dans une chambre de culture dont la température est voisine de 25°C et soumises à une photopériode où l'éclairage est de 2 500 lux avec 16h de lumière et 8h d'obscurité.

4- Protocole expérimental

4-1-les embryons

Nous avons mis en culture les embryons sur trois milieux de base différents : MS (1962), DKW (1984), Rugini (1984) et la solution simple eau gélosée déjà utilisée par Khelifi et *al.* (1998) et Baghdadi (2007) a été testée. Le pH est ajusté à 5.7 avec le Hcl ou le NaOH.

On solidifie les milieux avec de la gélose à 8 g/l. l'autoclavage est réalisé à 120°C pendant 20mn.

Deux types de phytohormones ont été testés : une auxine (ANA) à 0,1mg/l et deux cytokinines (BAP et KIN) à une concentration de 1mg/l.

Les combinaisons hormonales utilisées pour les différents milieux de culture sont :

- ANA + BAP
- ANA + KIN

4-2-Les apex caulinaires et axillaires

On découpe les boutures en microboutures de 1cm de longueur qui portent deux axillaires. Le prélèvement des apex caulinaires est réalisé en supprimant les premières feuilles entourant le dôme apical, la taille moyenne des apex est de 1cm de longueur également. L'ensemencement se fait dans des tubes à essai contenant 25ml des différents milieux de culture : Murashige et Skoog, 1962 (MS) et Driver et Kuniyuki, 1984 (DKW) où la concentration de Ca (NO₃), 4H₂O et de K₂SO₄ est respectivement de 1963.7 et 1560 mg/l (Annexes, Tab.1 et 2).

Une autre solution simple composée d'eau gélosée.

Nous avons ajouté à ces deux milieux de la 6-benzylamino-purine (BAP) à 1 ; 1.5 ; 2mg/l ainsi la Gibbérelline (GA₃) à 0.1mg/l.

La technique de la micropropagation consiste à provoquer dans une première phase la caulogénèse avec l'addition de la BAP à différentes concentrations (1, 1.5 2mg/l). Aux mêmes concentrations de BAP, nous avons additionné de la GA₃ a la dose de 0.1mg/l. Dans un deuxième temps, nous avons provoqué la rhizogénèse des plants obtenus utilisant la méthode du choc auxinique, qui consiste à mettre les vitroplants dans un milieu inductif (Yakoub-Bougdal, 2000). Ce milieu est composé du MS dilué de moitié additionné d'une auxine (ANA) à la concentration de 0.01mg/l. (Fig. 45).

La figure suivante résume le protocole général de la micropropagation de l'olivier *Olea europea* L.

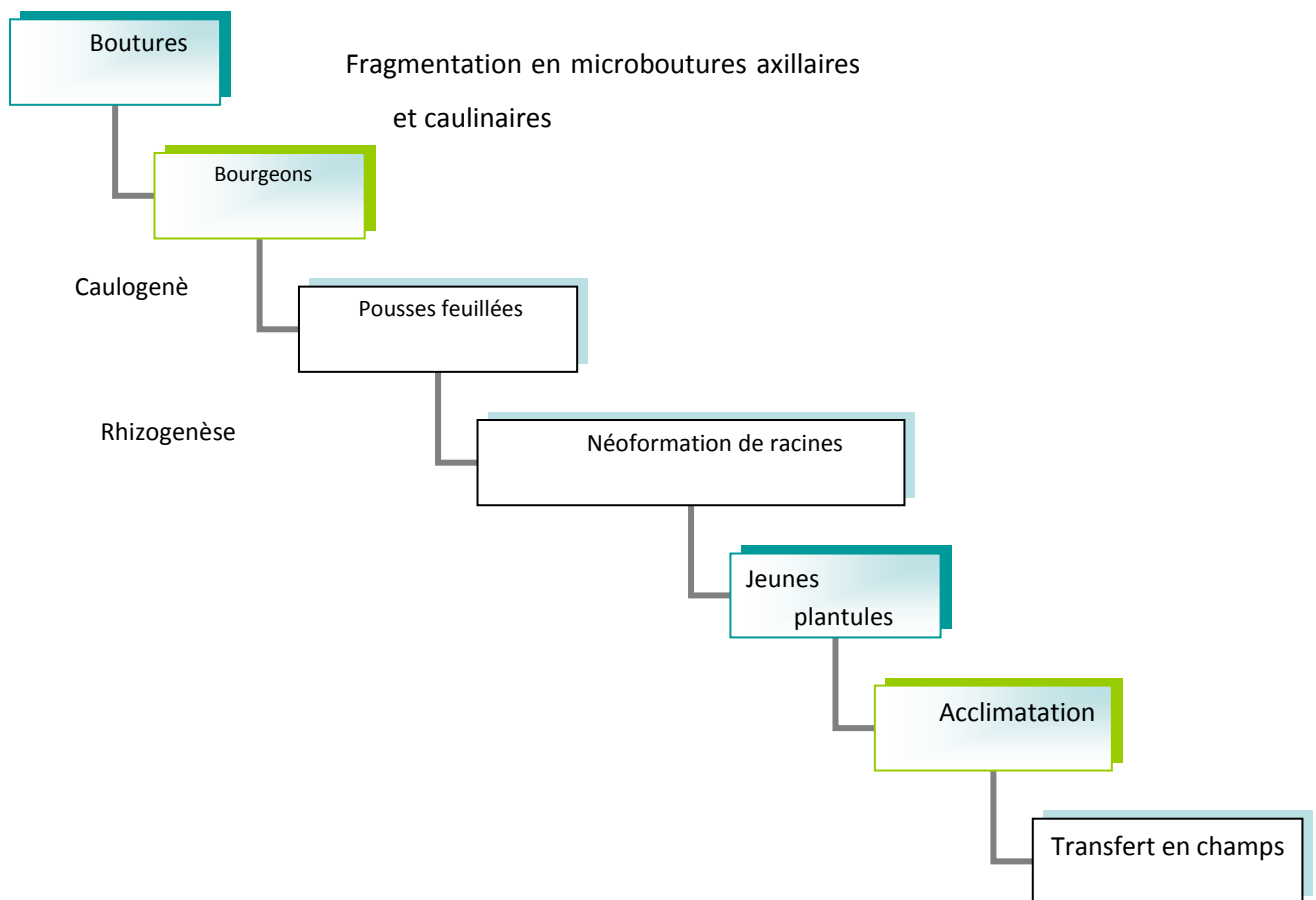


Fig. 18- : Schéma général de la micropropagation de l'olivier *Olea europea* L.

5- Observations

Le suivi de l'expérimentation consiste à observer les explants et leur évolution durant toutes les différentes phases de la micropropagation.

Nous avons observé les paramètres suivants :

- Le taux de contamination ;
- Le taux de nécroses ;
- Le taux de cals ;
- Le taux de reprise des vitroplants.

6- L'analyse statistique

Un dispositif en randomisation totale a été adopté et l'étude statistique des données est basée sur l'analyse de la variance.

RESULTATS ET DISCUSSION

1- Modes d'expression de la germination

1-1- Temps de latence

C'est le temps nécessaire pour que la première semence germe.

1-2- Capacité de germination

C'est le pourcentage maximal de semences capables de germer dans des conditions expérimentales.

2- Influence des milieux de base (EG, MS, DKW, RUGINI) sur la culture des embryons

La culture des embryons est une autre voie intéressante pour la production des vitroplants. Afin de déterminer le milieu le plus adéquat. La valeur la plus faible correspond à l'eau gélosée, qui présente la germination la plus précoce à savoir 4j. Et une capacité de germination la plus élevée (Fig. 19).

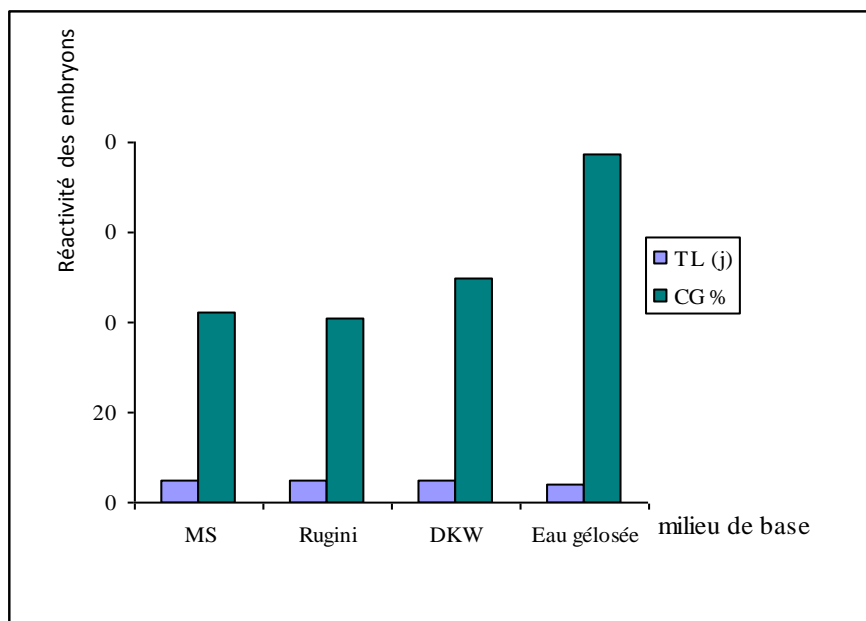


Fig. 19 : Influence des milieux de base sur la réactivité des embryons de l'olivier.

La planche 1 donne le suivi des embryons cultivés sur de l'EG, DKW, MS et RUGINI.

- **Milieu : Eau gélosée**

La figure a montre l'état initial de l'embryon, après une semaine de culture on note, un allongement de la partie caulinaire et de la partie racinaire, verdissements des feuilles cotylédonaires et leur début d'ouverture (Fig. b). Dès la 3^{ème} semaine, la racine principale et la 2^{ème} paire de feuilles se développent. (Fig. c).

- **Milieu : DKW**

Sur ce milieu on observe après deux semaines de culture, ouverture des feuilles cotylédonaire et allongement de la racine principale (Fig. d), A la 5^{ème} semaine de culture, on note l'ouverture de la 2^{ème} paire de feuilles et enroulement de la racine principale (Fig. e), et après 7 semaines de culture, la 3^{ème} paire de feuilles apparaît et enroulement intense de la racine principale (Fig. f).

- **Milieu : MS**

Après 1 semaine de culture, on note le verdissement des feuilles cotylédonaire et leur ouverture (Fig. g). La 1^{ère} paire de feuilles s'ouvre à la 2^{ème} semaine de culture et la partie caulinaire s'allonge (Fig. h), et au bout de 5 semaines de culture, la 2^{ème} paire de feuilles se développe et la racine principale s'enroule (Fig. i).

- **Milieu : Rugini**

A la 5^{ème} semaine de culture, la 2^{ème} paire de feuilles se développe (Fig. j).

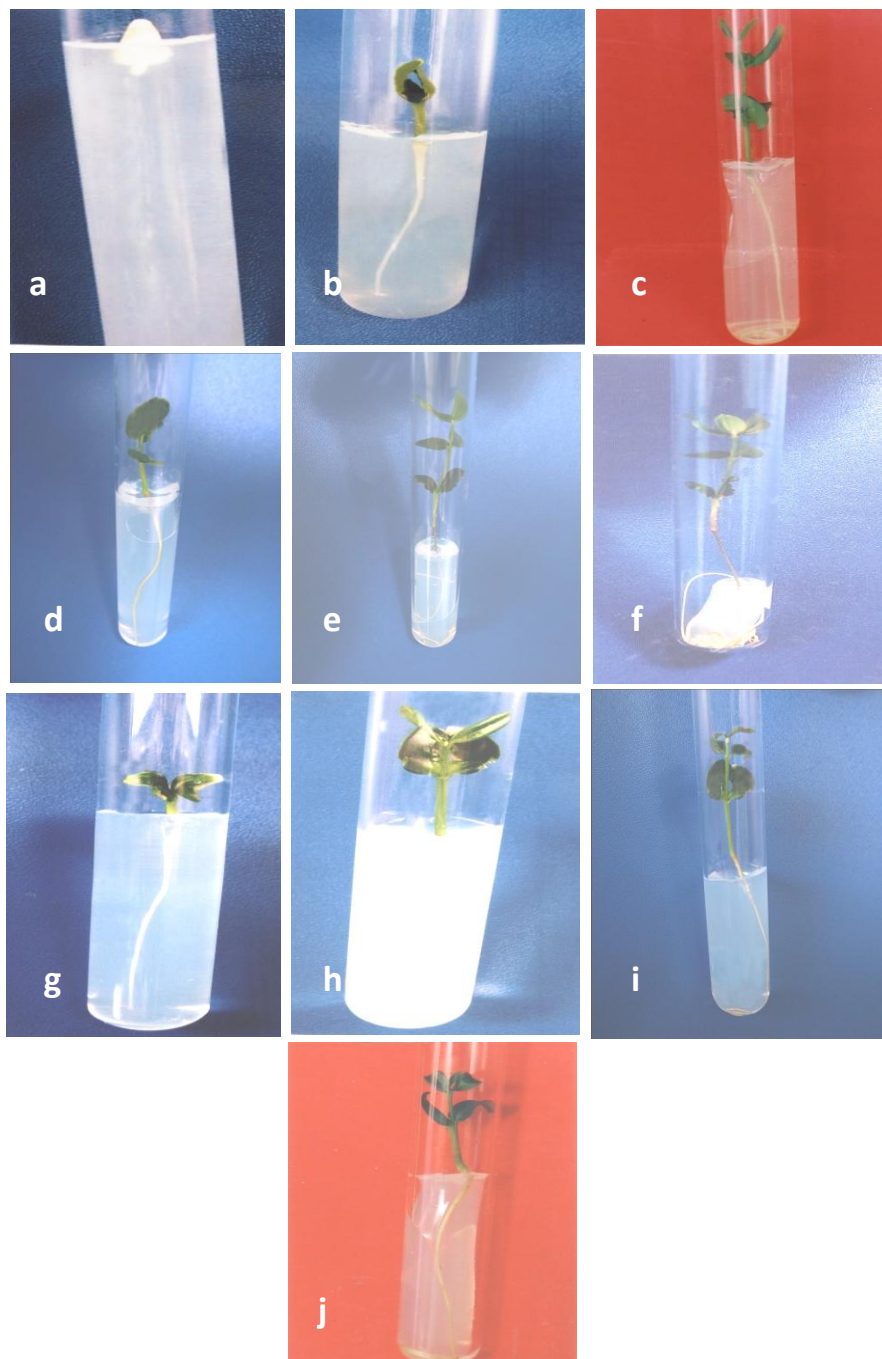


Planche 1 : Embryons d'olivier *Olea europea* L. var .Chemlal ensemencés sur les milieux de base.

- a- Etat initial (Gx2)
- b- Une semaine de culture sur EG (Gx2) : Verdissement des cotylédons, allongement de la racine et début d'ouverture des feuilles cotylédonaires.
- c- Trois semaines de culture (Gx1) : Développement de la racine principale et de la 2^{ème} paire de feuilles.
- d- Embryon après deux semaines de culture sur DKW : Ouverture des feuilles cotylédonaires et allongement de la racine principale.
- e- Cinq semaines de culture : Développement de la 2^{ème} paire de feuilles.
- f- Sept semaines de culture : Développement de la 3^{ème} paire de feuille et enroulement de la racine principale.
- g- Embryon après une semaine de culture sur MS (Gx2) : verdissement des cotylédons et allongement de la racine principale.
- h- Deux semaines de culture (Gx2) : ouverture des feuilles cotylédonaires, allongement de la partie caulinaire et développement de la 1^{ère} paire de feuilles.
- i- Cinq semaines de culture (Gx1) : Développement de la 2^{ème} paire de feuille et enroulement de la racine principale.
- j- Embryon après cinq semaines de culture sur RUGINI (Gx2) : Développement de la 2^{ème} paire de feuilles .

3- Influence des régulateurs de croissance Auxine + Cytokinines (ANA (0.1mg/l), BAP (1mg/l), KIN (1mg/l)) sur la culture des embryons

a. Influence de la balance hormonale ANA (0.1mg/l) + BAP (1mg/l) sur la germination

Pour le milieu eau gélosée, le TL est de 5j. avec une capacité de germination la plus élevée à savoir 77,27% (Fig. 35).

Le milieu Eau gélosée est considéré comme un témoin, c'est-à-dire sans sels minéraux, la plante puise toutes les réserves.

Le milieu de Rugini présente un taux de 37.41% avec un temps de latence plus long (7j) ; vient ensuite le milieu DKW avec 26,66% de germination ; par contre le MS après un temps de latence le plus long (10j) donne un faible taux de germination (7.31%).

L'action de l'ANA en combinaison avec la BAP présente un temps de latence le plus court à savoir 4j. pour le DKW, par contre les autres milieux, présentent des temps de latence plus long par rapport aux témoins et une capacité de germination nettement faible.

Le taux de réussite par rapport à la première variante (ANA + BAP) est de 36.66%.

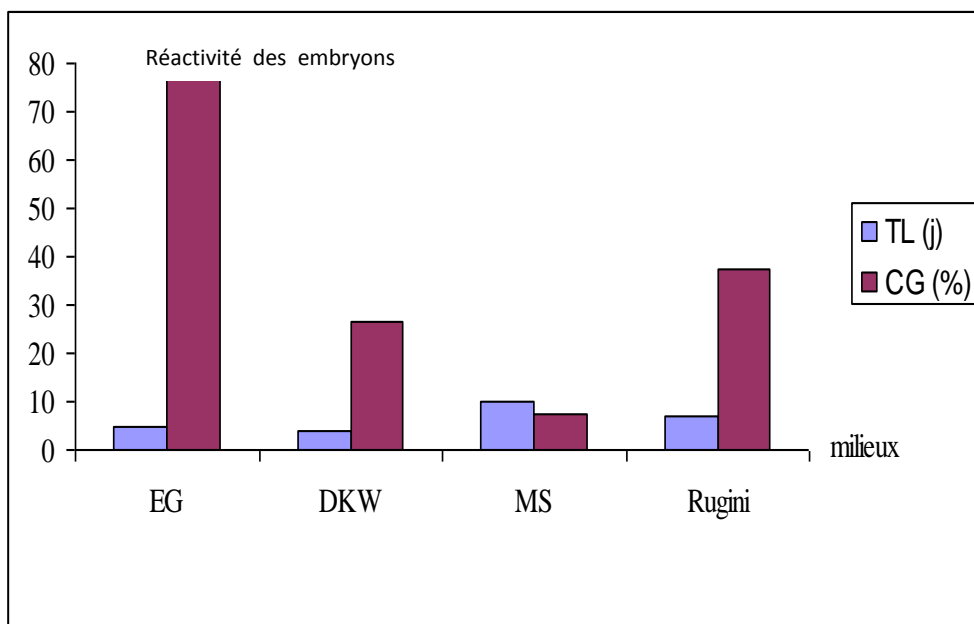


Fig. 20 : Influence de la combinaison hormonale ANA (0.1mg/l) + BAP (1mg/l) sur la réactivité des embryons de l'olivier.

a. Influence de la balance hormonale ANA (0.1mg/l) + KIN (1mg/l) sur la germination.

Le temps de latence varie de 5 à 7 jours selon les milieux (fig. 21).

Le temps de latence le plus court est obtenu avec l'eau gélosée (5j) avec une capacité de germination la plus élevée à savoir 80%, vient ensuite le milieu MS avec une capacité de germination de 63.63% et un temps de latence de 6j. Le milieu DKW présente un taux de germination qui est de 45,83% et un temps de latence de 7j. Par contre le milieu Rugini donne un très faible taux de germination qui est de 15,15% avec un temps de latence de 7j.

Le taux de réussite par rapport à la deuxième variante (ANA + KIN) est de 51.77%.

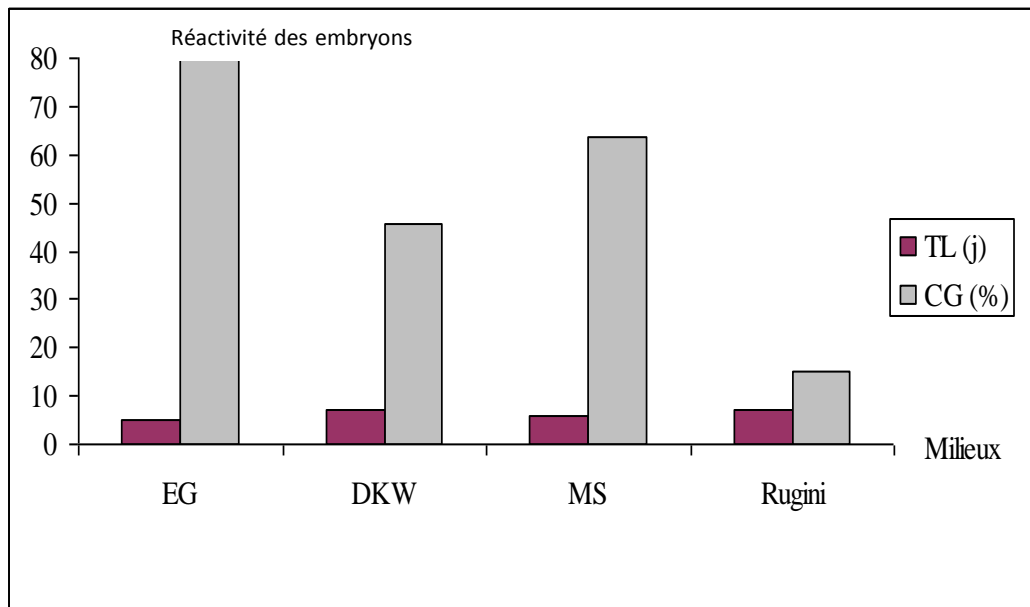


Fig. 21 : Influence de la combinaison hormonale ANA (0.1mg/l) + KIN (1mg/l) sur la réactivité des embryons de l'olivier.

Nous avons remarqué que les taux les plus élevés sont enregistrés en présence de Kinétine pour les différents milieux de culture, mis à part le milieu de Rugini qui présente un taux de réussite très faible.

Les taux de réussite par rapport au milieu de culture sont les suivants :

L'eau gélosée présente le meilleur taux de réussite qui est de 79,88 %, suivi des milieux MS et DKW, qui donnent respectivement un taux de 36,25 % et 35,47 %. Le taux le plus faible est enregistré avec le milieu Rugini où l'on obtient 25,29 %.

La fonction observée $F_{obs} (2,31) < F_{th} (9,28)$ table des valeurs critiques de SNEDECOR avec $\alpha \geq 0,05$.

Ce qui est confirmé par le Coefficient de variation résiduel qui est égal à 51,11% trop élevé, indicateur de la variabilité des graines, il en est de même pour l'effet des régulateurs de croissance, $F_{obs} (0,89) < F_{th} (10,10)$. (Annexes, Tab. 4).

En ce qui concerne le système racinaire, il présente un bon développement quelque soit le milieu de culture utilisé.

b. Influence de la balance hormonale ANA (0.1mg/l) + BAP (1mg/l) sur le développement de la plantule

La planche 2 donne le suivi des embryons cultivés sur de l'EG, DKW, MS et RUGINI additionné d'ANA (0.1mg/l) + BAP (1mg/l).

- **Milieu : Eau gélosée**

Ouverture des cotylédons après une semaine de culture (Fig.a), à la 4^{ème} semaine de culture, la 1^{ère} paire de feuilles s'ouvre et on note la formation d'une racine secondaire (Fig. b).

- **Milieu : DKW**

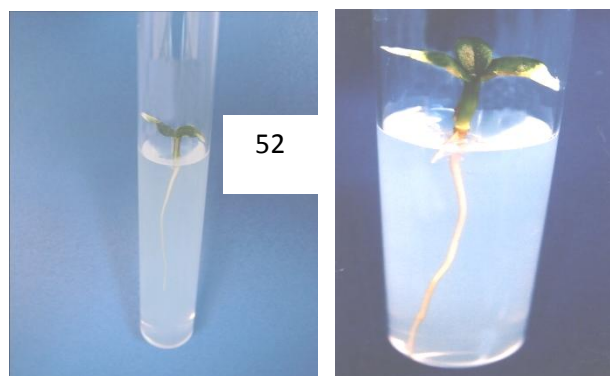
Après 1 semaine de culture, les feuilles cotylédonaires s'ouvrent et la racine principale s'allonge et s'enroule (Fig. c). La 1^{ère} paire de feuilles se développe et la racine principale est pourvue de quelques racines secondaires après 4 semaines de culture (Fig. d).

- **Milieu : MS**

On note après 10 jours de culture, un allongement de la racine et une ouverture des feuilles cotylédonaires (Fig. e). Au bout de la 4^{ème} semaine, 3 paires de feuilles se développent et la racine principale s'enroule (Fig. f).

- **Milieu : Rugini**

Après 2 semaines de culture, les feuilles cotylédonaires s'ouvrent (Fig. g). Après 4 semaines de culture, la racine principale s'allonge et la 1^{ère} paire de feuilles se développe (Fig. h).



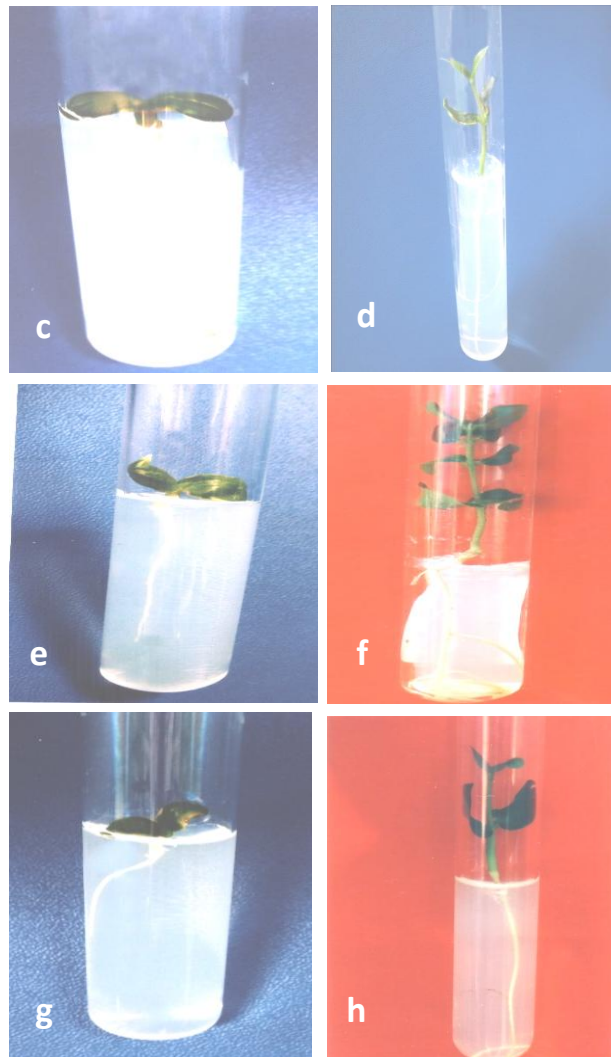


Planche 2 : Embryons d'olivier (var. Chemlal) ensemencés sur les différents milieux de culture avec la combinaison hormonale : ANA (0.1mg/l) + BAP (1mg/l).

- a- Une semaine de culture (Gx1) : Ouverture des feuilles cotylédonaire.
- b- Quatre semaines de culture (Gx4) : Développement de la 1^{ère} paire de feuilles, enroulement de la racine principale et apparition d'une racine secondaire.
- c- Embryon après une semaine de culture sur DKW (Gx4) : Ouverture des feuilles cotylédonaire et allongement et enroulement de la racine principale.
- d- Quatre semaines de culture (Gx1) : Développement de la 1^{ère} paire de feuilles et de très fines racines secondaires
- e- Embryon après dix jours de culture sur MS (Gx4) : Ouverture des feuilles cotylédonaire et allongement de la racine
- f- Quatre semaines de culture (Gx4) : Développement de la 3^{ème} paire de feuilles et enroulement de la racine.
- g- Embryon après deux semaines de culture sur RUGINI (Gx4) : Ouverture des feuilles cotylédonaire.
- h- Quatre semaines de culture (Gx2) : Développement de la 1^{ère} paire de feuilles et allongement de la racine principale.

e- Influence de la balance hormonale ANA (0.1mg/l) + KIN (1mg/l) sur le développement de la plantule.

La planche 3 donne le suivi des embryon 53 és sur de l'EG, DKW, MS et RUGINI

additionné d'ANA (0.1mg/l) + KIN (1mg/l).

- **Milieu : Eau gélosée**

Après une semaine de culture, on note un verdissement des feuilles cotylédonaires et la racine principale s'émerge (Fig. a). Après 2 semaines de culture, on note l'apparition d'un chevelu racinaire et la 1^{ère} paire de feuilles (Fig. b).

Après 4 semaines, la racine principale s'allonge et s'enroule, les racines secondaires se développent ainsi que la 1^{ère} paire de feuilles (Fig. c).

- **Milieu : DKW**

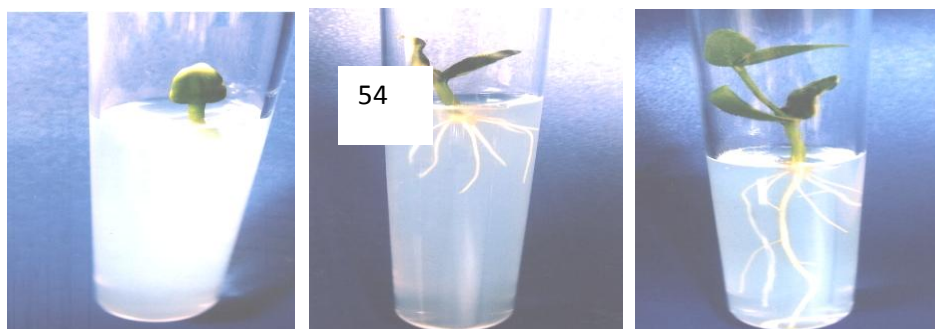
A 3 semaines de culture, la 1^{ère} paire de feuilles se développe et la racine principale s'allonge (Fig. d). Après 5 semaines, la 2^{ème} paire de feuilles s'ouvre et la racine principale s'enroule (Fig. e).

- **Milieu : MS**

Les feuilles cotylédonaires s'ouvrent à la 2^{ème} semaine de culture (Fig. f). A la 5^{ème} semaine, la partie caulinaire s'allonge et la 2^{ème} paire de feuilles s'ouvre (Fig. g).

- **Milieu : Rugini**

Après 1 semaine de culture, la racine principale s'émerge (Fig. h). Le développement de la 2^{ème} paire de feuilles se fait à la 4^{ème} semaine, et la racine principale s'enroule (Fig. i).



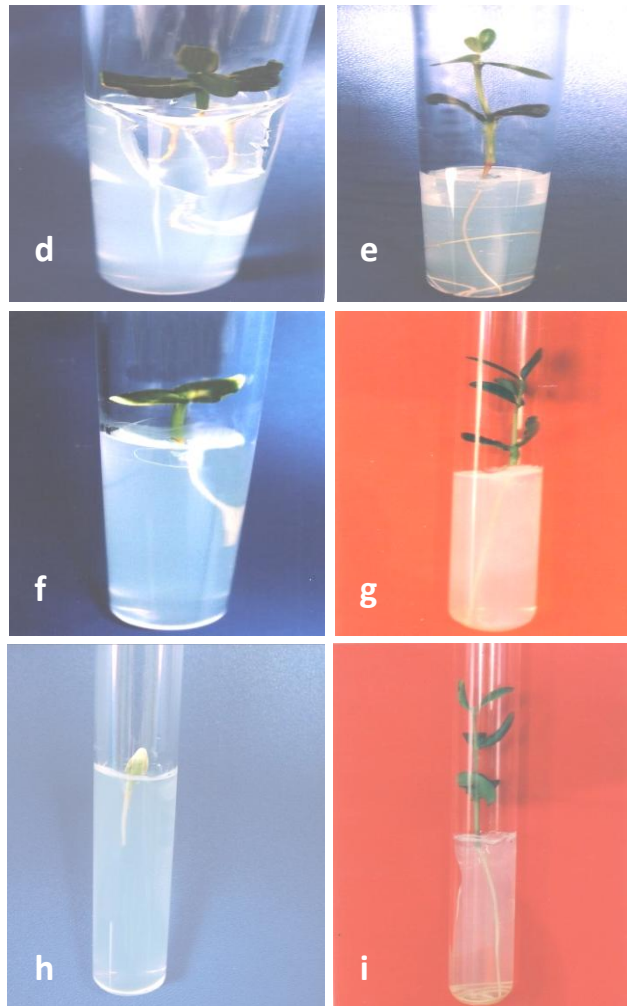


Planche 3 : Embryons d'olivier (var. Chemlal) ensemencés sur les différents milieux de culture avec la combinaison hormonale : ANA (0.1mg/l) + KIN (1mg/l).

- a- Embryon après une semaine de culture sur EG : Verdissement des cotylédons, début d'allongement de la racine.
- b- Deux semaines de culture : Début d'apparition de la 1^{ère} paire de feuilles et apparition d'un chevelu racinaire
- c- Quatre semaines de culture : Développement de la 1^{ère} paire de feuilles, allongement et enroulement de la racine principale et Développement d'un chevelu racinaire.
- d- Embryon après trois semaines de culture sur DKW (Gx4) : Allongement de la racine principale et développement de la 1^{ère} paire de feuilles.
- e- Cinq semaines de culture (Gx2) : Enroulement de la racine principale et sortie de la 2^{ème} paire de feuilles.
- f- Embryon après deux semaines de culture sur MS (Gx4) : Ouverture des feuilles cotylédonaires.
- g- Après cinq semaines de culture (Gx2) : allongement de la partie caulinare et développement de la 2^{ème} paire de feuilles.
- h- Après une semaine de culture sur RUGINI (Gx2) : Verdissement partiel des cotylédons et allongement de la racine principale.
- i- Quatre semaines de culture : Développement de la 2^{ème} paire de feuilles, allongement et enroulement de la racine principale

Deux types de balances hormonales ont été testés ; ANA (0.1mg/l) + BAP (1mg/l) et ANA (0.1mg/l) + KIN (1mg/l). Dans notre essai, la concentration de la combinaison hormonale ayant présenté les meilleurs résultats sur la culture des embryons de l'olivier sont

ANA (0.1mg/l) + KIN (1mg/l) pour les différents milieux de culture testés, contrairement à la combinaison hormonale ANA (0.1mg/l) + BAP (1mg/l), où l'on enregistre des taux de germination nettement faible, et cela est confirmé par les taux de réussite calculés pour les deux variantes qui sont :36.66% pour l'ANA (0.1mg/l) + BAP (1mg/l) et 51.77% pour l'ANA (0.1mg/l) + KIN (1mg/l).

Le milieu eau gélosée sans hormone ou avec des hormones enregistre les meilleurs taux en un temps de latence plus court soit 80% pour la condition ANA (0.1mg/l) + KIN (1mg/l), 77,27 % pour la condition ANA (0.1mg/l) + BAP (1mg/l) et 77,27% en absence d'hormones, avec un temps de latence de 4j. Par ailleurs Jay (1982) signale que la présence d'une cytokinine à des doses généralement faibles est indispensable pour le développement des embryons de plusieurs essences ligneuses.

Guendoud et Boussadia (2001) notent que les embryons de *Pistacia atlantica* Desf. Donne un taux de germination de 29% et Baghdadi (2007), a obtenu sur la même espèce 36,36% avec un temps de latence de 6j.

Les embryons de la Picholine marocaine ont atteint une germination de 69% à 21°C (Brhadda et al., 2000).

Par ailleurs, dans notre laboratoire Hamlat (1995) a obtenu 95,2% sur le milieu MS additionné de 0,01mg/l d'ANA et 0,8mg/l de BAP. Lameri (2003) a obtenu 80,85%. Iguerbousbène (2005) a obtenu sur le milieu Rugini additionné d'AIA à 0,01mg/l et KIN à 1,5mg/l un taux de germination de 83,33%.

Nous avons obtenu sur le milieu MS des vitroplants avec une tige et une racine très rigide. Nous confirmons nos résultats avec ceux de Yakoub-Bougdal (2005), qui a obtenu un taux de germination de 95,83%. Elle note que sur le milieu MS les vitroplants sont plus vigoureux avec un nombre de feuilles plus élevé, cependant Khelifi (1986) a signalé qu'avec le milieu riche MS, le taux de développement *in vitro* des graines de mélèze est généralement faible par rapport a celui enregistré sur les milieux de Knop et White. De ce fait les résultats varient en fonction des espèces.

4-Action des milieux de base (EG, MS, DKW) sur la culture des apex axillaires et caulinaires

L'analyse de la fig. 22 ne montre pas des réactions différentes du comportement des explants suivant les milieux de culture utilisés. On note sur les différents milieux de culture des taux de débourrement important, à savoir 67.39% pour l'eau gélosée, 67.30% pour le MS et 61.36% pour le DKW. Pour le développement des bourgeons en pousses, les taux sont aussi élevés pour les différents milieux utilisés qui sont de 66.66% pour le MS et 55.55% pour le DKW.

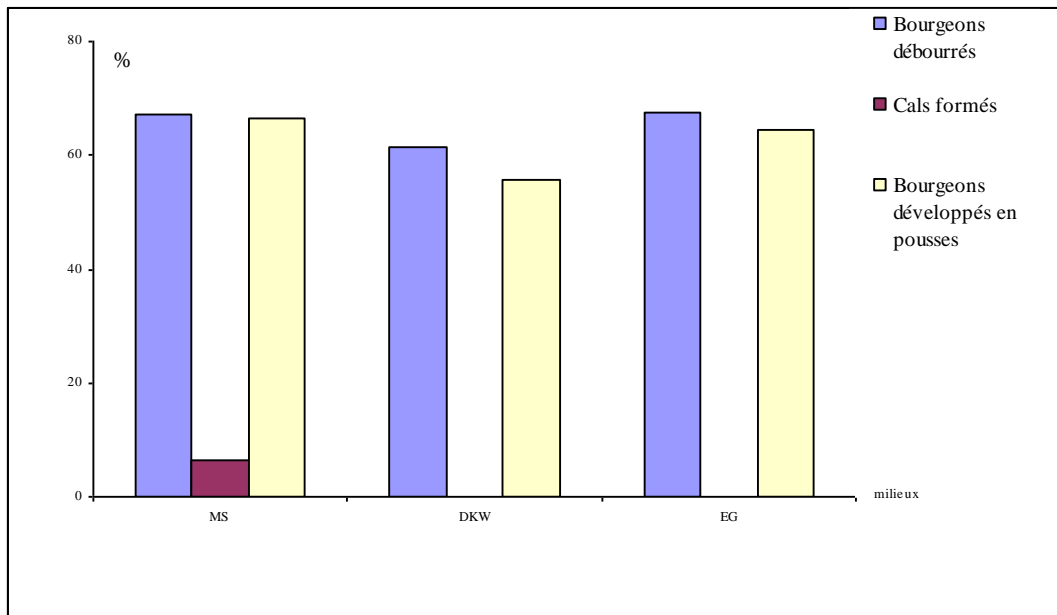


Fig. 22- Action du milieu de culture sur le bourgeonnement et le développement des bourgeons en pousses.

L'analyse statistique nous montre que la différence n'est pas significative entre le milieu MS et les milieux DKW et EG en ce qui concerne le développement des bourgeons (Tab.6) et le développement des bourgeons en pousses (Tab.7).

Tab. 6 : Comparaison statistique deux à deux du bourgeonnement en fonction du milieu de culture.

	DKW	EG
MS	0.54	0.01

Tab. 7: Comparaison statistique deux à deux du développement des bourgeons en pousses en fonction du milieu de culture.

	DKW	EG
MS	0.85	0.24

La planche 4 présente les résultats de l'ensemencement des microboutures sur les milieux de base : EG, MS et DKW.

Sur le milieu EG, La microbouture axillaire (Fig. a) à l'état initial, présente un début d'ouverture de deux paires de feuilles à la 2^{ème} semaine de culture (Fig. b). Ces dernières se développent après 4 semaines de culture (Fig. c).

Sur le milieu de MS T, l'apparition de la 1^{ère} paire de feuilles a eu lieu après 2 semaines de culture (Fig. d) et son développement est à la 3^{ème} semaine de culture (Fig. e).

Sur le milieu de DKW, on note un gonflement des bourgeons après 1 semaine de culture (Fig. f). L'apparition de la 1^{ère} paire de feuilles du bourgeon axillaire est observée à la 2^{ème} semaine de culture (Fig. g).

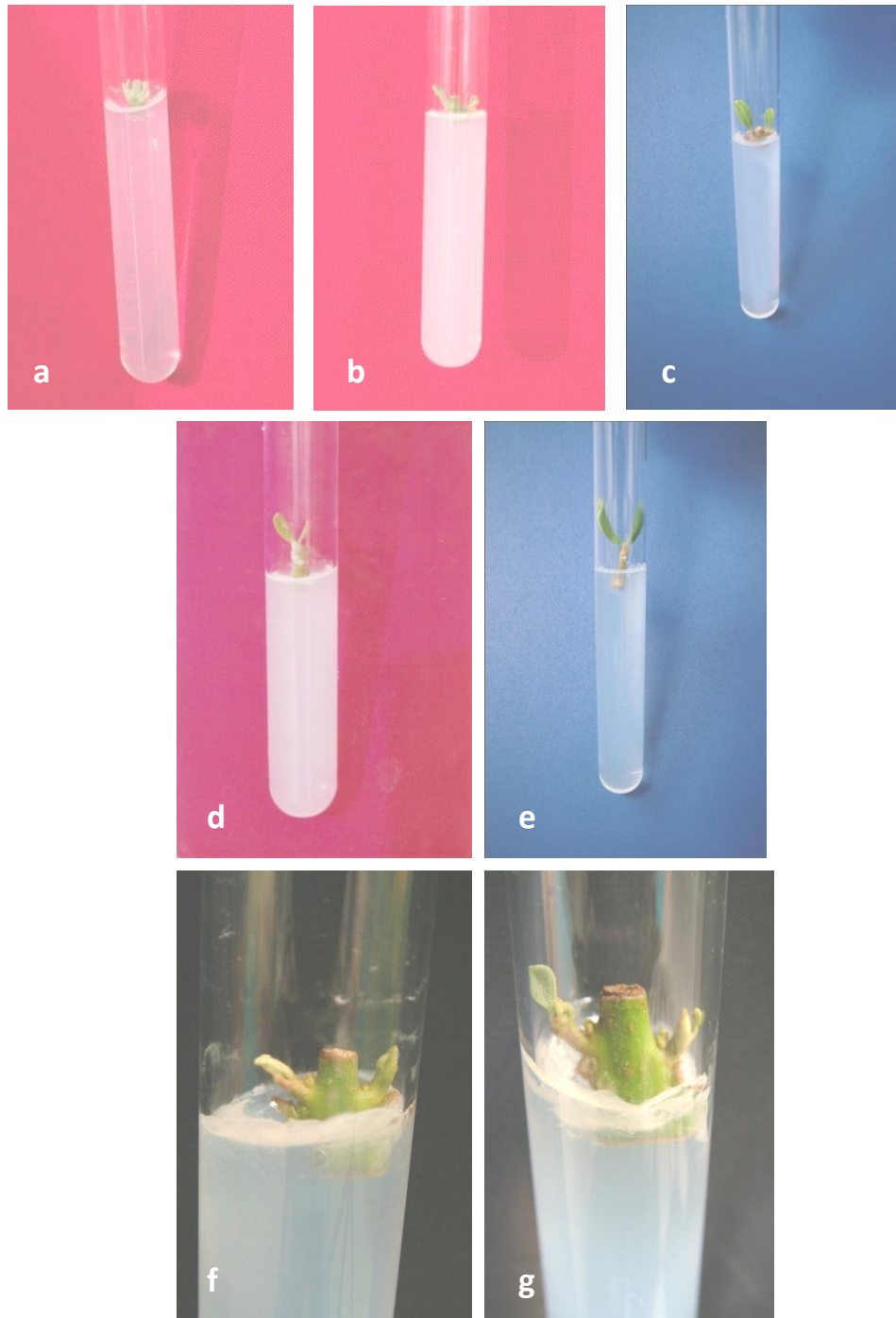


Planche 4 : Microboutures d'olivier *Olea europaea*. L cultivées sur les milieux de base

- a- Etat initial sur l'EG (Gx1)
- b- Début d'ouverture de deux paires de feuilles, après deux semaines de culture.
- c- Développement des feuilles, après quatre semaines de culture.
- d- Début d'ouverture d'une paire de feuilles, après deux semaines de culture sur MS T(Gx1)
- e- Développement de la 1^{ère} paire de feuilles, après trois semaines de culture.
- f- Gonflement des bourgeons axillaires, après une semaine de culture sur le milieu de DKW (Gx4)
- g- Ouverture d'une feuille.

5-Action des régulateurs de croissance (BAP (1, 1.5, 2mg/l), GA₃ (0.1mg/l)) sur la culture des apex axillaires et caulinaires

5-1- Phase de caulogénèse

- Milieu : MS

L'analyse de la fig. 23, fait ressortir que pour le débourrement des bourgeons, la BAP aux concentrations de 1 et 2mg/l ont permis d'obtenir les taux de bourgeonnement les plus élevés avec respectivement 63.63% et 73.64%. L'addition de la GA₃ (0.1mg/l), les taux de bourgeonnement sont faibles.

Dans le cas de développement des bourgeons en pousses, la BAP à la concentration de 1mg/l a présenté un optimum de 71.42%, tandis qu'avec la GA₃, il est de 55.55%. Le taux de pousses formées a significativement été affecté par le milieu de culture. Le pourcentage le plus élevé a été obtenu dans le milieu MS. On note nécroses et contaminations des autres conditions.

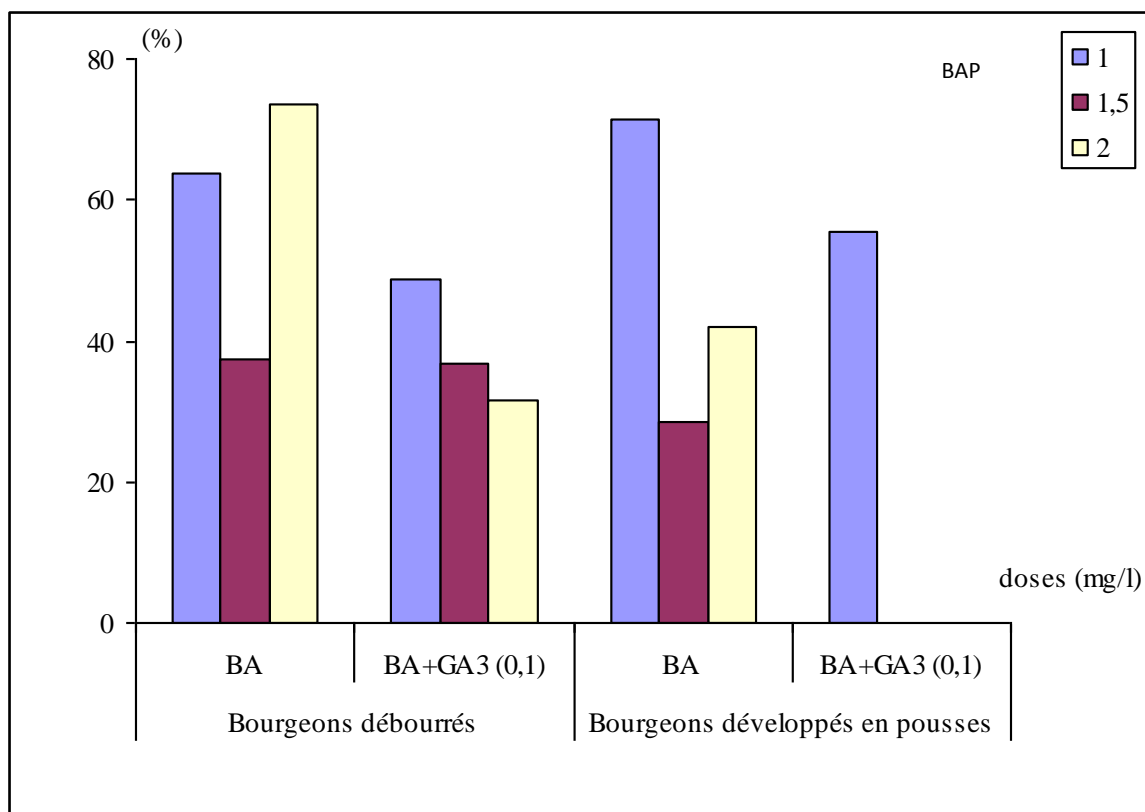


Fig. 23. Action des différentes concentrations de la BAP et de la GA₃ en milieu MS sur le bourgeonnement et le développement des bourgeons en pousses.

- **Milieu : DKW**

Dans le cas du débourrement des bourgeons, l'analyse de la fig. 24 fait ressortir que la BAP à la dose de 2mg/l permet d'obtenir le taux le plus élevé (74,44%) par rapport aux autres traitements. au bout de cinq semaines de culture, tous nos échantillons sont nécrosés et contaminés. Avec l'addition de la GA₃, les taux de bourgeonnement sont meilleurs pour toutes les conditions à savoir 65.78%, 62,22% et 56,52% respectivement.

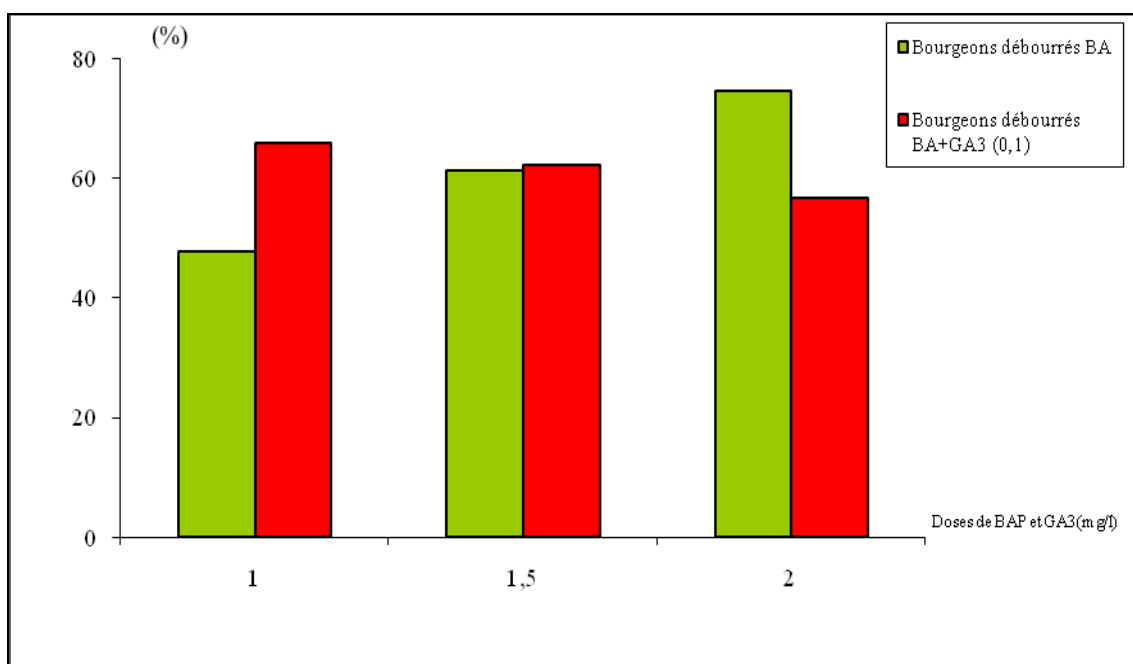


Fig. 24. Action des différentes concentrations de la BAP et de la GA₃ sur le bourgeonnement et le développement des bourgeons en pousses en milieu DKW.

Nous avons sélectionné le milieu de MS pour la suite de nos expériences, en tenant compte des résultats obtenus sur les différents milieux.

Dès la première semaine de culture, les bourgeons axillaires se développent sur le milieu MS additionné de BA à 2mg/l, en présentant un gonflement d'un bourgeon et l'ouverture d'une paire de feuille de l'autre bourgeon axillaire (Fig. 25).



Fig.25. Microbouture cultivée sur MS + BAP (2 mg/l) (Gx2)

- Ouverture d'une paire de feuille de l'un des bourgeons axillaire et gonflement de l'autre après une semaine de culture.

La planche 5 montre les résultats de l'ensemencement des apex caulinaires (fig. a) sur le milieu de culture MS + BAP (1 mg/l) et MS + BAP (1 mg/l) + GA₃ (0,1mg/l).

On note l'ouverture de trois paires de feuilles à la 4^{ème} semaine de culture (Fig. b).

En présence de la GA₃ à la dose de 0,1mg/l, on observe à la 5^{ème} semaine de culture, un allongement de la partie caulinaire (Fig. c).

5-2-Induction de la callogénèse

Les microboutures présentent des cals friables de couleur beige, dans les parties basales (planche 6).

Sur le milieu DKW, on note un développement important : 42,85% (Fig. a, b, c) contrairement au milieu MS où on obtient 11,9% (Fig. d, e, f), cela est due probablement à sa richesse en éléments minéraux.

D'après les expériences de Yakoub-Bougdal (2005), l'accroissement des cals est en étroite relation avec la concentration de la BAP : Plus celle-ci augmente, plus les cals sont volumineux.

El Hadrami et *al.* (1995) ont rapporté que, lorsque le rapport auxine/cytokinine est égale a un et particulièrement quand la 2ip est remplacé par de la BAP, l'induction de la callogenèse est augmentée.

L'induction des cals a significativement, selon Brhadda et *al.*, 2007, été influencée par la concentration en ANA. Les meilleurs résultats ont été obtenus avec 2mg/l d'ANA (82,3%)

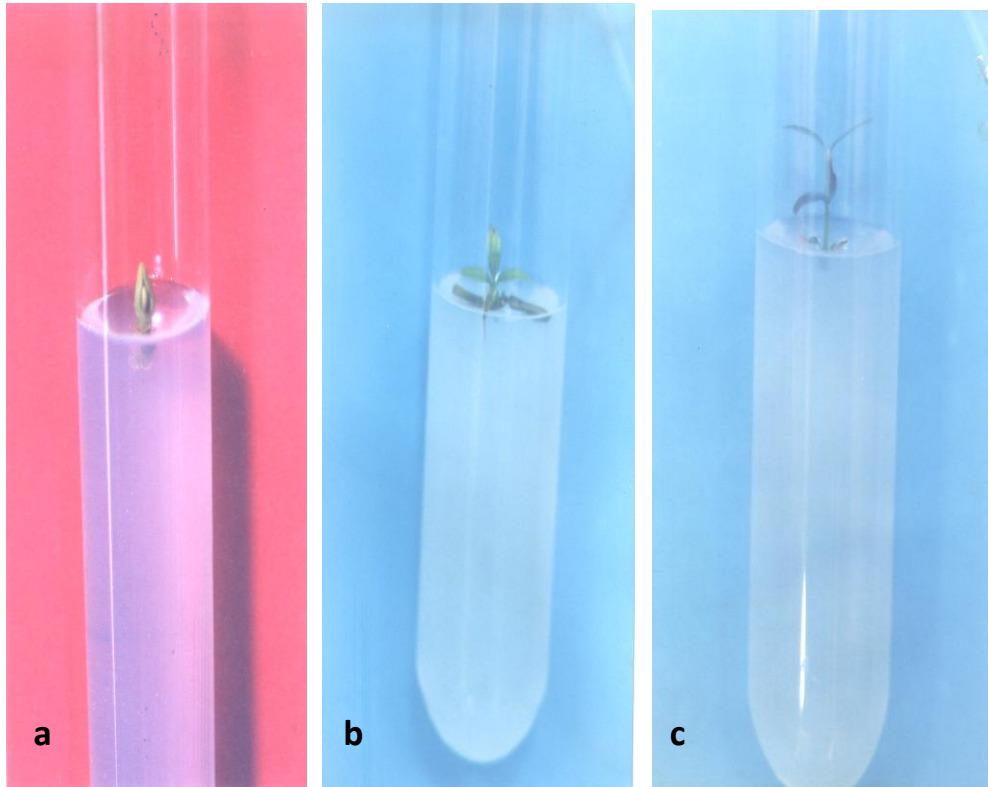


Planche 5 : Apex caulinares cultivés sur le milieu MS + BAP (1 mg/l) et MS + BAP (1 mg/l) + GA₃ (0,1mg/l). (Gx4)

- a- Etat initial.
- b- Après 4 semaines de culture, ouverture de 3 paires de feuilles sur MS + BAP (1 mg/l)
- c- Après 5 semaines de culture, allongement de la partie caulinaire sur MS + BAP (1 mg/l) + GA₃ (0,1mg/l).

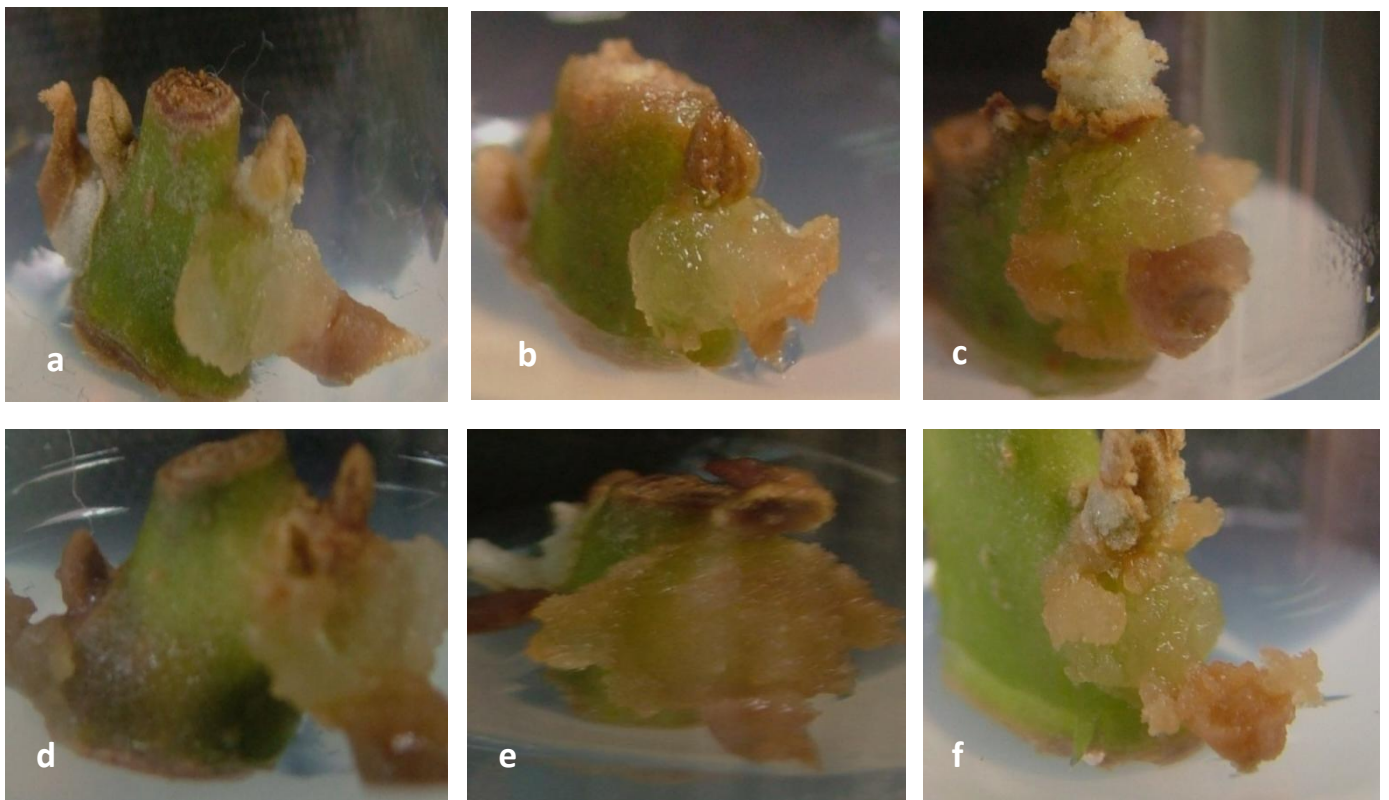


Planche 6 : Prolifération de cals sur le milieu DKW + BAP (1mg/l) (Gx8) et sur MS + BAP (1mg/l) (Gx8)

- a. 2 semaines de culture.
- b. 3 semaines de culture.
- c. 4 semaines de culture.
- d. 2 semaines de culture.
- e. 2 semaines de culture.
- f. 3 semaines de culture.

5-3- Induction de la rhizogenèse

Cette dernière étape permet l'induction d'un système racinaire sur les apex caulinaires obtenus sur le milieu MS + BAP (1mg/l).

Selon Boulay (1979), Riffaud et Cornu (1981), Tsogas et Bouriquet (1982), Dumanois et *al.*, (1986), la rhizogenèse *in vitro* des ligneux est fréquemment une phase difficile à obtenir.

Plusieurs auteurs conseillent, pour la culture *in vitro* de certaines espèces, l'utilisation de la même solution minérale utilisée pour la formation des pousses, mais diluée plus ou moins fortement, Boulay (1979), Rancillac (1981), Quoirin et *al.*, 1977 (*in* Labrous, 1983), Gaspar (1988), Wiechtech et *al.*, (1989), Cortezzi Graca et Mendes (1989).

Nous avons appliqué la méthode du choc auxinique, dans le but d'améliorer l'enracinement de cette espèce.

Nous avons retenu l'ANA pour son efficacité sur la rhizogenèse.

Le milieu inductif est composé du milieu MS dilué de moitié (MS/2), auquel on ajoute l'ANA à 0,01mg/l.

L'examen des résultats après dix semaines de culture montre un taux d'enracinement important des vitroplants (80%).

La planche 7 montre les résultats obtenus après transfert des vitroplants sur le milieu MS/2 + ANA (0.01mg/l).

Une racine principale s'est formée à 4 semaines de culture (Fig. a). La racine s'allonge au bout de 6 semaines de culture (Fig. b). Après 10 semaines de culture, nous avons observé la reconstitution d'une plantule entière développée. (Fig. c). Nos résultats concordent avec ceux de Yakoub-Bougdal (2005). Del Rio et *al.*, Daoud et *al.*, (1989) et Ozkaya et *al.*, (1995) attribuent la différence d'enracinement des divers cultivars de l'olivier à leurs potentialités organogènes.

Rancillac et *al.*, (1982) obtiennent un taux d'enracinement supérieur à 80% chez le Pin. Hamlat (1995) obtenu sur le MS/2 + ANA (6mg/l) un taux très élevé (92,8%) sur la même variété.

Selon Nougared et Agrar (1983), la juvénilité est un état physiologique et biochimique de la plante qui permet en général à celle-ci de montrer ses caractéristiques les plus favorables à l'enracinement. Par conséquent, la prédisposition naturelle à l'enracinement d'une plante juvénile est plus grande que pour une plante adulte (Quraichi et *al.*, 1979), Marrou (1980), rancillac (1981), Trarvan et Thomas (1981), Negueroles et Agrar (1983), Nozeran (1985), Auge (1989).

L'action des auxines sur la rhizogenèse dépend de la nature et de la concentration de ces hormones, en effet, l'action de l'ANA est plus efficace que celle de l'AIB sur l'enracinement des explants (Blake et Eeuwens, 1981) sur le cocotier. Labrous (1983) sur les agrumes, Jacoboni (1989) sur l'olivier, montrent que les racines se différencient mieux avec l'ANA qu'avec d'autres auxines.

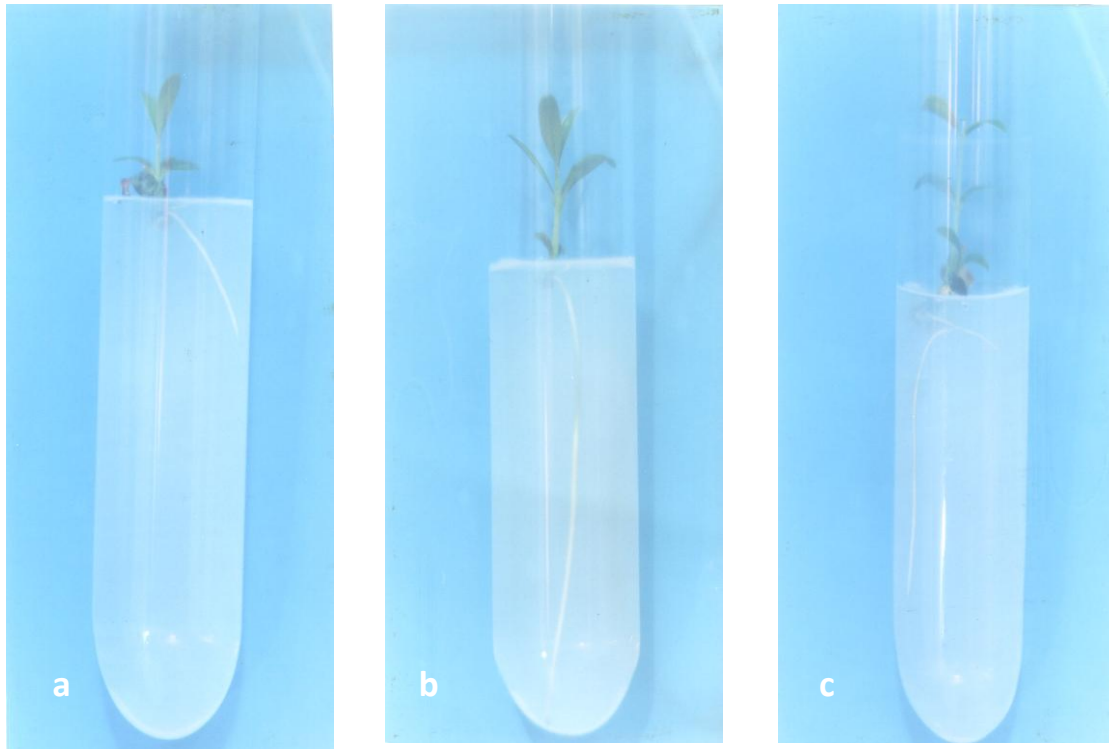


Planche 7 : Transfert des vitroplants sur le milieu MS/2 + A.N.A. (0,01mg/l) (Gx4)

- a. Formation d'une racine principale après un mois de culture.
- b. Après 6 semaines de culture, la racine principale s'allonge.
- c. Développement des parties caulinaires et racinaires, avec une pousse feuillée à la base après 10 semaines de culture.

L'analyse de la variance appliquée aux résultats obtenus pour les différentes concentrations relatives aux milieux de culture utilisés a permis de mettre en évidence des différences sensiblement significatives entre les conditions étudiées ($F_{\text{obs}} = 3,02 / F_{\text{th}} = 3,33$), ce qui justifie l'effet prépondérant des différentes conditions utilisées.

Par ailleurs, la comparaison des moyennes obtenues (comparaison des moyennes 2 à 2) a permis de conclure que la BAP (1mg/l) constitue la meilleure condition avec 59,65% de réussite.

Quand à la comparaison par rapport au témoin (méthode de DUNNET), l'analyse n'a montré aucune différence significative. Les milieux de culture diffèrent par leur composition en sels minéraux, essentiellement en macroéléments (Annexes. Tab.1).

Au cours de la multiplication végétative de l'olivier, nous avons constaté que la phase de bourgeonnement est caractérisée par l'origine de l'explant et l'action des cytokinines. Suivant le point de prélèvement sur le végétal, les fragments mis en culture auront des modes de fonctionnement variés (Nozeran, 1985). Ainsi la position des bourgeons sur la bouture de l'olivier détermine le taux de réussite du bourgeonnement.

La période de prélèvement des microboutures est primordiale, selon Caballero (1983), Del Rio *et al.*, 1991, les variations saisonnières dans le succès du bourgeonnement des boutures de l'olivier a été attribuées aux hormones et aux facteurs nutritionnels.

En effet, les microboutures en position médiane chez la variété Chemlal donnent de meilleurs résultats par rapport à celles situées en position apicale ou basale (Yakoub-Bougdal, 2005). Ce résultat rejoint ceux obtenus par Abousalim *et al.*, 1993 sur la variété Picholine.

Le prélèvement des microboutures pendant les saisons d'été et d'hiver provoque un bourgeonnement très médiocre. En effet, la mise en culture des microboutures est suivi, quelques jours après, d'un brunissement des explants et du milieu de culture, qui est dû, selon Jonard (1986), à l'oxydation enzymatique des composés phénoliques sous l'action des oxydases polyphénols et des peroxydases.

Par contre, le prélèvement des microboutures pendant l'automne et le printemps aboutit à de très bons résultats Hartman et Loreti, (1965), Boulay (1979), Fontanazza et Jacoboni (1975) *in* Caballero, 1983.

Toutefois, les explants prélevés en automne sont plus efficaces que ceux prélevés au printemps, probablement, à cause de la teneur élevée en hydrate de carbone (Del Rio *et al.*,

1991), et de l'effet négatif du processus de la floraison sur la multiplication végétative pendant le printemps (Abousalim et *al.*, 1993).

Nos résultats concordent avec ceux de Yakoub-Bougdal (2003)) sur le Pistachier de l'Atlas, Rugini (1990) sur différentes variétés de l'olivier, Seyham-Ozzamback (1994) sur différents cultivars de l'olivier,

Et selon Yakoub-Bougdal (2005), le développement des bourgeons axillaires en pousses feuillées a été obtenu avec la BAP à 2mg/l (81,3%).

L'action de la BAP est confirmée par les travaux de Haicour (2002) chez *Sequoia giganteum*. Abdelhamid (2004), a obtenu un taux de 95% sur le milieu DKW additionné de 2mg/l d'IBA (acide-3-indolybutyrique).

CONCLUSION

Dans notre étude nous nous sommes intéressés à la variété Chemlal, qui est la principale variété à l'huile cultivée essentiellement en grande Kabylie, l'arbre est très vigoureux, les fruits sont petits mais riches en huile d'excellente qualité.

Les techniques employées en biotechnologie végétale constituent actuellement d'importantes voies pour la multiplication et l'amélioration génétique des espèces végétales, dont les arbres fruitiers et en particulier l'olivier devraient profiter.

La multiplication traditionnelle se fait par semis de noyaux suivis de greffage et par multiplication végétative, cependant ces méthodes présentent un taux de propagation faible, de plus, la multiplication de la variété Chemlal par le bouturage pose de grandes difficultés en ce qui concerne la rhizogenèse.

Donc notre objectif est d'améliorer les techniques de propagation en se référant à la multiplication *in vitro*, et d'essayer de produire des plants sains à partir de plants malades.

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. La multiplication *in vitro* constitue une technique valable à forte capacité de multiplication pour la propagation de génotype d'élite. Cette technique novatrice permet la production d'un nombre élevé de plants dans une période de temps réduite à partir d'une ou d'un nombre très limité de plants mères sélectionnés.

De nombreux programmes d'amélioration génétique des arbres fruitiers ont utilisé ces vitrométhodes comme solution d'appoint aux problèmes de la reproduction végétative et comme moyen de résoudre des problèmes agronomiques majeurs tels que l'enracinement, le contrôle de la vigueur, l'assainissement des arbres virosés, la sensibilité des racines aux maladies du sol et l'adaptation des variétés aux aléas pédologiques et climatiques. (Jonard et *al.* 1988 in Abdelhamid, 2004).

L'ensemble des résultats expérimentaux concernant les conditions de multiplication et d'enracinement de la variété Chemlal, réalisés dans ce travail permettent de tirer les conclusions suivantes :

- Pour les embryons, le milieu Eau gélosée et MS additionné de l'ANA à 0,1 mg/l + KIN à 1mg/l agit favorablement sur la morphogenèse. Aussi, les vitroplants sont plus vigoureux par rapport au milieu de Rugini et DKW où les plantes sont plus fragiles.

- Le meilleur débourrement des bourgeons est obtenu avec la BAP à 1 et 2mg/l.

- Le meilleur développement des bourgeons en pousses est obtenu en présence de BAP à 1mg/l. Cependant, certains facteurs liés à la plante mère jouent un rôle important tel que l'état physiologique de la bouture d'après les travaux de notre laboratoire. Les explants prélevés en période d'activité végétative prolifèrent beaucoup plus rapidement que ceux mis en période de repos cambial. Durant l'automne, la teneur en hydrates de carbone est élevée, ce qui entraîne une meilleure réactivation des explants.

- L'enracinement des pousses feuillées est obtenu avec le milieu MS dilué de moitié additionné d'ANA à 0,01mg/l pour les apex caulinaires.

Nos travaux sur la culture *in vitro* de la variété Chemlal nous ont permis de définir le milieu de culture permettant sa micropropagation, cependant il est nécessaire de déterminer les facteurs qui augmentent les taux de multiplication tout en réduisant la durée de chaque étape de la micropropagation.

Il est aussi important de faire des recherches supplémentaires pour surmonter certaines difficultés telles que le faible taux de survie des vitroplants après l'acclimatation. Pour les agriculteurs, l'un des facteurs les plus importants est la résistance aux maladies et aux parasites.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- **Abdelhamid S.**, 2004. Microgreffage *in vitro* du Châtaignier, Suisse Vitc. Arboric. Hortic. V. 36, N°2, pp.87-92.
- **Aboussalim A., Walali DM., Slaoui K.**, 1993. Effet du stade physiologique sur l'enracinement des boutures semi ligneuses de l'olivier en tablettes chauffantes. *Olivae*, 46, pp.30-7.
- **Anonyme.**, 1993. La culture de l'olivier. ITAFV, 35p.
- **Anonyme.**, 1998. Certification sanitaire d'arbres et de porte-greffe d'olivier, documents techniques de l'OEPP, N°17, pp.1-8.
- **Anonyme.**, 2003. Fiches techniques : l'amandier, l'olivier, le figuier, le grenadier, Bulletin mensuel de liaison et d'information du MADER/DERD, N°105, 10p.
- **Argenson C., Régis S., Jourdain JM., Vaysse P.**, 1999. L'olivier. Ed. Chirat, N° 8190, 240p.
- **Auge R., Beauchesne G., Boccon- Gibod J.**, 1989- La culture *in-vitro* et ses applications horticoles .Ed. Tec. Doc. Lavoisier, Paris, 225p
- **Baghdadi H.**, 2007. Essai de régénération de deux pistachiers : *Pistacia vera* et *Pistacia atlantica Desf.* par semis, bouturage et culture *in vitro*. Thèse magister USTO d'Oran, 151p.
- **Baldy, C.**, 1990. Le climat de l'olivier (*Olea europea* L.)Volume jubilaire du professeur Quezel. Ecole méditerranée XVI. pp. 113-121.
- **Black J., Eeuwens C J.**, 1981., Culture of coconut palm tissues with a view to vegetative propagation. Proc. Costed. Symp, Singapour. Pp. 145-148.
- **Boulay M.**, 1979. Multiplication et clonage rapide du *Séquoia sempervirens* par la culture *in vitro*. Etu. et rech. A.F.O.C.E.L, V6, N°12, pp.49-55.
- **Breton C., Médail F., Pinatel Ch., Bervillé A.**, 2006. De l'olivier à l'oléastre : Origine et domestication de l'*Olea europea* L. dans le bassin méditerranéen, cahier Agriculture, V15, N°4, Pp.329-336.
- **Brhadda N., Walali DM., Abousalim A., Benali D.**, 2000. Note technique. Effet de la température et de l'endosperme sur la dormance et la germination des embryons d'olivier *Olea europaea* L. variété Picholine marocaine. Rev. Agronomie, N°20, Pp. 643-653.
- **Brhadda N., Walali DM., Abousalim A.**, 2007. Histological study of the somatic embryogenesis of Moroccan Picholine olive tree *Olea europea*. Rev. Fruits, Vol. 62, N°2, Pp. 115-124.

- **Brhadda N., Walali DM., Abousalim A.**, 2008. Effet du sucre sur l'embryogenèse somatique de l'olivier (*Olea europaea* L.) cv. ' Picholine marocaine ', *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.*, Vol. 12 N°3, Pp.245-250.
- **Caballero M.**, 1983. Reproduction de l'olivier par bouturage semi-ligneux sous nébulisation, la multiplication de l'olivier I.N.I.A, Espagne, Pp. 129-176.
- **Canas L. A., Carramolino L., Vicente M.**, 1987. Use of embryonis for the vitro culture of the olive tree. Personal communication, 15p.
- **Chiez R.**, 1982. Guide vert des plantes médicinales. Ed. Solar, 442p.
- **COI.**, 2005. Le marché mondial de l'huile d'olive, *Olivae*, N°103, pp.4-7.
- **Cortezzi Graca ME., Mendes S.**, 1989. Micropropagation of *Eucalyptus dunnii* Maid. *Ann. Sc. For.* Pp. 164-164.
- **Cronquist A.**, 1981. An integrated system of classification of flowering plants, Columbia University Press, NY.
- **Daoud D.A., Agha J.T., Abu-Lebdak H., Al-Khaiat M.S.**, 1989. Incidence de l'AIB sur l'enracinement des boutures feuillées de l'olivier, *Olivae* N°27, pp, 28-30.
- **Del Rio C., Caballero R.**, 1983. Bases anatomiques et physiologiques de la formation des racines adventives de l'olivier. I.N.I.A., Espagne, Pp.53-75.
- **Del Rio C., Rallo L., Caballero M.**, 1991. Effect of carbohydrate content on the seasonal rooting of vegetative and reproductive cutting of olive. *J Hortic Sci.* 66: 301
- **Dumanois C., Braut-Bouchet F., Cosson L., Paris M.**, 1986. Multiplication végétative *in vitro* du chanvre (*Canabis sativa* L.), application à la conservation des clones sélectionnés. *Rev. Agr.* N°5, Pp. 487-495.
- **El Hadrami I., Cheikh R., Baaziz M.**, 1995. Somatic embryogenesis and plant regeneration from shoot-tip explants in *Phoenix dactylifera* L., *Biologia Plantarum*, 37 (2), Pp. 205-211.
- **Encarta**, 2008.
- **Fontanazza F G.**, 1988. Comment cultiver en vue de la qualité d'huile, *Olivae* N° 24, Pp. 31-39.
- **Gaspar T.**, 1988. Multiplication végétative des plantes supérieures par culture *in vitro*, in « culture de cellules tissus et organes végétaux, fondements théoriques et utilisations pratiques. Press. Poly. Rom. Pp. 31-50.
- **Ghedira K.**, 2008. L'olivier, *Rev. Phytothérapie*, Vol. 6, N° 2, Pp. 83-89.

- **Guendoud S., Boussadia H.**, 2001. Contribution à l'étude de la micropropagation de *Pistacia atlantica* Desf. à partir de vitrosemis, *Pistacia vera* L. par micrograftage. Th. Ing. INA. Alger, 71p.
- **Guignard J.L., Dupont F.**, 2004. Abrégé de Botanique : Systématique moléculaire, 13^{ème} édition, Masson, Paris, Pp. 209-222.
- **Haicour R.**, 2002. Biotechnologies végétales, techniques de laboratoire. Ed. Tec. et Doc Lavoisier, paris ,298p.
- **Hamlat M.**, 1995. Influence des phytohormones sur les embryons, les microboutures d'olivier (*Olea europea* L) var. Chemlal. Cultivés *in vitro*. Thèse de Magister, Tizi-Ouzou, 167p.
- **Iguerbousbane F.**, 2005. Influence du milieu Rugini sur les embryons de l'olivier (*Olea europea* L.) var. Chemlal cultivés *in vitro*. Mémoire de D.E.S. en biologie et physiologie végétale, UMMTO. 91p.
- **Jacoboni A.**, 1989. Culture *in vitro*, Olivae, 25, Pp. 31-34.
- **Jay A.C.**, 1982. Culture *in vitro* du noyer (*Juglans* sp.). Atudes expérimentales sur l'ensemencement d'embryons isolés et bourgeons, D.E.A, Sciences agronomiques, U.S.T.I de Montpellier, 121p.
- **Jonard R.**, 1986. Micrografting an dits applications to tree amprovement. Biotech. Agri. And For.V. 1. Pp. 31-48.
- **Khelifi L.**, 1986. Contribution à la mise au point d'une méthode de vitropagation de Mélèze hybride (*Larix eurolepis*) à partir de graines, Mémoire de DEA en Biologie végétale et forestière, Université de Nancy I, 62p.
- **Khelifi L., Morsli A., Boutekrabt A.**, 1998. Mise au point d'une technique de micropropagation à partir de vitrosemis d'Arganier (*Argania spinosa* Skeels), *in* comagep. Tome 3, acte de la 3^{ème} conférence maghrébine de génie des procédés, Pp.58-62.
- **Khelifi L., Haddad B., Khelifi-Slaoui M., Amdoun R., Mendil M.**, 2007. Transformation génétique de l'olivier: Une alternative pour améliorer sa multiplication végétative. Biotech. Végétale. Pp. 10-14.
- **Labrous M.**, 1983. Contribution à l'étude de la culture *in vitro* de trois portes greffes d'agrumes (*Cetrus amantum* L.). Th. DEA, 123p.
- **Lambardi M., Capuana M., Sozzi L. & Giannini R.**, 1995. Factors affecting *in vitro* adventitious bud induction from excised embryos of Swiss stone pine (*Pinus ombra* L.). *Forest Genet.*, 2, 49-58

- **Lameri K.**, 2003. Culture in vitro des embryons de l'olivier *Olea europea* L. (Var. Chemlal). Mémoire de D.E.S. en biologie et physiologie végétale, UMMTO.80p.
- **Leva A.R., Petruccelli R., Polsinelli L.**, 2004. La multiplication végétative *in vitro* de l'olivier : du laboratoire à la production, *Olivae*, N°101, Pp.18-25.
- **Loussert R.**, 1989. L'oléiculture marocaine. Situation actuelle et prospective d'avenir, *Olivae*, N°21, Pp.18-26.
- **Loussert R., Brousse B.**, 1978 –L'olivier. Techniques agricoles et production méditerranéenne Ed. G.P. Maisonneuve et Larose, 458p.
- **Luchetti F.**, 2000. Catalogue mondial des variétés d'olivier, COI, 360p.
- **MADR.**, 2006.Statistiques Agricoles, 1p.
- **Maillard R.**, 1975. L'olivier, Ed. Comité technique de l'olivier. Air en Provence et Institut National de Vulgarisation pour les fruits et légumes et champignons, Pp. 21-25.
- **Maïza F.**, 1980. Analyse des aptitudes organogénétiques de plusieurs variétés de citrus en vue d'aboutir à leur multiplication *in vitro*. Thèse Doct. en biologie et pathologie des plantes cultivées, 84p.
- **Margara J.**, 1984. Bases de la multiplication végétative, les méristèmes et l'organogenèse Laboratoire de morphogenèse, I.N.R.A., Versailles, 262p.
- **Mazliak P., 1982.** Croissance et développement Physiologie végétale II, Ed. Hermann, 465p.
- **Mazliak P., 1999.** Physiologie végétale, Croissance et développement, Ed. Hermann, 99p.
- **Mendil M., Sebai A.**, 2006.Aperçu sur le patrimoine génétique autochtone, Catalogue des variétés Algériennes de l'olivier, ITAFV. 104p.
- **Merrou J.**, 1980. Les recherches pour la mise au point des nouvelles méthodes de multiplication végétative. Acte Agr. France. T.66. N°8. Pp. 650-657.
- **Meyer S., Reeb C., Bosdeviex R.**, 2004. Botanique: Biologie et physiologie végétales, Maloine, 443p.
- **Monji M.**, 2002.Etude de la juvénilité chez l'olivier (*Olea europea* L.). Aspects morphologiques, anatomiques, physiologiques et biochimiques. Thèse Docteur en sciences Agronomiques, INA, Tunisie, 219p.
- **Murashige T., Skoog F.**, 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. *Physiol. Plant.*, 15. Pp. 473-497.
- **Negueroles J., Agar S.A.**, 1983. Bouturage semi-ligneux en nébulisation. Bases physiologiques de l'enracinement in « la multiplication de l'olivier : INIA. Espagne, Pp. 41-51.

- **Nico AI., Jiménez RM., Castillo P.**, 2003. Nématodes en Andalousie, *Olivae*, N°96, pp.25-32.
- **Nozeran R.**, 1985. L'expression de la variabilité dans les cultures d'organes. *Bull. Soc. Bot. Fr.* 132 (3/4). Pp. 11-21.
- **Orinos T. & Mitrakos K.**,1991. Rhizogenesis and somatic embryogenesis in calli from wild olive (*Olea europaea* L.) var. ' *sylvestris* ' (Miller) mature zygotic embryos. *Plant Cell Tissue Organ Cult.*, 27, Pp.183-187.
- **OuksiliA.**, 1983 - Contribution à l'étude de la biologie florale de l'olivier (*Olea europaea* L.) de la formation des fleurs à la période de pollinisation effective. Thèse Doct., Université des Sciences et Techniques de Languedoc, France, 143p.
- **Ozkaya M.T., Celik M.**, 1995- The effect of rooting environment and combination of auxin polyamine on the rooting ability of turkish olive Gemlit and Domat. *Acta. Hort.* Pp.31-34.
- **Quraishi A., Rossignol-Boncilhon L., Nozeran R.**, 1979. Effet de l'organogénèse *in vitro* chez *Solanum tuberosum* L., « var. BF15 ». *Ann. Amélior. Plantes.* 29 (6), Pp. 639-663.
- **Rancillac H.**, 1981. Perspectives d'application descultures d'organes *in vitro* à la multiplication végétative du pin maritime (*Pinus pinaster* sol.). *Ann. Sc. Forest.* 38 (1), Pp. 55-70.
- **Rancillac H., Faye M., David A.**, 1982. *In vitro* rooting of cloned shoots in *Pinus pinaster* L. *Physiol. Plant.* N° 56. Pp. 97-101.
- **Riffaud J L., Cornu D.**, 1981. Utilisation de la culture *in vitro* pour la multiplication de merisiers adultes (*Prunus avium* L.) sélectionnés en forêt. *Rev. Agr.*1 (8), Pp. 633-640.
- **Rugini E., Tarini P.**, 1986. Somatic embryogenesis in olive (*Olea europea* L.), colloque "Arbres fruitiers et biotechnologies", Paris, 14-15 octobre.
- **Rugini E.**, 1988. Somatic embryogenesis and plant regeneration in olive (*Olea europaea* L.). *Plant Cell Tissue Organ Cult.*, 14, Pp. 207-214.
- **Rugini E.**, 1990. *In vitro* culture of the Olive: An overview of the present scientific status, *Acta Horticulturae*; 300, Pp. 225-232.
- **Rugini E. & Cariccatto G.**, 1995. Somatic embryogenesis and recovery from mature tissues of olive cultivars (*Olea europaea* L.) 'Canino' and 'Maraiolo'. *Plant Cell Rep.*, 14, Pp. 257-260.
- **Sadoudi A.**, 1996. Production et commercialisation de l'huile d'olive en Algérie. Documentation du ministère de l'agriculture et de la pêche, 13p.

- **Selmi S., Sai M.B., Hammami M.**, 2001. La valorisation des ressources en eau aléatoires et non pérennes par le développement de l'olivier autour des collinaires en Tunisie, Sécheresse, V.12, N°1, Pp.45-50.
 - **Seyham- Ozzambac .**, 1994- Shoot multiplication of some olive (*Olea europea L.*) cultivars. Acta horticulturae 356, 1994, Olive growing II.
 - **Taylor H.**, 1945. Cyto-taxonomy and phylogeny of the Oleaceae, Brittonia 5, Pp. 337-367.
 - **Tranvan H., Thomas M J.**, 1981., Aptitudes morphologiques des plantes et des fragments de plantules de *Pinus silvestris L.* en culture *in vitro*. Bull. Soc. Bot. Ca. 128 (3). Pp. 151-163.
 - **Tsogar H., Bouriquet R.**, 1982. Propagation et rajeunissement chez *Dahlia variabilis* (var. Télévision). Cultivé *in vitro*. Ann. Sc. Nat. Bot. Paris, 1 2 et 3, Pp. 51-67.
 - **Villemeur P., Dosba F.**, 1997. Oléiculture : Evolution variétale et acquisition de la maîtrise des pratiques culturales, Oléagineux, Corps Gras, Lipides, V.4, N°5, INRA, Montpellier, 10p.
 - **Wiecheteck M., Cortezzi Graca ME., Araujo A J.**, 1989. Micropropagation of *Eucalyptus viminalis* Labill. Ann. Sc. For, Pp. 161-164.
 - **Yakoub-Bougdal S., Semadi A., Louerguioui A.**, 2000. Rhizogenèse des microboutures de l'olivier *Olea europea L.* var. Chemlal cultivée *in vitro*, Sciences et technologie. Pp. 14.
 - **Yakoub-Bougdal S., Bonaly J., Barque J.P., Bennadji A., Guaouar A.**, 2003. Organogenèse *in vitro* des microboutures de l'olivier (*Olea europea L.*) prélevées à différents stades physiologiques. Ann. INERGREF. Tunisie.
 - **Yakoub-Bougdal S.**, 2005. Morphogenèse *in vitro* du palmier dattier (*Phoenix dactylifera L.*) et de l'olivier (*Olea europea L.*) Var. Chemlal. Thèse de doctorat d'Etat es science en biologie végétale, 190p.
 - **Yakoub-Bougdal S., Cherifi Dj., Bonaly J.**, 2007. Production de vitroplants d' *Olea europea L.* Var. Chemlal, Cahier Agriculture, Vol.16, N°2, Pp.125-127.
 - **Zakari A., Saad L.**, 2004. Les indications géographiques : un levier pour la mise à niveau de la filière oléicole Marocaine, Ministère de l'Agriculture et du Développement Rural, 19p.
- Site Internet : www.coi.com

ANNEXES

Tab. 1- Composition des solutions en macro-éléments (mg/l)

Milieu de culture Macro-éléments	Murashige et Skoog (1962)	Driver et Kunyuki (1984)	Rugini (1984)
Nitrate d'ammonium (NH ₄ NO ₃)	1650	1418,8	412
Nitrate de potassium (KNO ₃)	1900	-	1100
Sulfate de magnésium (MgSO ₄ , 7H ₂ O)	370	740	1500
Phosphate de potassium (KH ₂ PO ₄)	170	258,4	340
Chlorure de calcium (CaCl ₂ , 2H ₂ O)	440	147,6	440
Chlorure de potassium (KCl)	-	350	500
Nitrate de calcium (Ca (NO ₃) ₂ , 4H ₂ O)	-	1963,7	600
K ₂ SO ₄	-	1560	-
Na ₂ EDTA	27,85	27,85	27,85
FeSO ₄ , 7H ₂ O	37,25	37,25	37,25

• **Tab.2- Composition des solutions en micro-éléments (mg/l)**

Milieu de culture Micro-éléments	Murashige et Skoog (1962)	Driver et Kunyuki (1984)	Rugini (1984)
MnSO₄	22.3	22.3	-
ZnSO₄ 7H₂O	8.6	8.6	14.3
H₃BO₃	6.2	6.2	12.4
CuSO₄ 5H₂O	0.025	0.025	0.25
AlCl₃	0.025	0.025	-
Ki	0.83	0.83	0.83
Na₂Mo₄ 2H₂O	0.25	0.25	0.25
CoCl₂ 6H₂O	0.025	0.025	0.025

• **Tab. 3- compositions des solutions en vitamines (mg/l)**

Milieu de culture Vitamines	Murashige et Skoog (1962)
Thiamine	0.1
Pyridoxine	0.5
Acide nicotinique	0.5
Inositol	100
Glutamine	200
Glycine	2

Tab.4- Tableau d'analyse de la variance des embryons

SDV	DDL	SCE	CM	F_{obs}
Facteur milieu	03	3541,38	1180,46	02,31
Facteur variante	01	456,78	456,78	00,89
Var. Résiduelles	03	1532,26	510,75	
Var. Totales	07	5530,22	2147,99	

Tab.5- Tableau d'analyse de la variance des microboutures

SDV	DDL	SCE	CM	F_{obs}
Facteur milieu	02	1050,32	525,16	2,59
Facteur variante	05	3061,34	621,27	3,02
Var. Résiduelles	10	2026,12	202,61	
Var. Totales	17			