



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

Ecole Nationale Supérieure Agronomique

المدرسة الوطنية العليا للفلاحة

Département : Sylviculture et Conservation de la nature

القسم: الغابات وحماية الطبيعة

Spécialité : Foresterie

التخصص: علم الغابات

Option : Sciences forestière

الشعبة: علم الغابات

Mémoire De Fin D'études

En vue de l'obtention du diplôme d'Ingénieur Agronome

THEME

**Régénération *in vitro* et l'induction des chevelus racinaires  
chez la Belladonne. *Atropa belladonna L***

Présenté Par : Mlle. Ghilani Walaa

Soutenu Publiquement le : 12/ 12 / 2021

Membre des jurys :

Mémoire dirigé par :

M. MORSLI Abdelkader

Professeur. ENSA-Alger

Mme. BENYAMMI Roukia

M.C.B ENS-Kouba

President:

Mme. NACERBEY Nazli

M.C.B ENSA-Alger

Examineurs :

Mme. BAKIRI Nouara

M.A.A Université-M'sila

M.RAHNONE Bilal

M.C.A ENSA- Alger

Promotion : 2016 – 2021

## Table des matières

Table des matières .....	I
Listes des figures.....	IV
Liste des tableaux .....	VI
Liste des abréviations.....	VII
Liste des annexes .....	VIII
Introduction générale.....	1
Chapitre I : Synthèse bibliographique .....	4
1. Généralités sur les solanacées .....	4
2. Atropa belladonna .....	4
2.1 Systématique de l'Atropa belladonna.....	5
2.2 Répartition géographique .....	6
2.3 Description botanique .....	6
2.4 Biochimie de la Belladone .....	8
Utilisation de l'Atropa Belladonna .....	9
Biosynthèse des alcaloïdes tropanique chez la Belladone .....	11
3.5.1. Atropine.....	13
4. multiplication in-vitro.....	14
Culture in vitro .....	14
Micro propagation (technique de la culture in vitro ).....	15
Facteurs influençant la micropropagation .....	15
4.5.1. Effet de l'explant.....	16
4.5.2. Influence du génotype .....	16
4.5.3. Milieu de culture .....	16
4.5.4. Régulateurs de croissances.....	16
5. Chevelus racinaire .....	18
Agrobacterium rhizogenes.....	18

<b>Plasmide Ri.....</b>	<b>19</b>
<b>Induction des chevelus racinaire par Agrobacterium.....</b>	<b>20</b>
5.5.1. Adhésion bactérie- plante.....	20
5.5.2. Activation des gènes viré .....	21
5.5.3. Insertion de l'ADN-T dans le génome de la cellule végétale .....	21
<b>Facteurs influençant l'induction de chevelus racinaires par Agrobacterium rhizogenes</b> <b>.....</b>	<b>22</b>
5.5.4. Effet de la souche et la concentration bactérienne .....	22
5.5.5. Effet de génotype et de l'âge du tissu .....	22
5.5.6. Effet de la température .....	22
5.5.7. Effet du pH .....	22
5.5.8. Effet des composées phénoliques.....	23
5.5.9. Effet des monosaccharides .....	23
<b>Production des alcaloïdes à partir de chevelus racinaires .....</b>	<b>23</b>
<b>Intérêts de la culture des chevelus racinaires .....</b>	<b>23</b>
<b>Chapitre II : Matériels et méthodes.....</b>	<b>25</b>
<b>1. Matériel végétal.....</b>	<b>25</b>
<b>1.1. Origine du matériel végétal .....</b>	<b>25</b>
<b>1.2. Mise en germination in vitro des graines d'Atropa belladonna .....</b>	<b>26</b>
1.2.1. Désinfection des graines .....	26
<b>2. Régénération par micro-propagation .....</b>	<b>27</b>
<b>3. Obtention des chevelus racinaires .....</b>	<b>29</b>
<b>3.1. Le matériel bactérien.....</b>	<b>29</b>
3.1.1 Activation des bactéries .....	29
3.1.2 Mise en suspension des souches bactériennes .....	30
<b>3.2 Inoculation et Co-culture plante-bactérie .....</b>	<b>31</b>
<b>3.2 Isolement des racines transformées et multiplication des chevelus racinaires .....</b>	<b>31</b>
<b>Chapitre III : Résultats et discussion .....</b>	<b>33</b>
<b>1. Germination des graines d'Atropa belladonna .....</b>	<b>33</b>

<b>2. Régénération par micropropagation.....</b>	<b>34</b>
<b>2.1. Effet des traitements hormonaux sur le taux d'induction des bourgeons axillaires.....</b>	<b>34</b>
<b>2.2 Effet des traitements hormonaux sur le nombre moyen des bourgeons axillaires .</b>	<b>36</b>
<b>3. Obtention des chevelus racinaire.....</b>	<b>38</b>
<b>Effet de type d'explant sur le taux d'induction des chevelus racinaires .....</b>	<b>38</b>
<b>Effet de type d'explant sur le nombre moyen de racines induites par explant.....</b>	<b>39</b>
<b>Effet combiné du type d'explant et de la souche bactérienne sur le taux d'induction des chevelus racinaires .....</b>	<b>40</b>
<b>Effet combiné du type d'explant et de la souche bactérienne sur le nombre moyen de racines induites par explant.....</b>	<b>41</b>
<b>3. Isolement des racines transformées.....</b>	<b>44</b>
<b>1. Germination des graines d'Atropa belladonna .....</b>	<b>46</b>
<b>2. Régénération par micro propagation.....</b>	<b>46</b>
<b>3. Obtention des chevelus racinaires .....</b>	<b>47</b>
<b>Conclusion générale .....</b>	<b>50</b>
<b>Références bibliographiques .....</b>	<b>53</b>
<b>Annexes .....</b>	<b>66</b>

## Résumé

*Atropa belladonna* communément appelée belladone ou morelle mortelle, est une plante herbacée vivace de la famille des Solanacées. C'est une plante mythique, à cause de ses propriétés médicinales et pharmaceutiques. Ses racines, feuilles et fruits contiennent des alcaloïdes : l'atropine, l'hyocynamine et la scopolamine.

Cependant, ces alcaloïdes sont produits par la plante en de petites quantités ce qui empêche leurs exploitation d'où le recours à la culture *in vitro*. Cette dernière nous permet de produire en continue des alcaloïdes en de grande quantité potentiellement exploitables en industrie pharmaceutiques. Le présent travail traite sur trois aspects, le premier concerne l'induction de la germination *in vitro* d'*Atropa belladonna*, le deuxième volet traite de la mise en place d'un procédé de micropropagation par l'utilisation des régulateurs de croissance ( BAP et ANA ) et la dernière partie concerne l'induction des chevelus racinaires par deux souches bactériennes d'*Agrobacterium rhizogenes* (la souche A4 et la 15834).

Les résultats obtenus montrent que l'optimum de germination de l'*Atropa belladonna* est obtenu sur le milieu de culture B5 par rapport au milieu MS. Pour la régénération de l'*Atropa belladonna* par les différentes concentrations de BAP, la concentration de 1 mg/l de BAP offre un coefficient de multiplication intéressant par rapport aux autres à l'ANA. D'autre part, l'induction de chevelus racinaire par la 15834 montre que cette dernière est plus virulente par rapport à la souche A4 avec un pourcentage d'induction de 94.75%, de plus, l'hypocotyle donne le meilleur taux d'induction racinaire (89.27%) par rapport à d'autres explants.

**Mots clés :** *Atropa belladonna*, régénération par micro propagation ,BAP,ANA ,A4,15834

## Abstract:

*Atropa belladonna* commonly called belladonna or deadly nightshade, is a perennial herbaceous plant of the Solanaceae family. It is a mythical plant, because of its medicinal and pharmaceutical properties. Its roots, leaves and fruits contain alkaloids: atropine, hyocynamine and scopolamine, including the foliage and berries which are extremely toxic.

The period necessary for the growth of the plant varies from several weeks to several months, which constitutes a difficulty and low productivity of alkaloids, For this reason, we decided to use the *in vitro* culture. For this reason, we decided to use the *in vitro* culture. This last one allows us to produce in industrial quantities of alkaloids. Our work focused on three aspects, the first is the *in vitro* germination of *Atropa belladonna*, the second is the regeneration by micro propagation by the use of hormones (BAP and ANA) and finally the induction of hairy root by two bacterial strains of *Agrobacterium rhizogenes* (strain A4 and 15834).

The germination results of *Atropa belladonna* were better on the B5 medium than on the MS medium. For the regeneration of *Atropa belladonna* by the different concentrations of BAP, the concentration of 1 mg/l of BAP shows a high regeneration rate by micro propagation. On the other hand, 15834 is the most virulent compared to A4 strain with an induction percentage of 94.75%, and hypocotyl gives the best root induction rate (89.27%) compared to other explants.

**Key Word:** *Atropa belladonna*, regeneration by micro propagation, BAP, ANA, A4, 15834.

## ملخص

*Atropa belladonna* المعروف باسم البيلادونا أو الباذنجان القاتل ، هو نبات عشبي معمر من عائلة Solanaceae إنه نبات أسطوري ، بسبب خصائصه الطبية والصيدلانية. تحتوي جذوره وأوراقه وثماره على قلويدات: الأتروبين والهيسيامين والسكوبولامين ، بما في ذلك أوراق الشجر والتوت شديدة السمية.

الفترة اللازمة لنمو النبات تختلف من عدة أسابيع إلى عدة أشهر ، وهي صعبة وانخفاض إنتاجية قلويدات ، ولهذا السبب قررنا استخدام الزراعة في المخبرية . هذا الأخير يسمح لنا بإنتاج قلويدات بكميات صناعية. ركز عملنا على ثلاثة أجزاء ، الأول هو إنبات *Atropa belladonna* في المختبر ، والثاني هو التجديد عن طريق التكاثر الدقيق باستخدام الهرمونات (BAP و ANA) وأخيراً تحريض الشعيرات الجذرية بواسطة سلالتين من البكتيريا (سلالة A4 و 15834).

نتائج إنبات البيلادونا أفضل على وسط B5 مقارنة بمتوسط MS. من أجل تجديد *Atropa belladonna* بتركيزات مختلفة من BAP ، يُظهر تركيز 1 مغ / لتر من BAP معدل مرتفع من التجدد عن طريق التكاثر الدقيق. من ناحية أخرى تعتبر السلالة 15834 الأكثر فعالية مقارنة بالسلالة A4 بنسبة تحريض 94.75% ، ويعطي hypocotyle أفضل معدل تحريض لإنتاج شعيرات الجذرية (89.27%).

**الكلمات المفتاحية:** *Atropa belladonna*، التجديد عن طريق التكاثر الدقيق، BAP ، ANA ، A4 ، 15834.