



الجمهورية الجزائرية الشعبية الديمقراطية

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMNT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE  
SCIENTIFIQUE

Ecole Nationale supérieure Agronomique

المدرسة الوطنية العليا للفلاحة

Département : foresterie et protection de la nature

القسم: علم الغابات و حماية الطبيعة

Spécialité : sciences forestières

التخصص: علوم الغابات

## Mémoire de fin d'étude

En vue de l'obtention de diplôme de master

### *Thème*

***Optimisation d'obtention de vitroplants de  
Taxus baccata L.***

Présenté par :

Soutenu publiquement le 17 /10/2019

**ZAOUT Hayette**

Devant le jury composé de :

Promoteur :

M.Morsli (MCA à l'ENSA)

Co-promoteur :

M.Bekhouche (Doctorant à l'ENSA)

President :

M.Sbabdji (MCA l'ENSA)

Examineur :

Mme. Bakiri (MAA à M'sila)

Mme. Nacer bey (MCB à l'ENSA)

# Sommaire

Introduction.....	1
-------------------	---

## *Synthèse bibliographique*

I. Chapitre 01 : <i>Taxus baccata</i> L.....	3
1. Généralité sur l'espèce .....	3
1.1 Description botanique.....	3
1.2 Systématique botanique de l'if .....	4
1.3 Aire de répartition de l'if .....	5
1.4 Caractère écologique de l'espèce .....	7
1.5 Intérêt de l'if commun .....	9
1.6 Les problèmes rencontrés chez l'if .....	9
• Dormance tégumentaire .....	10
• Dormance embryonnaire .....	10
II. Chapitre 02 : La culture in-vitro de l'if .....	12
1. Généralité de culture in vitro .....	12
2. La micropropagation.....	12
➤ Culture des embryons isolés .....	13
➤ Induction de l'embryogénèse somatique.....	13
3. Les avantages et les inconvénients de la culture in-vitro .....	14
4. Le milieu de base de culture.....	14
5. Travaux réalisés pour l'induction de la germination in vitro de l'if.....	16
III. Chapitre 03 : induction de chevelus racinaires.....	18
1. Intérêts de la culture des chevelus racinaires .....	18
2. <i>Agrobacterium rhizogenes</i> .....	18

3. Mécanisme de la transformation par l'agrobactérie.....	19
3.1 Adhésion bactérie-plante.....	19
3.2 Activation des gènes <i>vir</i> .....	20
3.3 Insertion de l'ADN-T dans le génome de la cellule végétale.....	20

## ***Matériels et méthodes***

I. Chapitr 01 : Objectif de travail.....	22
II. Chapitre 02 :Induction de la germination <i>in vitro</i> des embryons de l'if commun .....	22
1. Matériel végétal.....	23
2. Scarification des graines .....	24
3. Désinfection des graines de l'if .....	24
4. Isolement des embryons et mise en culture .....	25
4.1 Milieu de culture .....	26
4.2 Les hormones de croissance utilisées pour l'induction de la germination de l'if .....	27
5. Le transfert des explants .....	27
6. Les paramètres étudiés .....	27
7. Analyse statistique et représentation graphiques .....	27
III. Chapitre 03 : Induction de l'embryogenèse somatique.....	25
1. Isolement des embryons et mise en culture .....	25
2. Paramètres étudiés .....	26
3. Analyse statistique et représentation graphiques .....	26
IV. Chapitre 04 : Induction de chevelus racinaires .....	26
1. Le matériel végétal .....	27
2. Les souches bactériennes utilisées dans la transformation .....	28
3. Activation de l'agrobactérie et préparation de la suspension bactérienne .....	29
4. Co-culture plante-bactérie.....	29
5. Paramètres étudiés .....	28
6. Les représentations graphiques .....	28

## ***Résultats et discussion***

I.	Chapitre 01 : Germination des embryons de <i>Taxus baccata</i> L.....	29
1.	Isolement des embryons.....	29
2.	Effet des régulateurs de croissance sur la germination des embryons .....	31
2.1	Effet de la GA3 sur la germination des embryons de <i>Taxus baccata</i> .....	31
2.2	Effet de la TDZ sur la germination des embryons de <i>Taxus baccata</i> .....	32
2.3	Effet de BAP sur la germination des embryons de <i>Taxus baccata</i> .....	33
3.	Effet de régulateur de croissance sur la hauteur finale des vitro-semi de <i>Taxus baccata</i> après trois semaines de culture .....	36
4.	Longueur moyenne des plantules de <i>T.baccata</i> après 3 mois de culture.....	39
4.1	Effet de BAP sur la longueur moyenne des plantules.....	40
4.2	Effet de TDZ sur la longueur moyenne des plantules de <i>Taxus baccata</i> .....	41
5.	Enracinement des plantules de <i>Taxus baccata</i> après trois mois de culture .....	42
5.1	Effet de NAA sur l'enracinement des plantules .....	43
5.2	Effet de l'AIB sur l'enracinement des plantules de <i>Taxus baccata</i> .....	44
II.	Chapitre 02 : Induction de callogenèse des embryons de <i>Taxus baccata</i> .....	47
1.	Description morphologique de cals formées .....	47
2.	Taux de réactivité des embryons de <i>Taxus baccata</i> .....	49
3.	Effet du milieu sur la callogenèse des embryons.....	50
III.	Chapitre 03 : Induction de chevelus racinaires .....	52
	Conclusion générale .....	53
	Références bibliographique .....	60
	Annexe.....	70

## Résumé :

Le *Taxus baccata* L. est un précieux arbre forestier d'intérêt économique et médicinale. Malheureusement, cette espèce est menacée de disparition en Algérie à cause de sa rareté et sa régénération naturelle qui reste très faible. C'est pour cette raison que notre travail poursuit les nombreux travaux de recherche menés à l'ENSA depuis plus de 8 ans dans l'objectif est d'induire la germination *in vitro* à partir des embryons isolés de l'if commun. Ces derniers sont cultivés dans le milieu DCR contenant des régulateurs de croissance (GA3, TDZ, BAP) avec différents concentrations (0.5, 1, 2, 5 mg/l). le meilleur taux de germination obtenue est de 100% avec une concentration de 1 mg/l de GA3, suivie par 0.5 mg/l de TDZ. La meilleure taille moyenne des plantules de *Taxus baccata* est de 58mm dans seulement trois mois avec le traitement de 0.1 mg/l de BAP. Le meilleur taux d'induction de racines chez les plantules de l'if (100%) est obtenu avec la concentration 0.1 mg/l d' AIB. Par ailleurs, concernant l'induction de cals embryogènes chez l'if, le meilleur taux de callogenèse est remarqué dans le milieu DCR contenant 2 mg/l de 2.4D avec 0.5 mg/l de GA3. En outre, un essai d'induction de racines transgéniques chez le *Taxus baccata* en vue de la production de molécules bioactives n'a donné aucun résultat positif quel que soit les explants utilisés (feuilles, racines, hypocotyles et embryons) et les bactéries utilisées (A4 et A15834).

**Mots clés :** *Taxus baccata* L. germination *in vitro*, embryons isolés, régulateurs de croissance, longueurs moyennes, Plantules, calogènes, chevelus racinaires, souches (A4 et A15834).

## Summary :

The *Taxus baccata* L. is a valuable forest tree of economic and medicinal interest, unfortunately, this species is threatened with extinction in Algeria because of its rarity and naturel regeneration remains very low. It is for this reason that our work following numerous research works conducted at ENSA with the aim of inducing *in vitro* germination from embryos isolated from the common yew. The latter are grown in the DCR medium containing growth regulators (GA3, TDZ, BAP) with different concentration (0.5, 1, 2, 5 mg / l). The best germination rate obtained is 100% with a concentration of 1 mg / l of GA3, followed by 0.5 mg / l of TDZ. The best average size of *Taxus baccata* seedlings is 58mm in only three months with the treatment of 0.1 mg / l of BAP. The best root induction rate in yew seedlings (100%) is obtained with the concentration 0.1 mg / l of AIB. In addition, concerning the induction of embryogenic callus in yew, the best rate of callogenesis is noticed in the DCR medium containing 2 mg / l of 2.4D with 0.5 mg / l of GA3. In addition, a transgene root induction test in *Taxus baccata* for the production of bioactive molecules yielded no positive results regardless of the yew explants tested (leaves, roots, hypocotiles and embryos) and the bacteria used (A4 and A15834).

**Key words:** *Taxus baccata* L. *in vitro* germination, isolated embryos, growth regulators, average lengths, seedlings, calogenesis, root scalps, strains (A4 and A15834).

## الملخص

يعتبر نبات الطقسوس شجرة غابية ذات قيمة اقتصادية وطبية عالية، لكن مع الأسف، فإن هذا النوع مهدد بالانقراض في الجزائر بسبب ندرته وتجديده الطبيعي الذي لا يزال ضعيفاً للغاية.

(0.5, 1, 2, 5 mg / l)

ولهذا السبب، عملنا يتبع أبحاث عديدة أجريت في المدرسة الوطنية العليا للفلاحة بهدف الحث على انبات الطقسوس في المختبر من أجنة معزولة من البذور. تزرع الاجنة في وسط DCR تحتوي على هرمونات النمو (GA3, TDZ, BAP) بتركيز مختلف أفضل انتاش تم الحصول عليه هو 100% مع تركيز 1 مغ/لتر من GA3. أفضل متوسط لحجم شتلات الطقسوس هو 58 ملم في ثلاثة أشهر فقط مع تركيز 0.1 ملغ/لتر من BAP.

يتم الحصول على أفضل معدل لتحريض الجذر في شتلات نبات الطقسوس (100%) بتركيز 0.1 مجم/لتر من AIB. بالإضافة إلى ذلك، فيما يتعلق بتحريض تكون cal في هادا النوع، يلاحظ أن أفضل معدل لتولد الكلى في وسط DCR يحتوي على 2 مجم / لتر من D2.4 مع 0.5 مجم / لتر من GA3. بالإضافة إلى ذلك، لم يؤد اختبار تحريض الجذور الجينية في نبات الطقسوس لإنتاج جزينات نشطة بيولوجياً إلى نتائج إيجابية بصرف النظر عن اجزاء من النبتة التي تم اختبارها (الأوراق والجذور ونقص النسيج والاجنة) و البكتيريا المستخدمة (A4 و A15834).

## الكلمات المفتاحية

شجرة الطقسوس في انبات المختبر، الاجنة المعزولة، منظمات النمو، متوسط الأطوال، الشتلات، الكالوجينات، شعر الجذر،

السلالات (A4, A15834)