



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique Et Populaire
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي
Ministère De L'Enseignement Supérieur Et De La
Recherche Scientifique



المدرسة الوطنية العليا للفلاحة الحراش – الجزائر
Ecole Nationale Supérieure Agronomique – El Harrach – Alger

Département : Productions végétales

قسم الإنتاج النباتي

Spécialité : Ressources génétiques et amélioration
des productions végétales

تخصص الموارد الوراثية و التحسين النباتي

Mémoire De Fin D'études

En vue de l'obtention du Diplôme de Master

THEME

Régénération *in vitro* de plantes transgéniques de *Catharanthus roseus* à partir de chevelus racinaires

Réalisé par : M. SEMAILI Oussama

Soutenu le : 14/10/2020

Devant le jury composé de :

Président : M. MORSLI Abdelkader

M.C.A, ENSA, Alger

Promoteur : M. KHELIFI Lakhdar

Professeur, ENSA, Alger

Co-promotrice : Mme BENYAMMI Roukia

M.C.B, ENS-Kouba, Alger

Examinatrice : Mme KHELIFI-SLAOUI Majda

Professeur, ENSA, Alger

Promotion 2015 – 2020

TABLE DES MATIÈRES

DEDICACE	
REMERCIEMENT	
TABLE DES MATIERES	
LISTE DES TABLEAUX	
LISTE DES FIGURES	
LISTE DES ABREVIATIONS	
LISTE DES ANNEXES	
INTRODUCTION.....	1
CHAPITRE I : SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE	
I. CONSIDÉRATIONS GÉNÉRALES DE LA PERVENCHE DE MADAGASCAR.....	4
1. Botanique.....	4
1.1. Classification taxonomique.....	4
1.2. Caractéristiques morphologiques.....	5
2. Origine et répartition géographique.....	6
3. Principes actifs essentiels	6
4. Génétique de <i>Catharanthus roseus</i>	7
II. MÉTABOLITES SECONDAIRES DE LA PERVENCHE DE MADAGASCAR.....	7
1. Alcaloïdes indoliques	8
2. Biosynthèse des alcaloïdes indoliques.....	8
III. MICROPAGATION IN VITRO.....	14
1. Définition de la micropropagation <i>in vitro</i>	15
2. Mécanisme de régénération (Organogénèse)	15
2.1. Organogénèse directe.....	16
2.2. Organogénèse indirecte	16
2.2.1. Callogenèse	16
a. Initiation de cals.....	16
b. Facteurs influençant la callogenèse.....	16
c. Caractéristiques des cals.....	18
d. Intérêt des cals	18
2.2.2. Caulogénèse.....	18
2.2.3. Rhizogénèse.....	19
3. Transgénèse des plantes	19
3.1. Méthodes de transgénèse	19
3.2. Intérêt de régénération des plantes transgéniques.....	21

CHAPITRE II : MATERIEL ET METHODES

1. Objectif du travail	25
2. Matériel végétale	25
3. Induction des cals (callogenèse)	25
3.1. Mise en culture	25
3.2. Observations réalisées.....	26
4. Sélection et multiplication des cals.....	26
5. Régénération.....	28
5.1. Mise en culture.....	28
5.2. Observations réalisées.....	28
Analyse statistique.....	29

CHAPITRE III : RESULTATS ET INTERPRETATIONS

1. La collogenèse	31
1.1. Effet du traitement hormonal sur l'induction de callogenèse	31
1.1.1. Callogenèse des explants	31
1.1.2. Surface des cals	33
1.1.3. Brunissement des cals	35
2. Régénération	38
2.1. La première période	38
2.2. La deuxième période	43
2.2.1. Effet du traitement sur les bourgeons néoformés	43
2.2.2. Effet du traitement sur les racines néoformées	43

CHAPITRE IV : DISCUSSION

1. Initiation de la callogenèse	48
1.1. Callogenèse induite.....	48
1.2. Surface des cals.....	49
1.3. Brunissement des explants	50
2. Régénération.....	50

CONCLUSION GENERALE.....	54
--------------------------	----

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	57
----------------------------------	----

ANNEXES

ABSTRACT:

Catharanthus roseus produces a wide range of secondary metabolites of the terpenoid indole alkaloids, which have valuable pharmacological properties. However, the yield of these compounds is very low and very expensive, which presents a serious challenge to biotechnologists in order to improve yields and reduce the cost of production.

The plant material used is hairy roots of *C. roseus*, established by genetic transformation and obtained by Benyammi *et al.* (2016). Two lines are used in our work, L54 and LP10, focused on two parts, the first is the induction of callogenesis, the results obtained show that the reactivity of callogenesis and the surface of the callus behaved differently towards with respect to the different hormonal treatments tested and to the line cultivated for the reactivity of callogenesis.

The second part concerns the regeneration of plants from the previously induced Calli. The results, which are recorded after eight weeks of culture of the callus induced on the regeneration media, show that the intensity of the new formed roots varies according to the line cultivated, and according to the hormonal treatments used. In addition, regeneration of new formed shoots was observed only after 23 weeks of culture, showing that the intensity of new formed shoots varies depending on the line cultivated.

Key Words: *Catharanthus roseus*, Callogenesis, Regeneration, Hairy roots, Formed roots, Formed shoots, Lines.

ملخص :

يتميز نبات عناقية مدغشقر (*Catharanthus roseus*) بقيمة علاجية هامة جدا بفضل محتواه من الفلوييدات الإندولية التيربينية. لكن للأسف، مردود هذه المركبات منخفض جداً، وبالتالي باهظ التكلفة، مما يشكل تحدياً كبيراً لخبراء التكنولوجيا الحيوية من أجل زيادة إنتاجها وبتكلفة أقل.

المادة النباتية المستخدمة هي عبارة عن شعيرات جذرية أنشأت عن طريق التحول الجيني و تم الحصول عليها من طرف Benyammi *et al.* (2016). تم استخدام سلالتين في عملنا ، L54 و LP10، حيث يتركز عملنا على مرحلتين متتاليتين، الأولى و هي الحث على تشكل الكالوس، النتائج المتحصل عليها، تظهر أن شدة تشكل الكالوس وتطوره يعتمدان على نوع السلالة المزروعة و العلاجات الهرمونية المختلفة التي تم اختبارها.

تتعلق المرحلة الثانية بتجديد النباتات انطلاقاً من الكالوسات المستحدثة سابقاً. تظهر النتائج، التي تم تسجيلها بعد ثمانية أسابيع من زراعة النسيج المستحث في وسط التجديد، أن كثافة الجذور المستحدثة تختلف باختلاف السلالة المزروعة، ووفقاً للعلاجات الهرمونية المستخدمة. بالإضافة إلى ذلك، لم يُلاحظ تجديد البراعم المستحدثة حديثاً إلا بعد 23 أسبوعاً من الزراعة، مما يدل على أن شدة البراعم حديثة التكوين تختلف باختلاف السلالة المزروعة.

كلمات مفتاحية : *Catharanthus roseus* , الكالوس, التجدد, شعيرات جذرية, الجذور المستحدثة, البراعم المستحدثة.

Résumé :

Catharanthus roseus produit une large gamme de métabolites secondaires de la famille des alcaloïdes indoliques terpéniques, qui a des propriétés pharmacologique précieuses. Mais hélas, le rendement de ces composés est très faible, donc très couteux ce qui présente un sérieux défi aux biotechnologues afin d'améliorer les rendements et réduire le coût de production.

Le matériel végétal utilisé est des chevelus racinaires de *C. roseus*, établi par transformation génétique et réalisée par Benyammi *et al.* (2016). le travail a été réalisé sur deux lignées, L54 et LP10, et a porté sur deux aspects, le premier étant l'induction de la callogenèse, les résultats obtenus montrent que la réactivité de la callogenèse et la surface des cals se sont comportés différemment vis-à-vis des différents traitements hormonaux testés et des lignées cultivées pour la réactivité de la callogenèse.

Le deuxième aspect concerne la régénération des plantes à partir des cals, précédemment, induit. Les résultats qui sont enregistrés après huit semaines de culture des cals induits sur les milieux de régénération, montrent que l'intensité des racines néoformées varie selon la lignée cultivée, et selon les traitements hormonaux utilisés. Par ailleurs, la régénération des bourgeons néoformés, constatée qu'après 23 semaines de culture, montre que l'intensité des bourgeons néoformés varie selon la lignée cultivée.

Mots clés : *Catharanthus roseus*, Callogenèse, Régénération, Chevelus racinaires, Racines néoformées, Bourgeons néoformés, Lignées.