

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE  
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي  
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR  
ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE  
المدرسة الوطنية العليا للعلوم الفلاحية الحراش – الجزائر  
ECOLE NATIONALE SUPERIEURE AGRONOMIQUE  
EI HARRACH-AIGER

## Mémoire

En vue de l'obtention du diplôme de **MAGISTER** en Sciences  
Agronomiques

Spécialité : Sciences et techniques de Production végétale

### THEME :

**Amélioration par transformation génétique de  
l'enracinement de 6 variétés d'olivier  
récalcitrantes au bouturage**

Présenté par : **HADDAD Benalia**

#### Composition du jury:

Président:	<b>M. BELARBI B.</b>	Maître de conférences (E.N.S.A)
Promoteur thèse :	<b>M. KHELIFI L.</b>	Maître de conférences (E.N.S.A)
Examineurs:	<b>Mme KHELIFI M.</b>	Maître de conférences (E.N.S.A)
	<b>Mme CHAOUCHE F.Z.</b>	Maître de conférences (U.S.D- BLIDA)
	<b>M. AMIROUCHE M.</b>	Chargé de cours (E.N.S.A)

Année universitaire  
2008-2009

## *DEDICACE*

*A la mémoire de mon père et de ma soeur, à la bougie de ma vie ;*

*Très chère maman*

*Ainsi, je dédie ce mémoire à ma petite famille ;*

*« Ma chère femme Bien aimée NASSIMA »*

*« Mes deux chères enfants YACINE et MANEL »*

*« Mon chère frère AHMED et mes chères sœurs AMINA,  
BAKHTA, HADA, DAHBIA, SAMIRA, NACERA »*

*« Mes chères neveux et nièces »*

*« Mes beaux frères et mes belles sœurs »*

## REMERCIEMENTS

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

*En premier lieu, je tiens à exprimer ma profonde gratitude au Dr. KHELIFI L, pour avoir accepté la direction de ce travail, et pour m'avoir guidé avec une grande patience tout au long de ce travail. Je le remercie également, pour ses précieux conseils et ses encouragements.*

*J'exprime mes vifs remerciements à Monsieur Belarbi, de m'avoir fait l'honneur de présider le jury.*

*Mes remerciements vont également au Dr KHELIFI, Maître de conférence à L'INA, d'accepter d'évaluer ce travail.*

*Je tiens également à exprimer ma gratitude au Dr CHAOUCH, Maître de conférence à l'Université de Blida pour avoir accepté d'évaluer ce travail.*

*Mes sincères remerciements vont également au Dr AMIROUCHE, Chargé de cours à L'INA, pour avoir accepté d'être membre de jury.*

*J'adresse un grand remerciement à Mr MENDIL, Directeur Général de l'ITAF pour toutes les aides qu'il m'a apporté. Qu'il trouve ici l'expression de ma plus haute considération. Ainsi, à tout le personnel qu'il dirige et plus particulièrement les collègues du laboratoire central (Mme HADDAD, Melle BOUKHALFA, Mme GHAZELI, Mme RADJI, Mme BRANECI, Melle BELARBI. Mr SMAH, Mr CHARFI, Melle LOUNAOUSI, .....), pour leur aide, leur encouragements et leur soutien moral sans oublier Mr AOUANE. B, Mr BIKEIRI, Mr IMARAZENE. Ainsi, je tien à remercier toutes les personnes qui m'ont aider de près ou de loin à réaliser ce travail.*

ملخص:

يحتل منتج الزيتون مكانة جد هامة في الاقتصاد الزراعي الجزائري، إلا أن تطوير هذا المنتج يبقى

مرهونا بمشاكل إنتاج شتلات ذات نوعية .

إن الإكثار التجاري للزيتون عالميا و خاصة في منطقة البحر الأبيض المتوسط يتم بشكل خاص

بواسطة الإكثار نصف الخشبي ( semi ligneux ) تحت وسط محكم داخل الصوب ( sous Mist

system ) ، إلا أن قدرته على التجذير تبقى الصفة التي تؤكد التنوع الكبير بين مختلف أصنافه .

الهدف من هذه الدراسة التجريبية يتضمن دراسة مدى قدرة الهرمونات و صنفان من البكتيريا ( A<sub>4</sub>,

k<sub>47</sub>) على تحفيز التجذير لدى ستة أصناف لفسلات الزيتون (شمال- زلنتي - بويشريط - اكرمة - بوخيلة

-أبركان) معروف عنها أنها صعبة الافتسال .

من أجل هذا استعملت فسلات حسب موقعها على الغصن. قمة-متوسطة و قاعدية.

من خلال البحث توصلنا إلى النتائج المتمثلة في أن نسبة الهرمونات في معالجة الفسلات القاعدية

ب 3000 ppm قد أعطت أحسن نسبة مئوية للتجذير (21.11 %).

أما فيما يخص البكتيريا ( *Agrobacterium rhizogenes* ) ، فإن معالجة الفسلات المتوسطة

ببكتيريا (A<sub>4</sub>) محفزة ب 10 µM أسيتو سيرانقون هي التي أبدت أحسن إمكانيات التجذي .

-فقد تبين لنا لما قارنا النتائج المتحصل عليها عند المعالجة بالهرمونات و تلك المتحصل عليها

على حساب المعالجة (%) أن هذا الأخير لديه استجابة هامة لتحسين التجذير بنسبة A<sub>4</sub>200 بالبكتيريا (

بالهرمونات .فهذه النتيجة الهامة أثبتتها الست أصناف المستعملة للزيتون في هذا العمل التجريبي ، و كل

منها أظهر تحسنا مهم للتجذير .

## Summary

Oliver occupies an important place on national agricultural economy. Yet, its development remains confronted to productive problems of plants that has a quality. The commercial multiplication of Oliver in the world, particularly in Mediterranean region is done essentially by semi-ligneous propagation on Mist- system. Nevertheless, the capacities rhizogene remain the character which proves a variability at Oliver.

The objective of this work consists of to study efficacy of hormone form, and the two souche d' *Agrobacterium rhizogenes* of reference (*souche A<sub>4</sub>* and *K<sub>47</sub>*) on the inductional rhizogene en green house under the mist system on the cuttings semi-ligneous of 6 Algerian varieties of Oliver Chemlal, Zeltani, Bouichert, Akerma, Boukaila and Aberkane knows are difficult to propagate by cuttings. Yet, material of cuttings has been used and classified two 3 categories depend on their position on branch: cuttings apical, median and basal cuttings. The evaluation of quality of roots system induced and the development of that derived equal to those which have objective of the work.

The results obtained show that the hormones, the treatment 3000 ppm wich give the best percentages of roots system induced 21,11%. Concerning the souche A<sub>4</sub>, it's association with the median cuttings with offer the best possibility. The comparison of the best hormone treatment with the best treatment of *Agobacterium rhizogene* A<sub>4</sub>. The later presents an considerable advantage with improvement 200% by contrast to hormonal This result is confirmed for 5 other varieties studied in this work and that all the maniftue An considerable improvement roots system induced

# SOMMAIRE

<b>INTRODUCTION.....</b>	<b>1</b>
<b>SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE.....</b>	<b>4</b>
<b>I- Généralités.....</b>	<b>4</b>
1. Origine de l'olivier.....	4
2. Présentation générale de la plante .....	5
2.1.Caractéristiques botaniques .....	5
2.2.Caractéristiques morphologiques.....	7
2.2.1.Système racinaire .....	7
2.2.2. Système aérien.....	7
2.3.Caractéristiques physiologiques.....	8
2.3.1.Cycle de développement .....	8
3.2.Cycle végétatif annuel .....	9
2.4.Exigences climatiques et édaphiques de l'olivier.....	11
2.4.1. Exigences climatiques.....	11
2.4.2. Exigences édaphiques.....	12
<b>II Importance de l'oléiculture.....</b>	<b>13</b>
1. Dans le monde.....	13
1.1. Verger oléicole mondial.....	13
1.2. Production oléicole mondiale.....	14
2. En Algérie.....	15
2.1. Potentiel oléicole.....	16
2.2. Evolution de la production oléicole en Algérie.....	17
2.3. Production de plants.....	18
2.4. Variétés cultivées.....	18
3. Principales contraintes de l'oléiculture .....	21
<b>III- Multiplication de l'olivier.....</b>	<b>22</b>
1. Techniques de multiplication de l'olivier .....	22

1.1. Techniques traditionnelles.....	22
1.1.1. Bouturage ligneux.....	22
1.1.2. Bouturage en garrot.....	22
1.1.3. Bouturage par souchet.....	22
1.1.4. Drageonnage.....	23
1.1.5. Marcottage en cépée.....	23
1.1.6. Greffage sur oléastre.....	23
1.2. Techniques de multiplication intensive.....	23
1.2.1. Semis-greffage.....	23
1.2.2. Bouturage à l'étouffée.....	24
1.2.3. Culture in vitro.....	25
<b><i>IV- Bouturage sous Mist-system .....</i></b>	<b>26</b>
1. Physiologie du bouturage .....	26
2. Facteurs influençant larhizogenèse.....	26
2.1. Facteurs endogènes .....	26
2.1.1. Facteurs génétiques.....	27
2.1.2. Age et Etat du pied- mère .....	27
2.1.3. Régulateurs de croissance.....	28
2.1.4. Feuilles et bourgeons.....	28
2.1.5. Anatomie de la bouture.....	29
2.1.6. Etat nutritionnel des pieds mères.....	30
2.1.7. Type de boutures.....	30
2.1.8. Juvénilité des rameaux.....	31
2.1.9. Période de prélèvement.....	31
2.2. Facteursexogènes.....	32
2.2.1. Lumière.....	32
2.2.2. Hygrométrie.....	32
2.2.3. Température.....	33
2.2.4. Hormones de bouturage.....	33
2.2.5. Nébulisation.....	33
2.2.6. Substrat d'enracinement .....	33
<b>V. Transformation génétique par <i>Agrobacterium rhizogenes</i>.....</b>	<b>34</b>
1. <i>Agrobacterium rhizogenes</i> .....	34
2. Mécanisme d'infection par <i>Agrobactérium rhizogenes</i> .....	34

2.1. Adhésion bactérie-plante.....	35
2.2. Activation des gènes vir.....	35
2.3. Exportation, insertion de l'ADN-T dans le génome de la cellule végétale infectée, et formation des chevelus racinaires.....	36
3. Induction de chevelus racinaires.....	37
3.1. Facteurs influençant l'induction de chevelus racinaires.....	37
3.1. 1. Souches d' <i>Agrobacterium</i> .....	37
3.1. 2. Concentration bactérienne.....	37
3.1. 3. Acétylsyringone.....	37
3.1. 4. Type, âge et état physiologique du matériel végétal .....	37
3.1. 5. Génotype.....	38
3.1. 6. pH.....	38
3.1. 7. Sucre.....	38
<b>3.2. Protocoles d'induction racinaire par <i>Agrobacterium rhizogenes</i> ... ..</b>	<b>38</b>
3. 2.1. Culture et activation de l' <i>Agrobacterium</i> en suspension.....	39
3. 2.2. Inoculation et co-culture plante-bactérie.....	39
<b>3.2.2.1. Inoculation par piqûre d'aiguille.....</b>	<b>39</b>
<b>3.2.2.2. Inoculation par immersion.....</b>	<b>39</b>
3.2.2.3. Inoculation par dépôt.....	39
3.3. Utilisation de la transformation génétique pour l'enracinement des plantes.....	40
3.3. 1. Cas des plantes ligneuses.....	40
3.3.2. Cas de l'olivier.....	40
<b>Matériels et méthodes.....</b>	<b>41</b>
1. Objectif de l'étude.....	41
2. Site expérimental.....	41
3. Matériels utilisés.....	41
3.1. Serre à nébulisation (Multiplication).....	41
3.1.1. Description de la serre de nébulisation.....	41
3.1.2. Conditions ambiantes de la serre.....	42
3.1.3. Substrat d'enracinement.....	42
3.2. Matériel végétal.....	42



3.3 .Hormone de bouturage.....	44
3.3.1. Traitement en solution.....	44
3.3.2. Traitement en poudre.....	44
3.4. Souches bactériennes.....	44
3.4.1. Préparation des suspensions bactériennes.....	45
3.4.2. Activation de la bactérie (1 <sup>ier</sup> étape).....	45
3.4.3. Mise en suspension de la bactérie (2 <sup>ieme</sup> étape).....	45
4. Induction de l'enracinement.....	47
4.1. Essai préliminaire .....	47
4.1.1. Induction de l'enracinement par traitement hormonal.....	47
4.1.2. Induction de l'enracinement par transformation génétique.....	49
4.2. Extension de l'essai à huit variétés.....	51
4.2.1. Induction de l'enracinement par traitement hormonal .....	51
4.2.2. Induction de l'enracinement par transformation génétique.....	53
4.3. Paramètres observés lors de la phase d'enracinement .....	55
5. Acclimatation et suivi des boutures enracinées.....	56
6. Analyse statistique.....	56

## **Résultats expérimentaux.....57**

### **I- Induction de l'enracinement ..... 57**

1. Essai préliminaire.....	57
1.1. Induction de l'enracinement par traitement hormonal.....	57
1.1.1. Pourcentage de boutures avec cal.....	57
1.1.2. Pourcentage de boutures enracinées .....	58
1.1.3. Nombre moyen de racines par bouture.....	59
1.1.4. Longueur moyenne des racines principales.....	60
1.1.5. Nombre moyen de ramifications racinaires par racine principale.....	62
1.1.6. Conclusion.....	63
1.2. Induction de l'enracinement par transformation génétique.....	65
1.2.1. Pourcentage de boutures avec cal.....	65
1.2.2. Pourcentage de boutures enracinées .....	66
1.2.3. Nombre moyen de racines par bouture.....	67

1.2.4. Longueur moyenne des racines principales .....	68
1.2.5. Nombre moyen de ramifications racinaires par racine principale .....	69
1.2.6. Conclusion.....	70
2. Extension de l'essai à huit variétés.....	72
2.1. Induction de l'enracinement par traitement hormonal.....	72
2.1.1. Pourcentage de boutures avec cal.....	72
2.1.2. Pourcentage de boutures enracinées .....	73
2.1.3. Nombre moyen de racines par bouture.....	74
2.1.4. Longueur moyenne des racines principales .....	75
2.1.5. Nombre moyen de ramifications par racine principale .....	76
2.1.6. Conclusion.....	77
2.2. Induction de l'enracinement par transformation génétique.....	79
2.2.1. Pourcentage de boutures avec cal.....	79
2.2.2. Pourcentage de boutures enracinées .....	80
2.2.3. Nombre moyen des racines par bouture.....	80
2.2.4. Longueur moyenne des racines principales.....	81
2.2.5. Nombre moyen de ramifications par racine principale .....	82
2.2.6. Conclusion .....	83
<b>II. Acclimatation et suivi des boutures enracinées.....</b>	<b>85</b>
1. Enracinement à l'AIB.....	85
1.1 .Taux de reprise après acclimatation.....	85
1.2. Biométrie de la partie aérienne.....	86
1. 2.1. Longueur moyenne de la pousse principale.....	86
1. 2. 2. Diamètre moyen de la pousse principale. ....	87
1. 2. 3. Nombre moyen de feuilles par plant .....	88
1. 2. 4. Poids frais de la partie aérienne. ....	90
1. 2. 5. Poids sec de la partie aérienne.....	91
1.2. 6. Conclusion.....	91
1. 3. Biométrie de la partie racinaire.....	93
1. 3. 1. Longueur moyenne de la racine principale. ....	93
1. 3. 2. Nombre moyen de racines par plant.....	94
1. 3. 3. Diamètre moyen de la racine principale.....	94
1. 3. 4. Poids frais de la partie racinaire.. ....	95

1. 3. 5. Poids sec de la partie racinaire.....	96
1. 3. 6. Conclusion.....	96
2.Enracinement par transformation génétique.....	98
2. 1 .Taux de reprise après acclimatation.....	98
2.2. Biométrie de la partie aérienne.....	99
2.2. 1. Longueur moyenne de la pousse principale.....	99
2. 2. 2. Diamètre moyen de la pousse principale.....	101
2. 2. 3 Nombre moyen de feuilles.....	101
2. 2. 4. Poids frais de la partie aérienne. ....	102
2. 2. 5. Poids sec de la partie aérienne.....	103
2.2.6.Conclusion.....	104
2.3. Biométrie de la partie racinaire.....	106
2.3.1. Longueur moyenne de la racine principale. ....	106
2. 3.2. Nombre moyen de racines par plant.....	106
2. 3. 3. Diamètre moyen de la racine principale. ....	107
2. 3. 4. Poids frais de la partie racinaire. ....	108
2. 3. 5 Poids sec de la partie racinaire.....	109
2.3.6.Conclusion.....	110
<b>III..Comparaison entre enracinement induit à l'AIB et enracinement induit avec l'<i>Agrobacterium rhizogenes</i>.....</b>	<b>112</b>
<b>DISCUSSION .....</b>	<b>115</b>
<b>CONCLUSION GENERALE.....</b>	<b>128</b>
<b>REFRENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....</b>	<b>130</b>
<b>ANNEXES</b>	

## **Liste des abréviations**

SAU : Surface Agricole Utile.

M.A.D.R : Ministère de l'agriculture et du développement rural.

CNCC : Centre Nationale de Contrôle et de la Certification.

OM C : Organisation Mondiale du commerce

COI : Conseil Oléicole International.

I.T.A.F.V : Institut Technique de l'Arboriculture Fruitière et de la Vigne.

MS: Murashige et Skoog.

AIB: Acid Indol Butyrique.

C.M. F : Construction métallique florence.

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

HVFA : Huile Végétal à des Fins Alimentaires

## LISTE DES FIGURES

Figure 1: Origine et expansion de l'olivier.....	4
Figure 2: Aire de culture de l' Oliver.....	5
Figure 3: Carte de répartition de l'Aire oléicole en Algérie .....	16
Figure 4: Mécanisme naturel d'infection par <i>Agrobacterium sp</i> .....	35
Figure 5: Variation du pourcentage de boutures avec cal en fonction de la concentration d'AIB et du mode de traitement.....	57
Figure 6: Variation du pourcentage de boutures enracinées en fonction de la forme et de la concentration d'AIB.....	58
Figure 7: Variation du pourcentage de boutures enracinées en fonction de l'origine de la bouture sur le rameau. ....	59
Figure 8: Variation du nombre moyen de racines par bouture enracinée en fonction de la forme et la concentration d'AIB. ....	60
Figure.9: Variation de la longueur moyenne de la racine principale en fonction de la forme et la concentration d'AIB. ....	61
Figure 10: Variation de la longueur moyenne des racines principales en fonction du type de boutures.....	61
Figure 11 : Variation du nombre moyen de ramifications racinaires par racine principale en fonction de la forme et de la concentration d'AIB. ....	62
Figure 12 : Variation du nombre moyen de ramifications racinaires par racine principale en fonction du type de butures . ....	63
Figure 13 : Variation du pourcentage de callogénèse en fonction des souches d' <i>Agrobacterium rhizogenes</i> et la concentration de l'acétosyringone (S1= A <sub>4</sub> ; S2=.K <sub>47</sub> ; V1=10 ;V2=20).65	65
Figure 14: Variation du pourcentage de boutures enracinées en fonction de la souche d' <i>Agrobacterium rhizogenes</i> , la concentration de l'acétosyringone, ainsi que l'origine de la bouture sur le rameau (S1= A <sub>4</sub> ; S2=.K <sub>47</sub> ; V1=10 µM ; V2=20 µM).....	66
Figure 15: Variation du nombre moyen de racines par bouture enracinée en fonction de la souche d' <i>Agrobacterium rhizogenes</i> et la concentration de l'acétosyringone.....	67
Figure 16: Variation du nombre de racines par bouture enracinée en fonction de l'origine de la bouture. ....	68
Figure 17: Variation de la longueur moyenne des racines principales en fonction de la souche d' <i>Agrobacterium rhizogenes</i> , la concentration de l'acétosyringone, ainsi que l'origine de la bouture sur le rameau. ....	69

Figure 18: Variation du nombre de ramifications par racine principale en fonction de la souche d' <i>Agrobacterium rhizogenes</i> , la concentration de l'acétosyringone, ainsi que l'origine de la bouture sur le rameau.....	70
Figure 19: Variation du pourcentage de boutures avec cal en fonction du génotype et de la concentration d'AIB. ....	73
Figure 20: Variation du pourcentage d'enracinement en fonction du génotype .....	74
Figure 21: Variation du nombre moyen de racines/par bouture enracinée en fonction du génotype. ...	75
Figure 22: Variation de la longueur moyenne des racines principales en fonction du génotype. ....	76
Figure 23: Variation du nombre moyen de ramification racinaires par/racine principale en fonction du génotype.....	76
Figure 24: Variation du pourcentage de boutures avec cal en fonction du génotype et du temps de trempage dans la souche A <sub>4</sub> .....	79
Figure 25: Variation du pourcentage d'enracinement en fonction du génotype et du temps de trempage dans la suspension bactérienne.....	80
Figure 26: Variation du nombre moyen de racines par bouture enracinée en fonction du génotype.	81
Figure 27: Variation de la longueur moyenne des racines principales en fonction des génotypes, Inoculés avec la souche A <sub>4</sub> souche.....	82
Figure 28: Variation du nombre de ramifications par racine principale en fonction des génotypes et du temps de traitement par la souche d' <i>Agrobacterium rhizogenes</i> , réactivée avec 10µM d'acétosyringone.....	83
Figure 29: Variation du taux de reprise des boutures enracinées en acclimatation en fonction de l'origine de la bouture. ....	85
Figure 30: Variation de la longueur moyenne des pousses en acclimatation en fonction de l'origine de la bouture sur le rameau.....	86
Figure 31: Variation du diamètre moyen des pousses en acclimatation en fonction de la forme et la concentration d'AIB .....	87
Figure 32: Variation du diamètre moyen des pousses en acclimatation en fonction de l'origine de la de la bouture sur le rameau.....	88
Figure 33: Variation du nombre moyen des feuilles par pousse en acclimatation en fonction de la forme et la concentration d'AIB .....	89
Figure 34: Variation du nombre moyen des feuilles par pousse en acclimatation en fonction de l'origine de la bouture sur le rameau.....	89
Figure.35: Variation du poids frais de la partie aérienne des pousses en acclimatation en fonction de la forme et la concentration d'AIB.....	90
Figure.36: Variation du poids sec de la partie aérienne des pousses en acclimatation en fonction de la forme, et la concentration d'AIB. ....	91
Figure 37: Variation de la longueur moyenne de la racine principale en fonction de la forme, la	

concentration d'AIB et de l'origine de la bouture sur le rameau.....	93
Figure 38: Variation du nombre moyen de racines par boutures en fonction de la forme, la concentration d'AIB et l'origine de la bouture sur le rameau.....	94
Figure.39: Variation du diamètre moyen des racines principales en fonction de la forme, la concentration d'AIB et l'origine de la bouture sur le rameau.....	95
Figure.40: Variation du poids frais de la partie racinaire en fonction de la forme, la concentration d'AIB et l'origine de la bouture sur le rameau.....	95
Figure.41: Variation du poids sec de la partie racinaire en fonction de la forme, la concentration concentration d'AIB et l'origine de la bouture sur le rameau. ....	96
Figure 42: Variation du taux de reprise en acclimatation en fonction des souches d' <i>Agrobacterium rhizogenes</i> et la concentration de l'acétosyringone.. ....	98
Figure 43: Variation du taux de reprise en boutures enracinées par <i>Agrobacterium. rhizogenes</i> en fonction de l'origine de la boutures sur le rameau.....	99
Figure 44: Variation de la longueur moyenne des pousses en acclimatation en fonction de la souche d' <i>Agrobacterium rhizogenes</i> et la concentration de l'acétosyringone. ....	100
Figure 45: Variation de la longueur moyenne des pousses en acclimatation en fonction de l'origine de la bouture sur le rameau.....	100
Figure 46: Variation du diamètre moyen des pousses en acclimatation en fonction de la souche d' <i>Agrobacterium. rhizogenes</i> , la concentration de l'acétosyringone, et l'origine de la bouture sur le rameau.....	101
Figure 47: Variation du nombre moyen de feuilles de la partie aérienne en fonction de la souche d' <i>Agrobacterium. rhizogenes</i> ainsi que l'origine de la bouture sur le rameau.....	102
Figure 48: Variation du poids frais de la partie aérienne en fonction de la souche d' <i>Agrobacterium. rhizogenes</i> la concentration de l'acétosyringone et l'origine de la bouture.....	103
Figure 49: Variation du poids sec de la partie aérienne en fonction de la souche d' <i>Agrobacterium rhizogenes</i> la concentration de l'acétosyringone et l'origine de la bouture.....	104
Figure 50: Variation de la longueur moyenne des racines principales en fonction de la souche d' <i>Agrobacterium rhizogenes</i> , la concentration de l'acétosyringone, ainsi que l'origine de la bouture sur le rameau. ....	106
Figure 51: Variation du nombre moyen des racines principales en fonction de l'origine de la bouture sur le rameau.....	107
Figure 52: Variation du diamètre moyen des racines principales en fonction de l'origine de la bouture sur le rameau.....	108
Figure.53: Variation du poids frais de la partie racinaire en fonction de la souche d' <i>Agrobacterium rhizogenes</i> , la concentration de l'acétosyringone, ainsi que l'origine de la bouture sur le rameau.....	109

Figure 54: Variation du poids sec de la partie racinaire en fonction de la souche *d'Agrobacterium rhizogenes*, la concentration de l'acétosyringone et ainsi que l'origine de la bouture sur le rameau.....110

### LISTE DES PLANCHES

Planche 1: Activation des souches A <sub>4</sub> et K <sub>47</sub> .....	46
Planche 2: Opération de prélèvement des boutures de la variété Chemlal et leur mise en culture après traitement à l'AIB en poudre ou en solution.....	48
Planche 3: Opération de prélèvement des boutures de la variété Chemlal et leur mise en culture après traitement à la solution bactérienne (A <sub>4</sub> et k <sub>47</sub> ).....	50
Planche 4: Opération de prélèvement des boutures médianes et leur mise en culture après traitement à l'AIB en poudre (3000ppm) .....	52
Planche 5: Opération de prélèvement des boutures médianes et leur mise en culture après traitement à la solution bactérienne A <sub>4</sub> (10,20 et 30 s). .....	54
Planche 6: Quelques exemples de réactions sur les boutures soumises aux traitements rhizogènes après trois mois de traitement hormonal.....	64
Planche 7: Quelques exemples de réactions sur les boutures soumises aux traitements rhizogènes après trois mois d'inoculation par la souche A <sub>4</sub> d' <i>Agrobacterium rhizogenes</i> .....	71
Planche 8: Qualité de l'enracinement obtenu avec 8 variétés d'olivier traitées avec 3000 ppm d'AIB en poudre. ....	78
Planche 9: Aspect des racines obtenues sur des boutures de différents génotypes soumises à la souche A <sub>4</sub> réactivée avec 10µM d'acétosyringone pendant 10 secondes.....	84
Planche 10: Aspect de la partie aérienne après 6 mois d'élevage des plants de la variété Chemlal obtenus à partir des boutures enracinées, par traitement hormonal (AIB).92	
Planche 11: Aspect de la partie racinaire après 6 mois d'acclimatation des boutures issues du traitement hormonal.....	97
Planche 12: Aspect de la partie aérienne en phase d'acclimatation (6 mois) des plants de la variété Chemlal obtenus, par transformation génétique.....	105
Planche 13 : Aspect de la partie racinaire des plants d'olivier enracinés par transformation par l' <i>Agrobacterium rhizogenes</i> après six mois d'acclimatation.....	111
Planche 14: Aspect du matériel végétal issu de la transformation par l' <i>Agrobacterium</i>	



<i>rhizogenes</i> et du traitement à l' AIB.....	114
--	-----

## LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1: Classification de l'olivier.....	6
Tableau 2: Répartition du verger oléicole dans quelque pays méditerranéens.....	14
Tableau 3: Production des principales huiles végétales dans le monde.....	14
Tableau 4: Répartition du verger oléicole Algérien.....	16
Tableau 5: Evolution de la production oléicole en Algérie. ....	18
Tableau 6: Principales variétés d'olivier cultivées en Algérie.....	20
Tableau 7: Principales caractéristiques des variétés utilisées. ....	43
Tableau 8 : Les différentes concentrations hormonales utilisées.....	44
Tableau 9: Les différentes concentrations hormonales utilisées avec talk.....	44
Tableau 10: Composition chimique du milieu de culture YEM .....	45
Tableau 11: Dispositif expérimental de l'induction de l'enracinement par traitement hormonal.....	49
Tableau 12: Dispositif expérimental pour l'induction de l'enracinement par transformation génétique.....	51
Tableau 13: Dispositif expérimental du traitement hormonal.....	53
Tableau 14: Dispositif expérimental utilisant la souche bactérienne A <sub>4</sub> .....	55
Tableau 15: Effet de l'AIB et de la souche A <sub>4</sub> d' <i>Agrobacterium rhizogenes</i> sur l'enracinement et la qualité des plants obtenus.....	113

## INTRODUCTION

L'olivier (*Olea Europaea* L.) constitue, par les superficies qu'il occupe, le principal groupe d'espèces fruitières dans les pays méditerranéens. Il a suscité un intérêt particulier ces dernières années non seulement au niveau de la Méditerranée, principale région oléicole à l'échelle mondiale, mais aussi au niveau d'autres continents. Ce regain d'intérêt est dû, en plus de l'intérêt socio-économique et environnemental de cette espèce, aux qualités sanitaires et nutritionnelles de l'huile d'olive.

Si l'olivier occupe en Algérie une place considérable parmi les espèces fruitières, c'est grâce à sa rusticité, sa capacité d'adaptation aux différents types de sols et aux conditions climatiques, ce qui explique son implantation dans des zones sub-arides.

De nombreuses variétés sont multipliées en Algérie parmi lesquelles, la variété Chemlal qui recouvre à elle seule près de 40% de verger oléicole. Cette dernière est considérée comme récalcitrante au bouturage, et les travaux portant sur cet aspect restent limités (MENDIL et SEBAI, 2006).

La propagation de l'olivier en Algérie se fait par la voie traditionnelle qui repose sur les souchets, les rejets de souches, et le semis de noyaux suivi de greffage. Cette dernière méthode est très lente, 3 à 4 ans pour l'obtention d'un plant greffé, avec un très faible pourcentage de germination pour la variété Chemlal (5 à 20%) (OUKSILI, 1983). Le développement de cette culture est tributaire de la mise en place de techniques de production en masse de plants de qualité, permettant la diffusion de clones sélectionnés et de géotypes performants nouvellement obtenus.

Les progrès réalisés en matière de bouturage de l'olivier sous Mist-system, bien que modestes, sont prometteurs. En Algérie le bouturage sous Mist-system ne contribue qu'à la production de 2,1% de l'ensemble des plants oléicoles produits (YVON A., 2006).

Au Maroc, la multiplication commerciale de l'olivier se fait essentiellement par bouturage semi ligneux sous Mist-system (ABOUSALIM *et al.* 1993). L'intérêt de ce type de propagation ne se limite pas uniquement à la rapidité de multiplication, mais il s'est avéré aussi, que les plants auto racinés présentent un système racinaire très développé avec trois ou quatre racines dominantes pourvues d'un important chevelu racinaire bien adapté à une bonne exploration du sol.

Cependant, lorsque l'olivier est greffé sur un oléastre (comme c'est le cas en Corse et en Algérie), le système racinaire reste pivotant (ARGENSON *et al*, 1999). Ce mode de multiplication présente un double inconvénient : surcoût de production du plant produit, système racinaire pivotant, engendrant une vigueur excrissive ce qui se répercute défavorablement sur l'entrée précoce en production.

Pour remédier à tous ces problèmes un programme de développement agricole a été mis en œuvre. La concrétisation de ce programme d'extension, en plus du programme d'intensification, au niveau des zones steppiques du sud qui englobent 12 wilayas afin d'atteindre les 500 .000 hectares tous programmes confondus, nécessite la disponibilité d'un matériel végétal en quantité suffisante. Afin de répondre à ces objectifs nous disposons de trois méthodes de propagation intensives à savoir :

- Le semis suivi du greffage est la technique de multiplication la plus utilisée dans nos pépinières, car elle nécessite un faible investissement de départ (infrastructures) et les plants obtenus sont dotés d'un système racinaire pivotant, qui leur permet de résister aux conditions des milieux arides. Mais le long séjour des plants en pépinières augmente les coûts de production et par conséquent ne permet pas de satisfaire la demande de plus en plus importante.

- La technique de la culture *in vitro* n'est pas encore complètement maîtrisée pour envisager une production commerciale.

- La technique de multiplication par bouturage semi-ligneux sous Mist-system a été délaissée en Algérie vu l'investissement lourd exigé au départ (serre de nébulisation, serre de durcissement, ombrières etc....)

D'une manière générale, les travaux sur le bouturage semi ligneux menés à l'ITAF sur quelques variétés: Ferkani, Sigoise, Chemlal, Zeltani, Bouichert, Akerma, Boukaila et Aberkane et en particulier la variété Chemlal montrent des taux d'enracinement faibles de l'ordre de 19% (Caballero, 1983). Les coupes histologiques réalisées par AIT HADDAD et OUEMER (1989) au niveau de la tige de la variété Chemlal soumise à l'enracinement révèlent que l'assise sclerenchymateuse est relativement continue et épaisse et les tissus formés restent indifférenciés au stade cal, sans évolution vers des structures de types racinaire.

La transformation des boutures des variétés récalcitrantes à l'autoenracinement par le biais de *l'Agrobacterium rhizogenes* pourrait constituer une alternative pour résoudre leur problème d'enracinement à l'instar d'autres espèces tels que l'Amandier (DAMIANO *et al*, 1995), le Pommier (SUTTER *et LUZA*, 1993), le KIWI (RUGINI *et al*, 1991), le Noyer (CABONI *et al*, 1996) et bien d'autres espèces ligneuses forestières telles que le genre *Pinus*

(MCAFEE et al, 1993; MAGNUSSEN et al, 1994; MIHALIEVIE et al, 1996; BURNS et SCHWARZ, 1996; TZFIA et al, 1996), le *Larix* (MCAFEE et al, 1993) et l'*Eucalyptus* (MACRAE et VEN STADEN, 1993).

L'objectif de ce travail, consiste à étudier l'efficacité de la forme d'hormone ainsi que les deux souches d'*Agrobacterium rhizogenes* de référence (*souche A4 et K47*) sur:

- D'une part l'induction d'une rhizogenèse en serre sous mist-systeme sur 6 variétés Chemlal, Zeltani, Bouichret, Akerma, Boukaila et Aberkane reconnues difficiles à bouturer.
- D'autre part l'évaluation de la qualité du système racinaire induit et le développement des plantes qui en dérivent.

## **GENERALITE**

### **1. Origine de l'olivier**

L'olivier est d'origine très ancienne, natif d'Asie mineure, son premier foyer se trouve au niveau de la frontière Irano-Syrienne. Des analyses de pollen et de charbon réalisés dans certains gisements beromaurusien, attestent de la présence de l'olivier depuis le paléolithique (5000 à 3000 ans avant J.C), (CAMPS, 1974 in LOUSSERT et BROUSSE, 1978).

Les scientifiques considéraient que les oléastres étaient un groupe homogène confiné à l'Est du bassin méditerranéen et que l'ensemble des oliviers cultivés dérivent d'un seule et même groupe d'oléastres (LOUSSERT et BROUSSE, 1978). Selon CIVANTOS (1998), l'expansion de l'olivier s'est faite de l'Est vers l'Ouest pour se répandre dans le bassin méditerranéen (Fig.1).

Par ailleurs une équipe de chercheurs de l'INRA de France, utilisant les techniques de marquage moléculaire ont montré que la domestication de l'oléastre s'est produite indépendamment tout autour de la méditerranée. Voici 12300 ans au plus fort de la dernière glaciation, les oléastres auraient survécu au moins dans quatre refuges différents : Nord-ouest de l'Afrique, Péninsule -ibérique, Proche-Orient et ensemble Sicile- corse (CIVANTOS, 1998).

Dans l'hémisphère Nord, l'aire de culture de l'olivier se situe entre 30° et 45° de la latitude Nord, et entre 30° et 45° de latitude Sud (CIVANTOS, 1998) (Fig. 2).



Fig.1 : Origine et expansion de l'olivier (CIVANTOS 1998)

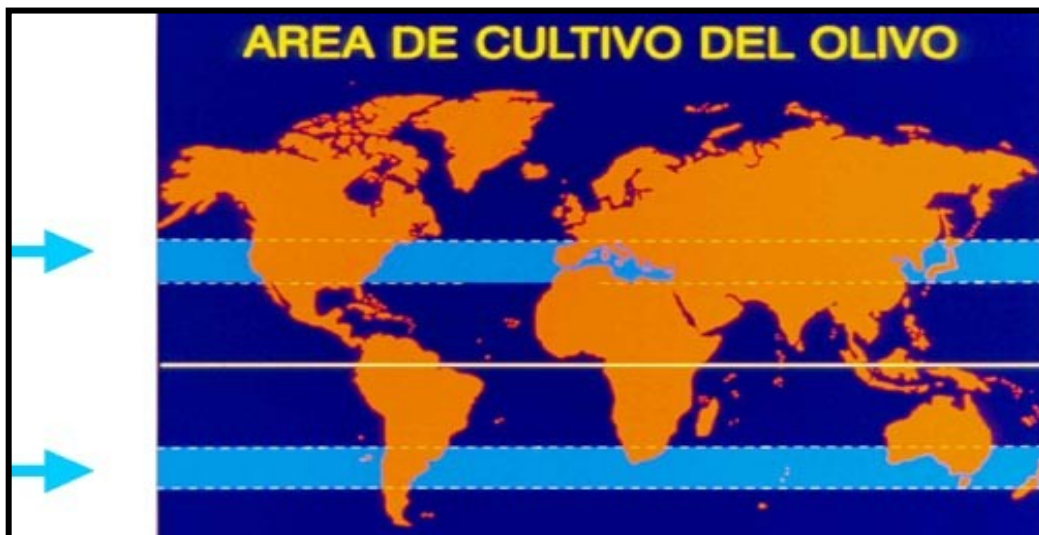


Fig. 2: Aire de culture de l' Olivier. (CIVANTOS ,1998)

## 2. Présentation générale de la plante

### 2.1. Caractéristiques botaniques

Selon CRONQUIST (1981) ; in FONTANAZZA et BALDONI, (1990), La famille des Oléacées comprend 30 genres avec 600 espèces dont le nombre de chromosomes est égale à  $2n=2x=46$ .

Selon VILLEMUR et DOSBA (1997), l'espèce *Olea europaea. L* se subdivise en quatre sous-espèces :

- *Olea europaea lalea laperrini* des montagnes sahariennes et de l'Atlas marocain et sud Algérien Hoggar et Tassili.
- *Olea europaea cerasiformis* des îles Canaris et de Madères.
- *Olea europaea cuspidata* d'Asie du sud, d'Arabie, d'Abyssinie et du sud de l'Afrique.
- *Olea europaea euromediterranea* localisé dans le bassin méditerranéen, est composé selon LOUSSERT et BROUSSE (1978) (Tableau.1). de deux séries :
  1. **Série 1** : *Olea euromediterranea sativa* : c'est l'olivier cultivé représenté par un grand nombre de variétés améliorées, multipliées par bouturage, ou greffage et non connues à l'état sauvage.
  2. **Série 2** : *Olea euromediterranea oleaster* ou *Olea euromediterranea sylvestris* (communément dénommé oléastre). Il se présente sous forme d'un buisson épineux, et à fruits ordinaires, petits non utilisés pour la production de fruits.

**Tableau 1** : Classification de l'olivier.

Caractéristiques de l'olivier	CIFERRI et BREVIGLIERT (1942; in LOUSSERT et BROUSSE, 1978)	CRETE (1965)	GREEN et WIDHENS (1989)
Embranchement	Phanérogames	Phanérogames	Phanérogames
Sous-Embranchement	Angiospermes	Angiospermes	Angiospermes
Classe	Dicotylédones	Dicotylédones	Dicotylédones
Phyllum			Térébinthales
Sous-classe		Gamopétales	
Série	Sativa Oleaster	Hypogynes	Sativa
Sous-série		Bicarpellés	
Ordre		Ligustrales	Ligustrales
Famille	<u>Oléacées</u>	<u>Oléacées</u>	<u>Oléacées</u>
Sous-famille			Oleoidées
Genre	<i>Olea</i>	<i>Olea</i>	<i>Olea</i>
Especie	<i>Olea europaea</i>	<i>Olea europaea</i>	<i>Olea europaea</i>
Sous-espece	Euromediterranea Laperrinei		<i>Olea</i> Euromediterranea



## **2.2. Caractéristiques morphologiques**

L'olivier se distingue par une longévité longue, comparé aux autres arbres (LOUSSERT et BROUSSE, 1978).

### **2.2.1. Système racinaire**

Selon LOUSSERT et BROUSSE (1978), le système racinaire de l'olivier est de type mixte. Le développement racinaire de l'olivier dépend des caractéristiques physico-chimiques du sol. Par ailleurs, d'après NURHAYAT (1989), le développement, le taux de croissance des racines, leurs activités, le nombre de poils absorbants et la structure anatomique varient en fonction des variétés. Cependant, d'après TOURIEROUX (1929), la constitution du système racinaire chez l'olivier dépend du procédé de multiplication dont il a fait l'objet. En effet les jeunes plants issus de bouturage, présentent un système racinaire très développé avec trois ou quatre racines dominantes, pourvues d'un important chevelu. Par contre si l'olivier est greffé sur oléastre, le système racinaire est pivotant et peut atteindre des profondeurs assez importantes (ARGENSON *et al*, 1999),

### **2.2.2. Système aérien**

- **Tronc et branches**

Le tronc de l'olivier est un conglomérat de différentes sections indépendantes, il est de forme droite et circulaire chez les jeunes arbres, avec l'âge il donne naissance à des cordes, zones successives de dépressions conférant au tronc son aspect tourmenté (LAVEE, 1997). Sur le tronc naissent les branches mères, leur développement commence dès les premières tailles, et leur nombre dépend du mode de conduite du verger. Sur les branches mères (charpentières), se développent les branches sous mères qui, suite à leurs nombreuses ramifications, développent la couronne de l'arbre.

- **Rameau fructifère**

Il s'agit du rameau de l'année, c'est lui qui porte les fleurs puis les fruits. Selon VILLEMUR et DOSBA (1997), ce rameau porte à son extrémité un bourgeon terminal qui possède 7 à 9 paires d'ébauches foliaires. Au niveau de chaque noeud on trouve deux feuilles axillaires opposées avec un bourgeon à l'aisselle de chacune d'elles. Il est délimité à sa base par un entre-noeud court qui marque la croissance hivernale.

- **Feuilles**

Les feuilles de l'olivier sont simples, entières, sans stipule avec un pétiole court, se distinguent par une couleur verte foncée à la face supérieure et un aspect argenté à la face inférieure. Leur forme est généralement fusiforme et allongée, variable, selon les variétés et l'âge du plant, de même pour leurs dimensions (LAVEE, 1997). Elles ont une durée de vie de trois ans, l'ensemble du feuillage persistant forme la frondaison (LOUSSERT et BROUSSE, 1978)

- **Inflorescences et les fleurs**

Les inflorescences sont constituées de grappes longues et flexueuses, pouvant compter de quatre à six ramifications secondaires. Le nombre total d'inflorescences, leur répartition sur les rachis et la longueur de l'inflorescence sont génétiquement déterminés pour chaque cultivar, et varient également d'une année à l'autre, selon l'état physiologique de l'arbre et les conditions climatiques (LAVEE, 1997). La fleur de l'olivier comprend quatre sépales, quatre pétales, deux étamines et deux carpelles.

- **Fruit**

Le fruit est une drupe de forme sphérique, ovoïde ou allongée. De l'extérieur à l'intérieur on distingue :

- Le Péricarpe : change de couleur suivant le stade de maturité.
- Le Mésocarpe : représente la partie charnue riche en lipides.
- L'Endocarpe : constitué d'un noyau de forme sphérique, ovoïde elliptique ou allongé.
- La forme et les dimensions du fruit et du noyau sont des caractéristiques variétales.

Selon FONTANAZZA et BALDONI (1990), la longueur du fruit et du noyau sont des caractères à forte héritabilité.

## **2.3. caractéristiques physiologiques**

### **2.3.1. Cycle de développement**

D'après LOUSSERT et BROUSSE (1978), le cycle de développement de l'olivier passe par quatre grandes périodes :

- La période de jeunesse
- La période d'entrée en production
- La période adulte
- La période de sénescence

### **a- La période de jeunesse**

C'est la période d'élevage et de croissance du jeune plant. Elle commence en pépinière pour se terminer au verger, dès que le jeune arbre est apte à fructifier. C'est durant cette période que se développent le système racinaire et la frondaison.

### **b- la période d'entrée en production**

Cette phase va de l'aptitude de l'arbre à produire et à l'établissement de productions régulières et importantes. Elle correspond à la période où le rapport C/N se rapproche de son équilibre.

### **c- la période adulte**

Lorsque l'olivier a atteint sa taille normale de développement son accroissement souterrain et aérien est terminé: il entre dans la période de pleine production. L'équilibre du rapport C/N doit être maintenu autour de l'optimum.

### **d- la période de sénescence**

C'est la phase de vieillissement qui se caractérise par une diminution progressive des récoltes.

La durée de chacune de ces périodes varie avec les conditions de culture des arbres, et selon les variétés (MORETTINI; 1950, in LOUSSERT et BROUSSE; 1978).

### **2.3.2. Cycle végétatif annuel**

Le déroulement annuel du cycle végétatif de l'olivier est en étroite relation avec les conditions climatiques de son aire d'adaptation, caractérisée essentiellement par le climat méditerranéen.

Selon BOULOUHA (1995), le cycle biologique de l'olivier est caractérisé par le chevauchement de deux fonctions physiologiques différentes:

- . La floraison et la fructification de l'année en cours.
- . La croissance végétative de nouvelles ramifications.

- **Repos végétatif:**

C'est le ralentissement de l'activité végétative qui s'étale de Novembre à la fin Février – début Mars. Le caractère des feuilles persistantes chez l'olivier empêche celui-ci d'entrer en phase de dormance mais seulement en phase de demi repos, pendant cette période l'arbre reconstitue ses réserves et accumule une certaine quantité de froid nécessaire à l'évolution des bourgeons (DAOUDI, 1994).

- **Induction florale**

Elle est définie par le changement métabolique qui caractérise le passage d'un végétal vers un état reproductif. D'après OUKSSILI (1989) cette phase est imperceptible morphologiquement et l'époque de son déroulement est variable suivant les cultivars et les conditions climatiques. Elle se déroule généralement de Novembre à Décembre.

Chez l'olivier les recherches ont montré l'influence positive des basses températures (10° à 13°C) sur l'induction florale, celle-ci est complètement inhibée à des températures situées entre 16° et 30°C.

- **Différenciation florale**

Elle est définie comme étant l'ensemble des modifications morphologiques que subit un méristème lors de sa transformation en fleurs ou en inflorescences suivant les conditions climatiques. La différenciation florale n'a lieu qu'à partir du mois de Février – Mars. Selon DAOUDI (1994), la durée du développement des pièces florales est en général inversement proportionnelle à la précocité et moins étalée pour les variétés tardives, en moyenne 44 jours.

- **Floraison**

Elle se caractérise par l'ouverture des fleurs après la croissance des ébauches florales et maturation des cellules reproductrices.

- **Pollinisation**

C'est le transfert du pollen de l'anthere au stigmate, ce transfert se fait en général par le biais du vent (pollinisation anémophile). Chez l'olivier la pollinisation croisée est nécessaire pour une bonne fructification.

- **Fécondation**

La fécondation est le résultat de la fusion des noyaux reproducteurs mâles, et femelles, donnant naissance à l'embryon et à l'albumen. Pour que la fécondation soit effective, il faut que les stigmates soient fonctionnels au moment de la pollinisation et les ovules soient réceptifs et fécondables, au moment où le tube pollinique les atteint (HUGARD, 1975).

- **Nouaison et grossissement du fruit**

C'est la phase qui s'étale de la fécondation à la maturité complète. HARTMAN, (1946); LAVÉE, (1997) ont pu observer 5 phases de développement du fruit. Ces phases sont représentées sous forme d'une double courbe sigmoïde de croissance, avec deux phases de latence initiale et finale. Au cours des trois phases actives on peut distinguer :

- Croissance rapide de l'endocarpe et à un niveau moindre celle du péricarpe et de l'exocarpe.
  - Sclérisation de l'endocarpe.
  - Développement du mésocarpe suivi de la croissance rapide du fruit, ensuite la biosynthèse et la lipogénèse.
- **Maturité du fruit**

C'est la phase durant laquelle le fruit s'enrichit en huile et acquiert toutes ses qualités diététiques et organoleptiques. C'est la période la plus favorable à la récolte, celle-ci doit prendre fin avant que la chute naturelle des fruits devienne importante. La période de maturité dépend de la variété et des conditions climatiques locales.

## **2.4. Exigences climatiques et édaphiques de l'olivier**

### **2.4.1 Exigences climatiques**

Les facteurs climatiques influencent fortement le comportement de l'olivier. On peut distinguer :

- **Température**

L'olivier est assez sensible au froid. Il a des troubles de comportement dès que les températures sont inférieures à -5°C. Les températures optimales du développement sont comprises entre 12°C et 20°C, au-dessus de 35°C parvient un ralentissement ou un arrêt de développement. Le zéro de végétation est de 10° à 12°C (LOUSSERT et BROUSSE, 1978).

- **Pluviométrie**

Vu sa plasticité, l'olivier peut être cultivé sous des régimes hydriques allant de 200 à plus de 800 mm/an. Son développement et sa croissance sont conditionnés à la fois par la répartition des pluies dans le temps et par la capacité du sol à retenir l'eau.

- **Hygrométrie**

L'olivier paraît souffrir des fortes humidités estivales de l'air. La plupart des variétés paraissent plus sensibles aux attaques parasitaires, lorsque de fortes hygrométries, diurnes se maintiennent durant, d'assez longues périodes. L'excès d'humidité diminue la quantité et la qualité de l'huile et cause la chute des fruits (PAGNOL, 1985).

- **Vent**

Les vents forts affectent beaucoup l'olivier notamment au moment de la floraison, se traduisant souvent par une faible production (BALDY, 1990).

- **Insolation**

L'olivier exige de fortes quantités d'énergie solaire pour assurer son développement et surtout une fructification normale. Les travaux de BALDY et al. (1986), ont montré que les feuilles de l'olivier sont des organes de pleine lumière, c'est à dire que leur photosynthèse n'est optimale qu'avec une forte énergie incidente. Une faible intensité lumineuse affecte le pourcentage de nouaison, la taille des fruits et leur teneur en l'huile (POLI, 1979).

- **Neige et grêle**

La neige par son poids provoque la cassure des charpentières. La grêle par l'effet des chocs sur les branches, les rameaux et les fruits entraîne des blessures et par conséquent le développement de parasites et la chute des fruits. Selon MAILLARD (1975), les gelées arrêtent la formation de l'huile.

#### **2.4.2. Exigences édaphiques**

La faculté de l'olivier à s'adapter aux différents types de sols est grande. Toutefois, les sols fortement argileux, compacts et humides ou ressuyant mal sont à écarter. Dans les sols secs et impossible à irriguer, la nouaison se fait mal et les fruits tombent en grand nombre. Les terres riches en alluvions et profondes sont préférables pour la culture de l'olivier (AMIROUCHE, 1977).

## **II Importance de l'oléiculture**

### **1. Dans le monde**

#### **1.1. Verger oléicole mondial**

D'après YVON (2006), le verger oléicole mondial compte plus de 9 500 000 hectares.

- plus du 97% de ce patrimoine est localisé dans les pays du bassin méditerranéen, il constitue donc une oléiculture éminemment méditerranéenne.
- plus de 85% des surfaces cultivées sont conduites en sec.
- 75% des zones oléicoles sont situées sur des collines ou des montagnes.
- environ 70% des exploitations ont une surface comprise entre 1 et 5 hectares.

Les aires de production sont réparties comme suit :

- 30% des aires oléicoles correspondent à des oliveraies intensives représentant 50% de la production
- 50% des aires oléicoles correspondent à des oliveraies traditionnelles représentant 40% de la production
- 20% des aires oléicoles correspondent à des zones marginales d'où 10% de la production.

L'Europe détient à elle seule plus de 66% du verger oléicole mondial, loin devant le Proche Orient (17%) et l'Afrique du Nord (14%) (YVON, 2006). Selon le même auteur, dans le Nord Africain, l'oléiculture Tunisienne est largement dominante avec plus de 50 millions d'arbres sur une superficie de l'ordre de 1.4 Million d'hectares. Elle occupe ainsi la première place, les vergers sont de faible densité, rectilignes conduits en monoculture sur plus de 800.000 ha. Cette oliveraie répond aux normes techniques nouvelles, localisée entre Soussa et le Sud du Sahel de Sfax. Dans le Nord, les oliveraies sont plus denses autour de Beja et du Kef.

Au Maroc, l'oléiculture est concentrée dans les provinces du Sud (31 % Haouz de Marrakech, Tadla, région côtière entre Asfi et Essaouira), dans le Rif (28 % Taounate, Chefchaouenne) et au centre (22 % entre Fès et Taza).

Le verger oléicole Algérien représente un faible taux (1,7 %) de la surface agricole utile contre 30% au Portugal et 32% en Tunisie. L'écart est très important et cela malgré les programmes de développement enregistrés dès l'indépendance (tableau2).

**Tableau 2:** Répartition du verger oléicole dans quelque pays méditerranéens (YVON ,2006).

<b>Pays</b>	<b>SAU ha</b>	<b>Verger oléicole ha</b>	<b>% surface oléicole</b>
TUNISIE	4 400 000	1.420.000	32
Portugal	3.600.000	1.114 000	30
Italie	12 400.000	2.000.000	16
GRECE	3 900.000	597 000	15.3
Espagne	20 640 000	2.150.000	10.4
ALGERIE	8.458.680	282.348	1.7
TOTAL	53 398 680	7 427 937	

## 1.2. Production oléicole mondiale

Selon YVON (2006), la production mondiale oléicole est destinée aux huileries, elle est de l'ordre de 2 730 000 tonnes d'olives au cours du quinquennat 2000/2005. Sur les 900 millions d'oliviers, existants dans le monde 97 % des surfaces sont situées dans le bassin méditerranéen. A elle seule, la région méditerranéenne produit 98 % de la production mondiale en huile d'olive. Cette production est cependant presque insignifiante par rapport aux autres huiles d'origines végétales. Elle lui confère le 6 ieme rang par rapport aux autres huiles de graines végétales (tableau 3).

**Tableau 3:** Production des principales huiles végétales dans le monde (YVON ,2006).

<b>TYPE D'HUILES</b>	<b>PRODUCTION 1000 TONNES</b>	<b>%/AU TOTAL DES HUILES PRODUITES</b>
Soja	28827.6	44
Tournesol	8754.6	13.3
Colza	13658	21
Arachide	4814	7.3
Mais	2001	3.05
Olive	2855	4.35
Autres HVFA	759	1.16



D'après le tableau N°3, on constate une nette supériorité de la production des huiles de graines d'autres espèces au détriment de la production de l'huile d'olive, qui serait principalement due selon YVON (2006) à :

- La régularité des productions.
- L'utilisation intense de la mécanisation, la fertilisation et de la protection phytosanitaire.
- Au progrès permettant l'amélioration de la production et de la productivité.

La faible production en huile d'olive serait due selon le même auteur :

- Aux Caractères typiquement traditionnels des exploitations.
- A la pérennité des plantations oléicoles.
- A la Spéculation qui nécessite beaucoup de main d'œuvre.
- A la non mécanisation de l'oléiculture (montagne).
- Aux Variations des productions annuelles dues aux phénomènes d'alternance.
- Aux faibles programmes d'intensification (fertilisation protection phytosanitaire).

La consommation mondiale de l'huile d'olive est en nette progression. Actuellement, elle est de 2.708.500 tonnes/an. Par ailleurs, les consommations seraient situées autour de 3.100.000 et 3.300.000 tonnes en 2010- 2011. En général aucun des pays producteurs ne produit assez pour couvrir l'ensemble de ses besoins. (MAMMOU, 2007).

En ce qui concerne les olives de conserve la production mondiale est de 1.457.500 tonnes. Cette production ne couvre pas les besoins du marché mondial qui sont en nette progression (1 582 000 tonnes) (MAMMOU, 2007) (tableau 3).

## **2. En Algérie**

En Algérie l'oléiculture est implantée dans les régions montagneuses elle représente 17.237.000 d'arbres à travers le territoire national dont 14.060 000 en 2006 d'oliviers en masse (verger) et 3.237 000 d'oliviers en isolés.

On distingue deux types d'oléiculture :

- Une implantation récente, de densité homogène et régulière, localisée à l'ouest du pays et spécialisée dans la production de l'olive de table.

- L'autre, est séculaire, couvre plus de 90 % du verger oléicole, destinée pour la production de l'huile, localisée en régions montagneuses avec des reliefs accidentés et sur des terres pauvres, située dans le centre et l'Est Algérien (YVON, 2006).

## 2.1. Potentiel oléicole

En 2004 l'oléiculture Algérienne s'étendait sur une superficie de 282.348 ha avec 24.616.600 oliviers dont 20.424.580 en masse (vergers) et 4.192.020 en isolés. (M.A.D.R ,2004)

Selon YVON (2006), l'évolution de l'oléiculture peut se résumer en trois grandes périodes

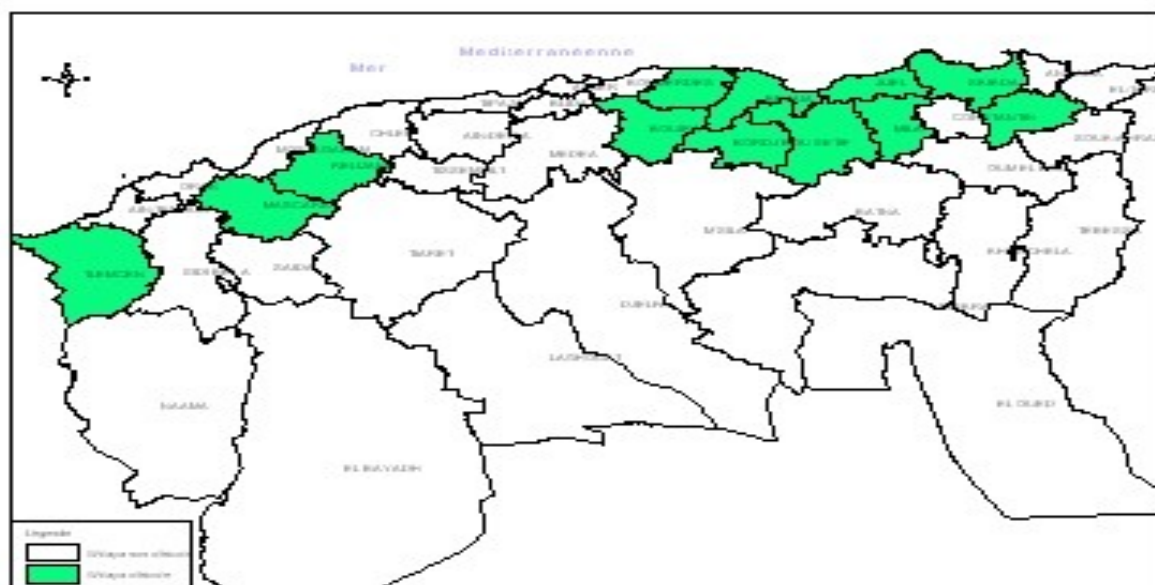
- De 1965 à 1987, le verger passe de 98.200 ha à 164.000 ha soit une progression de 67%
- De 1987 à 1999, les superficies oléicoles ont enregistré 1% de progression soit (1600 ha)
- De 2000 à 2007, le verger croit de 133.400 ha et atteint ainsi 299.000 ha avec un taux d'accroissement de 81%.

Le tableau 4 représente la répartition du verger oléicole Algérien en fonction des régions.

**Tableau 4:** Répartition du verger oléicole Algérien (MADR, 2004)

REGIONS	SUPERFICIE ha	% VERGER NATIONAL
CENTRE	147.599	52.3
EST	65.007	23
OUEST	64.614	22.9
SUD	5.127	1.8
Total :	282.347	100

L'oléiculture est concentrée exclusivement au niveau de 12 principales Wilayat dont la région centre est représenté avec un pourcentage de 75.3% du total national : Tizi-ouzou, Bejaia, Bouira, Jijel et Sétif à elles seules totalisent plus des 2/3 de l'oléiculture Algérienne. La figure 3, représente la carte de répartition de l'aire oléicole en Algérie en 2006.



**Fig.3 :** Carte de répartition de l'aire oléicole en Algérie (YVON, 2006).

## 2.2. Evolution de la production oléicole en Algérie

Au cours de la dernière décennie 1990 /1999, la production moyenne oléicole est de 1.905.000 quintaux (MADR, 2006).

**Tableau 5:** Evolution de la production oléicole en Algérie (MADR, 2006)

Indicateurs	2000	2001	2002	2003	2004	2005	2006
<b>olive de table (qx)</b>	346.730	335.460	477.690	634.740	587.980	769.627	807.300
<b>Olive à huile (qx)</b>	1.824.390	1.667.930	1.441.570	1.041.530	4.100.020	2.266.749	1.278.000
<b>total (qx)</b>	2.171.120	2.003.390	1.919.260	1.676.270	4.688.000	3.036.376	2.085.000
<b>Production d'huile (t)</b>	30.588	24.224	23.501	15.252	69.650	33.765	21.500
<b>Production d'huile (hl)</b>	333.200	263.880	256.000	165.780	757.065	367.012	
<b>Rendement (Kg/arbre)</b>	13,0	13,0	10,8	10,8	29,2	-	11
<b>Rendement (litre/q d'olive)</b>	15,8	17,8	15,9	15,9	18,5	-	18

D'après le tableau 5 la production oléicole en Algérie a enregistré une évolution conditionnée par les aléas climatiques:

- En 2004 la production oléicole est évaluée à 4.100.000 qx pour l'huile d'olive et 587.980 qx pour l'olive de table.
- En 2006 la production était de 1.278.000 qx d'olives destinées à la production de l'huile, et de 807.300 qx d'olives de table soit une baisse de 68,7% pour l'olive à huile et une augmentation de 4,3% pour l'olive de table.
- On constate, d'une année à une autre, la fluctuation de la production oléicole.

Ces fluctuations sont souvent bisannuelles, elles sont dues d'une part au phénomène d'alternance de l'olivier est aux aléas climatiques principalement d'ordre hydrique (climat méditerranéen) caractérisé par de faibles pluies qui sont mal réparties au cours de l'année et souvent absentes durant les périodes critiques (juin juillet). Ces fluctuations se répercutent directement sur le rendement en olives à l'hectare.

- La production d'olives de table se fait essentiellement dans les wilayat de l'ouest Algérien (Mascara, Relizane, Tlemcen, et Mostaganem).

### **2.3. Production de plants**

Durant la campagne 1996/1997, la production de plants d'olivier était de 47.000, Elle est passée à 2.738.000 plants en 2006/2007 (MADR, 2006), répartis comme suit : 34% en motte (au sol) et 61% en conteneurs (hors- sol) dont seulement 3,70% sont produits sous milieu contrôlé (en Serres).

Seulement 95.000 plants sont multipliés par bouturage (Boutures ligneuses ou herbacées) ce qui représente 2% de la quantité totale de plants produits pour la même période. Les Principales variétés multipliées par bouturage sont: Sigoise 34%, Manzanilla 0,65% et Azeradj 0,40%.

Les deux principales variétés multipliées par greffage sont la Chemlal pour l'huile (44 %) et la Sigoise pour l'olive de table (53.6 %). Par contre, le reste des variétés est très insignifiant car ces variétés ne sont pas connues par les oléiculteurs (Azeradj, Bouchouk, rougette et blanquette de Guelma, Sévillane et Gordale .....).

### **2.4. Variétés cultivées:**

La description des variétés d'olives cultivées en Algérie ayant déjà fait l'objet de nombreuses études, est souvent restée au stade préliminaire.

Selon MENDIL et SEBAI (2006), les principales variétés cultivées en Algérie sont (tableau 6) :

- **Chemlal de Kabylie**

C'est la variété la plus dominante en Kabylie, elle s'étend de l'atlas Blidéen jusqu'au Bibans et le Guergour, plus de 44% des Surfaces oléicoles nationales, Elle est la plus répandue. Elle est caractérisée par des arbres vigoureux et productifs qui produisent une huile de qualité (14%). C'est l'une des variétés les plus estimées pour la production de l'huile, avec un fruit de 2,5 g en moyenne et une teneur en huile de 18 à 22%.

- **Les variétés Azeradj et Bouchouk**

Elles accompagnent généralement les peuplements de Chemlal dont Azeradj est utilisée comme pollinisateur. Ces variétés sont utilisées à doubles fins : huile et conserverie. Leur teneur en huile varie entre 22 et 28%.

- **Les variétés Rougette et Blanquette de Guelma**

Ces deux variétés à huile se trouvent en mélange dans les régions de l'Est du pays, leur teneur moyenne en l'huile est d'environ 15%.

- **Variété Sigoise**

Cette variété est la plus répandue dans l'Oranie. Elle est appréciée pour sa qualité d'olive de table, localisée au niveau des plaines de l'Ouest, et en particulier la plaine de Sig. C'est une variété à doubles fins (huile et conserverie), mais dont la majeure partie est destinée pour la conserverie.

- **Variété Sévillane et Gordal**

Elles sont originaires d'Espagne, variétés à gros fruits, localisées dans la plaine sublittoral oranaise. Elles sont utilisées uniquement pour la production d'olives vertes de table.

Tableau 6: Principales variétés d'olivier cultivées en Algérie (MENDIL et SEBAI, 2006).

Variétés	Origine	Diffusion	Utilisation	Taux d'enracinement	Rendement en huile	Autre
<b>Chemlal</b>	Kabylie.	Plus 40% du verger oléicole Algérien	Huile	Faible < 19%	18 à 22%	-Rustique, Tardive -Autostérile, Productivité élevée. - Peu alternante, Sensible à la tuberculose et la teigne.
<b>Sigoise</b>	Plaine de Sig (Mascara)	25% du verger oléicole Algérien	Double aptitude (huile et olive de table)	Moyen	18 à 22%	- Saison, tolérante aux eaux salées -Productivité moyenne et alternante
<b>Rougette et Blanquette de Guelma</b>	Guelma	limitées aux Aurès	Huile	52,30 % Elevé	15%	-Précoces - Résistantes au froid et à la sécheresse - bonne Productivité et alternante
<b>Azeradj</b>	Seddouk	Locale 10 % du verger oléicole Algérien	Double aptitude (huile et olive de table)	Faible	24 à 28%	-Tardive et rustique -Auto fertile - Variété pollinisatrice et alternante
<b>Bouchouk</b>	Hammam Guergour	Restreinte	Double aptitude (huile et olive de table)	Faible	22 à 26%	-Rustique de saison -Productivité faible et alternante
<b>Gordal</b>	Espagne	Plaine sub littorale Oranie	Double aptitude (huile et olive de table)	Faible	16 à 20%	-Rustique de saison -Productivité faible et alternante
<b>Séville</b>	Espagne	Idem	Huile	Faible	14 à 18%	-Précoce - Résistante au froid et sécheresse - Autostérile / Sigoise

### **3. Principales contraintes de l'oléiculture**

Nous pouvons citer :

#### **- Potentiel de production insuffisant en Algérie**

La production et la consommation par habitant restent faibles 1,1kg par rapport à la consommation moyenne qui est selon l'OMC de 5,5 kg /an/habitant. L'Espagne occupe la première place avec 16 kg/an/habitant, et la Tunisie avec 7 kg /an/ habitant (MAMMOU, 2007).

#### **- Perte de production due principalement**

- Aux ressources hydriques non disponibles en quantité suffisante pour irriguer l'olivier destiné à l'olive de table entraînant une perte de 20 qx/ ha.
- Moyens de récoltes modernes peu utilisés induisant la perte d'olives en moyenne de 2kg par arbre en zone de montagne.
- Traitements phytosanitaires très peu utilisés.

#### **- Processus de transformation peu maîtrisé qui induit**

- Perte d'huile en moyenne de 1 ,25 litre/ql transformé, soit 10.000 t d'huile/an
- Dépréciation de la qualité, environ 60% de l'huile d'olive nécessite un raffinage (acide supérieur à 3 ,3%) normes COI.
- Perte d'olive de table et nécessité d'appliquer les conditions d'hygiène.
- Contrôle de qualité des produits oléicoles insuffisant.

#### **- Conditions de stockage inadéquates avec une faible capacité de conditionnement**

- Perte de la qualité au niveau du stockage lié aux matériaux utilisés (absence de cuves en acier inoxydable).
- Capacités de conditionnement insuffisantes (20 Unités de conditionnements, soit 10% de la production nationale).

#### **- Sous produits de la transformation non valorisés**

La transformation dégage 14.000 t de margines et 100.000 t de grignons équivalent de 600.000.000,00 DA (MAMMOU, 2007). Il faut signaler l'absence des unités de stockage et de distribution des margines et grignons en tant qu'aliment de bétail et/ou fertilisants.

#### **- Circuit de commercialisation défaillant**

- Mélange d'huile d'olive et d'huile de table.
- Utilisation de conteneurs (emballage) ne répondant pas aux normes des marchés.
- Non respect de la réglementation en vigueur.

### **III- Multiplication de l'olivier**

#### **1. Techniques de multiplication de l'olivier**

La multiplication de l'olivier se fait généralement par voie végétative (bouture, rejet...). La voie sexuée est exceptionnellement utilisée pour l'obtention de porte greffes francs et pour l'amélioration génétique. Les différentes méthodes de multiplications ont une origine très ancienne, Elles sont définies aujourd'hui comme des systèmes traditionnels (multiplication rejet de souche ...) et sont remplacés par des méthodes modernes comme le semis greffage, le bouturage herbacé, suite à la naissance et au développement des pépinières industrielles à la fin du dix-neuvième siècle (FONTANAZZA, 1997).

##### **1.1. Techniques traditionnelles**

Ce sont des méthodes de multiplication qui ont une origine très ancienne, utilisées surtout pour la création d'oliveraies en zones arides où l'eau constitue un facteur limitant pour les cultures (LOUSSERT et BROUSSE 1978).

###### **1.1.1 Bouturage ligneux**

D'après LOUSSERT et BROUSSE (1978), c'est un mode de multiplication qui se pratique en pépinière pour produire de jeunes plants à partir de pied-mères choisis pour leur qualité et leur état sanitaire. Les boutures ligneuses sont mises en stratification dans du sable, puis plantées verticalement ou horizontalement de Février à Avril.

Les boutures utilisées ont un diamètre de 2 à 3 cm et une longueur de 20 à 30 cm. L'aptitude à l'enracinement des boutures d'olivier est directement proportionnelle à leur âge. L'utilisation des portions de rameaux âgés de 4 à 5 ans au maximum est conseillée (JACOBONI, 1987).

###### **1.1.2 Bouturage en garrot**

Les boutures ligneuses de 0,60 à 1 m de longueur et de 4 à 5 cm de diamètre sont mises en place, assemblées par trois ou quatre, dans le même trou de plantation la partie supérieure est inclinée vers l'extérieure formant ainsi une touffe de 3 à 4 troncs distincts.

###### **1.1.3 Bouturage par souchet**

Le souchet est considéré comme une grosse bouture ligneuse obtenue lors du recepage d'un vieil arbre qui peut être utilisé pour la mise en place de nouvelles plantations. Il est obtenu durant les mois de Mars et Avril par la séparation d'un jeune plant des pied-mères. Ce mode de multiplication est surtout préconisé, dans les zones arides et sub arides (HADJI, 1974), en lui conservant un morceau de souche d'environ 2 kg (ERETEO, 1988).



#### **1.1.4 Drageonnage**

Ce mode de multiplication est utilisé pour le remplacement de vieux oliviers en verger. Il consiste à prélever des jeunes rejets pourvus d'un morceau de racine, que l'on met directement en verger, parfois le drageon peut être élevé à côté du pied-mères sans être détaché.

#### **1.1.5 Marcottage en cépée**

Il consiste à butter les jeunes rejets qui se développent sur les pied-mères pour favoriser l'apparition des racines. Après un sevrage, les rejets racinés sont transférés en verger (LOUSSERT et BROUSSE1978). D'après JACOBONI (1987), le taux de plantules racinées ainsi obtenu est très faible, à peine 10%.

#### **1.1.6 Greffage sur oléastre**

Selon LOUSSERT et BROUSSE1978), cette méthode est à l'origine de l'olivette de Kabylie. Le type de greffage utilisé est la greffe en couronne en Mars –Avril, ou la greffe en placage réalisé de Mai à Juin.

### **1.2 Techniques de multiplication intensive**

C'est l'ensemble des méthodes permettant de produire des plants en quantité et de qualité tout en réduisant au maximum le cycle de production.

#### **1.2.1 Semis-greffage**

Cette technique est largement utilisée dans les pépinières, elle consiste à réunir par le greffage d'un porte greffe issu de franc de semis et un greffon prélevé sur la variété faisant l'objet de la multiplication. D'après LOUSSERT et LOUSSERT (1978), la plus part des variétés d'oliviers sont reconnues pour leur faible pouvoir germinatif où 20 % à 25 % des noyaux sont dépourvus d'amande et environ 50% sont improductifs.

Ce mode de multiplication exige le passage par plusieurs étapes à savoir:

- **Récolte et préparation des noyaux**

En Algérie généralement la récolte des noyaux se fait sans distinction de variétés. Les noyaux sont directement récoltés avant maturité (avant véraison) (ISTAMBOULI, 1974), puis soumis à des traitements physiques ou chimiques (scarification, alternance des hautes et basses températures, lumière artificielle, traitements hormonaux) afin d'augmenter leur pouvoir germinatif (LOUSSERT et LOUSSERT, 1978).

- **Stratification des noyaux**

Elle consiste à entreposer les noyaux dans du sable de rivière ou de la perlite avec un milieu humide à des températures basses (2 à 10°C)

- **Semis des noyaux**

Selon OUKSILI (1983), le semis peut être effectué en Août- Septembre soit avec des noyaux d'oléastres, soit avec des noyaux de variétés cultivées à une densité de 2 à 3 kg/m<sup>2</sup> au niveau des blocs préalablement désinfectés.

- **Repiquage en carré d'élevage**

Le repiquage des plantules s'effectue au stade 6 à 8 feuilles après triage, habillage et pralinage à une densité de 50.000 plants/ ha (OUKSILI, 1983).

- **Greffage des plants**

D'après OUKSILI (1983), le greffage des plants s'effectue après environ 14 mois dans les planches de semis. Les greffons bien Aoûtés d'un an ou deux ans proviennent de rameaux préalablement récoltés sur des arbres étalons reconnus pour leur performance et leur bon état sanitaire. Le greffage à la couronne qui est le mode de greffage le plus recommandé pour l'olivier est utilisé du fait de son taux élevé de réussite 90% (LOUSSERT et BROUSSE, 1978)

### **1.2.2 Bouturage à l'étouffée**

Selon VAN DEW HEEDE (1976), ce procédé consiste à repiquer les boutures de façon à ce que les feuilles occupent la surface de terrain, arroser, placer les châssis, ombrer et laisser un peu d'air pour évacuer l'excès d'humidité, fermer ensuite hermétiquement

#### **1.2.2.1 Bouturage sur tablette chauffante ou cadre chauffé:**

La plantation est suivie d'un arrosage copieux. Le cadre est ensuite fermé hermétiquement ce qui piège l'évaporation de l'eau du substrat et par conséquent augmente l'humidité relative de l'air ambiant pour atteindre 80%. Les arrosages sont assurés une fois tous les trois jours (MANSOURI et ABOUSALLIM, 1992).

#### **1.2.2.2 Bouturage dans des coffres non chauffés:**

D'après MANSOURI et ABOUSALLIM (1992), les coffres non chauffés réunissant les conditions favorables pour effectuer une multiplication herbacée ont été conçus pour développer une méthode plus simple et économique. Elle consiste à réaliser une simple tranchée au-dessus de laquelle on place des baguettes de fer sous forme d'arc, sur lesquels

repose un film plastique transparent. La fermeture hermétique est assurée à l'aide des barres en cornières déposées le long des bordures de la tranchée.

Ce procédé permet de remplacer les serres de nébulisation (très coûteuse), mais il ne permet pas une bonne maîtrise des conditions du milieu (JACOBONI, 1989).

### **1.2.2.3. Bouturage sous Mist-system**

Il consiste à provoquer l'enracinement des boutures issues de jeunes rameaux d'une année en cours de lignification, présentant des tissus capables de se différencier, en formant des cals sur lesquels se différencient des racines. Cette méthode nécessite un système de nébulisation produisant un brouillard artificiel, qui permet d'éviter la déshydratation des boutures, par transpiration, tout en maintenant une mince pellicule d'eau sur le feuillage. Selon LOUSSERT et BROUSSE (1978), FONTANAZZA (1997), le bouturage de l'olivier sous Mist-system passe par trois phases à savoir :

#### **a) Phase d'enracinement**

L'auto enracinement des boutures au niveau d'une serre de nébulisation nécessite de réunir les conditions suivantes :

- Température ambiante : de 21°C à 25°C
- Température du substrat (perlite, vermiculite, laine de roche) : de 20°C à 28°C
- L'humidité de l'air : 100%.
- La durée de cette phase est de 60 à 90 jours.

#### **b) Phase d'endurcissement**

Cette phase d'endurcissement ou d'adaptation des boutures racinées à la vie autonome au niveau de la serre d'endurcissement dont la température de croissance est maintenue entre 15°C à 25°C où des irrigations périodiques sont indispensables.

#### **c) Phase d'élevage des plants**

Les boutures racinées sont dépotées pour être mises en terre avec leur motte ce qui permet un taux de reprise de 90 à 100%.

### **1.2.3 Culture in vitro**

C'est une technique faisant intervenir plusieurs méthodes qui permettent de faire croître en conditions d'asepsie totale sur un milieu synthétique, des cellules, des tissus, ou organes prélevés sur une plante (ZRYD, 1988).

Plusieurs chercheurs réussissent la micro propagation de l'olivier, en utilisant des bourgeons préformés, prélevés sur un matériel juvénile ou adulte (RUGINI, 1984; BRHADDA et al,

2003; BELKOURA et al, 2007) ou par induction de l'embryogenèse somatique et de l'organogenèse sur des calcs induits sur des embryons ou pétioles (TOUZANI et BELKOURA, 2001).

#### **IV- Bouturage sous Mist-system**

Cette méthode de multiplication mise au point aux Etats-Unis par HARTMANN à la fin des années 50, puis diffusée dans le monde entier sous le nom de (Mist- propagation) ou (nébulisation ), est la plus répandue chez les pépiniéristes industriels, pour la multiplication de l'olivier (FONTANAZZA,1997). Elle consiste à l'enracinement de bourgeons semi-ligneux pourvus d'une ou plusieurs feuilles, utilisant des techniques spécifiques (nébulisation, serre, hormone... etc.).

##### **1. Physiologie du bouturage et rhizogenèse**

D'après NEGUEROLES (1985), la rhizogenèse est basée sur deux caractéristiques fondamentales des végétaux.

**A) Polarité des bourgeons:** c'est à dire que n'importe quelle partie aérienne conserve ses deux zones bien définies, proximale et distale, indépendamment de sa zone d'origine.

**B) Totipotence des cellules végétales:** c'est la capacité qu'a une cellule végétale dans des conditions convenables de croissance, de donner lieu à une plante complète.

Ces principes physiologiques permettent d'expliquer l'apparition de racines au niveau de la base des boutures, qui naissent à partir du phloème secondaire ou proche du cambium, en passant par deux étapes

**Première étape:** formation de zones méristématiques c'est la phase de dédifférenciation.

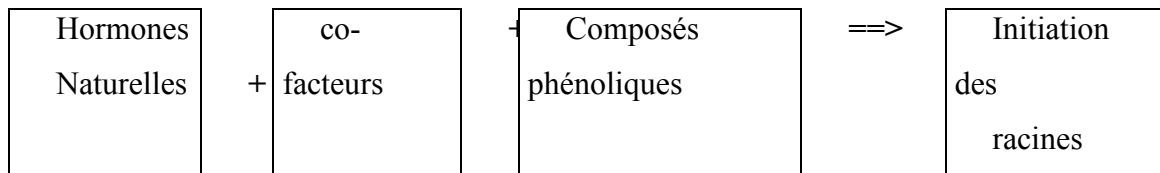
**Deuxième étape:** évolution de cellules méristématiques pour donner lieu aux racicules primordiales, c'est la phase de différenciation.

##### **2. Facteurs influençant la rhizogenèse**

La formation des racines est la conséquence d'un processus complexe dans le quel interviennent deux types de facteurs de façon entrelacée.

###### **2.1. Facteurs endogènes**

D'après NEGUEROLES (1985), il existe une théorie de l'enracinement assez généralisée qui explique, sans tenir compte des facteurs externes, comment les facteurs internes de la plante entrent en interaction, qui peut se résumer de la manière suivante:



Selon MAZILIAK (1982), l'effet physiologique des auxines se manifeste par:

- La stimulation de la division et la différenciation cellulaire, l'auxine est nécessaire pour assurer le développement et le maintien des cals à partir de tissus cambiaux.
- La différenciation d'organes.

Des concentrations élevées en auxines 0,1 à 10 ppm stimulent la production de racines activant la division du péricycle. La présence d'autres substances, thiamine, biotine, arginine et composés ortho diphénoliques dans les tissus est nécessaire pour que cette action rhizogène des auxines se manifeste.

Un apport excessif d'auxine exogène peut inhiber l'élongation et même provoquer le blocage de la croissance, en induisant la formation d'éthylène ayant des effets inhibiteurs dans la croissance rhizogène (TREFOIS, 1981).

### 2.1.1 Facteurs génétiques

L'aptitude d'une plante à s'enraciner varie non seulement d'une espèce à l'autre mais d'une variété à l'autre (TREFOIS, 1981). Selon CABALLERO (1985), chez l'olivier la diversité de l'aptitude des variétés à la rhizogenèse est très vaste. Cette diversité peut être d'origine génétique. Elle se traduit par des différences physiologiques ou anatomiques existantes au sein des boutures. Ainsi CABALLERO, (1979) observe que le cultivar Swan Hill a une plus grande activité promotrice d'enracinement que le cultivar Ascolano.

Les travaux effectués sur le bouturage semi ligneux sur la variété Chemlal montrent des taux d'enracinement faibles de l'ordre de 19% (CABALLERO, 1983). Aussi, ceux menés à l'I.T.A.F confirment ces faibles taux d'enracinement, et, les coupes histologiques réalisées par AIT HADDAD et OUEMER (1989) au niveau de la tige de la variété Chemlal soumise à l'enracinement révèlent que l'assise sclerenchymateuse est relativement continue et épaisse et les tissus formés restent indifférenciés au stade cal. Ceci laisse penser que le problème se pose au niveau de la phase de différenciation et non à la phase de dédifférenciation.

### 2.1.2 Age et Etat du pied- mère

L'âge, la vigueur, le mode de propagation et l'état de la plante mère sont des éléments qui influent sur la réponse au bouturage (TREFOIS, 1981). En effet, selon NEGUEROLES (1985), les jeunes plantes ont un niveau d'auxines internes supérieur à celui des composés phénoliques d'où un enracinement plus aisé que chez les pied-mères âgés.

### **2.1.3 Régulateur de croissance**

#### **A) Les auxines**

L'application des auxines dans le but d'améliorer l'enracinement chez l'olivier constitue la première application pratique des régulateurs de croissance (CABALLEREO, 1985).

Au début, de très faibles concentrations d'acide indole butyrique (A I B) (25-50 ppm) étaient utilisées pour le traitement des boutures d'olivier avec un temps de trempage assez long, par la suite cette modalité fut substituée par l'application de concentration plus élevée d'auxine pendant 5 seconde (HARTMANN, 1952 ; NAHLAWI et al. 1975) cité par NEGUEROLES (1985),

#### **B) L'éthylène**

L'éthylène est un composé gazeux, inhibiteur de croissance. Certaines activités des auxines se réaliseraient par l'intermédiaire de l'éthylène, ce qui explique peut être l'action favorable constaté depuis longtemps sur l'enracinement (CHAUSSAT et COURDUROUX, 1980).

Selon CABALLEREO (1985), l'utilisation de coupures sous forme d'encoches ou de fentes à la base des boutures favorise la formation d'éthylène, qui est légèrement rhizogène. Cependant, d'après les travaux de BARTOLINI et FABBRI (1982), il n'a pas été possible d'établir une corrélation entre des concentration croissantes d'éthylène chez le cultivar d'olivier Moraiolo et la capacité rhizogène.

#### **C) Composées phénoliques**

D'après MARGARA (1989), les composés phénoliques sont des inhibiteurs de croissance, leur action pourrait être directe ou indirecte par protection de l'auxine ou stimulation de la synthèse d'auxine. L'effet positif d'une application de composés phénoliques n'est d'ailleurs pas toujours prouvé et leur spécificité sur la rhizogenèse a été mise en doute.

### **2.1.4. Feuilles et bourgeons**

La feuille et le bourgeon exercent généralement une influence stimulatrice qui peut se traduire par l'obtention de meilleurs résultats au niveau du nombre de boutures enracinées (FAVRE, 1980).

L'étude effectuée par FONTANAZZA et RUGINI (1977), sur le cultivar d'olivier Dolce Agogia a confirmé le rôle nutritif des feuilles et des bourgeons au moyen d'expérience de défoliation et d'ébourgeonnage. D'après CABALLEREO (1985), la conservation des feuilles et des bourgeons est obligatoire dans la propagation de boutures herbacées, car elles influent de deux façons différentes:

- a) Par l'apport photosynthétique des feuilles qui alimentent la bouture pendant le processus d'enracinement.
- b) Par la fourniture de substances hormonales ou co-facteurs qui agissent de façon synergique avec les hormones apportées artificiellement, favorisant par conséquent l'enracinement.

D'autres travaux ont montré que l'influence des feuilles s'exprime par:

- Leur nombre: l'enracinement serait en proportion directe avec la surface foliaire totale, d'où la nécessité d'employer des boutures avec de nombreuses feuilles ayant atteint leur expansion maximale (WIESMAN et LAVÉE, 1995).
- Leur âge: les jeunes feuilles sont stimulatrices de la rhizogenèse et à la sénescence, elle peuvent parfois devenir inhibitrices, suite à leur chute (MARGARA, 1989).

JULLIARDS (1963) cité par MARGARA, (1989) a observé que lorsque les bourgeons axillaires sont trop proches de la base de la bouture, ils manifestent une action inhibitrice.

#### **2.1.5. Anatomie de la bouture**

L'influence de l'anatomie de la tige sur l'initiation racinaire est sous l'effet de la nature mécanique de l'anneau sclérenchymatique. Ainsi, les travaux de CIAMPI et GELLINI (1958) puis ceux de (1963), montrent que l'anneau sclérenchymatique représente un obstacle dans le développement de la racine qui peut être dû soit:

- A une obstruction de son extrémité, occasionnée par l'action des groupes d'éléments sclérenchymique empêchant le passage vers l'extérieur.
- Une fois que la racine en développement commence à traverser l'anneau, poursuivant une tendance naturelle de croissance radiale, la pression des éléments sclérenchymiques empêchent la croissance en épaisseur de celle-ci, lui occasionnant un étranglement dans la zone apicale.

L'enveloppe des tissus lignifiés peut agir dans certains cas comme une barrière mécanique à la sortie des racines (CABALLEREO, 1985).

Selon CABALLEREO (1985), bien que les incisions réalisées au niveau de la base de la bouture soient effectives dans plusieurs cultivars d'olivier, qu'elles aient ou non des difficultés d'enracinement, des travaux récents menés par le même auteur sur les boutures de la variété Picual et Gordal, n'ont montré aucun effet sur le nombre de boutures racinées.

### **2.1.6. Etat nutritionnel des pieds mères**

L'état nutritionnel des pieds mère est très importants. CABALLEREO (1985), a constaté que les bourgeons qui ont un niveau élevé en hydrates de carbone et en azote ont une plus grande disposition à l'enracinement. Ceci a été confirmé par l'application postérieure d'engrais foliaires à base d'azote à des boutures en brumisation qui a été bénéfique aussi bien sur leur pourcentage d'enracinement que sur leur survie postérieure à la transplantation.

WIESMAN et LAVEE (1995), affirment que l'amidon est la source majeure des hydrates de carbone, car la photosynthèse pendant la rhizogenèse est très basse et n'affecte relativement pas le contenu en hydrates de carbone pour l'initiation racinaire des boutures d'olivier.

### **2.1.7. Type de boutures**

Les fluctuations intra raméales dépendent de nombreux facteurs :

#### **2.1.7.1. Rythme de croissance et contraintes saisonnières:**

CABALLEREO (1983), recommande, les boutures apicales pour le printemps et les boutures basales et médianes pour l'automne du fait de la remonté de sève vers l'extrémité des rameaux au printemps et l'inverse qui est enregistré en automne.

Selon le même auteur, les boutures des zones de croissance actives (zone apicales) ne sont pas bonnes pour le bouturage. Cependant, lorsque la plante présente un arrêt de croissance produit par les chaleurs (Septembre), un effet inverse se produit.

#### **2.1.7.2. variété utilisée: MANSOURI et ABOUSALIM, (1992) ont montré que l'enracinement**

des boutures de la variété Picholine prélevées au printemps a été meilleur pour les boutures médianes suivis des boutures apicales et enfin les boutures basales. Par contre, CIAMPI et GELLINI (1963) ont obtenu pour la variété Frantoio, des pourcentages d'enracinement élevés, au printemps sur des boutures apicales.

### **2.1.8. Juvénilité des rameaux**

C'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 (NEGUROLES et AGRAR, 1983). Selon les mêmes auteurs les plantes juvéniles possèdent un niveau d'auxines internes supérieur, les composées phénoliques ont un effet synergique plus grand avec ces auxines, d'où la diminution de leur effet inhibiteur.



Chez les végétaux ligneux, il est fréquent que l'enracinement des boutures ne soit possible qu'à partir des jeunes plantes issues de semis (MARGARA, 1989)

### **2.1.9. Période de prélèvement**

Selon FAVRE (1980), la période de prélèvement est liée à l'état nutritionnel des tissus caulinaires, les boutures dont les formations secondaires sont à peine développées ou inexistantes, s'enracinent plus tardivement que celles qui ont déjà manifesté un début de fonctionnement cambial. C'est à partir des cambiums que naissent les racines de néoformation. LOUSSERT et BROUSSE (1978), ont montré deux périodes propices pour le bouturage herbacé:

- Entre le 15 Mars et le 15 Mai, période de réveil printanier où l'activité cambiale est la plus élevée.
- Entre le 15 Août et le 15 Novembre, période de remontée de la sève automnale.

En Tunisie des boutures prélevées en hiver, au moment où le matériel végétal est en repos ont présenté les pourcentages d'enracinement les plus élevés. Ce pouvoir tend à diminuer en se rapprochant de la pleine floraison (KHABOU et DRIRA, 2000). De même les travaux menés sur quelques variétés d'oliviers cultivés en Turquie ont montré que le pouvoir rhizogène des boutures semi-ligneuses est à son maximum pour les prélèvements automnaux (CANOZER et OZAHCI, 1994).

## **2.2. Facteurs exogènes**

Les principaux facteurs d'environnement qui ont une incidence sur le pourcentage d'enracinement sont:

### **2.2.1. Lumière**

La lumière influe sur l'enracinement des boutures par son intensité, sa nature et sa photopériode. L'ouverture des stomates, produit un effet négatif de la transpiration engendrant la perte en eau .Néanmoins, elle agit de façon positive sur la production d'hydrates de carbone (NEGUEROLES, 1985).

Des travaux menés sur la rhizogenèse de boutures semi-ligneuses de la variété Leccino cultivé en Italie par MORINI et al (1980), ont montré que la lumière jaune donne les meilleurs résultats pour l'ensemble des paramètres; taux d'enracinement, longueur des racines, nombre de racines et nombre de feuilles conservées.

### **2.2.2. Hygrométrie**

L'humidité constitue un facteur primordial pour la réussite du bouturage semi-ligneux d'où la nécessité d'assurer une humidité relative avoisinant la saturation au tour des feuilles afin d'éviter la transpiration qui entraîne le flétrissement des boutures (NEGUEROLES, 1985).

### **2.2.3. Température**

La température est un élément très important dans le processus de bouturage herbacé, elle doit être contrôlée à deux niveaux:

- Température à la base des boutures qui doit être stable, maintenue entre 20°C et 22°C et surveillée régulièrement durant toute la période d'enracinement (OUKSILI, 1983).

Selon NAHLAWI et al.,1975 in CABALLERO, (1983), le maintien d'une température nocturne du substrat avoisinant les 26°C, favorise la rapidité de l'enracinement des boutures, et améliore ses taux.

- La température ambiante doit être de 2°C à 4°C inférieure à la température du substrat pour assurer une humidité de 100% (PORRAS et al.1998). La température élevée exerce un effet négatif en augmentant la transpiration et active les bourgeons axillaires. Cependant sa diminution par l'ombrage excessif provoque la diminution de la photosynthèse (NEGUEROLES, 1985).

#### **2.2.4. Hormones de bouturage**

Les phyto - régulateurs ont un rôle important dans le processus d'enracinement.

D'après NEGUEROLES (1985), l'effet rhizogène, des auxines de synthèse (ANA, A I B et AIA) sous leur forme pure a été universellement prouvé pour presque toutes les espèces végétales, mais on a tendance à utiliser les sels potassiques et ammoniacaux de l'AIB pour les deux motifs suivants:

- Simplicité de leurs préparations solubles dans l'eau.
- Moindre toxicité pour la bouture.

Selon le même auteur, actuellement l'utilisation de ce type d'hormone se fait par immersion rapide des boutures dans des solutions concentrées d'hormones, l'emploi de l'A I B au lieu de l'A I A ou de l'A N A se justifie par son plus haut degré de stabilité en solution.

#### **2.2.5. Nébulisation**

Elle est basée sur un arrosage par aspersion contrôlée aussi bien au niveau de la fréquence qu'au niveau de sa durée par différents systèmes. De cette manière, les feuilles des boutures se maintiennent avec une humidité relative élevée et la température environnante se maintient par l'effet de "Cooling" (refroidissement) (NEGUEROLES, 1985).

#### **2.2.6. Substrat d'enracinement**

Le substrat doit non seulement fournir un ancrage à la bouture, mais doit aussi assurer une bonne aération de la bouture en favorisant le maintien en même temps de l'humidité nécessaire à leurs survies pendant la période de pré enracinement et leurs enracinements (TREFOIS ,1981).

D'après LOUSSERT et BROUSSE (1978), on a tendance à utiliser des substrats semi-perméables synthétiques inertes (perlite, vermiculite, laine de roche) qui servent de support, protègent la base de la bouture et n'empêchent pas l'apparition des primordiaux radiculaires. Ces substrats doivent de préférence être utilisés dans des fertiles pots afin d'éviter les transplantations postérieurs.

## **VI. Transformation génétique par *Agrobacterium rhizogenes***

Le genre *Agrobacterium* appartient au groupe des entérobactéries. Il est très proche du genre *Rhizobium* (PERRY *et al.*, 2004), il regroupe plusieurs espèces dont les deux plus importantes sont *Agrobacterium tumefaciens* et *Agrobacterium rhizogenes* (TOURTE, 2002). Ces bactéries ont la faculté de transférer des fragments de l'ADN dans les chromosomes de certaines cellules végétales (SCRIBAN, 1999).

### **1. *Agrobacterium rhizogenes***

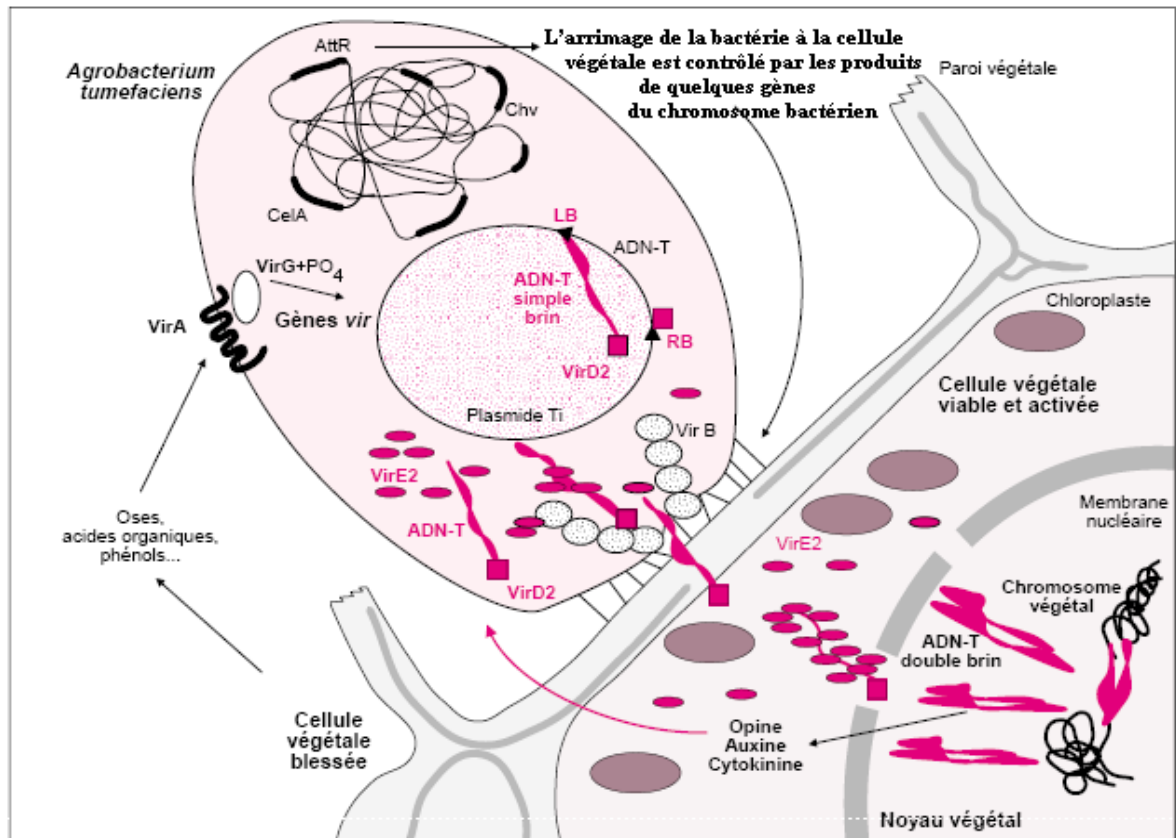
L'*Agrobacterium rhizogenes* est une bactérie gram-négatif naturelle du sol, aérobie et mobile par des flagelles (PERRY *et al.*, 2004). Elle induit une abondante prolifération des racines chez les plantes infectées (DAVET, 1996). Cet effet morphogénétique dépend de la présence dans la bactérie d'un épisode particulier appelé plasmide Ri « *root inducing* » (TEPFER, 1982) dont la partie appelée ADN-T (ADN transférée) est transférée aux cellules végétales. Il s'agit d'un fragment de quelques milliers de paires de bases, délimité à chaque extrémité par des bordures constituées de la même séquence de 25 paires de bases. Ce fragment contient en particulier des gènes de synthèse d'opines, molécules aminocarbonées qui peuvent être utilisées par les agrobactéries comme substrat nutritif, des gènes de biosynthèse de substances de croissance végétales (auxine et cytokinine), de sensibilité à ces substances et de modulation de la croissance (SCRIBAN, 1999).

### **2. Mécanisme d'infection par *Agrobacterium rhizogenes***

Le mécanisme d'infection d'*Agrobacterium rhizogenes* s'effectue en trois étapes :

1. Adhésion bactérie-plante ;
2. Activation des gènes de virulence *Vir* ;
3. Insertion de l'ADN-T dans le génome de la cellule végétale infectée.

La figure 4, résume les 3 étapes.



**Fig. 4 :** Mécanisme naturel d'infection par *Agrobacterium sp* (CHUPEAU, 2001).

## 2.1. Adhésion bactérie- plante

Selon SCRIBAN (1999), l'attaque de la paroi cellulaire du végétal par la bactérie nécessite en premier lieu, sa reconnaissance par celle-ci afin de permettre le transfert de l'ADN –T dans la cellule végétale. L'attachement est assuré par les gènes qui sont portés par le chromosome bactérien (CASSE-DELBART, 1990 ; SCRIBAN, 1999 et CASSE et BRIETLER, 2001). Les loci *chvA*, *chvB* et *exoC* sont responsables de la synthèse d'un polysaccharide, b1, 2-glucane, qui serait impliqué dans la capacité d'adhésion. Le locus *cel* serait responsable de la synthèse d'un polysaccharide de type cellulose dont le rôle serait de stabiliser l'adhésion bactérie plante une fois qu'elle a été initiée.

## 2.2. Activation des gènes *vir*

Le phénomène d'activation des gènes *Vir* est indépendant de l'adhésion de l'*Agrobacterium* sur une cellule végétale:

D'après TIKHOMIROFF (2002), la régularisation de l'activation est gérée par les gènes *virA* et *virG* contenus dans le T-DNA et certains gènes chromosomiques *chvE* et *acvF*.

Les gènes *vir* sont activés par trois types de signaux chimiques provenant de la plante blessée:

1. Les composées phénoliques de type syringone (acétosyringone)
2. Les monosaccharides
3. Le pH acide

### **2.3. Exportation, insertion de l'ADN-T dans le génome de la cellule végétale infectée, et induction de chevelus racinaires**

Des nucléases spécifiques, VirD<sub>1</sub> et VirD<sub>2</sub>, excisent l'ADN-T aux sites spécifiques des séquences bordures (left et right border). La portion de plasmide destinée à être adressée aux noyaux végétaux est excisée sous forme simple brin, puis re-synthétisée entre les sites de coupure, ce qui régénère un plasmide complet (CHUPEAU, 2001). Outre son activité de nucléase, la protéine VirD<sub>2</sub> s'attache de manière covalente sur l'extrémité 5' du simple brin de l'ADN-T; ce brin d'ADN-T est recouvert par plusieurs copies (environ 600) de la protéine VirE<sub>2</sub> ce qui permettrait la protection du l'ADN-T contre les nucléases de la cellule végétale. L'ensemble VirD<sub>2</sub>, VirE<sub>2</sub> et l'ADN-T constituent le "complexe T" (DAVET, 1996 ; SCRIBAN, 1999 ; CASSE et BRIETLER, 2001 et TZFIRA *et al.*, 2004).

L'intégration de l'ADN-T au sein du génome nucléaire se fait au hasard dans les parties qui sont régulièrement transcrites ; et plusieurs copies de l'ADN-T peuvent se retrouver dans le génome de la cellule végétale (TIKHOMIROFF, 2002 et TZFIRA *et al.*, 2004).

L'expression de l'ADN-T chez les plantes se traduit par, la formation d'un chevelu racinaire abondant au site d'infection. Ce chevelu a la faculté de synthétiser des opines qui diffèrent selon les souches bactériennes (agropine, nopaline, octopine, succinamopine, mannopine), et qui constituent un substrat nutritif que seul l'*Agrobacterium* est capable de le métaboliser (DAVET, 1996).

Quatre gènes sont responsables dans l'apparition des chevelus racinaires et de leur phénotype : les gènes *rolA*, *rolB*, *rolC* et *rolD* : L'ADN-T du plasmide Ri porte 4 *loci* responsables de la structure morphogénétique des chevelus racinaires : *rolA*, *rolB*, *rolC* et *rolD* (WHITE et al., 1985 in TIKHOMIROFF, 2001 ). L'expression de *rolA* est déterminante pour l'établissement du phénotype des chevelus racinaires (CARDARELLI et al, 1987 in FLORES et MEDINA-BOLIVAR, 1995).

L'expression de *rolB* détermine la densité du tissu des chevelus racinaires qui est plus dense que les racines normales. De même que *rolA*, *rolC* est lié au métabolisme de l'acide gibbérellique. *rolC* serait aussi responsable du transport des sucres (NILSON et OLSSON., 1997). *rolD* n'est pas essentiel pour induire le phénotype des racines transformées, mais son absence retarde l'apparition de celles ci (MEYER et al., 2000 in TIKHOMIROFF, 2001).

### **3. Induction de chevelus racinaires**

Les chevelus racinaires montrent un taux de croissance élevé en milieu de culture sans hormones de croissance comparées aux racines non transformées (KIM *et al.*, 2002 ; LANOUE *et al.*, 2004). L'optimisation du protocole d'induction des chevelus racinaires passe par la connaissance parfaite des facteurs influençant l'induction.

#### **3.1. Facteurs influençant l'induction des chevelus racinaires**

##### **3.1.1. Souches d'*Agrobacterium***

La réponse de la plante à l'infection diffère selon les souches d'*Agrobacterium* qui présentent des virulences variables d'une souche à une autre. Certaines n'induisent aucune réaction, d'autres, seulement la formation de cals et certaines la formation du chevelu racinaire (ERCAN et TASKIN, 1999 ; PARK et FACCHINI, 2000 ; GIRI *et al.*, 2001).

##### **3.1.2. Concentration bactérienne**

Selon KUMAR *et al.*, (1991) *in* TAO et LI ( 2006), elle joue un rôle important dans l'efficacité d'induction des chevelus racinaires chez les végétaux. Une faible concentration conduit à une faible disponibilité des bactéries pour la transformation des cellules de la plante. Alors qu'une forte concentration diminue l'efficacité de la transformation à cause de l'inhibition compétitive entre les bactéries. Lorsque la suspension présente une absorbance  $A_{600} > 1$ , ce ci correspond à une concentration d'environ  $10^4$  bactéries par ml (AMDOUN *et al.*, 2005).

##### **3.1.3. Acétosyringone**

Il joue un rôle important dans l'efficacité de la transformation et l'induction des chevelus racinaires (HU *et al.*, 1993 *in* GIRI et NARASU, 2000). En effet, lorsque les composés phénoliques sont présents en forte concentration, le gène Vir A s'active et stimule l'activité du gène Vir G qui déclenche l'activité des autres gènes Vir (LEE *et al.*, 1996).

##### **3.1.4. Type, âge et état physiologique du matériel végétal**

La réponse de la plante à la transformation dépend aussi du type, de l'âge et de l'état physiologique de l'explant utilisé (KARMARKAR, 2001 et AMDOUN *et al.*, 2006).

### 3.1.5. Génotype

D'après De CLEEN et DE LEY (1981) in DHAKULKAR *et al.*, (2005), le taux d'induction de chevelu racinaire est fortement influencé par le génotype à infecter. En effet avec la même souche A<sub>4</sub> des auteurs ont obtenu des taux d'induction de 13,52% pour *Holostemma ada-kodien* K (KARMARKAR, 2001), 75 % pour *Artemisia annua* (GIRI *et al.*, 2001), 85 % pour *Vitis vinifera* (MARTIN *et al.*, 2003) et 55 % pour *Torenia fornieri* (TAO et LI, 2006). AMDOUN *et al.* (2006) ont trouvé un taux d'induction de 20% pour les hypocotyles de *Datura innoxia* et 22% pour le *Datura stramonium*.

### 3.1.6. pH

Il est très important pour l'induction des chevelus racinaires. L'efficacité de la transformation des plantes par l'*Agrobacterium* est liée à l'expression de certains gènes qui codent pour différentes fonctions favorisant l'infection. La plus part de ces gènes sont mieux activés dans l'environnement acide des plantes blessées (LI *et al.*, 2002). Lorsque le pH du milieu de la bactérie diminue, l'activité transcriptionnelle des gènes *vir* augmente (MANTIS et WINANS, 1992 et LI *et al.*, 2002). Les gènes liés à la transformation codent mieux dans un environnement acide (MANTIS et WINANS, 1992 et Li *et al.*, 2002). Dans un interval d'un pH de 5,4 à 5,6, Le gène *virD*<sub>2</sub> est efficacement activé ( SATCHELI *et al.*, 1985 in TAO et LI, 2006).

### 3.1.7. Sucre

Certains monosaccharides tel que le fructose, le galactose, le glucose et le xylose activent les gènes *vir*. Ces monosaccharides sont parfois nécessaires pour transformer certaines plantes.

## 3.2. Protocoles d'induction racinaire par *Agrobacterium rhizogenes*

La transformation génétique des plantes par *A. rhizogenes* en vu de provoquer l'induction racinaire peut être réalisée selon différents types de protocoles, En général elle passe par trois étapes : culture et activation d'*A. rhizogenes*, inoculation et co-culture plante-bactérie et enfin, isolement des chevelus racinaires induits (GIRI *et al.*, 2001 ; DHAKULKAR *et al.*, 2005 et AMDOUN *et al.*, 2006).



### **3.2.1. Culture et activation de l'Agrobacterium en suspension**

Les souches d'*Agrobacterium* sont cultivées sur un milieu nutritif tel que : l'Agar nutritif (GIRI *et al.*, 2001 et DHAKULKAR *et al.*, 2005), et le milieu YEM (SANTOS *et al.*, 2005; TAO et LI, 2006) avec une incubation à  $27\pm 1^{\circ}\text{C}$  pendant 16 h à 72 h (KOVELENKO et MALIUTA, 2003 ; DHAKULKAR *et al.*, 2005., AMDOUN *et al.*, 2006 ; TAO et LI, 2006 ; GIRI *et al.* 2001).

La suractivation des gènes *vir* est obtenue en ajoutant de l'acétosyringone au milieu de suspension de la bactérie (KOVALENKO et MALIUTA, 2003) et au milieu de co-culture plante-bactérie (GIRI *et al.*, 2001; TAO et LI, 2006).

### **3.2.2. Inoculation et co-culture plante-bactérie**

Plusieurs techniques d'inoculation existent.

#### **3.2.2.1. Inoculation par piqûre d'aiguille**

VALLET (1996), a réalisé l'infection des jeunes plantes de *Datura innoxia* par piqûre à l'aide d'une aiguille après avoir prélevé par son extrémité une souche bactérienne.

#### **3.2.2.2. Inoculation par immersion**

Selon PARK et FACCHINI (2000), des plantules et des cals d'*Opium popy*, *Papaver somniferum* et *california popy* ont été blessés et immergés dans la suspension bactérienne pendant 10 à 15 min, puis séchés avec du papier filtre stérile et cultivés sur milieu B5 à l'obscurité. Après 2 jours de co-culture les explants sont transférés dans le milieu B5 contenant 20 g de saccharose et 50 mg/l de paramomycine. Après 4 à 5 semaines de culture, des racines vont émerger du site d'infection.

#### **3.2.2.3. Inoculation par dépôt**

D'après AMDOUN *et al.* (2006), des morceaux d'hypocotyles tiges sont inoculés à l'aide d'une seringue contenant la suspension bactérienne. Les explants ainsi préparés sont mis en culture sur milieu MS solide. Les explants inoculés sont ensuite transférés sur milieu contenant 500 mg de céfotaxime. La co-culture se fait à l'obscurité à  $26\pm 1^{\circ}\text{C}$ , des repiquages successifs sont nécessaires jusqu'à l'apparition des racines transformées.

### **3. 3.Utilisation de la transformation générique pour l'enracinement des plantes**

#### **3.3.1. Cas des plantes ligneuses**

Des études menés par MONTICELLI et *al* (1997) et DAMIANO et *al.* (1995) ont permis de mettre en évidence l'utilisation de l'*Agrobacterium rhizogenes* pour l'amélioration de l'enracinement d'espèces récalcitrantes. Ainsi, de nombreux chercheurs ont obtenu des résultats satisfaisants de l'enracinement par la transformation génétique d'arbres fruitiers en utilisant l'*Agrobacterium rhizogenes*.

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

#### **3.3.2. Cas de l'olivier**

RUGINI (1984) a confirmé après plusieurs essais, les faibles capacités de certaines variétés d'olivier à l'enracinement, ce qui présente un inconvénient majeur pour sa multiplication végétative

L'inoculation des boutures d'olivier par la souche A<sub>4</sub> induit la formation en abondance de chevelus racinaires (hairy root). Ce phénomène est contrôlé par le T-DNA provenant du plasmide Ri de la souche A<sub>4</sub> portant les gènes codant la synthèse des substances indispensables pour la différenciation des cellules en racines sous l'influence de la synthèse d'auxines endogènes (TEPFER, 1982; OOMS et *al.*, 1986; CASSE-DELBART, 1990; MARTINS, 2003 et TAO et LI, 2006). RUGINI et PESCE (2006) suggèrent que les techniques de transfert de gènes offrent une stratégie plus puissante pour l'amélioration génétique de l'olivier en respectant les méthodes de multiplication traditionnelles. Elles permettent l'introduction dans le génotype de cette espèce d'un ou de plusieurs gènes sans modification énergétique des caractéristiques générales de l'arbre. Les techniques de transfert ont été développées avec quelques traits agronomiques souhaitables qui sont encore en cours d'évaluation. Les mêmes auteurs, ont démontré que l'efficacité de la transformation dépend de plusieurs facteurs qui incluent: la souche bactérienne, la compétence des cellules végétales réceptrices du génome étranger, la capacité de l'*Agrobacterium rhizogenes* de transformer efficacement des cellules dans les tissus ciblés.

## **1. Objectif de l'étude**

Le présent travail vise à améliorer l'aptitude à l'enracinement de quelques variétés algériennes d'olivier dont certaines sont récalcitrantes au bouturage semi-ligneux. Pour ce faire, deux voies ont été poursuivies :

- Induction par les auxines (AIB) poudre et solution.
- Induction par transformation génétique à l'aide d' *Agrobacterium rhizogenes*.

## **2. Site expérimental.**

La partie expérimentale a été réalisée au niveau des serres de l'I.T.A.F à Tessela EL Merdja (Birtouta). Deux types de serres ont été utilisées : Une Serre de Multiplication (nébulisation) de type C.M. F et une Serre d'élevage des plants de type Fil Claire.

## **3. Matériels utilisés.**

### **3.1. Serre à nébulisation (Multiplication)**

C'est le lieu où se déroule la première étape du bouturage semi-ligneux sous Mist system, dont l'objectif est d'induire l'émission de racines en conditions contrôlées.

#### **3.1.1. Description de la serre à nébulisation**

Elle est, d'une surface de 250 m<sup>2</sup>, équipée essentiellement de:

- Couverture 100 % verre horticole.
- Cooling system avec entrée d'air par panneau et extracteurs d'air (ventilateur).
- Quatre tables semi-roulantes en aluminium, de dimension 6X 1,8 m avec une hauteur des bordures de 20 cm
  - Chaque table est équipée d'une électrovanne reliée à un thermostat pour la gestion indépendante des autres tables.
  - Le système de drainage est assuré par deux orifices situés au fond des deux extrémités des tables.
  - Le système de chauffage est assuré par aérothermie produite par chauffage au gaz naturel situé à une certaine hauteur des tables afin d'éviter de brûler les boutures sur tables.
  - Le système de nébulisation est assuré par 2 rampes de gicleurs qui pulvérisent de fines gouttelettes d'eau.

### **3.1.2 Conditions ambiantes de la serre**

- **Température ambiante**

Elle est maintenue entre 20 et 25 °C le jour et 15 et 18 °C la nuit

- **Température du substrat**

Elle est maintenue constante durant toute la durée de la rhizogenèse à 22°C.

- **Hygrométrie**

L'humidité de l'air au voisinage immédiat des feuilles est maintenue tout au long de la culture à environ 70% à l'aide du système de nébulisation de type Mist-system.

Le programmeur de la durée d'arrosage, se déclenche pendant 6 secondes toutes les 15 minutes.

### **3.1.3. Substrat d'enracinement**

Le substrat utilisé est la perlite, c'est un silicate d'alumine d'origine volcanique, chauffé pendant une minute à 100 °C (LOUSSERT et BROUSSE (1978), elle présente les avantages suivants:

- Densité et fermeté adéquate.
- Volume d'humidité pratiquement constant
- Capacité de rétention en eau suffisante.
- Porosité élevée.
- Capacité de drainage élevée.
- Absence d'organismes nocifs.

### **3.2. Matériel végétal**

Huit variétés Algériennes d'olivier ont été utilisées dans le cadre de ce travail. Il s'agit de Ferkani, Sigoise, Chemlal, Zeltani, Bouichert, Akerma, Boukaila et Aberkane. Le matériel végétal utilisé est constitué de boutures semi-ligneuses des 8 variétés prélevées sur des pieds-mères âgés d'environ 50 ans après les avoir rajeuni par une taille sévère permettant une production abondante de bois. Les sujets en question appartiennent à la station de l' I.T.A.F. de Sidi-Aich. Les principales caractéristiques des 8 variétés sont résumées dans le tableau 7.

Tableau 7 : Principales caractéristiques des variétés utilisées (YVON ., 2006).

Variétés	Région	Importance	Utilisation	Taux d'enracinement	Rendement en huile	Autres
Chemlal	Kabylie.	Plus de 40% du verger oléicole Algérien	Huile	Faible, Max 19%	18 à 22%	-Rustique, Tardive -Autostérile -Productivité élevé, Peu alternante -Sensibilité à la tuberculose et la teigne.
Sigoise	Pleines de Sig (Mascara)	25% du verger oléicole Algérien	Double aptitude (huile et olive de table)	56%, Moyen	18 à 22%	- Saison -tolérante aux eaux salées -Productivité moyenne et alternante
Ferkani	Ferkane	Limitée au Aurès	Huile	52,30 %, Moyen	28 à 32%	-Précoce résistante au froid et sécheresse - bonne productivité et alternante
Zeltani	Cherchar	Restreinte	Huile	Très Faible	14 à 18%	-Saison résistante au froid et sécheresse -Productivité moyenne et alternante
Bouichert	Tazmalt	Locale	Huile	Faible	20 à 24%	-Tardive et rustique -Productivité moyenne et alternante
Akerma	Hamam Guergour	Restreinte	Double aptitude huile et olive de table)	Faible	18 à 22%	-Rustique de saison -Productivité faible et alternante
Aberkane	Akbou	Restreinte	Double aptitude (Huile et olive de table)	Faible	16 à 20%	-Rustique de saison -Productivité faible et alternante
Boukaila	Constantine	Restreinte	Huile	Faible	16 à 20%	-Précoce résistante au froid et sécheresse -Productivité élevé et alternante

### 3.3. Hormone de bouturage

L'acide indole butyrique (A.I.B) est l'hormone de bouturage la plus généralement utilisée car stable et présentant une faible toxicité. L'A.I.B est appliquée sur l'extrémité proximale des boutures sous deux formes, en solution et en poudre.

#### 3.3.1. Traitement en solution

Les différentes concentrations hormonales utilisées ont été préparées à partir d'une solution mère hormonale à 50.000 ppm, obtenue en diluant 5g d'AIB dans quelques gouttes de NAOH pur ajusté avec de l'éthanol (96%) jusqu'à 100 ml. Pour avoir la solution finale, il suffit de prélever les valeurs correspondantes aux concentrations finales (tableau 8).

**Tableau 8:** Les différentes concentrations hormonales utilisées

Concentration d'AIB (ppm)	2500	3000	3500
Solution mère (ml) Ethanol (96%)	5	6	7
Eau distillée (ml)	95	94	93

#### 3.3.2. Traitement en poudre

L'AIB a été additionnée au talk pour les mêmes concentrations que pour le traitement en solution. Les concentrations appliquées sont résumées dans le tableau n° 9.

**Tableau 9 :** Les différentes concentrations hormonales utilisées avec talk

Concentration d'AIB (ppm)	2500	3000	3500
AIB pure (mg)	2,5	3	3,5
Talk bébé (mg)	997,5	997	996,5

### 3.4. Souches bactériennes

Deux souches d'*Agrobacterium. rhizogenes* ont été utilisées dans cette étude A<sub>4</sub> et K<sub>47</sub>

- La souche A<sub>4</sub> est originaire de la Californie (Etat-Unis), elle a été isolée par DUBRIN (BOUZAR, 1983), elle se distingue par la structure de l'information génétique portée par l'ADN-T. C'est une souche à agropine (LAMBERT *et al.*, 1988). Son ADN-T est constitué de 2 segments, le T<sub>R</sub>-DNA (right-DNA) qui porte les gènes de synthèse d'auxines (GIRI et NARASU, 2000 ; TAO et LI, 2006) ; et le T<sub>L</sub>-DNA, qui porte les

gènes *rolA*, *rolB*, *rolC* et *rolD* qui dirigent la synthèse d'une substance qui programme les cellules pour se différencier en racines sous l'influence d'auxines endogènes (TAO et LI, 2006). Ces deux fragments peuvent être transférés aux cellules hôtes individuellement ou ensemble, avec un nombre variable de copies (MARTIN, 2003).

- par contre la souche K<sub>47</sub> est originaire de l'Australie, elle a été isolée par KERR (BOUZAR, 1983).

### 3.4.1. Préparation des suspensions bactériennes

Les souches bactériennes sont conservées séparément à l'obscurité dans le milieu YEM (tableau 10), à une température de 4°C.

**Tableau 10** : Composition chimique du milieu de culture YEM (VINCENT, 1970).

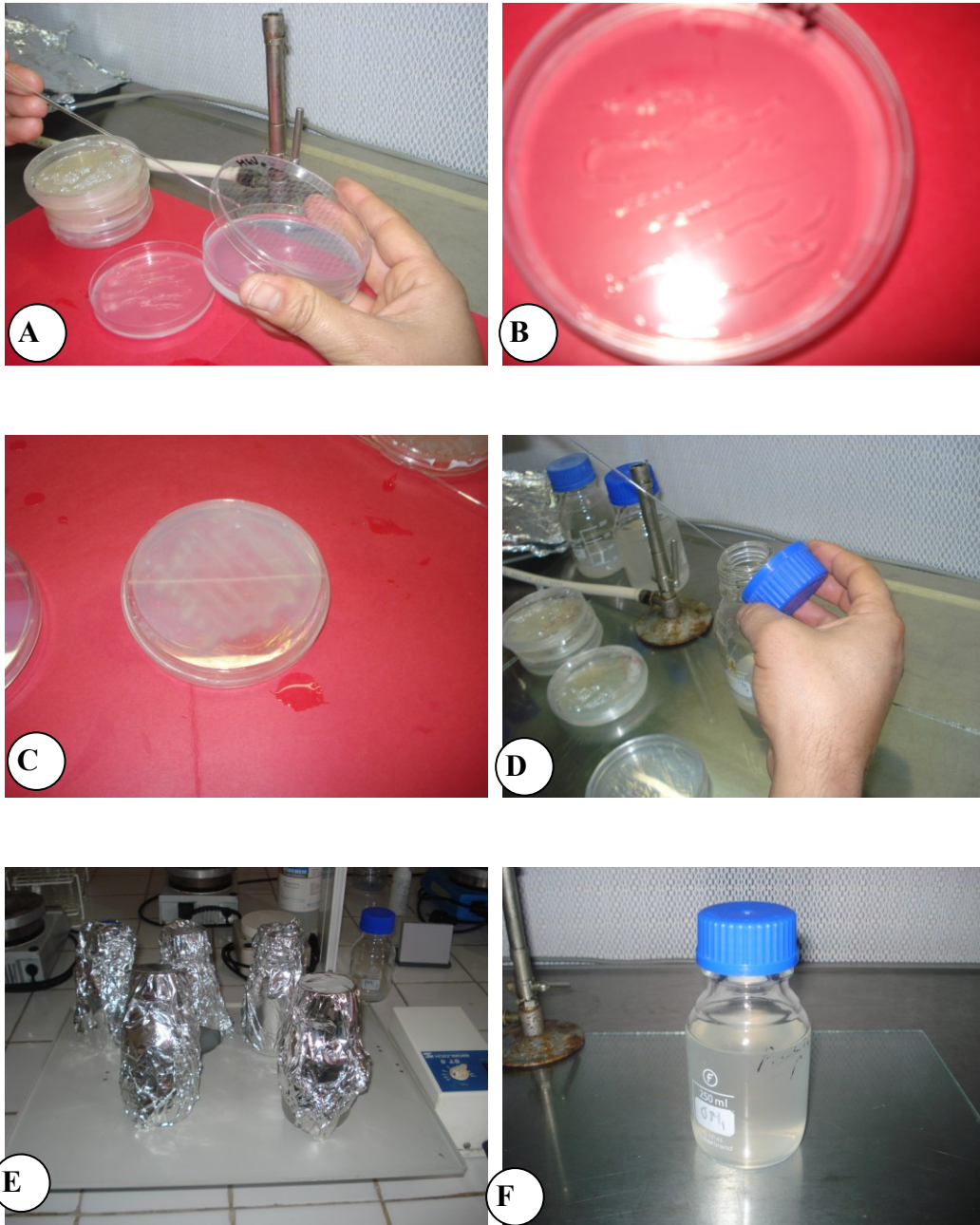
Formule chimique	Concentration (mg/l)
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	500
MgSO <sub>4</sub> , 7(H <sub>2</sub> O)	200
NaCl	100
Extrait de levure	400
Mannitol	10.000
pH	ajusté à 7

### 3.4.2. Activation de la bactérie (1<sup>ier</sup> étape)

L'activation consiste à ensemencer les bactéries sur le milieu YEM préalablement préparé suivi d'une incubation à l'obscurité à une température de 26±1°C pendant 72 h (Planche1: AB et C).

### 3.4.3. Mise en suspension de la bactérie (2<sup>ieme</sup> étape)

Les souches bactériennes préalablement activées avec deux concentrations d'Acétosyringone (10 µM et 20 µM) sont ensemencées dans le milieu de culture YEM liquide. L'incubation des bactéries en suspension est faite en incubateur agitateur à l'obscurité à 26±1°C pendant 48 h avant l'infection dirigée sur les boutures. Le témoin consiste à ensemencer les bactéries directement sur le milieu YEM sans les réactiver (Planche1: D, E et F).



**Planche 1:** Activation des souches A<sub>4</sub> et K<sub>47</sub>

**Etape 1:** Mise en culture (Activation)

**A et B:** Tansfert des souches A<sub>4</sub> et K<sub>47</sub> sur milieu d'activation YEM solide.

**C:** Développement sur milieu YEM solide après 72 h d'incubation.

**Etape 2:** Remise en suspension.

**D:** Opération de remise en suspension.

**E:** Incubation sous agitation.

**F:** Suspension bactérienne prête à l'emploi.



## **4. Induction de l'enracinement**

### **4.1. Essai préliminaire**

L'essai préliminaire a porté uniquement sur la variété Chemlal reconnue récalcitrante au bouturage. Les pied-mères ont été préalablement traités avec du bénomyl (10g/l) 15 jours avant le prélèvement des boutures semi-ligneuses. Ces dernières sont classées en trois catégories selon leur position sur le rameau : boutures apicales, médianes et basales. Au moment du prélèvement, chaque bouture est constituée d'une portion d'entre noeuds et porte au moins deux paires de feuilles. La longueur moyenne des boutures est de 15 cm, et d'un diamètre moyen de 0,4 cm.

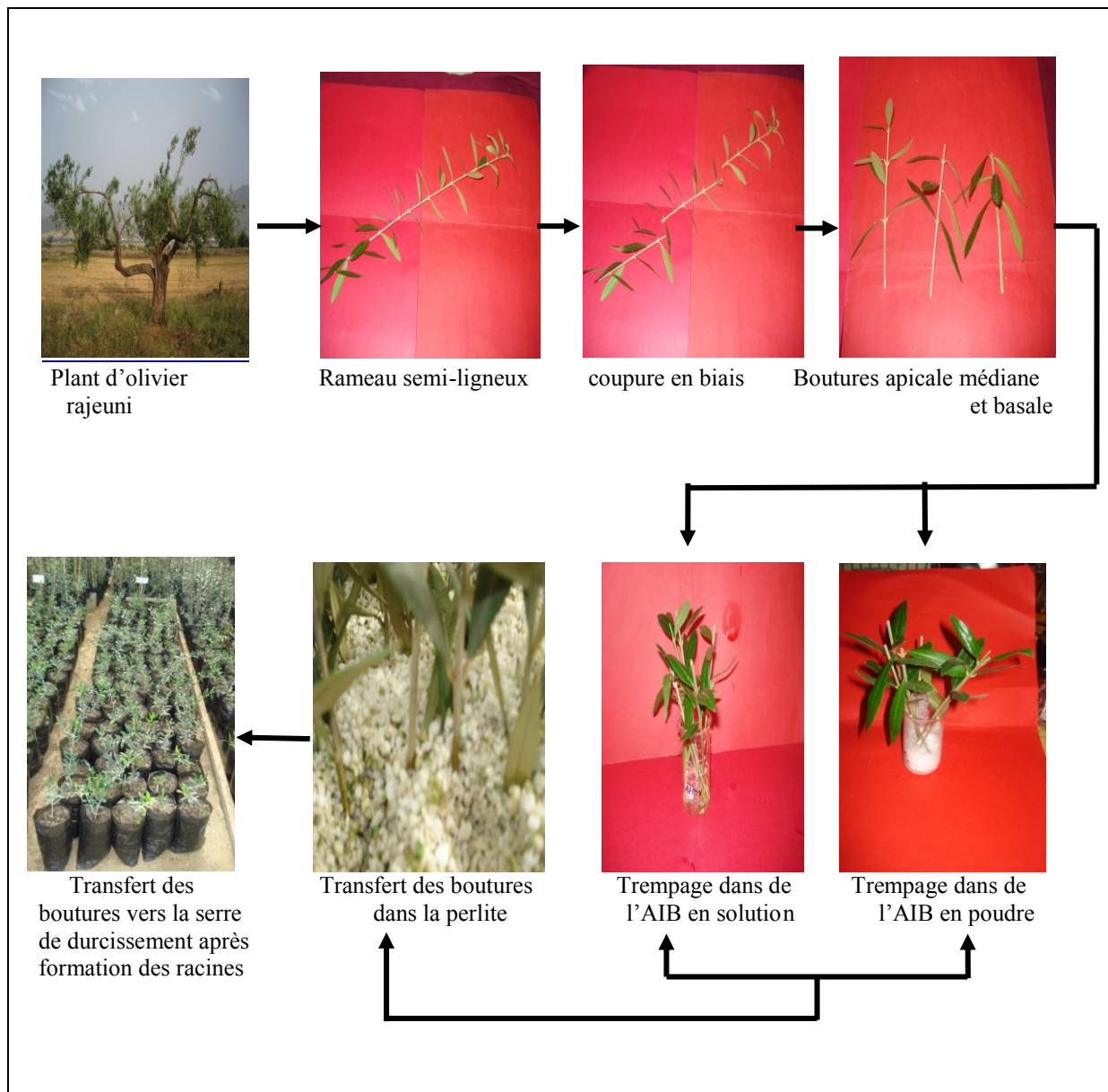
Les boutures ainsi traitées sont placées en serre de nébulisation sur des tablettes à enracinement. L'extrémité de chaque bouture est enfoncée sur une profondeur de 5 cm dans de la perlite constituant le substrat d'enracinement. Afin que les boutures adhèrent au substrat, celui-ci est légèrement tassé. Après 3 mois de séjour dans ces conditions, les boutures sont déterrées pour l'évaluation du système racinaire puis transplantées dans un substrat composé de 1/3 de terreau 1/3 de sable de rivière fin et 1/3 de marc de raisin

#### **4.1.1. Induction de l'enracinement par traitement hormonal**

Un premier essai a été réalisé en Novembre 2006 portant sur la culture de boutures semi ligneuses de la variété Chemlal, préalablement traitées avec l'hormone rhizogène (AIB) appliquée sous deux formes; solution et poudre et à des concentrations différentes de 2500, 3000 et 3500 ppm.

L'objectif de cet essai était de savoir comment les boutures, de cette variété, prélevées à des niveaux différents du rameau (apical, médiane et basale), traitées avec l'hormone rhizogène (AIB) allaient réagir.

La base de chaque lot de boutures de la variété Chemlal est trempée sur une hauteur de 2 cm, pendant 10 secondes dans l'une des différentes concentrations hormonales (poudre ou solution) préparées (Planche 2). Les boutures ainsi traitées à l'AIB sont aussitôt placées en serre de nébulisation



**Planche 2:** Opération de prélèvement des boutures de la variété Chemlal et leur mise en culture après traitement à l'AIB en poudre ou en solution.

Un dispositif en Randomisation totale a été adopté. Ce dispositif (Tableau11) est constitué de 42 répétitions par traitement.

- Deux témoins sous deux formes.
  - forme poudre (P0): boutures trempées dans du talk sans hormone.
  - forme solution (C0): boutures trempées dans de l'eau distillée sans hormone.
- Trois concentrations d'hormones (2500 ppm, 3000 ppm, 3500 ppm) sous deux formes :
  - forme poudre (P1, P2, P3)
  - forme solution hormonale (C1, C2, C3).

- Trois type de boutures (apicale « A » médiane« M» basale« B »), ont été utilisées :  
Au total, ce dispositif compte 24 traitements

Il s'agit donc d'une expérience à deux niveaux (forme de l'hormone x concentration de l'hormone, position de la bouture sur le rameau). Le nombre de répétition par traitement est de 42 boutures.

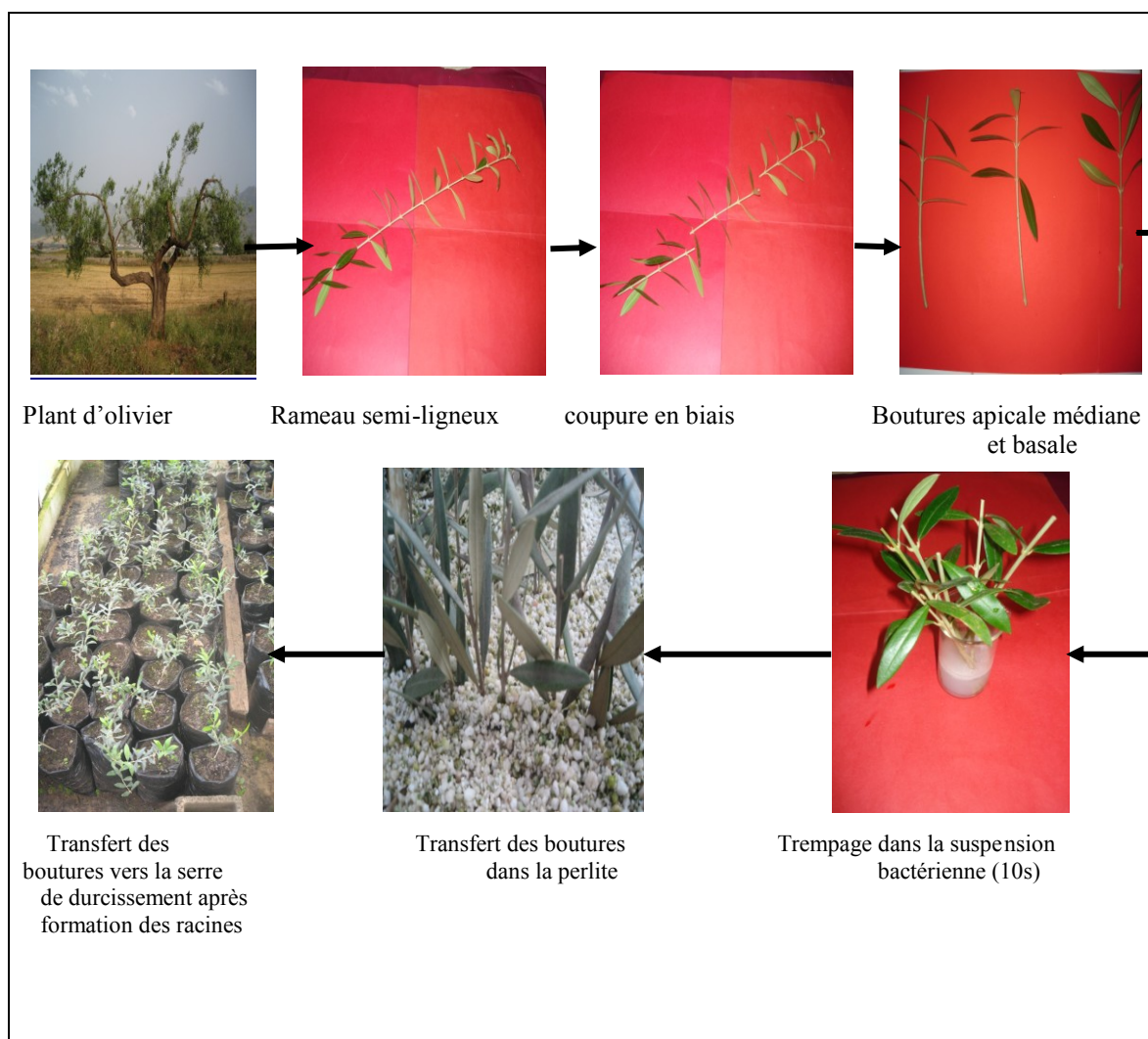
**Tableau 11** : Dispositif expérimental de l'induction de l'enracinement par traitement hormonal.

Forme d'hormone	Concentration d'hormone	Type de bouture	Code du traitement
Poudre	P0	A	HP0A
		M	HP0M
		B	HP0B
	P1	A	HP1A
		B	HP1M
		M	HP1B
	P2	A	HP2A
		M	HP2M
		B	HP2B
	P3	A	HP3A
		M	HP3M
		B	HP3B
Solution	C0	A	HC0A
		M	HC0M
		B	HC0B
	C1	A	HC1A
		M	HC1M
		B	HC1B
	C2	A	HC2/A
		M	HC2M
		B	HC2B
	C3	A	HC3A
		M	HC3M
		B	HC3B

#### 4.1.2. Induction de l'enracinement par transformation génétique.

L'objectif de cet essai était de savoir comment réagissent les boutures, de cette variété, prélevées à des niveaux différents du rameau (apical, médiane et Basale), et inoculées par deux souches d'*Agrobacterium rhizogenes* A<sub>4</sub> et K<sub>47</sub> réactivées préalablement par différentes concentrations d'acétosyringone 0 µM ,10 µM et 20 µM.

Avant d'être utilisées, les bases des boutures sont trempées pendant (10s) dans les solutions bactériennes contenant l'une des deux souches d'*Agrobacterium rhizogenes* préalablement réactivées ou non avec l'une des deux concentrations d'acétosyringone (Planche 3).



**Planche 3:** Opération de prélèvement des boutures de la variété Chemlal et leur mise en culture après traitement à la solution bactérienne (A<sub>4</sub> et K<sub>47</sub>).

Un dispositif de type Randomisation est adopté, ce dispositif comprend 42 répétitions. La variété retenue pour ce premier essai est la variété Chemlal. Le Dispositif (Tableau12) comprend donc :

- Un témoin, traitement avec une solution de milieu YEM sans bactérie (S0).
- Deux souches bactériennes S1= A<sub>4</sub>, S2 = K<sub>47</sub>.
- Deux concentrations d'Acétoxyringone (V0« 0 µM » V1« 10 µM» etV2 « 20 µM »).
- Trois types de boutures (apicale «A » médiane« M» basale«B »).

Au total 21 traitements ont été appliqués (Tableau 12). Il s'agit donc d'une expérience à deux niveaux d'une part (souche x concentration de l'acétoxyringone) et d'autre part (position de la bouture sur le rameau).

**Tableau 12 :** Dispositif expérimental pour l'induction de l'enracinement par transformation génétique.

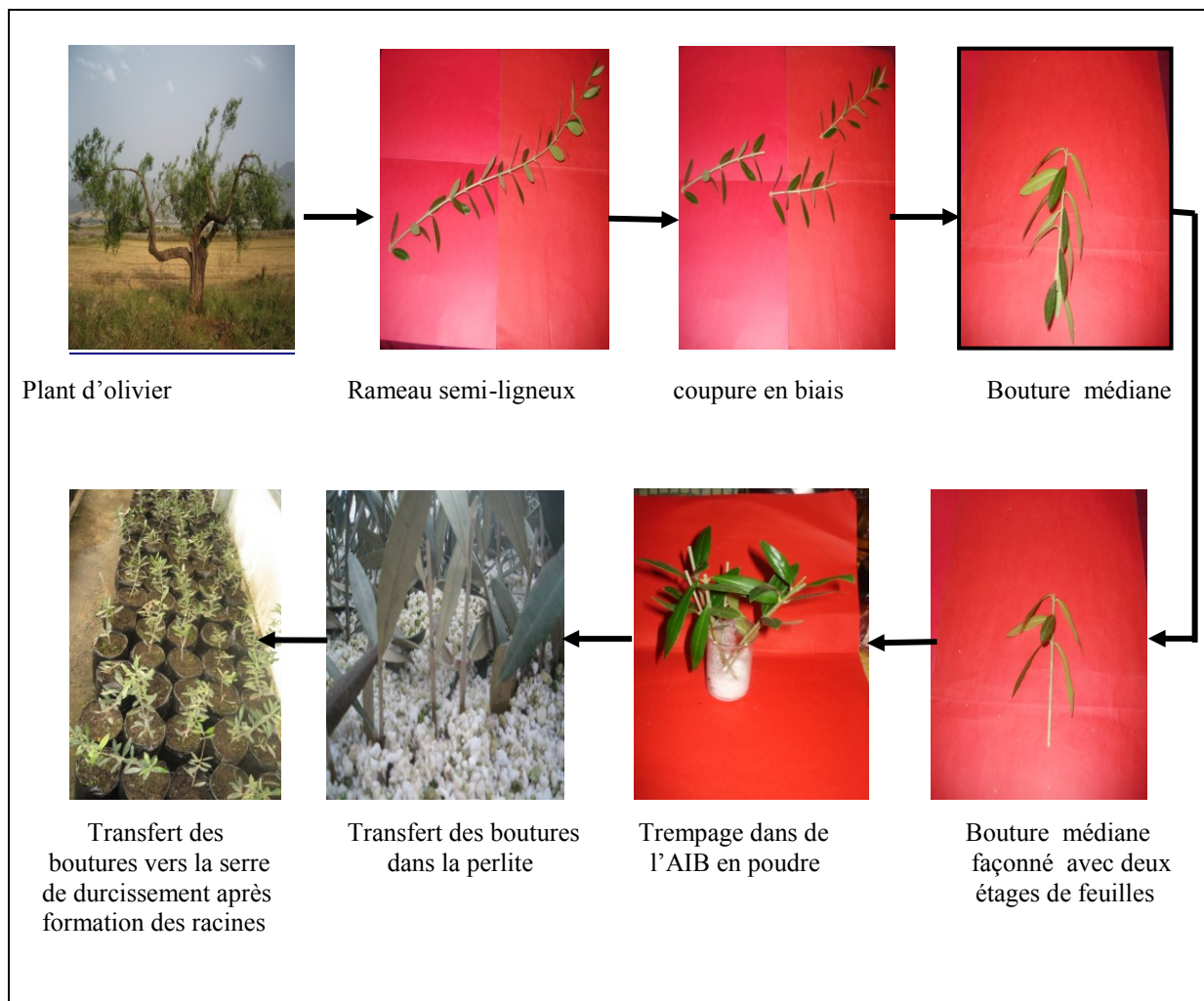
Souches d' <i>A. rhizogenes</i>	Acétylsyringone ( $\mu\text{M}$ )	Type de bouture	code du traitement
Sans	0	A	S0A
		M	S0M
		B	S0B
A <sub>4</sub>	0	A	S1V0A
		M	S1V0M
		B	S1V0B
	10	A	S1V1A
		M	S1V1M
		B	S1V1B
	20	A	S1V2A
		M	S1V2M
		B	S1V2/B
K <sub>47</sub>	0	A	S2V0/A
		M	S2V0/M
		B	S2V0/B
	10	A	S2V1/A
		M	S2V1/M
		B	S2V1/B
	20	A	S2V2/A
		M	S2V2/M
		B	S2V2/B

## 4.2. Extension de l'essai à d'autres variétés.

### 4.2.1. Induction de l'enracinement par traitement hormonal

Suite à l'essai préliminaire des boutures de la variété Chemlal, une extension de cet essai a été effectuée le mois d'Avril 2007 à sept autres variétés: Sigoise (Sig), Zeltni (Zel), Bouichret (Boc), Akerma (Ake), Boukaila (Bok), Aberkane (Abe) et Ferkani (Fer) tout en gardant la Chemlal (Che).

Dans cette extension, ce sont uniquement les boutures médianes qui sont utilisées, elles sont prélevées selon le même procédé que celui appliqué aux boutures de la variété Chemlal (Essai préliminaire). Par ailleurs une seule concentration de 3000 ppm d'AIB en poudre qui est utilisée (Planche 4).



**Planche 4:** Opération de prélèvement des boutures médianes et leur mise en culture après traitement à l'AIB en poudre (3000 ppm).

Un dispositif en Randomisation totale (Tableau13) a été adopté. Ce dispositif comprendra :

- Un témoin : trempage des boutures dans du talk sans hormone (P0).
- Un traitement (P2) par trempage des boutures dans du talk contenant de l'AIB à 3.000 ppm.
- Un seul type de boutures (médiane« M»). à raison de 60 boutures par variété
- Huit variétés d'olivier sont étudiées Chemlal (Che), Sigoise (Sig), Zeltani (Zel), Bouichert (Boc), Akerma (Ake), Boukaila (Bou), Aberkane (Abe) et Ferkani (Fek). Parmi les huit variétés, deux sont utilisées comme témoins puisqu'elles ne présentent pas de difficulté à l'enracinement. Il s'agit de la Sigoise et la Ferkani.
- 16 traitements au total ont été utilisés :

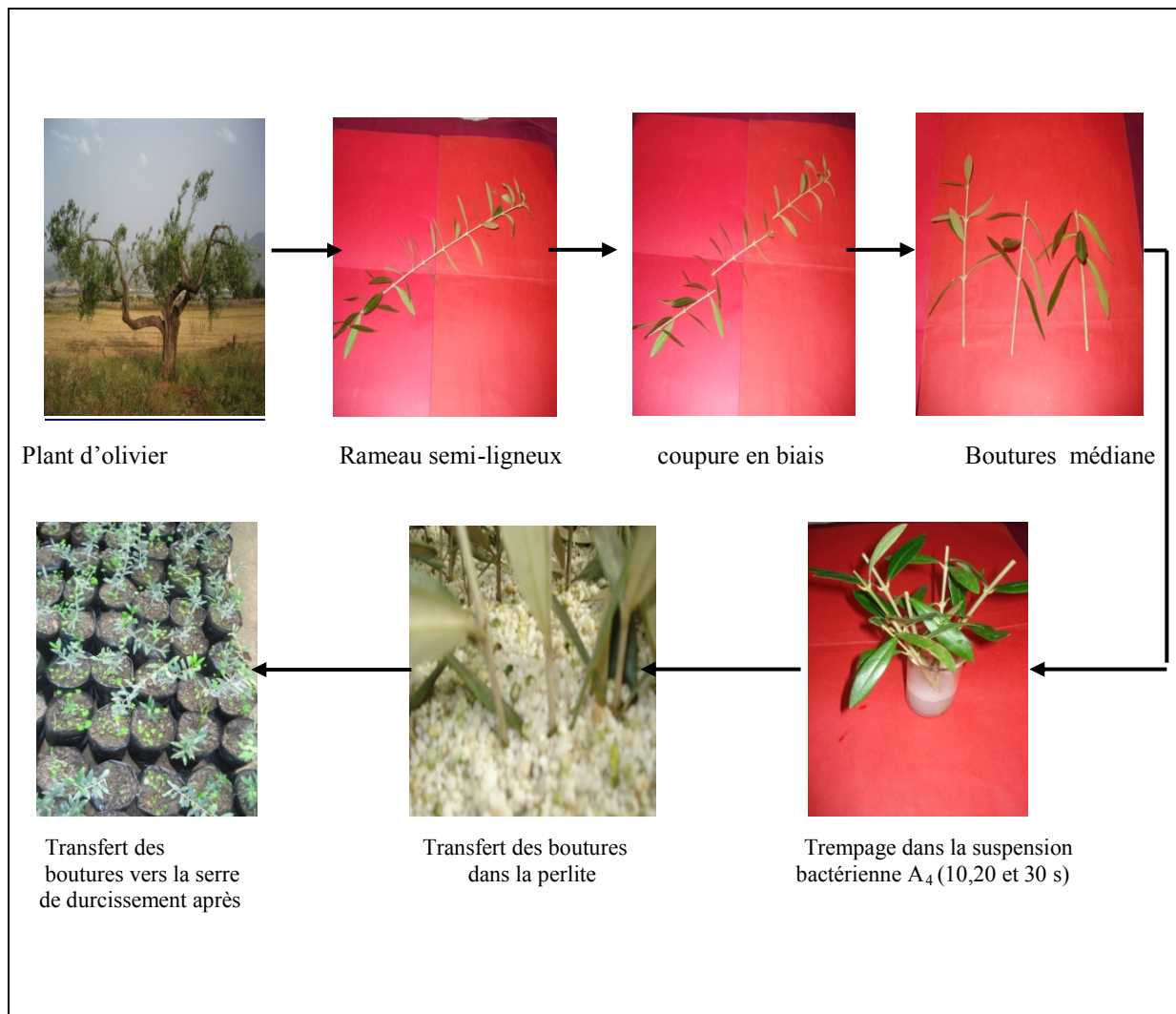
**Tableau 13:** Dispositif expérimental du traitement hormonal.

Forme d'hormone	Variétés	Code du traitement
P0	Che	P0/ Che
	Sig	P0/ Sig
	Zel	P0/ Zel
	Boc	P0/ Boc
	Ake	P0/ Ake
	Bou	P0/ Bou
	Abe	P0/ Abe
	Fek	P0/ Fek
P2	Che	P1/ Che
	Sig	P1/ Sig
	Zel	P1/ Zel
	Boc	P1/ Boc
	Ake	P1/ Ake
	Bou	P1/ Bou
	Abe	P1/ Abe
	Fek	P1/ Fek

#### **4.2.2. Induction de l'enracinement par transformation génétique.**

Suite à l'essai préliminaire des boutures semi-ligneuses de la variété Chemlal, une extension de cet essai a été effectuée le mois d'Avril 2007 à Cinq autres variétés: Zeltni (Zel), Bouichret (Boc), Akerma (Ake), Boukaila (Bok), et Aberkane (Abe) tout en gardant la Chemlal(Che).

Seulement les boutures d'origine médianes sont utilisées selon le même procédé que celui appliqué aux boutures de la variété Chemlal (Essai préliminaire) en association ou non avec la souche A<sub>4</sub> réactivée préalablement par une concentration d'acetosyringone 10 µM. Différents temps de trempage dans la suspension *Agrobacterium rhizogenes* ont été étudiés (10, 20 et 30 secondes) (Planche 5).



**Planche 5:** Opération de prélèvement des boutures médianes et leur mise en culture après traitement

à la solution bactérienne A<sub>4</sub> (10,20 et 30 s)

Un dispositif en Randomisation totale est adopté (Tableau 14), ce dispositif comprend :

- Une souche bactérienne (S1=A4) (meilleurs résultats partie préliminaire).
- Suractivation par l'Acétylsyringone à la concentration de 10 µM. (meilleurs résultats partie préliminaire).
- Un seul type de boutures (médiane M) à raison de 60 boutures par variété
- Les variétés utilisées sont Chemlal (Che), Zeltni (Zel), Bouichert (Boc), Akerma(Ake), Boukaila(Bok), et Aberkane(Abe) .
- Durée de trempage dans la solution bactérienne (temps de trempage=Tt)  
Tt1= 10 s. Tt2= 20 s, Tt3 = 30 s. Au total 24 traitements sont appliqués



**Tableau 14:** Dispositif expérimental utilisant la souche bactérienne A<sub>4</sub>.

Souches d' <i>A. rhizogenes</i>	Temps de trempage (s)	Variétés (V)	Code du traitement
Témoin Sans inoculation par A <sub>4</sub> (eau dessillée)	Tp10	Che	Che
		Zel	Zel
		Boc	Boc
		Ake	Ake
		Bou	Bou
		Abe	Abe
A <sub>4</sub>	Tp10	Che	Tp1Che
		Zel	Tp1 Zel
		Boc	Tp1 Boc
		Ake	Tp1Ake
		Bou	Tp1 Bou
		Abe	Tp1 Abe
	Tp20	Che	Tp2Che
		Zel	Tp2 Zel
		Boc	Tp2 Boc
		Ake	Tp2 Ake
		Bou	Tp2 Bou
		Abe	Tp2 Abe
	Tp30	Che	Tp3Che
		Zel	Tp3 Zel
		Boc	Tp3 Boc
		Ake	Tp3 Ake
		Bou	Tp3 Bou
		Abe	Tp3 Abe

#### 4.3. Paramètres observés lors de la phase d'enracinement

L'évolution de la réponse du végétal aux traitements est réalisée après 90 jours du traitement inducteur de l'enracinement en mesurant les paramètres suivants :

- Pourcentage de boutures avec cals.
- Pourcentage de boutures enracinées.
- Nombre moyen de racines par bouture.
- Longueur moyenne des racines principales.
- Nombre de ramifications racinaires par racine principale.

#### 5. Acclimatation et suivi des boutures enracinées.

Les boutures enracinées sont transplantées dans un substrat composé de 1/3 de terreau 1/3 de sable de rivière fin et 1/3 de marc de raisin. A l'issue de cette première opération elles sont transférées en serre de durcissement pour subir la phase d'acclimatation. La température est réglée à 25 °C et l'humidité à 70 %. Durant la phase d'acclimatation, les mêmes dispositifs

ont été repris pour le suivi des traitements ayant donné un enracinement en phase d'induction. Les traitements n'ayant pas donné de rhizogenèse sont éliminés. L'acclimatation a porté sur les boutures des essais préliminaires, aussi bien pour le traitement hormonal que pour l'induction par les souches A<sub>4</sub> et K<sub>47</sub>.

Par ailleurs, les boutures enracinées par transformation génétique ayant survécus après un mois d'acclimatation ont été soumises à un antibiotique (Céfotaxime) pendant 48 h de trempage à une concentration de 500 mg/l. afin d'éliminer toute trace de bactéries susceptibles d'influencer les paramètres de croissance. Les paramètres mesurés lors de l'acclimatation sont :

- Taux de reprise après un mois d'acclimatation
- Biométrie de la partie aérienne
  - Longueur moyenne de la pousse principale
  - Diamètre moyen de la pousse principale
  - Nombre moyen de feuilles par plant d'olivier.
  - Poids frais de la partie aérienne.
  - Poids sec de la partie aérienne
- Biométrie de la partie racinaire.
  - Longueur moyenne de la racine principale.
  - Nombre moyen de racine par plant.
  - Diamètre moyen de la racine principale.
  - Poids frais de la partie racinaire.
  - Poids sec de la partie racinaire

## **6. Analyse statistique**

Les résultats obtenus lors de cette étude sont traités statistiquement. L'ANOVA à 2 critères de classification a été appliquée pour la recherche d'effet significatif. Si de tels effets, sont mis en évidence par l'ANOVA, l'étude est complétée par la classification des moyennes en groupes homogènes à l'aide du test de la PPDS.

## I- Induction de l'enracinement

### 1. Essai préliminaire

#### 1.1. Induction de l'enracinement par traitement hormonal.

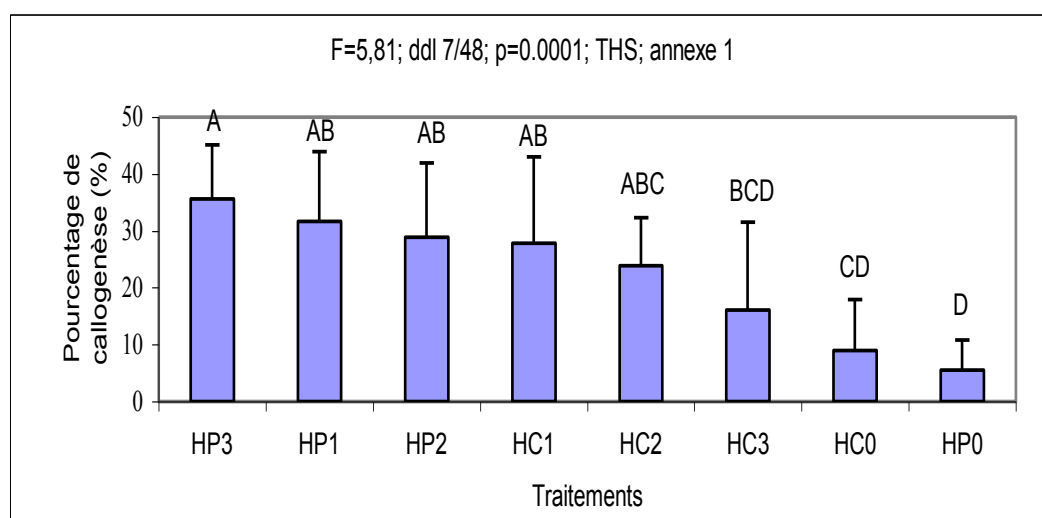
Un premier essai a été réalisé en Novembre 2006 portant sur la culture de boutures (apical, médiane et basale), semi ligneuses de la variété Chemlal, préalablement traitées avec l'hormone rhizogène (AIB) appliquée sous deux formes; solution et poudre et à des concentrations de 2500, 3000 et 3500 ppm.

Après 3 mois de culture sous Mist-system en serre de nébulisation, l'évaluation de la qualité de l'enracinement a porté sur les paramètres suivants.

##### 1.1.1. Pourcentage de boutures avec cal

D'une manière générale, l'ensemble des traitements, y compris le témoin, a montré une callogénèse à la base des boutures. L'intensité de celle-ci varie d'un traitement à l'autre. L'analyse de la variance n'a révélé aucun effet d'interaction entre le traitement hormonal et l'origine de la bouture sur le rameau sur ce paramètre ( $p=0.22510$ ; annexe 1). Néanmoins, l'ANOVA ayant porté sur les deux facteurs séparément, révèle pour le F1 (dose et forme de l'AIB), ( $p=0.0001$ ; annexe 1) un effet très hautement significatif. Le test de Newman-Keuls classe les traitements en quatre groupes homogènes. Ainsi, la dose de 3500 ppm en poudre classée dans le groupe A donne le pourcentage le plus élevé de boutures avec cals (35,56%), (Fig 5). Le témoin montre le plus faible taux de callogénèse.

Pour le F2 (origine de la bouture sur le rameau), ( $p=0.8302$  annexe 1) aucun effet n'a été observé. Ainsi, les boutures de différentes origines réagissent de la même manière.



**Fig. 5 :** Variation du pourcentage de boutures avec cal en fonction de la concentration d'AIB et du mode de traitement

### 1.1.2. Pourcentage de boutures enracinées

Les résultats montrent que les boutures n'ayant subi aucun traitement (témoin) ne présentent aucun enracinement, et ce, quelle que soit leur origine sur le rameau. Cependant, les boutures soumises au traitement à l'AIB présentent des pourcentages d'enracinement variables selon la concentration de l'hormone, le mode de traitement ainsi que l'origine de la bouture sur le rameau initial (Planche 6 : A, B, C et D).

L'analyse de la variance ne révèle pas d'effet interaction significatif ( $p=0.0670$  ; annexe 2). L'étude des deux facteurs séparément nous a révélé un effet hautement significatif, pour les paramètres étudiés F1 (dose et forme de l'AIB) ;  $p=0.0000$ ; annexe 2), et F2 (origine de la bouture sur le rameau) ;  $p=0.0000$ ; annexe 2).

Concernant le facteur F1 (fig 6), le test de Newman-Keuls classe les traitements en quatre groupes homogènes. Ainsi, la dose de 3000 ppm en poudre donne le pourcentage le plus élevé de boutures enracinées (21,11%), suivi de la dose 2500 ppm en solution avec 14,44%. Ces deux traitements sont classés respectivement dans le groupe A et AB.

Pour le facteur F2 (Fig 7), après comparaison des moyennes par le test de Newman-Keuls deux groupes homogènes ont été constatés. Ainsi, les boutures basales et médianes donnent les pourcentage les plus élevés 11,46% et 9,79 % de boutures enracinées groupe (A). Par contre le groupe (B) s'individualise avec un seul type de boutures (Apicales) dont la moyenne est la plus faible (4,79%).

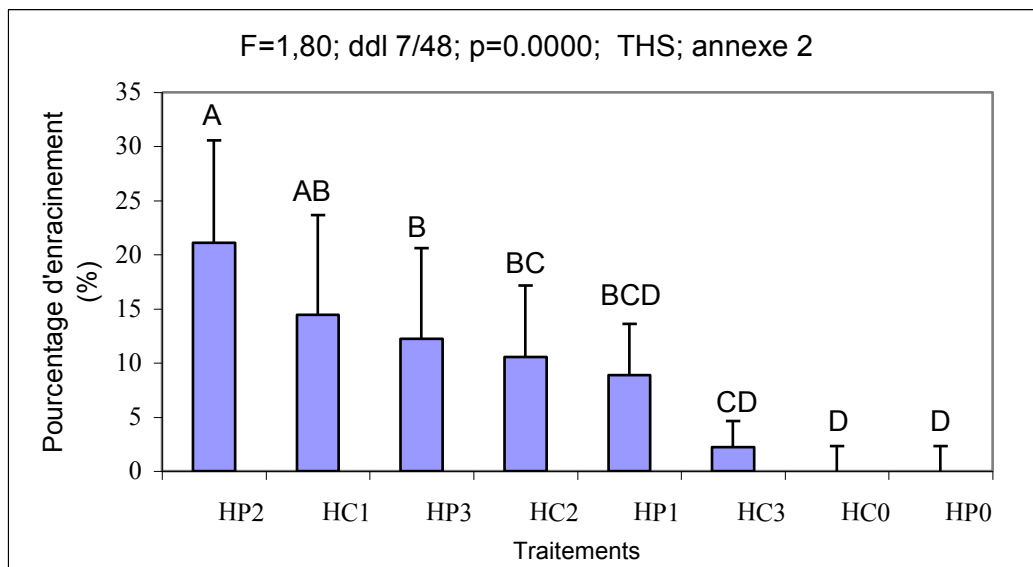
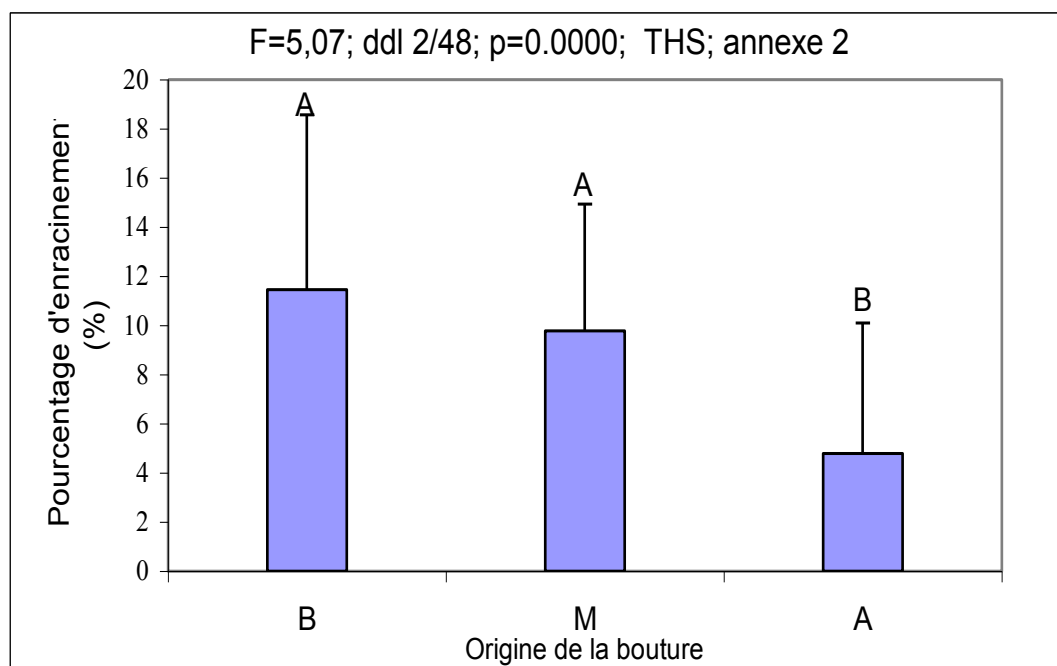


Fig. 6 : Variation du pourcentage de boutures enracinées en fonction de la forme et de la concentration d'AIB



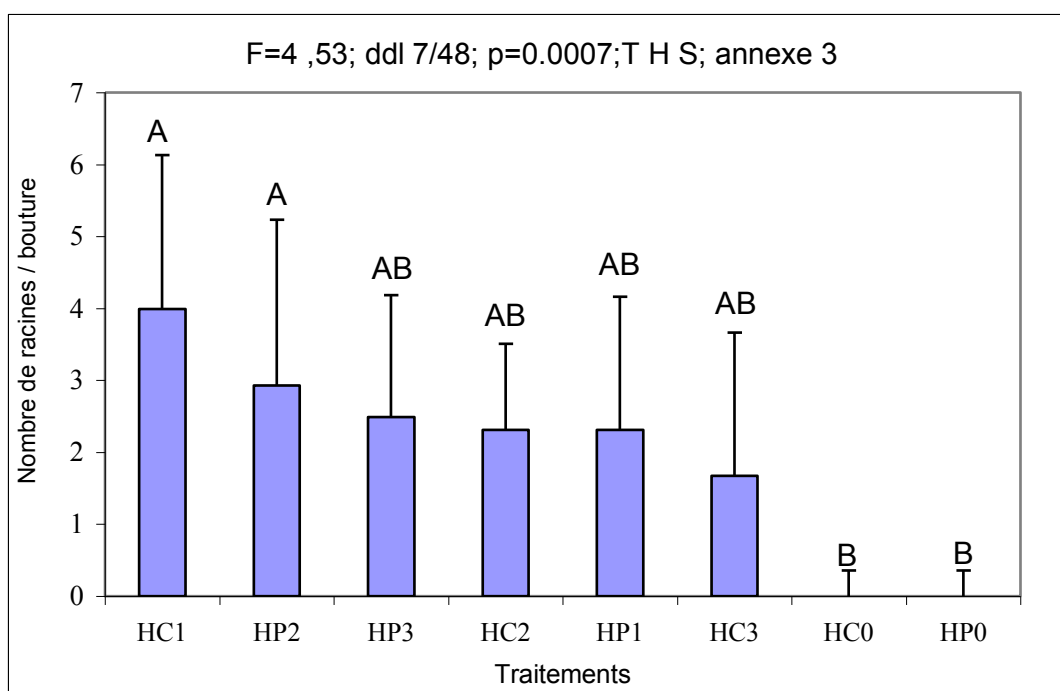
**Fig. 7 :** Variation du pourcentage de boutures enracinées en fonction de l'origine de la bouture sur le rameau

### 1.1.3. Nombre moyen de racines par bouture

Pour ce paramètre les résultats obtenus montrent que les boutures ayant subi un traitement par l'AIB présentent un nombre de racines par bouture variable selon leur origine sur le rameau. En effet, les boutures médianes soumises à l'AIB en solution avec la concentration 2500 ppm présentent les plus importants nombres de racines par bouture. Les résultats de l'analyse de la variance ne révèlent aucun effet d'interaction significatif ( $p=0.2923$ ; annexe3).

L'étude des deux facteurs séparément montre un effet hautement significatif, pour le paramètre dose et forme de l'AIB ( $p=0.0007$ ; annexe 3). Ainsi, le test de Newman-Keuls met en évidence par la comparaison des moyennes deux groupes homogènes (A) et (B), (Fig 8). En effet les traitements HC1 (2500 ppm d'AIB en solution) et HP2 (3000 ppm d'AIB en poudre) montrent les nombres moyens de racines par bouture les plus élevés (2,93 à 3,99). En absence d'AIB aucune racine ne se forme.

Cependant, pour le facteur origine de la bouture sur le rameau, ( $p=0.3052$ ; annexe 3) aucun effet significatif n'est mis en évidence. Les boutures des différentes origines réagissent de la même manière.



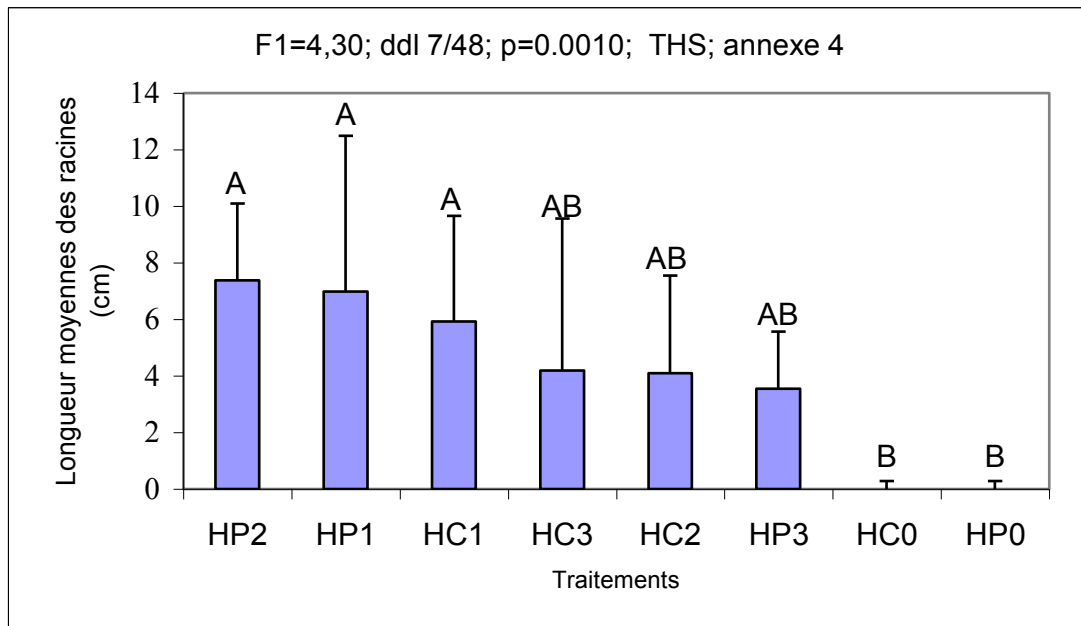
**Fig. 8 :** Variation du nombre moyen de racines par bouture enracinée en fonction de la forme et la concentration d'AIB.

#### 1.1.4. Longueur moyenne des racines principales

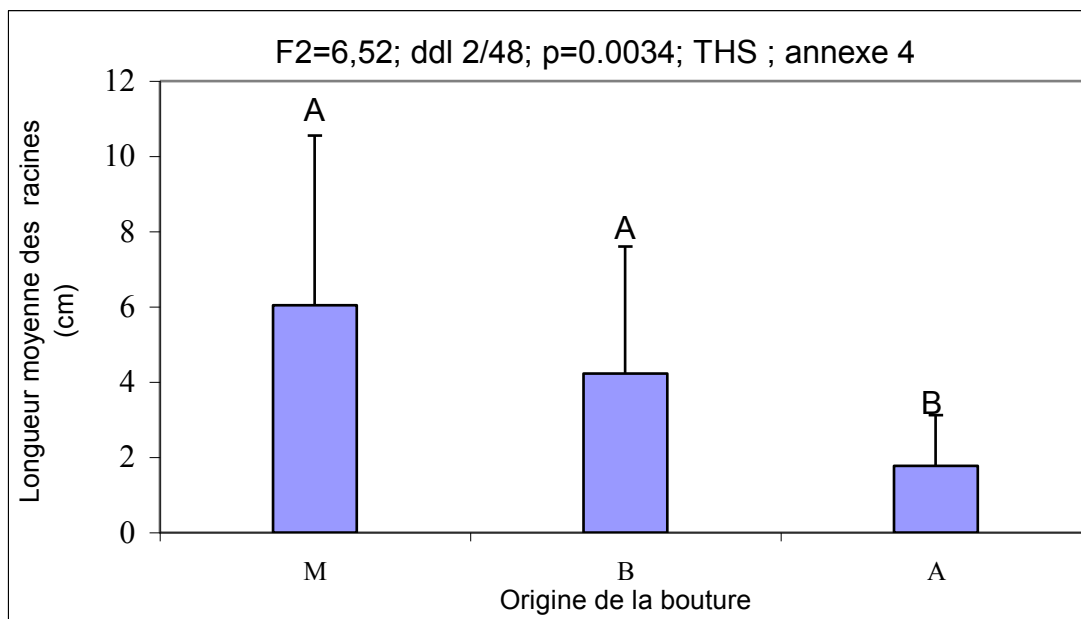
Les résultats de l'analyse de la variance ne montrent pas d'effet d'interaction significatif. ( $p=0.2158$ ; annexe4). Toutefois, un effet très hautement significatif est mis en évidence lorsque les deux facteurs sont considérés séparément F1 (dose et forme de l'AIB) ( $p=0.0010$ ; annexe 4) et F2 (origine de la bouture sur le rameau); ( $p=0.0034$ ; annexe 4).

Pour le facteur 1, la comparaison des moyennes met en évidence deux groupes homogènes, A et B et un sous groupe intermédiaire AB (Fig 9). Ainsi, la longueur moyenne des racines principales la plus élevée est obtenue par le traitement hormonal en poudre, ceci pour une concentration en AIB de 3000 ppm.

Concernant le facteur 2 (Fig 10) la comparaison des moyennes donne deux groupes homogènes distincts ; A et, B. Le groupe B s'individualise avec un seul type de bouture (Apicale) dont la moyenne est la plus faible (1,78 cm). Cependant le groupe (A) comprend les deux types de boutures respectivement 6,84 cm pour la bouture médiane (M) et 4,22cm pour la bouture basale (B).



**Fig. 9:** Variation de la longueur moyenne de la racine principale en fonction de la forme et la concentration d'AIB.



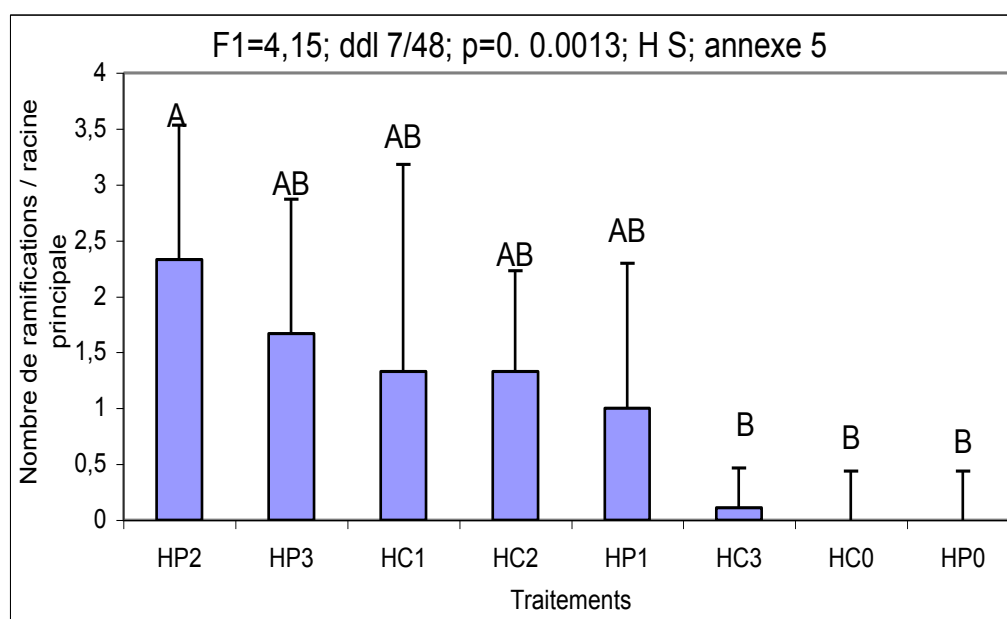
**Fig. 10:** Variation de la longueur moyenne des racines principales en fonction du type de boutures.

### 1.1.5. Nombre moyen de ramifications par racine principale

Pour ce paramètre l'analyse de la variance n'a révélé aucun effet d'interaction significatif ( $p=0.1486$ ; annexe 5). Cependant, l'ANOVA appliqué séparément aux deux facteurs révèle un effet très hautement significatif pour le facteur F1 (dose et forme de l'AIB), ( $p=0.00013$ ; annexe 5), et significatif pour le facteur F2 (origine de la bouture sur le rameau), ( $p=0.0299$ ; annexe 5).

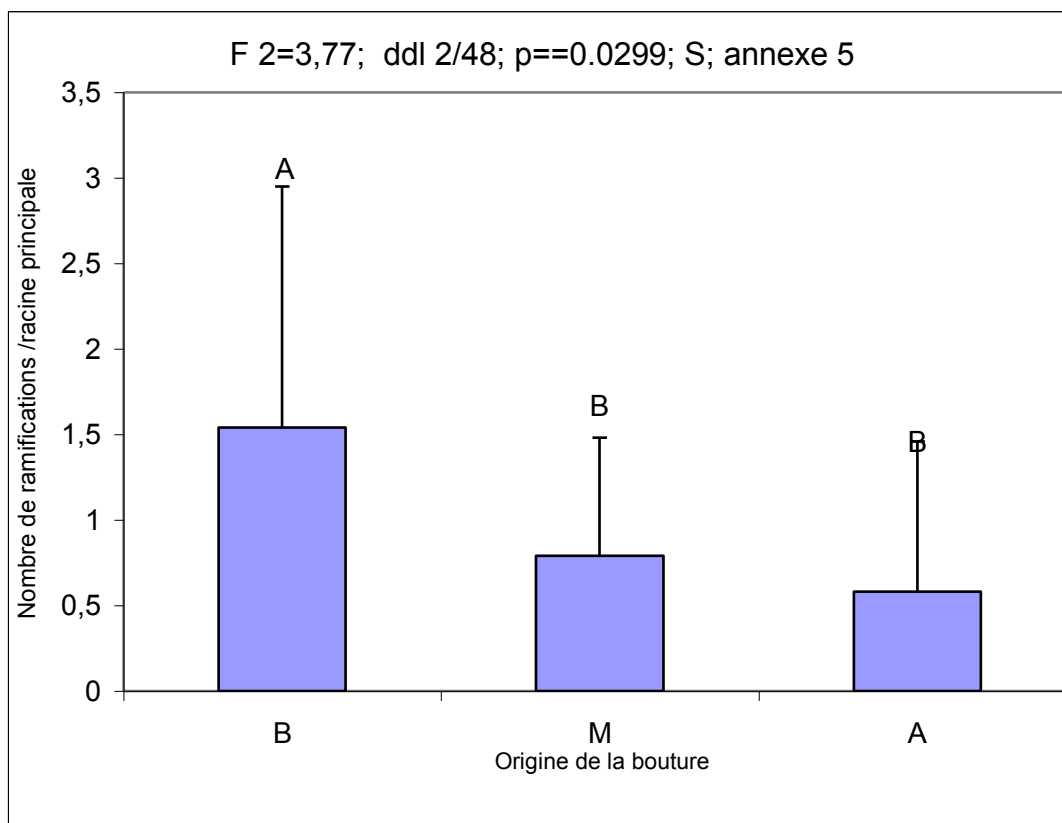
La comparaison des moyennes met en évidence 2 groupes homogènes (A et B), et un sous groupe intermédiaire AB. La concentration 3000ppm en poudre ayant servi à traiter les boutures, donne toujours les meilleurs résultats, (2,33) (fig 11).

Pour le facteur F2 la comparaison des moyennes montre 2 groupes homogènes ; le groupe A s'individualise avec une seul type de boutures basale (B) dont la moyenne est la plus élevée (1,54) que celle du groupe (B) comprend les deux autres type de boutures avec des taux très faibles 0,79 et (0,58) respectivement (fig 12).



**Fig. 11** : Variation du nombre moyen de ramifications racinaires par racine principale en fonction de la forme et de la concentration d'AIB.





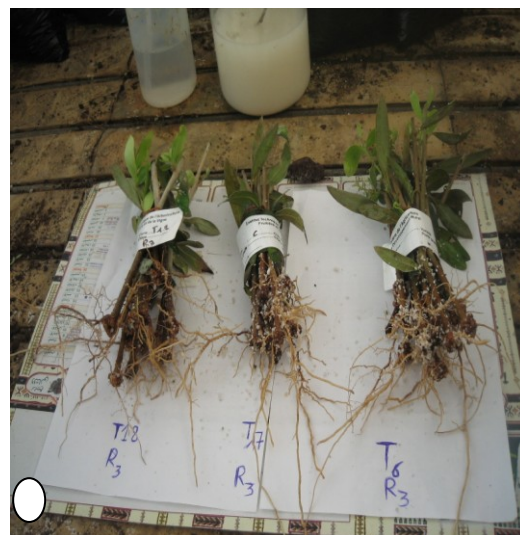
**Fig. 12** : Variation du nombre moyen de ramifications racinaires par racine principale en fonction du type de boutures .

### 1.1.6 Conclusion

Les résultats préliminaires obtenus avec l'utilisation de l'AIB sous deux formes (poudre et solution) à des concentrations de 2500, 3000 et 3500 ppm, ne montrent pas une amélioration significative du taux d'enracinement (21,11 %) par rapport à celui obtenu ( 19 %) par CABALLERO (1983). Par ailleurs, l'enracinement obtenu est influencé par :

- La forme de traitement à l'AIB, la forme poudre semble plus efficace que la forme solution.
- La dose de l'AIB, les meilleurs résultats sont obtenus avec 3000 ppm.
- L'origine de la bouture sur le rameau, les meilleurs enracinements sont obtenus avec la bouture basale.

La Planche 6 illustre quelques exemples de réactions des boutures de la variété Chemlal soumises aux traitements hormonaux.



**Planche 6:** Quelques exemples de réactions sur les boutures soumises aux traitements rhizogènes après trois mois de traitement hormonal.

- A :** boutures apicales (T1) et médiane (T2) de chemlal, sans traitement hormonal (témoin)
- B :** bouture de gauche à droite : basales traitées avec 2500 ppm d'AIB en poudre, ainsi que les boutures basales et médianes traitées avec 3000 ppm d'AIB en poudre et en solution.
- C :** bouture médiane traitée avec 2500 ppm d'AIB en solution.
- D :** bouture apicale traitée avec 2500 ppm d'AIB en poudre

## 1.2. Induction de l'enracinement par transformation génétique

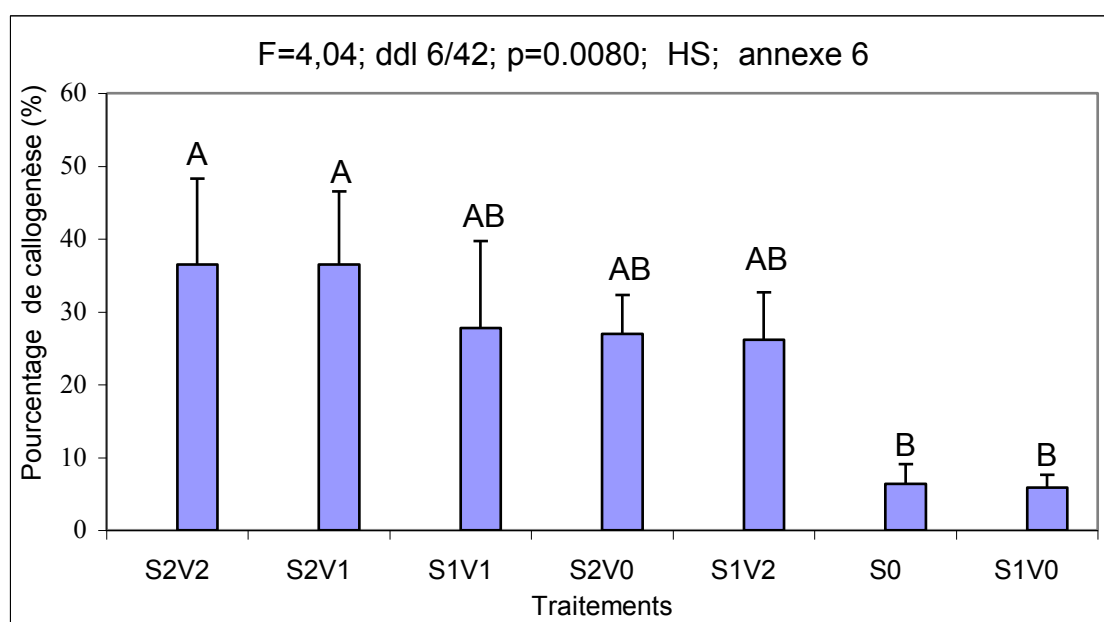
Après 3 mois de culture sous mist system en serre de nébulisation, une intense activité rhizogène a été observée. Ainsi pour évaluer l'efficacité des différents traitements appliqués, les paramètres suivants ont été étudiés.

### 1.2.1. Pourcentage de boutures avec cal

Tous les traitements, y compris le témoin, ont permis une initiation de cals à la base des boutures. L'intensité de celle-ci varie d'un traitement à l'autre. L'analyse de la variance n'a révélé aucun effet d'interaction entre le facteur F1 (souches d' *Agrobacterium rhizogenes* réactivées avec différentes concentrations d'acétylsyringone) et le facteur F2 (origine de la bouture sur le rameau), sur ce paramètre ( $p=0.5032$ , annexe 6).

Cependant, l'ANOVA révèle, pour le facteur F1 ( $p=0.0080$ ; annexe 6), un effet hautement significatif. La comparaison des moyennes pour ce paramètre donne deux groupes homogènes ; A et B et un sous groupe intermédiaire AB (fig 13). En effet la souche K<sub>47</sub> réactivée avec 20  $\mu\text{M}$  d'acétylsyringone favorise le taux de callogénèse le plus élevé sur l'ensemble des boutures, quelle que soit leur origine sur le rameau. Dans ces dernières conditions, le pourcentage moyen de boutures avec cal est de 36,51 %.

Pour le facteur F2 (origine de la bouture sur le rameau), ( $p=0.0590$ ; annexe 3) aucun effet significatif n'est mis en évidence, les boutures de différentes origines réagissent de la même manière et donnent un pourcentage de callogénèse moyen égale à 21,51 %.



**Fig. 13** : Variation du pourcentage de callogénèse en fonction des souches d' *Agrobacterium rhizogenes* et la concentration de l'acétylsyringone (S1= A<sub>4</sub>; S2=K<sub>47</sub>; V1=10 ;V2=20)

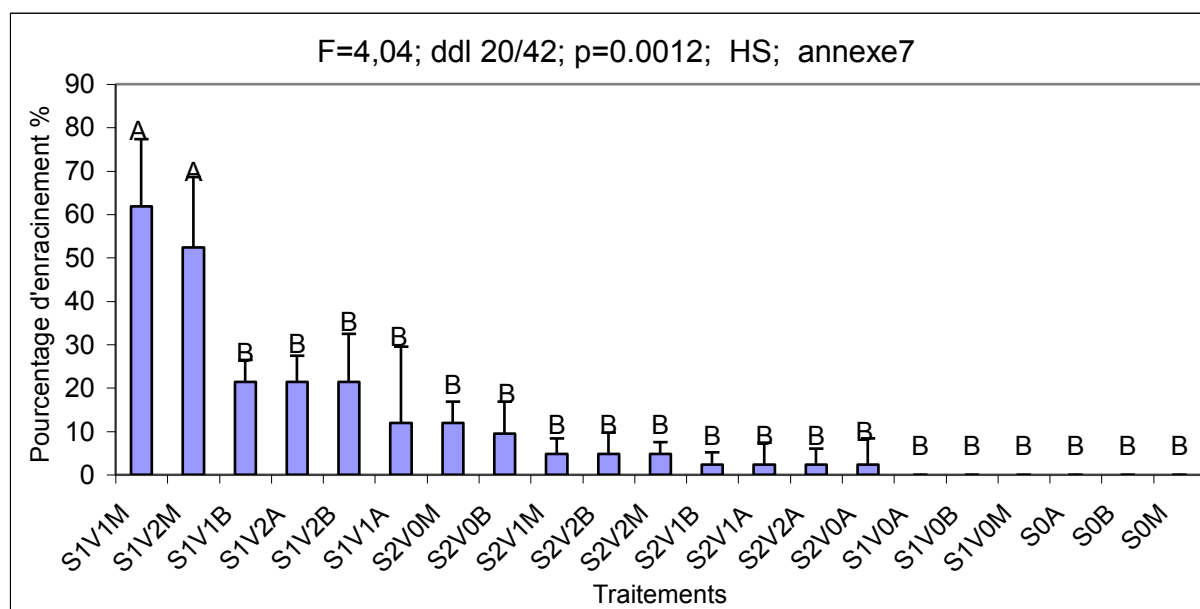
### 1.2.2. Pourcentage de boutures enracinées

Les résultats montrent que les boutures n'ayant subi aucun traitement (témoin) ne présentent aucun enracinement, et ce, quelle que soit leur origine sur le rameau. Cependant, les boutures soumises à l'inoculation par *Agrobacterium rhizogenes* présentent des pourcentages d'enracinement variables selon la concentration de l'acétylsyringone ainsi que l'origine de la bouture sur le rameau initial (Planche 7 : A, B, C et D).

L'analyse de la variance révèle un effet hautement significatif de la souche ainsi que l'origine de la bouture sur le pourcentage d'enracinement ( $p=0.0012$ ; annexe7).

La comparaison des moyennes montre deux groupes homogènes (A et B) (fig 14). La souche A<sub>4</sub> s'avère plus efficace que la souche K<sub>47</sub> quelle que soit l'origine de la bouture et la concentration de l'acétylsyringone. La souche A<sub>4</sub> permet d'obtenir les pourcentages d'enracinement les plus élevés 11,91 à 61,91 % contre seulement 2,38% à 11,91 % avec la souche K<sub>47</sub>. Dans le cas de la souche A<sub>4</sub> ce sont les boutures issues de la partie médiane du rameau qui donnent les pourcentages d'enracinement les plus élevés (52,38 et 61,9 %).

Par ailleurs, la concentration de l'acétylsyringone semble exercer, en interaction avec l'origine de la bouture ce qui entraîne un effet appréciable sur le pourcentage d'enracinement. En effet, la concentration de 10 $\mu$ M d'acétylsyringone associée aux boutures médianes (M) donne toujours les meilleurs pourcentages d'enracinement.



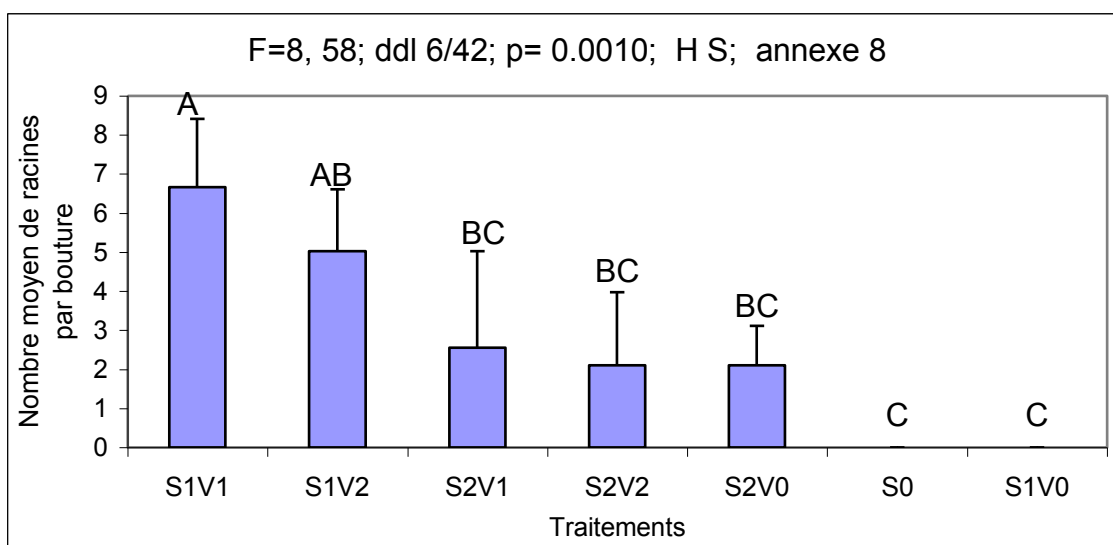
**Fig. 14:** Variation du pourcentage de boutures enracinées en fonction de la souche d '*Agrobacterium rhizogenes*, la concentration de l'acétylsyringone, ainsi que l'origine de la bouture sur le rameau (S1= A<sub>4</sub>; S2=.K<sub>47</sub>; V1=10  $\mu$ M; V2=20  $\mu$ M)

### I.2.3. Nombre moyen de racines par bouture

Pour ce paramètre, la souche A<sub>4</sub> réactivée avec 10 µM d'acétylsyringone favorise le développement du plus grand nombre de racines principales sur les boutures issues de la partie médiane du rameau. Dans ces conditions, le nombre moyen de racines par bouture est de 9,77. Cependant, l'analyse de la variance ne confirme pas ce résultat (p=0.5068; annexe 8).

L'étude des deux facteurs séparément montre un effet hautement significatif, pour le facteur F1 (souches d'*Agrobacterium rhizogenes* réactivées avec différentes concentrations d'acétylsyringone) (p=0.0010; annexe 8), et le facteur F2 (origine de la bouture sur le rameau), (p=0.0055; annexe 8). La comparaison des moyennes pour le facteur F1 donne trois groupes homogènes ; A, B, C et deux sous groupes AB et BC (Fig 15). En effet la souche A<sub>4</sub> réactivée avec 10µM d'acétylsyringone favorise le développement du plus grand nombre de racines principales sur les boutures issues de n'importe quelle partie du rameau. Dans ces conditions, le nombre moyen de racines par bouture est de 6,67.

Pour le facteur F2, la comparaison des moyennes donne deux groupes homogènes ; A et B (Fig 16). Ainsi, la bouture médiane donne le nombre de racines le plus élevé 3,98.



**Fig. 15** : Variation du nombre moyen de racines par bouture enracinée en fonction de la souche d'*Agrobacterium rhizogenes* et la concentration de l'acétylsyringone

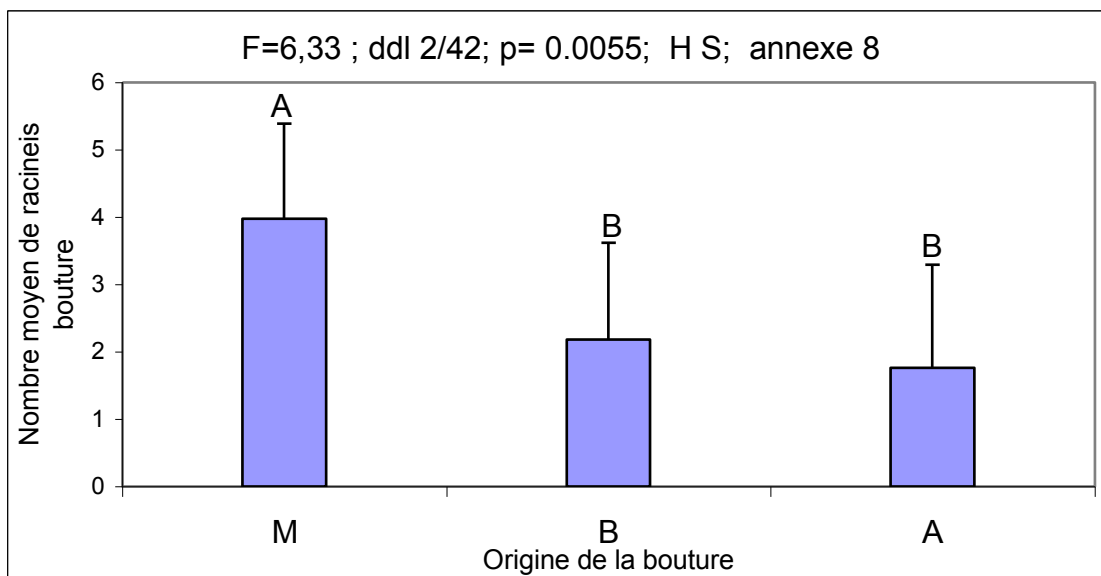
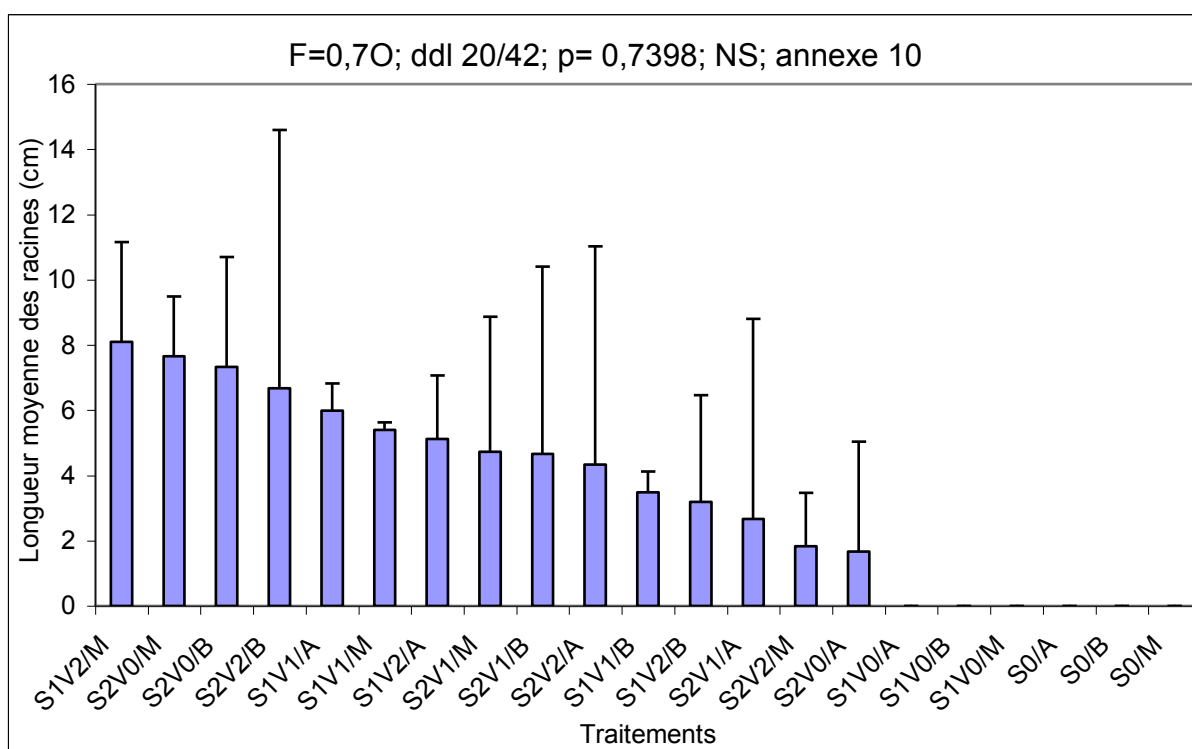


Fig. 16 : Variation du nombre de racines par bouture enracinée en fonction de l'origine de la bouture

#### I.2.4. Longueur moyenne des racines principales

Pour ce paramètre, la souche A<sub>4</sub> réactivée avec 20μM d'acétosyringone favorise le plus important développement en longueur des racines principales sur les boutures issues de la partie médiane du rameau. Dans ces conditions, la longueur moyenne des racines principales est de 8,09cm (fig 17). Cependant, l'analyse de la variance n'a révélé aucun effet significatif des traitements appliqués (p= 0,7398 ; annexe 10).

L'étude des deux facteurs séparément ne montre aucun effet significatif, pour le facteur F1 (souches d'*Agrobacterium rhizogenes* réactivées avec différentes concentrations d'acétosyringone) (p=0.1125; annexe 10), de même pour le facteur F2 (origine de la bouture sur le rameau), (p=0.6703; annexe 10).



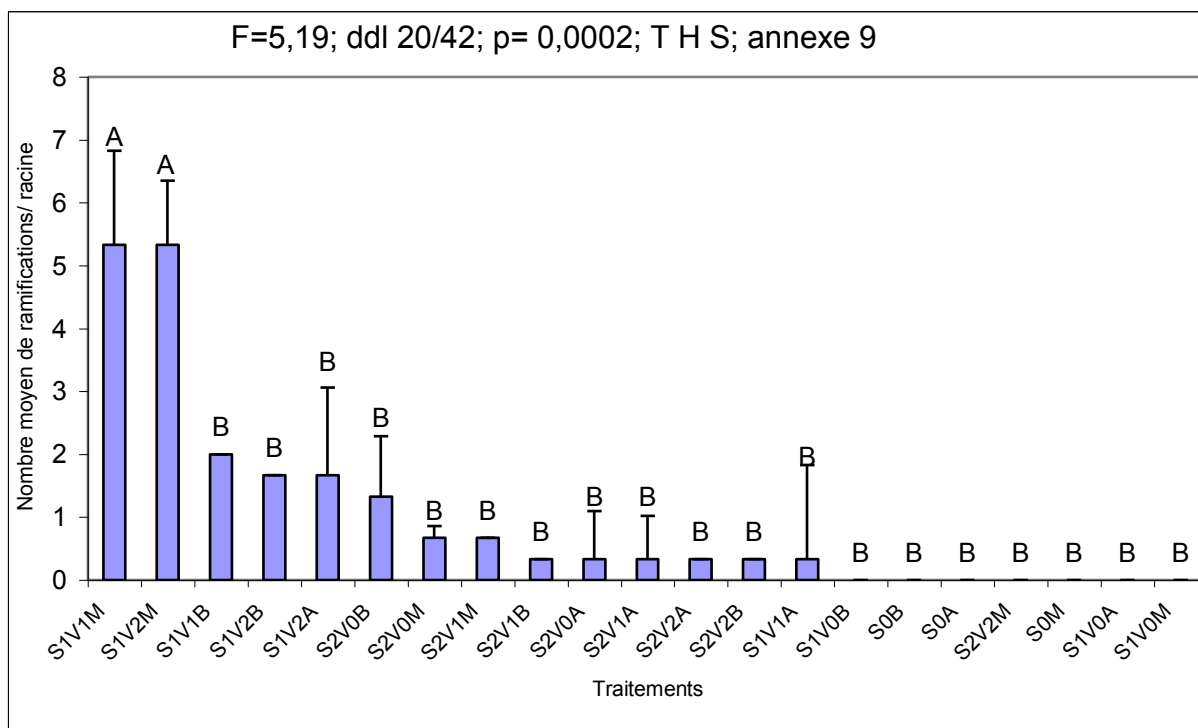
**Fig. 17:** Variation de la longueur moyenne des racines principales en fonction de la souche d'*Agrobacterium rhizogenes*, la concentration de l'acétosyringone, ainsi que l'origine de la bouture sur le rameau

### 1.2.5. Nombre moyen de ramifications par racine principale

Pour ce paramètre, quelle que soit la concentration de l'acétosyringone ayant servi à réactiver les souches d'*Agrobacterium. rhizogenes*, c'est la souche A<sub>4</sub> associée aux boutures médianes (M) du rameau qui a induit le plus grand nombre de ramifications par racine principale néoformée (5,33 ramifications).

L'analyse de la variance confirme ce résultat et révèle un effet très hautement significatif (p= 0,0002; annexe 9).

La comparaison des moyennes montre deux groupes homogènes (A et B), (Fig 18). Ainsi la bouture apicale inoculée par la souche A<sub>4</sub> réactivée par 10µM d'acétosyringone induit le développement du nombre de ramifications par racine principale le plus faible (0,33)



**Fig. 18** : Variation du nombre de ramifications par racine principale en fonction de la souche d' *Agrobacterium rhizogenes*, la concentration de l'acétosyringone, ainsi que l'origine de la bouture sur le rameau.

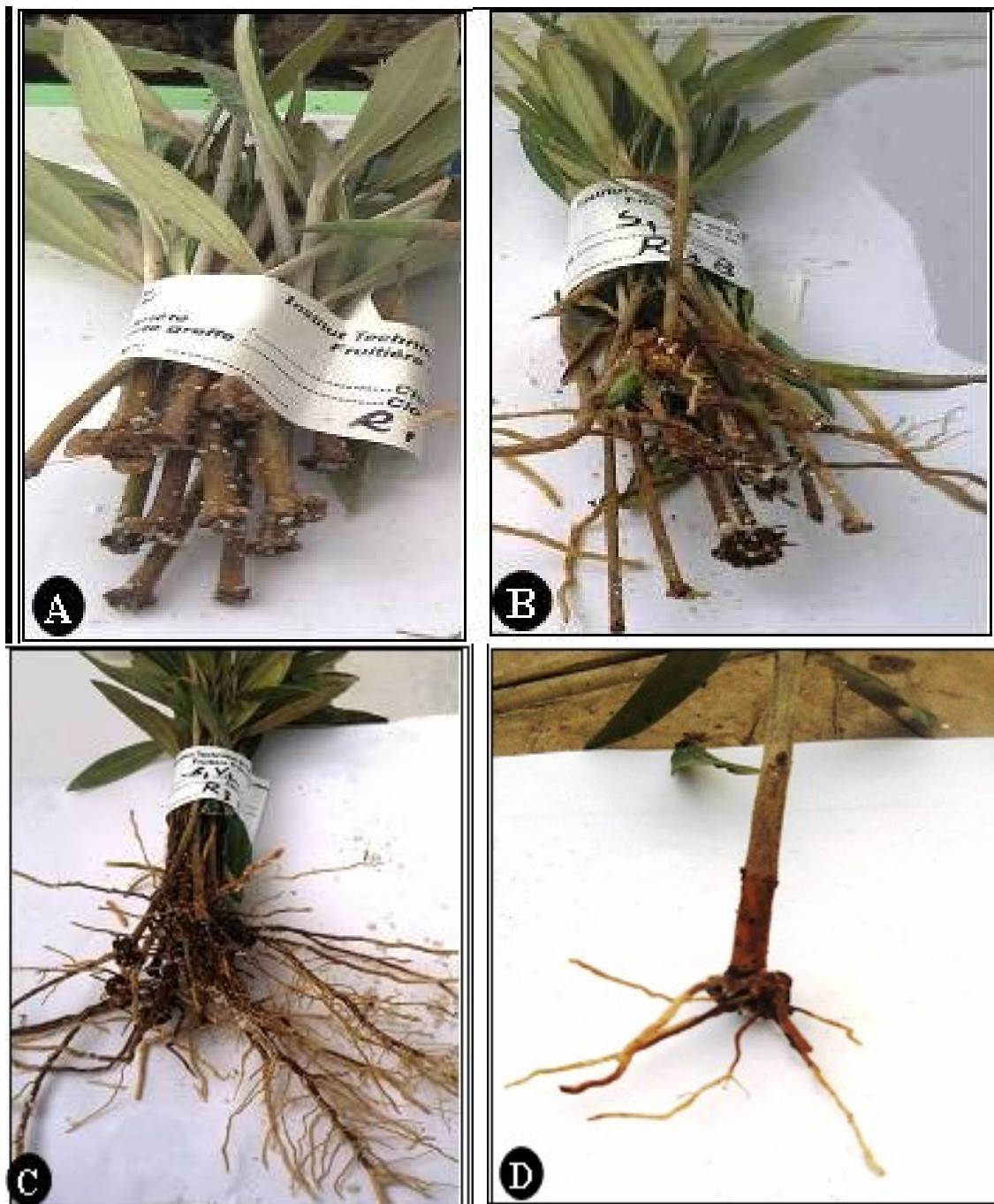
### 1.2.6 Conclusion

Les résultats préliminaires de l'induction de l'enracinement par transformation génétique en inoculant des boutures de la variété Chemlal, réputée récalcitrante au bouturage (19%), avec deux souches d'*Agrobacterium rhizogenes* A<sub>4</sub> et K<sub>47</sub> réactivées préalablement par différentes concentrations d'acétosyringone de 10 µM à 20 µM pourrait constituer, une alternative à sa multiplication par voie végétative. En effet, le meilleur résultat d'enracinement égal à 61,91% est obtenu avec A<sub>4</sub> suractivée avec 10 µM d'acétosyringone. En outre, ces résultats montrent que plusieurs facteurs influencent le pourcentage d'enracinement ainsi que la qualité des racines induites par *Agrobacterium rhizogenes*.

- La souche A<sub>4</sub> s'est montrée plus réactive que la souche K<sub>47</sub>.
- L'efficience des deux souches dépend de la concentration de l'acétosyringone employée pour les suractiver.
- La concentration de 10 µM semble la plus efficace pour la majorité des paramètres étudiés.
- L'origine de la bouture sur le rameau influe significativement sur l'enracinement, ainsi les meilleurs taux d'enracinement sont obtenus sur les boutures médianes.

La planche 7 illustre quelques résultats d'enracinement induit avec la souche A<sub>4</sub> d'*Agrobacterium rhizogenes*.





**Planche 7:** Quelques exemples de réactions sur les boutures soumises aux traitements rhizogènes après trois mois d'inoculation par la souche A<sub>4</sub> d' *Agrobacterium rhizogenes* .

- A : boutures de Chemlal, sans inoculation par *Agrobacterium rhizogenes* (Témoin).
- B : boutures basales inoculées par la souche A<sub>4</sub> sans réactivation avec l'acétosyringone.
- C : boutures médianes inoculées par la souche A<sub>4</sub> réactivée avec 10 μM d'acétosyringone.
- D : bouture apicale inoculée par la souche A<sub>4</sub> sans réactivation avec l'acétosyringone.

## **2. Extension de l'essai aux autres variétés.**

### **2.1. Induction de l'enracinement par traitement hormonal**

L'étude de l'induction de l'enracinement par traitement hormonal est basée sur les mêmes paramètres que précédemment en n'utilisant que les boutures d'origine médiane en association ou non avec 3000 ppm d'AIB en poudre.

#### **2.1.1 Pourcentage de boutures avec cal**

Pour ce paramètre, une callogenèse a été enregistrée à la base des boutures. L'intensité de celle-ci varie d'un traitement à l'autre. L'analyse de la variance confirme ce résultat

( $p= 0,0064$ ; annexe 11). L'ensemble des géotypes traités avec l'AIB à 3000 ppm en poudre, ou sans traitement (0 ppm) a permis de révéler des pourcentages de callogenèse importants. Les géotypes Zeltani, Akerma, Chemlal, Aberkane, Boukaila et Bouichret traités à l'AIB (3000 ppm) présentent les pourcentages les plus élevés de callogenèse allant respectivement de 45,67 %, 46,67 %, 48,33 %, 52,33 %, 54,67 %, 58,33 %. Cependant, les variétés Ferkani et Sigoise donnent de faibles pourcentages de callogenèse (21,67 %) et (22,33 %), comparativement aux témoins non traités. Les résultats ont été confirmés par l'analyse de la variance qui a mis en évidence un effet hautement significatif du géotype sur ce paramètre.

En effet, le test de la PPDS révèle deux groupes homogènes: le premier est constitué par les géotypes, Zeltani, Akerma, Chemlal, Aberkane, Boukaila et Bouichret traités avec 3000 ppm d'AIB et le deuxième constitue par les variétés Ferkani et Sigoise traitées avec la même dose d'AIB, ainsi que les témoins non traité à l'AIB (Fig 19).

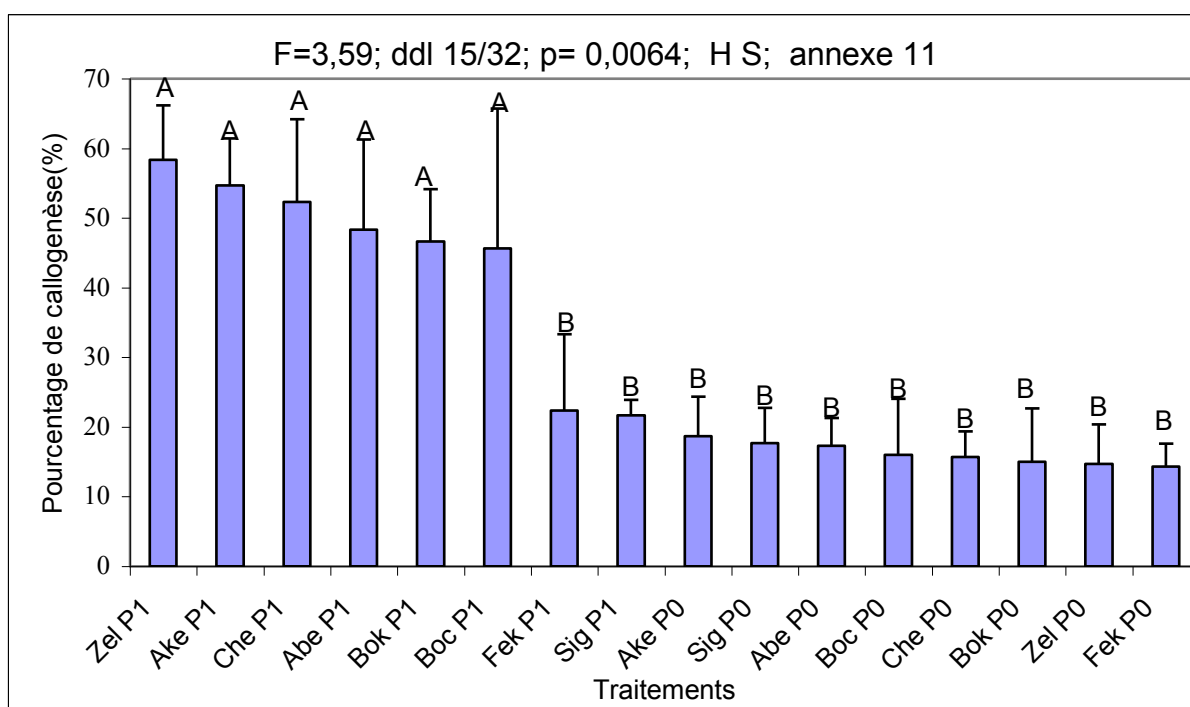
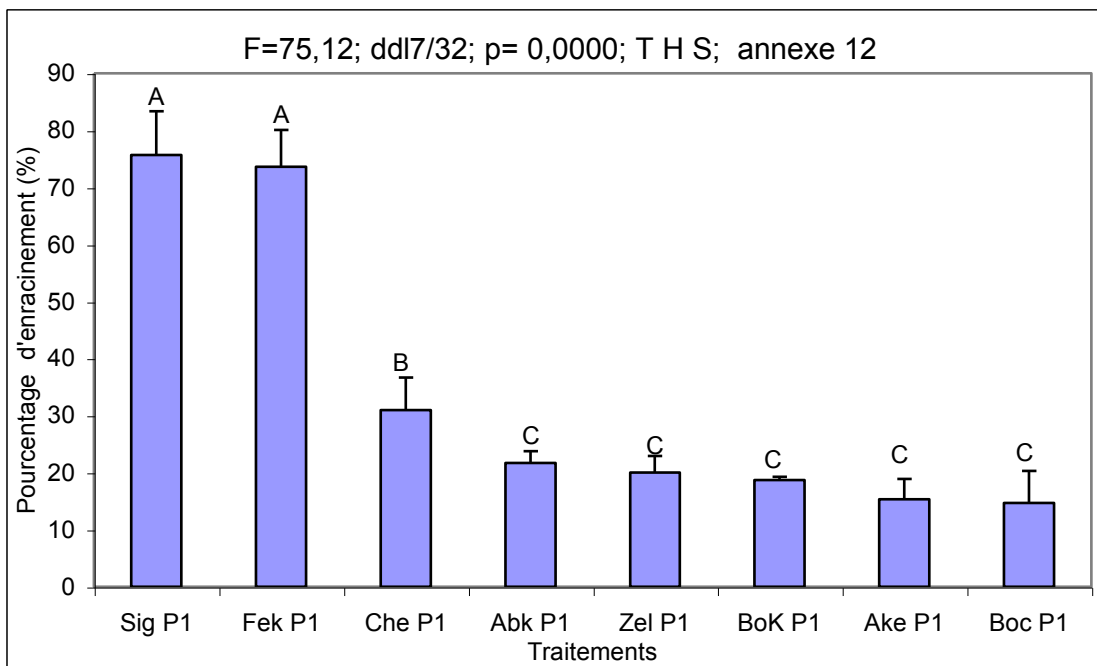


Fig. 19 : Variation du pourcentage de boutures avec cal en fonction du génotype et de la concentration d'AIB

### 2.1.2 Pourcentage de boutures enracinées

Les résultats montrent que les boutures n'ayant subi aucun traitement (témoin) ne présentent aucun enracinement, et ce, quel que soit le génotype utilisé. Cependant, les boutures soumises au traitement à l'AIB (3000 ppm) présentent des pourcentages d'enracinement variables selon le génotype utilisé. L'analyse de la variance révèle des effets très hautement significatifs du génotype pour le paramètre étudié ( $p=0,0000$ ; annexe 12).

Il ressort de la comparaison des moyennes par le biais du test de Newman et Keuls, trois groupes homogènes (Fig 20). Ainsi, le groupe A, est représenté par les deux cultivars Sigoise et Ferkani qui donnent respectivement les pourcentages d'enracinement les plus élevés 75,67% et 73,67 %. Le groupe B s'individualise avec un seul génotype qui est la variété Chemlal dont le pourcentage d'enracinement est de 31 %. Les cultivars Aberkane 21,67 %, Zeltani 20 %, Boukaila 18,67 %, Akerma 15,33 % et Bouichret 14,67 %, sont classés dans le groupe C.

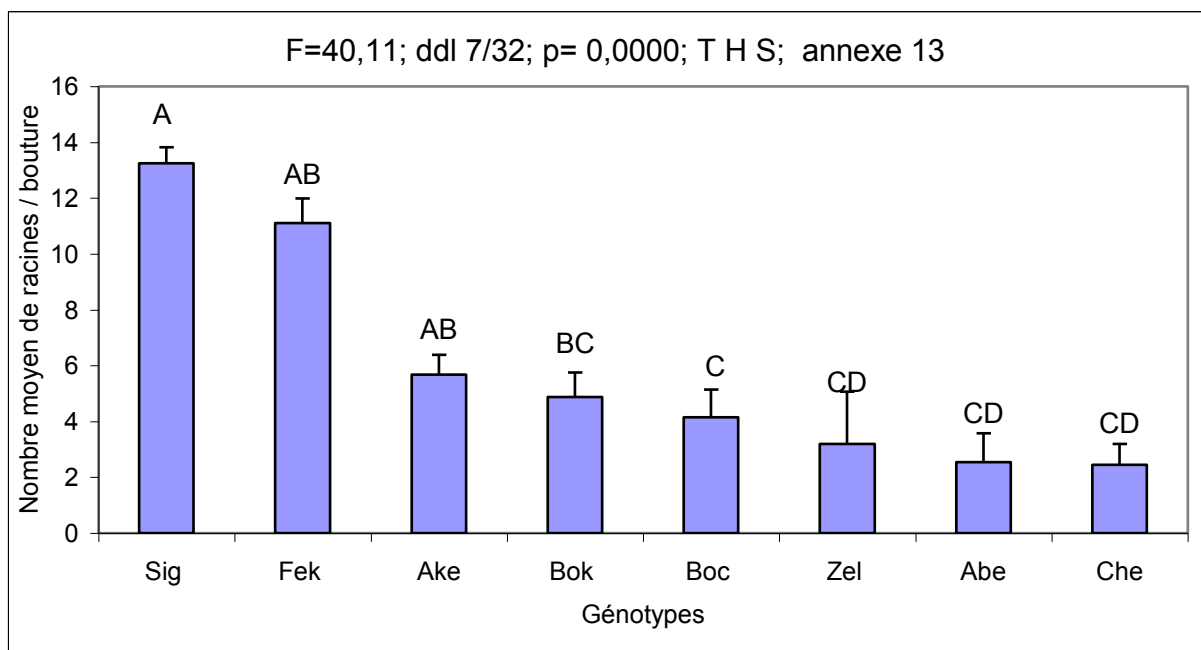


**Fig.20** : Variation du pourcentage d'enracinement en fonction du génotype.

### 2.1.3. Nombre moyen de racines par bouture

L'analyse de la variance révèle des effets très hautement significatifs des traitements appliqués ( $p= 0,0000$ ; annexe 13).

La comparaison des moyennes montre quatre groupes homogènes (A), (B), (C) et (D), (Fig 21). Ainsi, le groupe A s'individualise avec la variété Sigoise qui peut être considérée comme le meilleur génotype avec un nombre important de racines par bouture (13,25). La variété Chemlal donne le plus faible nombre de racines (2,45), ce qui confirme les résultats obtenus par la même variété lors de l'essai préliminaire (2,95). Les autres variétés donnent un nombre moyen de racines intermédiaire.

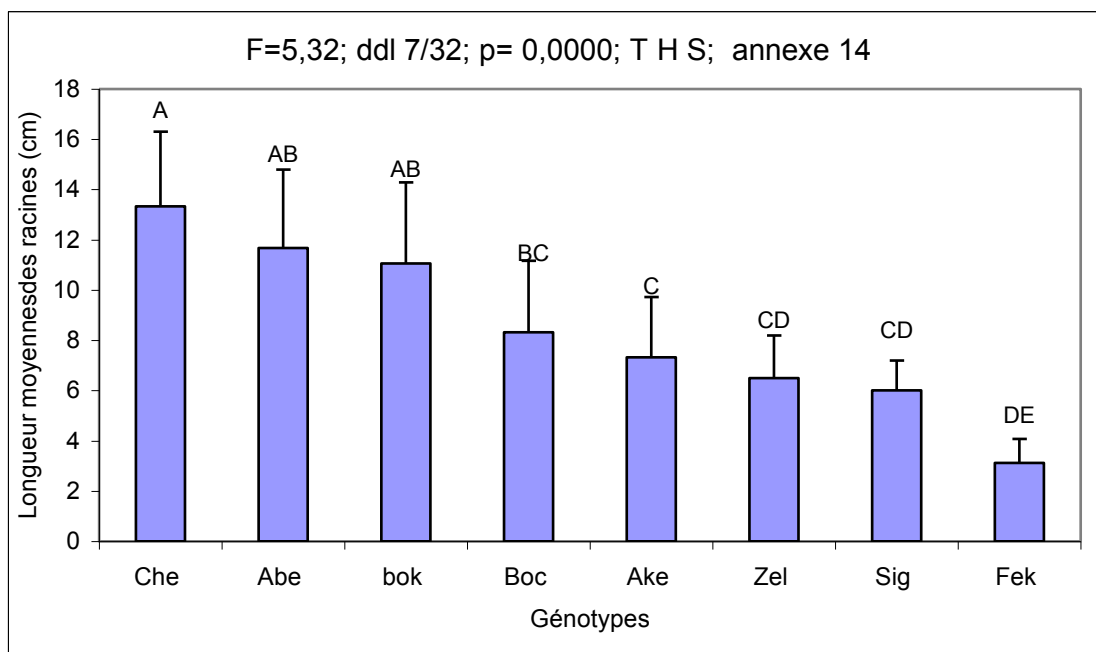


**Fig. 21** : Variation du nombre moyen de racines/par bouture enracinée en fonction du génotype

#### 2.1.4. Longueur moyenne des racines principales

Pour ce paramètre les différents génotypes réagissent différemment. L'analyse de la variance confirme bien ce résultat par un effet très hautement significatif des traitements appliqués ( $p= 0,0000$ ; annexe 14). De ce fait, le test de la PPDS révèle en conséquence 5 groupes homogènes A à C, dont plusieurs sont chevauchants (AB), (BC), (CD) et (D E) (Fig 22).

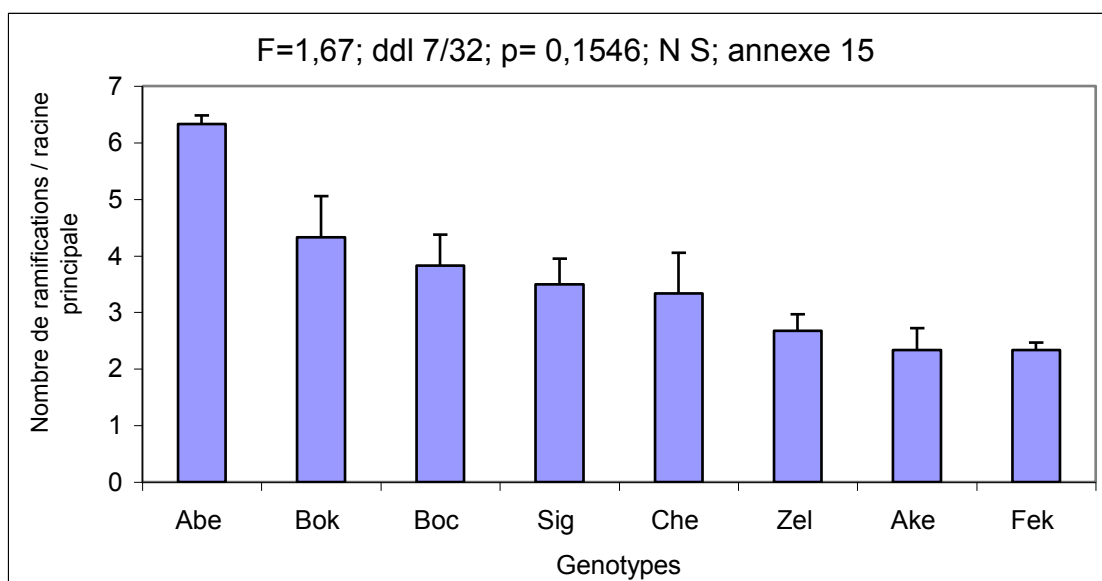
Ainsi, pour l'ensemble des variétés c'est toujours la variété Chemlal qui favorise le plus important développement en longueur des racines lorsqu'elle est traitée avec 3000 ppm d'AIB.



**Fig. 22** : Variation de la longueur moyenne des racines principales en fonction du génotype

### 2. I.5. Nombre moyen de ramifications par racine principale

Quel que soit le génotype traité avec la dose 3000 ppm d'AIB ayant servi à l'induction racinaire, c'est la variété « Aberkane » qui forme le plus grand nombre de ramifications par racine néoformée (6,33 ramifications). Cependant, l'analyse de la variance ne confirme pas ce résultat et ne montre pas d'effet significatif ( $p=0,1546$ ; annexe 15). (Fig 23).



**Fig. 23** : Variation du nombre moyen de ramifications racinaires par/racine principale en fonction du génotype.

### 2.1.6 Conclusion

Les résultats de l'extension de l'essai de l'induction de l'enracinement par l'utilisation de l'AIB en poudre à la concentration de 3000 ppm en traitant les boutures médianes de six variétés Chemlal, Zeltani, Bouichret, Akerma, Boukaila et Aberkane réputées récalcitrantes au bouturage et deux variétés Sigoise et Ferkani dites faciles à l'auto-enracinement comme témoins montrent :

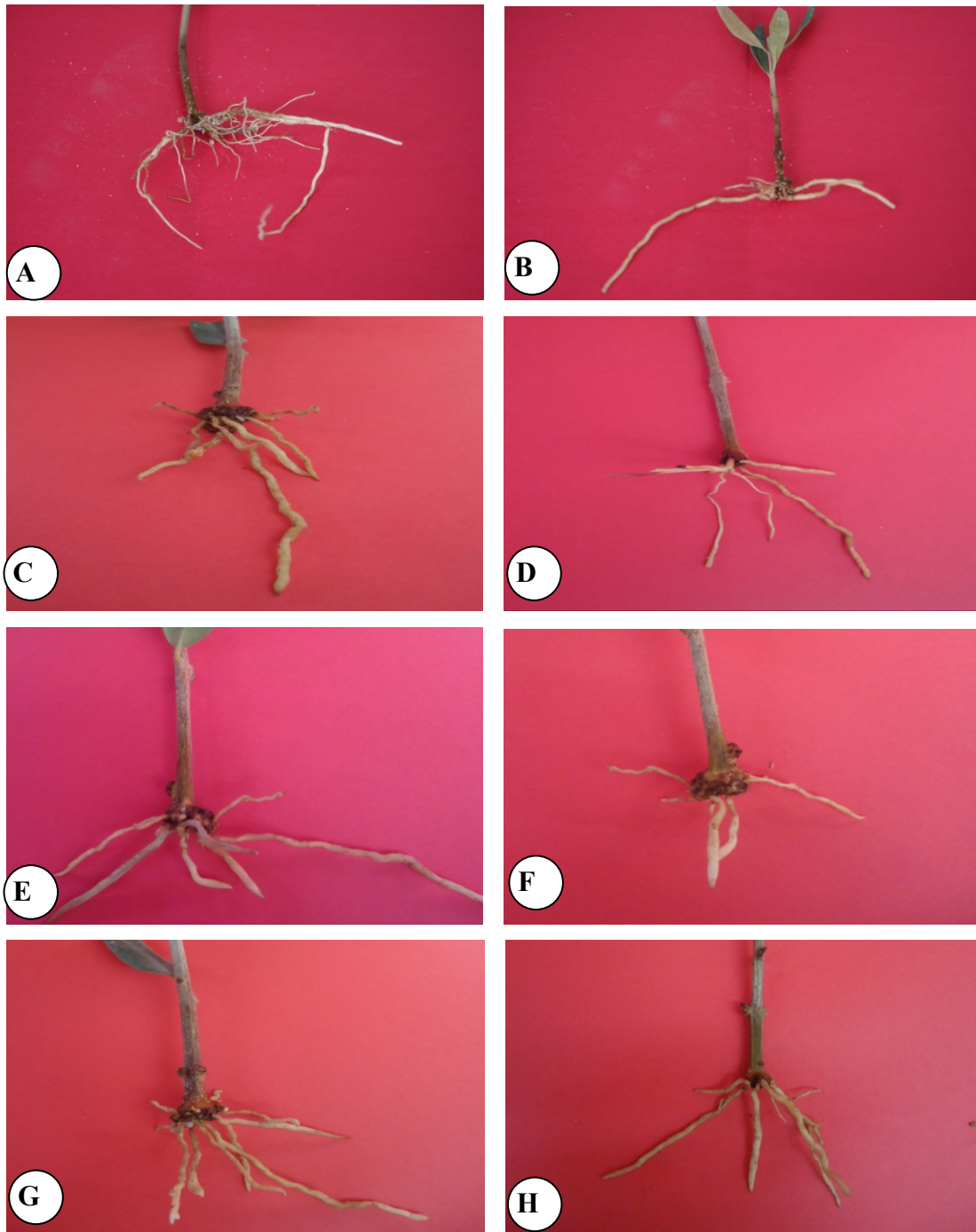
Une amélioration significative du taux d'enracinement (31,19 %) pour la variété Chemlal par rapport à celui obtenu lors de l'essai préliminaire de l'époque automnale (21,11 %) et celui de (19 %) obtenu par CABALLERO (1989).

De même, les variétés Sigoise et Ferkani semblent plus favorables à l'auto enracinement avec respectivement 75,67 % et 73,67 % ce qui représente une amélioration significative du taux d'enracinement pour ces deux variétés par rapport à celui de (51,6 %) et (58,84 %) obtenu par l'ITAF (1975).

Confirmation de l'intérêt de traiter les boutures d'olivier avec de l'AIB en poudre au lieu de la forme liquide.

Par ailleurs les autres variétés Aberkane, Zeltani, Boukaila, Akerma et Bouichret, semblent moins favorables à l'auto enracinement (récalcitrantes) avec des taux d'enracinement considérés comme très faibles 21,67 %, 20 %, 18,67 %, 15,33 % et 14,67 %.

La Planche 8 illustre la qualité de l'enracinement obtenu avec les huit variétés dont les boutures d'origine médianes sont traitées avec 3000 ppm d'AIB en poudre.



**Planche 8:** Qualité de l'enracinement obtenu avec 8 variétés d'olivier traitées avec 3000 ppm d'AIB en poudre.

- A: bouture enracinée de la variété Sigoise.
- B: bouture enracinée de la variété Zeltani.
- C: bouture enracinée de la variété Chemlal.
- D: bouture enracinée de la variété Ferkani.
- E: bouture enracinée de la variété Boukaila.
- F: bouture enracinée de la variété Bouichret.
- G: bouture enracinée de la variété Aberkane.
- H: bouture enracinée de la variété Akerma

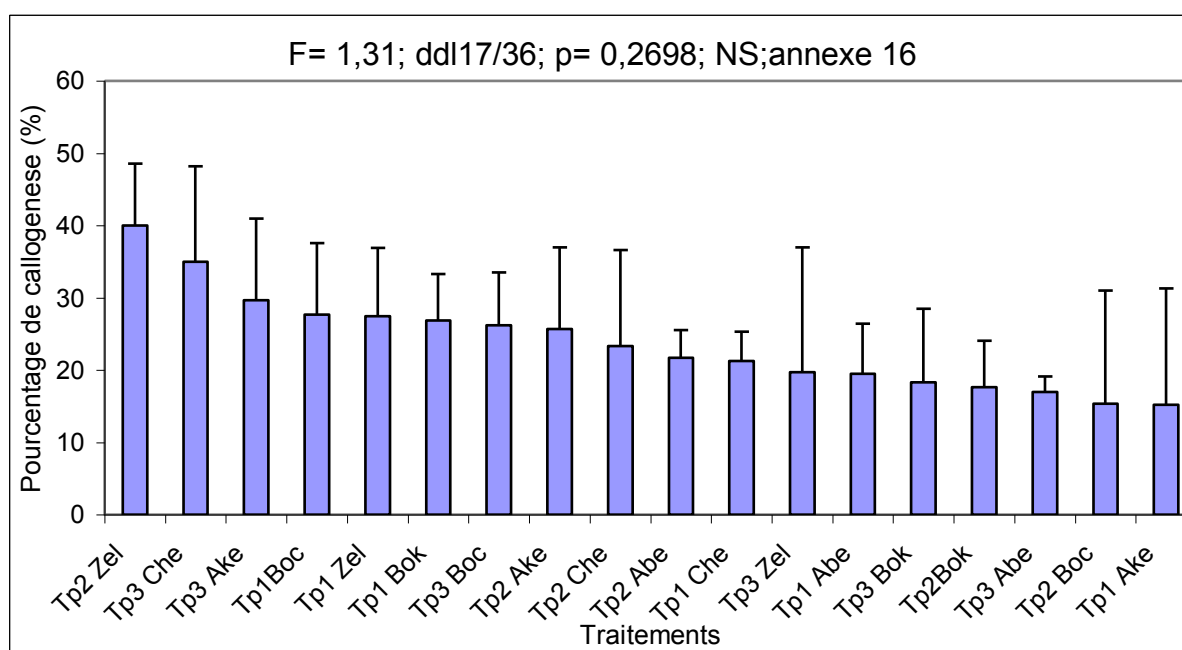


## 2.2. Induction de l'enracinement par transformation génétique.

L'étude de l'induction de l'enracinement par transformation génétique est basée sur les mêmes paramètres que ceux du traitement hormonal en n'utilisant que la bouture d'origine médiane en association ou non avec la souche A<sub>4</sub> réactivée préalablement par une concentration d'acétosyringone 10 µM. Différents temps de trempage dans la suspension *Agrobacterium rhizogenes* (10, 20 et 30 secondes) ont été étudiés et 6 variétés.

### 2.2.1 Pourcentage de boutures avec cal

Les pourcentages de boutures avec cals varient d'un traitement à l'autre. Ainsi le pourcentage le plus faible 15,17 % a été noté pour la variété Akerma trempée pendant 10 secondes dans A<sub>4</sub>, et le pourcentage le plus élevé 40% pour la variété Zeltani trempée pendant 20 secondes dans la suspension bactérienne (Fig 24). Cependant, l'analyse de la variance n'a révélé aucun effet significatif du traitement sur ce paramètre. ( $p=0,2698$ ; annexe 16).

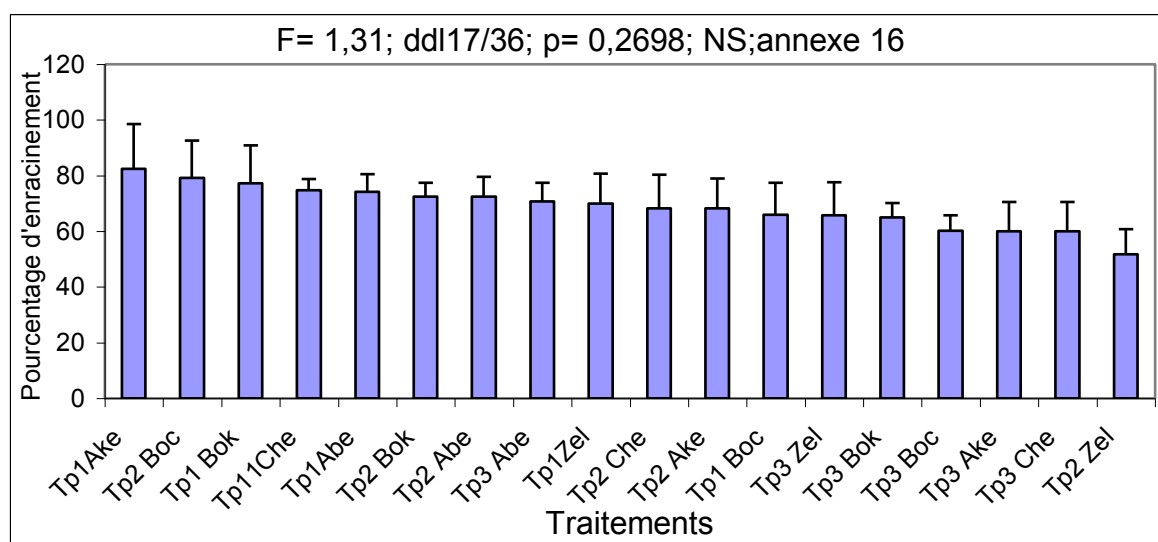


**Fig. 24 :** Variation du pourcentage de boutures avec cal en fonction du génotype et du temps de trempage dans la souche A<sub>4</sub>.

### 2.2.2 Pourcentage de boutures enracinées

Les résultats montrent que, les boutures soumises à l'inoculation par *Agrobacterium rhizogenes* (souche A<sub>4</sub>) présentent un pourcentage d'enracinement variable allant de 51,67 % pour les boutures de la variété Bouichret trempées pendant 20 secondes dans suspension bactérienne jusqu'à 82,5 % pour les boutures de la variété Akerma trempées pendant 10 secondes. Cependant, l'analyse de la variance ne montre aucun effet significatif des traitements appliqués ( $p=0,3164$ , annexe 17) (Fig. 25).

Pour la variété Chemlal, le pourcentage d'enracinement s'est amélioré à 74, 83% par rapport aux résultats du test préliminaire qui étaient que de 61,9 %. L'absence d'effet significatif des traitements serait dû à l'hétérogénéité des résultats obtenus au sein de chaque variété due à la qualité de la bouture et au nombre assez limité de répétition (45).



**Fig. 25** : Variation du pourcentage d'enracinement en fonction du génotype et du temps de trempage dans la suspension bactérienne

### 2.2.3 Nombre moyen de racines par bouture

Pour ce paramètre, les boutures de la variété Chemlal traitées pendant 10 secondes par la souche A<sub>4</sub> réactivée avec 10 $\mu$ M d'acétosyringone ont été caractérisées par le développement du plus grand nombre de racines. Dans ces conditions, le nombre moyen de racines par bouture est de 11,67. L'ANOVA ne montre pas d'effet d'interaction entre les facteurs étudiés ( $p= 0,1043$ ; annexe 18). Cependant, l'étude des deux facteurs séparément montre un effet hautement significatif, pour le facteur F1 (génotype) ( $p= 0,0128$ ; annexe 18) et pas d'effet significatif pour le facteur F2 (temps de trempage) ( $p=0.1581$ , annexe18).

Ainsi, le test de la PPDS montre deux groupes homogènes pour le facteur F1 (Fig 26). En effet, quel que soit le temps du trempage utilisé pour le traitement des boutures par la souche A<sub>4</sub> réactivée avec 10µM d'acétosyringone, le développement du plus grand nombre de racines principales sur les boutures est enregistré pour la variété « Chemlal » classé dans le groupe A (Fig. 26). Dans ces conditions, le nombre moyen de racines par bouture enracinée est de 8,56. Par ailleurs, le nombre moyen de racines par bouture enracinée le plus faible est enregistré chez la variété « Akerma » (5,33) classé dans le groupe B. Les autres variétés sont caractérisées par un développement intermédiaire du nombre de racines par bouture.

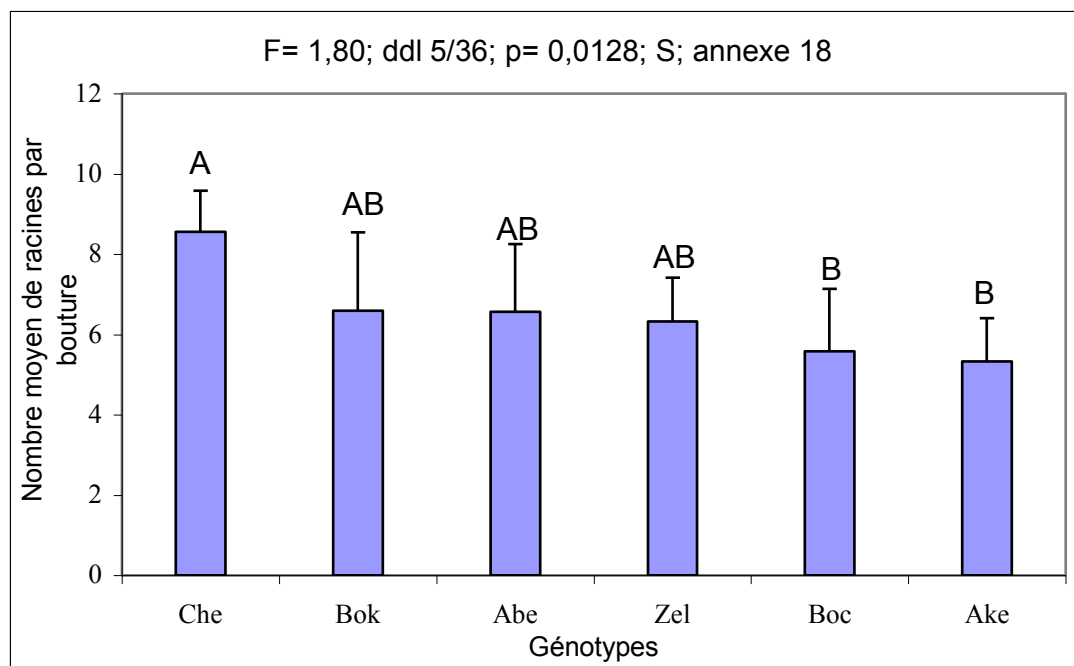


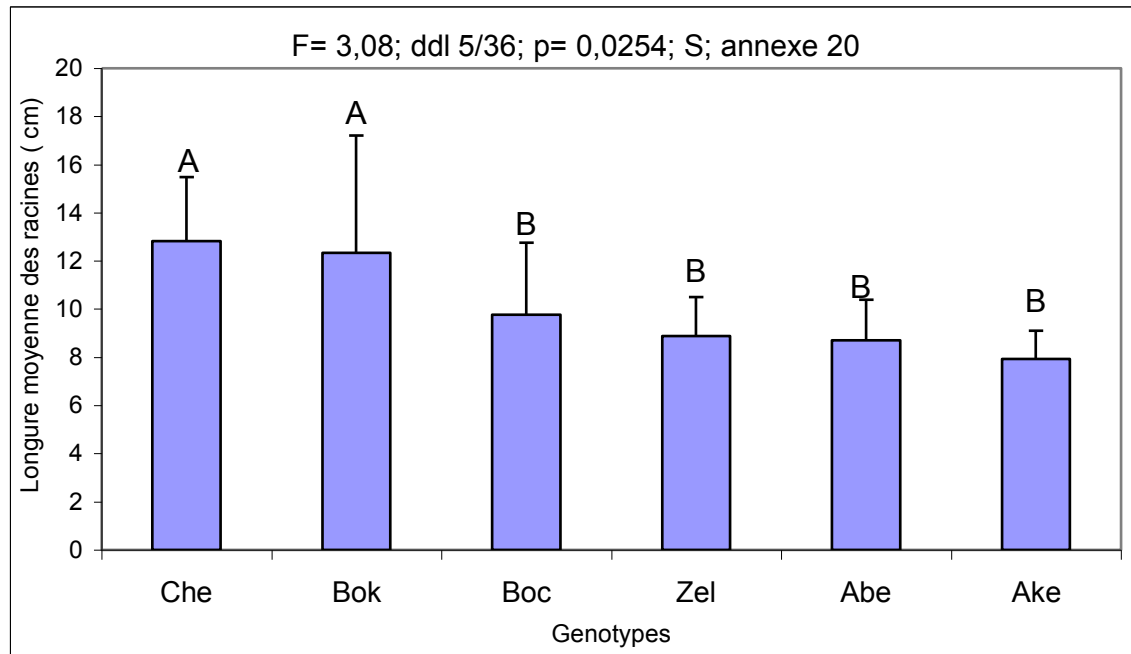
Fig. 26: Variation du nombre moyen de racines par bouture enracinée en fonction du génotype.

#### 2.2.4 Longueur moyenne des racines principales

L'analyse de la variance ne révèle pas d'effet d'interaction ( $p= 0,0893$ ; annexe 20). L'étude des deux facteurs séparément révèle un effet significatif, du facteur génotype ( $p= 0.0254$ ; annexe 20), et non significatif du temps de trempage dans la suspension bactérienne ( $p=0.6623$ , annexe 20).

Pour le génotype, le test de la PPDS montre deux groupes homogènes (figure 36). En effet, quel que soit le temps de trempage des boutures dans la suspension (souche A<sub>4</sub> réactivée avec 10µM d'acétosyringone) c'est les variétés Chemlal et Boukaila qui donnent le plus important développement en longueur des racines induites (Fig 27). Dans ces conditions, les longueurs moyennes de racines principales induites par bouture enracinée sont respectivement de 12,82 et 12,34 cm classés dans le groupe A.

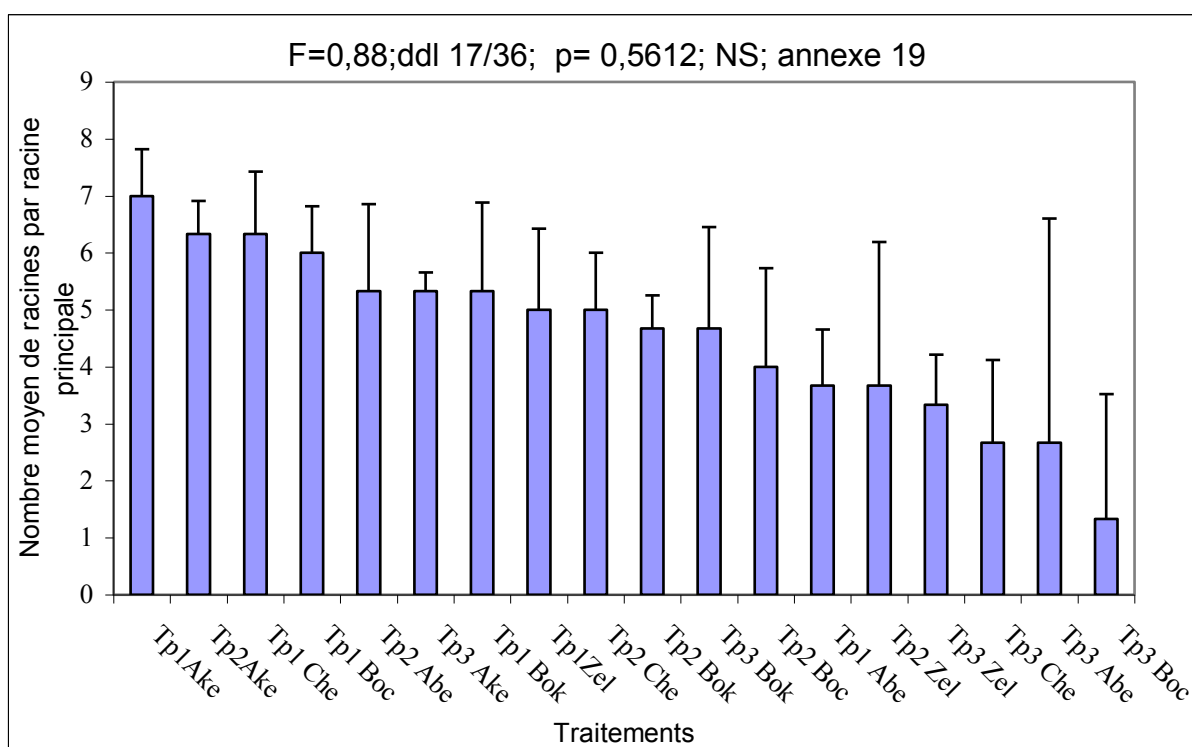
Par ailleurs, le groupe B renferme les plus faibles développements en longueur de racines principales induites par bouture enracinée, qui sont celles des variétés Bouichret, Zeltani, Aberkane et Akerma, dont les longueurs moyennes sont respectivement 9,76, 8,88, 8,70 et 7,92cm.



**Fig. 27:** Variation de la longueur moyenne des racines principales en fonction des génotypes, inoculés avec la souche A<sub>4</sub>.

### 2.2.5 Nombre moyen de ramifications par racine principale

L'analyse de la variance ne montre aucun effet significatif du temps de trempage de la bouture dans la suspension bactérienne, ni du génotype sur le paramètre étudié ( $p= 0.5612$ , annexe 19) (Fig 28). L'absence de signification statistique serait toujours dû au faible nombre de répétitions, puisque seules les boutures enracinées sont considérées ici.



**Fig 28** : Variation du nombre de ramifications par racine principale en fonction des génotypes et du temps de traitement par la souche d’*Agrobacterium rhizogenes*,réactivée avec 10µM d’acétosyringone

### 2.2.6 Conclusion

Les résultats de cette partie montrent que : le taux d’induction de chevelu racinaire est fortement influencé par le génotype. En effet, avec la même souche A<sub>4</sub> réactivée préalablement par 10 µM d’acétosyringone nous avons obtenus des taux d’induction de 82,5% pour Akerma, 77,33% pour Boukaila, 74,83% pour Chemlal, 74,17 % pour Aberkane, 70 % pour Zeltani et 66 % pour Bouichret. Ces taux d’enracinement sont obtenus avec le même temps de trempage 10 secondes pour tous les génotypes à l’exception de la variété Bouichret dont le meilleur taux est obtenu par trempage pendant 20 secondes dans la souche A<sub>4</sub>.le temps de trempage des boutures ne semble pas affecter la qualité de l’enracinement. On pourrait ainsi conclure que quel que soit le temps de trempage, les bactéries adhèrent avec la même intensité sur les boutures pour favoriser l’enracinement ultérieur. La planche 9 montre la qualité de l’enracinement obtenu par induction à l’*Agrobacterium rhizogenes* A<sub>4</sub> sur les 6 variétés étudiées.

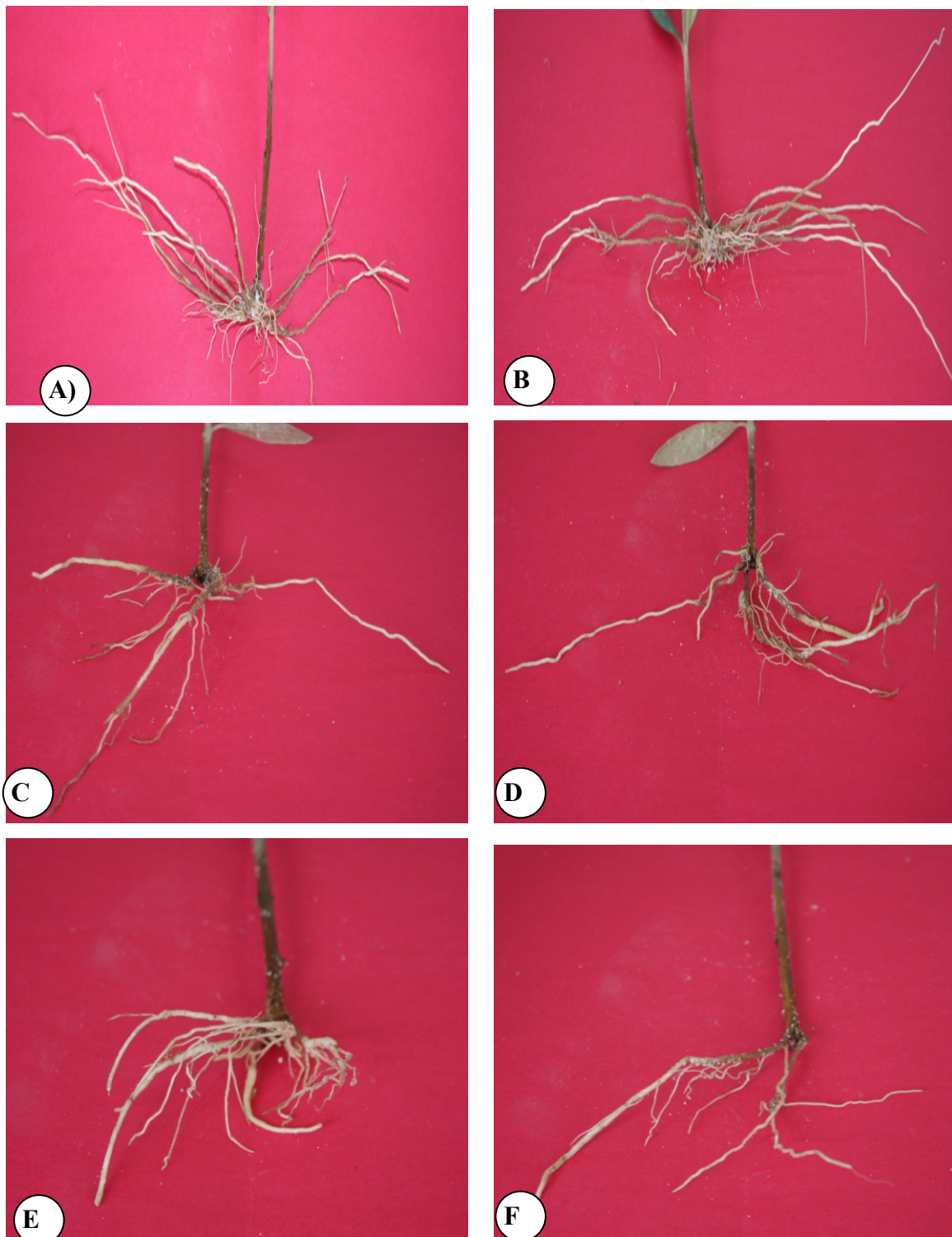


Planche 9: Aspect des racines obtenues sur des boutures de différents génotypes soumises à la souche  $A_4$  réactivée avec  $10\mu\text{M}$  d'acétosyringone pendant 10 secondes.

A: bouture enracinée de la variété Aberkane.

B: bouture enracinée de la variété Zeltani.

C: bouture enracinées de la variété Chemlal.

D: bouture enracinée de la variété Akerma.

E: bouture enracinée de la variété Boukaila.

F: bouture enracinée de la variété Bouichret.

## II. Acclimatation et suivi des boutures enracinées.

Pour évaluer les boutures enracinées lors de l'essai préliminaire soit par traitement hormonal soit par transformation génétique, un certains nombres de paramètres ont été observés.

### 1. Enracinement à l'AIB.

#### 1.1 .Taux de reprise

D'une manière générale, l'ensemble des traitements, enregistre des taux de reprise intéressants. Cependant, l'intensité de celle-ci varie d'un traitement à l'autre, et l'analyse de la variance n'a pas révélé d'effet d'interaction entre le traitement hormonal et l'origine de la bouture sur le rameau pour ce paramètre ( $p=0.8510$ ; annexe 21). Néanmoins, l'ANOVA ayant porté sur les deux facteurs séparément, révèle pour le facteur F1, origine de la bouture sur le rameau ( $p=0.0012$ ; annexe 21) un effet très hautement significatif, et pas d'effet significatif pour le facteur F1 dose et forme d'hormone, ( $p=0.3161$  annexe 6)

Concernant le facteur F2 origine de la bouture, le test de Newman et Keuls classe les traitements en deux groupes homogènes A et B. Ainsi, les boutures médianes et basales ont enregistré les taux de reprise les plus élevés 98,33% et 95,56%, classées dans le groupe A. Par contre le groupe B s'individualise avec un seul type de boutures (apicales) dont le taux de reprise est le plus faible soit, 91,67% (Fig 29).

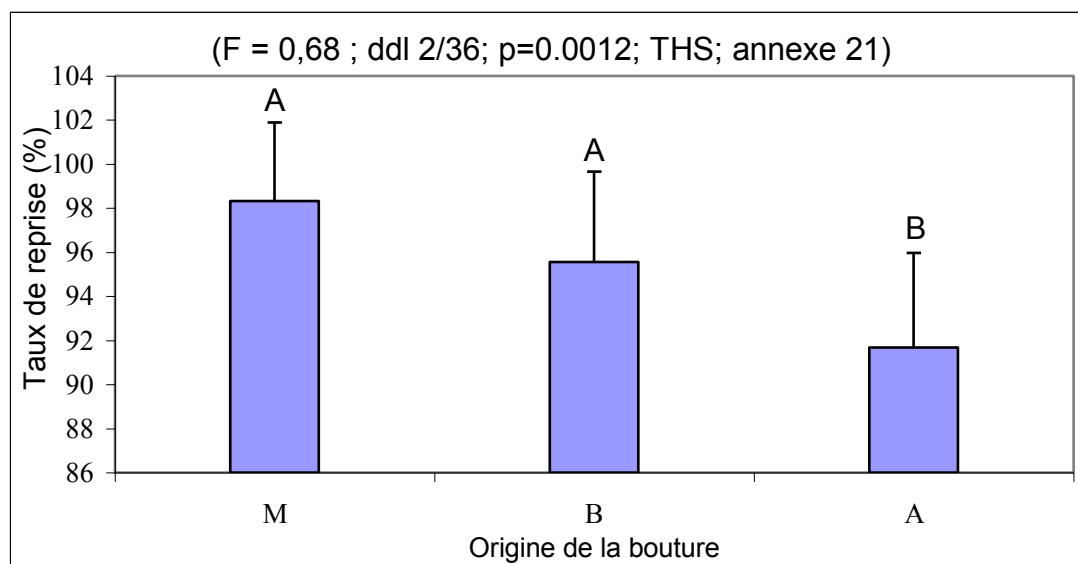


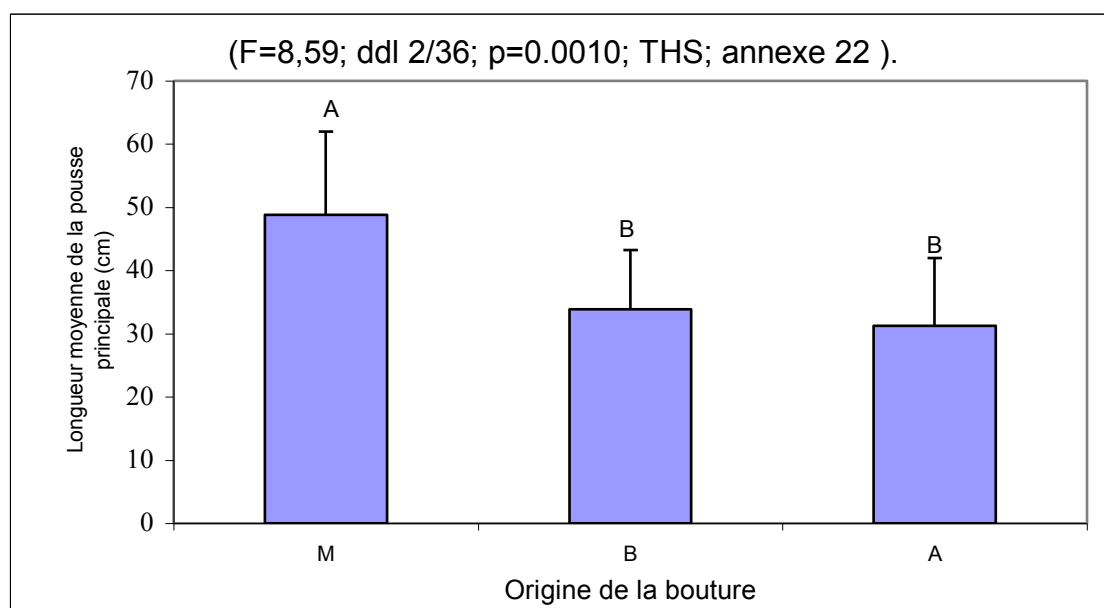
Fig. 29 : Variation du taux de reprise des boutures enracinées en acclimatation en fonction de l'origine de la bouture.

## 1.2. Biométrie de la partie aérienne

### 1.2.1. Longueur moyenne de la pousse principale

D'après les résultats obtenus après 6 mois, tous les traitements, montrent une croissance des pousses variable selon les traitements de départ. (Planche 10 : A, B, C, D et E).

L'analyse de la variance n'a révélé aucun effet d'interaction entre le facteur F1 (dose et forme de l'AIB) et le facteur F2 (origine de la bouture sur le rameau) pour ce paramètre ( $p=0,7389$  ; annexe 22). L'ANOVA ayant porté sur les deux facteurs séparément ne révèle pas non plus d'effet significatif pour le facteur F1 ( $p=0.0980$ ; annexe22) mais pour le facteur F2 ( $p=0.0010$ ; annexe 22) un effet très hautement significatif. Pour ce dernier facteur, le test de Newman-Keuls classe les traitements en deux groupes homogènes. Ainsi les boutures médianes donnent la plus importante croissance en longueur 48,79cm, classées dans le groupe A et celles issues des boutures Apicales et basales groupe B, donnent les plus faibles longueurs (Fig 30).



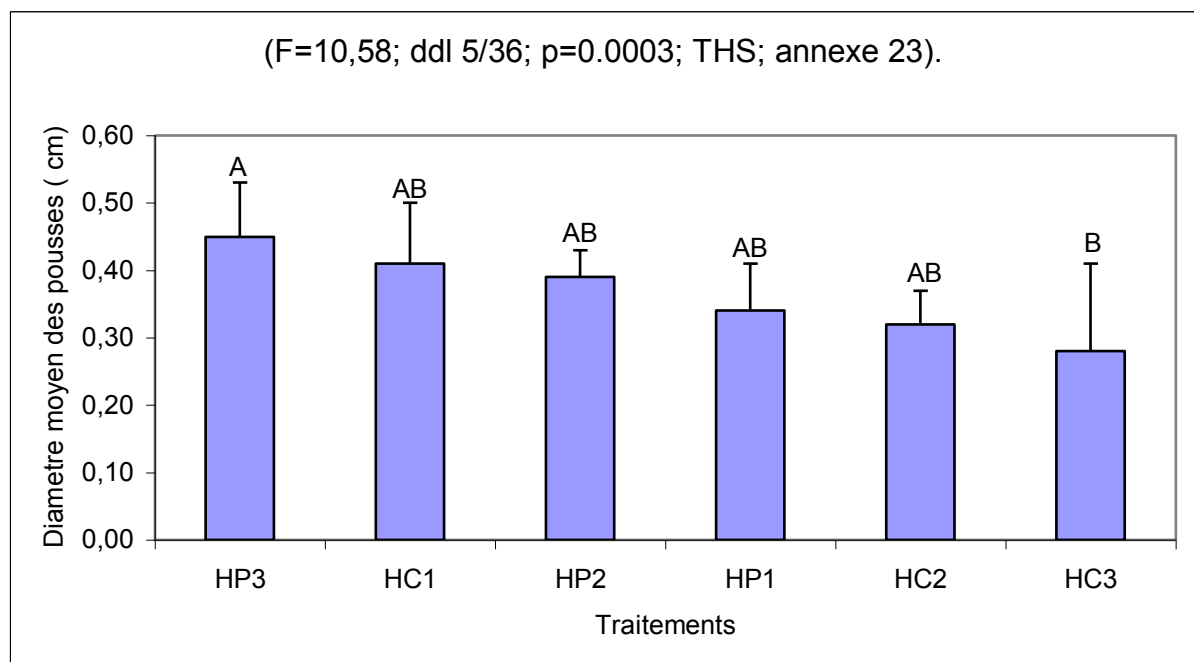
**Fig. 30** : Variation de la longueur moyenne des pousses en acclimatation en fonction de l'origine de la bouture sur le rameau



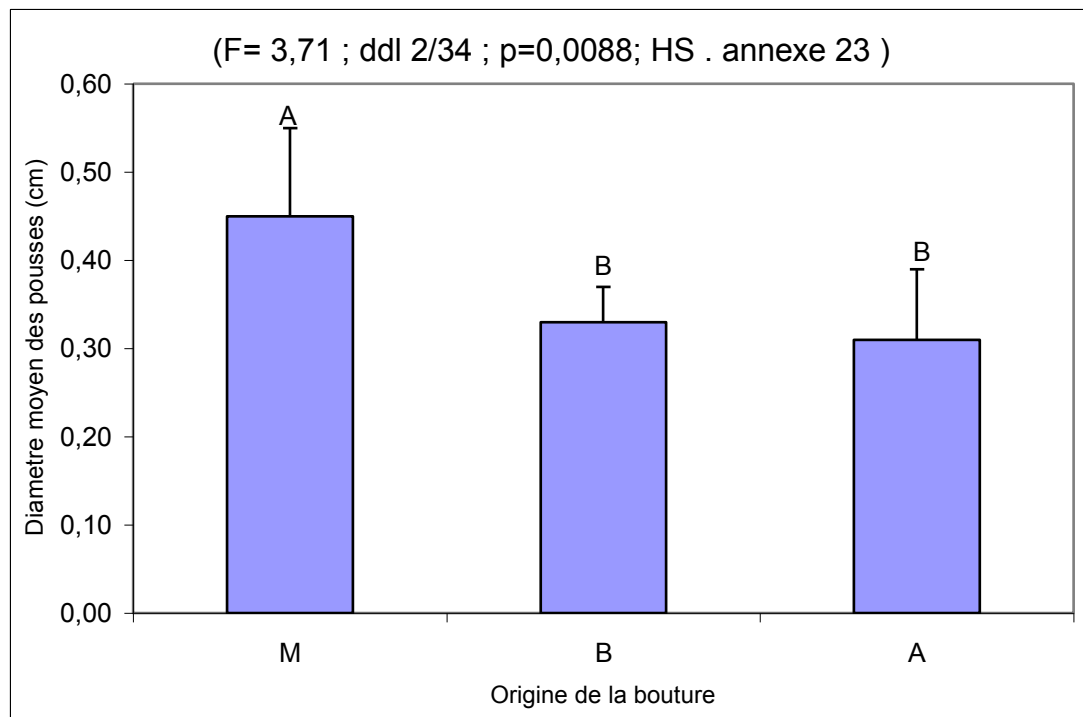
## 1.2. 2. Diamètre moyen de la pousse principale

Les résultats de l'analyse de la variance ne montrent pas d'effet d'interaction significatif entre les deux facteurs étudiés (forme et concentration hormonale ainsi que l'origine de la bouture sur le rameau initial) sur le développement en diamètre des boutures enracinées au sixième mois d'élevage ( $p=0,5913$ ; annexe 23). Toutefois, un effet très hautement significatif est mis en évidence lorsque les deux facteurs sont considérés séparément F1 ( $p=0.0088$ ; annexe 23) et F2 ( $p=0.0003$ ; annexe 23).

Pour le facteur F1, la comparaison des moyennes met en évidence deux groupes homogènes, A et B chevauchants (Fig31). Ainsi, le diamètre moyen par pousse principale le plus élevé (0,45cm) est obtenu par le traitement hormonal en poudre, à la concentration de 3500 ppm. Concernant le facteur F2, la comparaison des moyennes donne deux groupes homogènes distincts A et B. Le groupe A s'individualise avec un seul type de bouture (médianes) dont la moyenne est la plus élevée (0,45 cm), et le groupe B regroupe les deux autres origines respectivement (0,33 cm pour la bouture basale et 0,31cm pour la bouture apicale (fig 32).



**Fig. 31** : Variation du diamètre moyen des pousses en acclimatation en fonction de la forme et la concentration d'AIB .



**Fig. 32** : Variation du diamètre moyen des pousses en acclimation en fonction de l'origine de la bouture sur le rameau

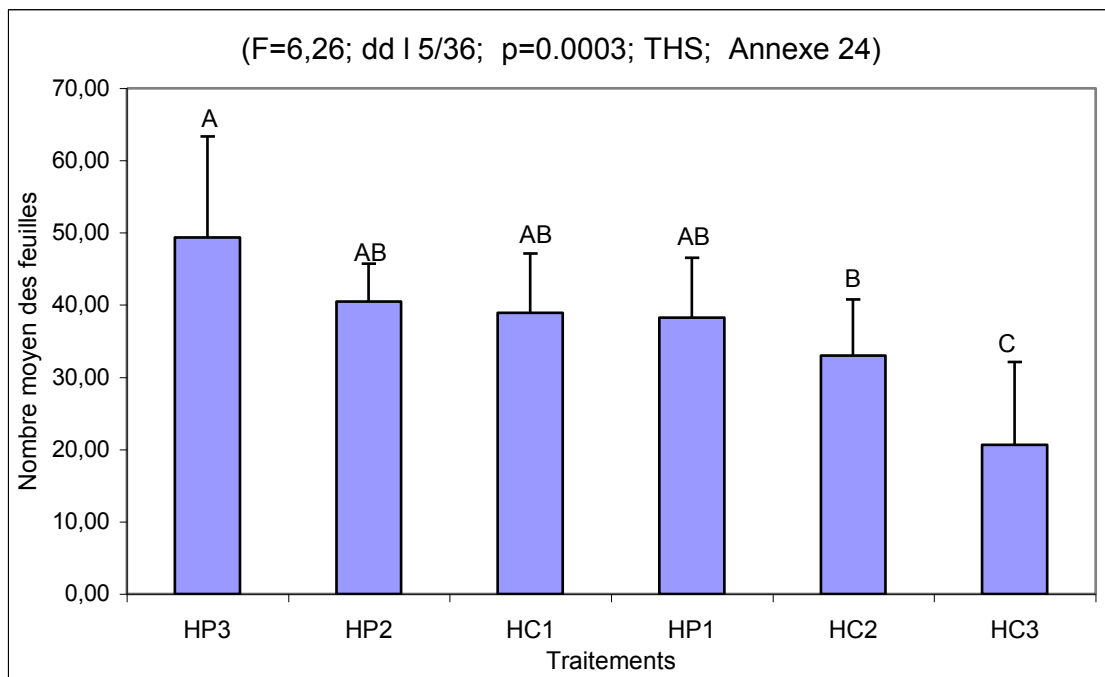
### 1.2. 3 Nombre moyen de feuilles par plant.

Pour ce paramètre, l'ensemble des traitements présente un nombre de feuilles par bouture racinée variable selon la concentration de l'AIB, le mode de traitement ainsi que l'origine de la bouture sur le rameau initial. L'analyse de la variance ne révèle aucun effet d'interaction significatif ( $p=0,7762$ ; annexe 24).

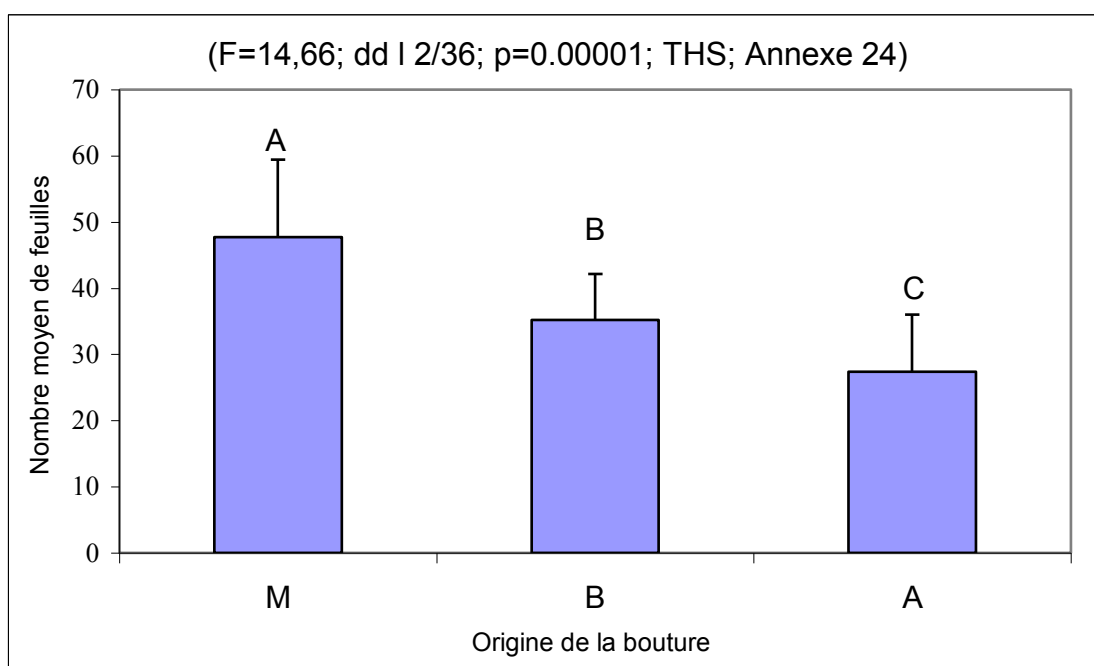
L'étude des deux facteurs séparément montre un effet hautement significatif, pour les facteurs étudiés F1 (dose et forme de l'AIB) ( $p=0.0003$ ; annexe 24), et F2 (origine de la bouture sur le rameau) ( $p=0.0000$ ; annexe 24).

Concernant le facteur F1, le test de Newman-keuls classe les traitements en trois groupes homogènes A, B et C dont deux chevauchants (AB). Ainsi, la dose de 3500 ppm en poudre donne le nombre le plus élevé de feuilles par bouture enracinée 49,33, (groupe A). Les autres traitements appartiennent aux groupes B et C (Fig. 33).

Pour le facteur F2, la comparaison des moyennes par le test de Newman-Keuls a révélé trois groupes homogènes. Ainsi, les boutures médianes donnent le nombre de feuilles le plus élevé (47,72), classées dans le groupe (A). Les boutures basales et apicales donnent des différents nombres moyens de feuilles appartiennent aux groupes B et C (Fig34).



**Fig.33** : Variation du nombre moyen des feuilles par pousse en acclimation en fonction de la forme et la concentration d'AIB

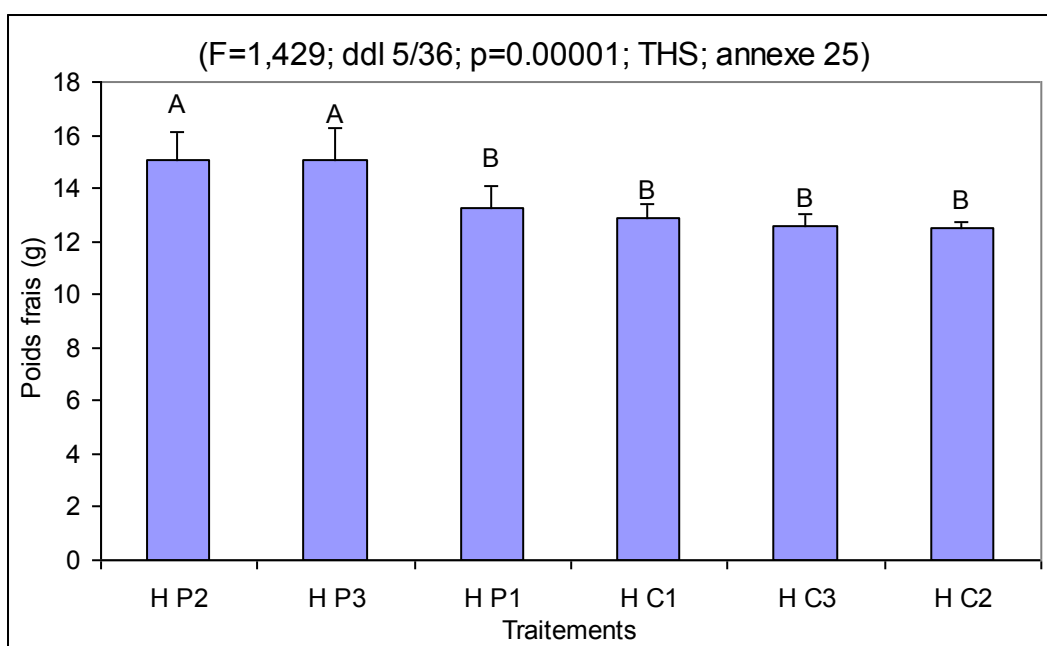


**Fig. 34** : Variation du nombre moyen des feuilles par pousse en acclimation en fonction de l'origine de la bouture sur le rameau

#### 1.2.4. Poids frais de la partie aérienne

Les résultats obtenus après 6 mois montrent que, l'ensemble des traitements favorise le développement de la partie aérienne exprimé en poids frais variable selon les traitements de départ.

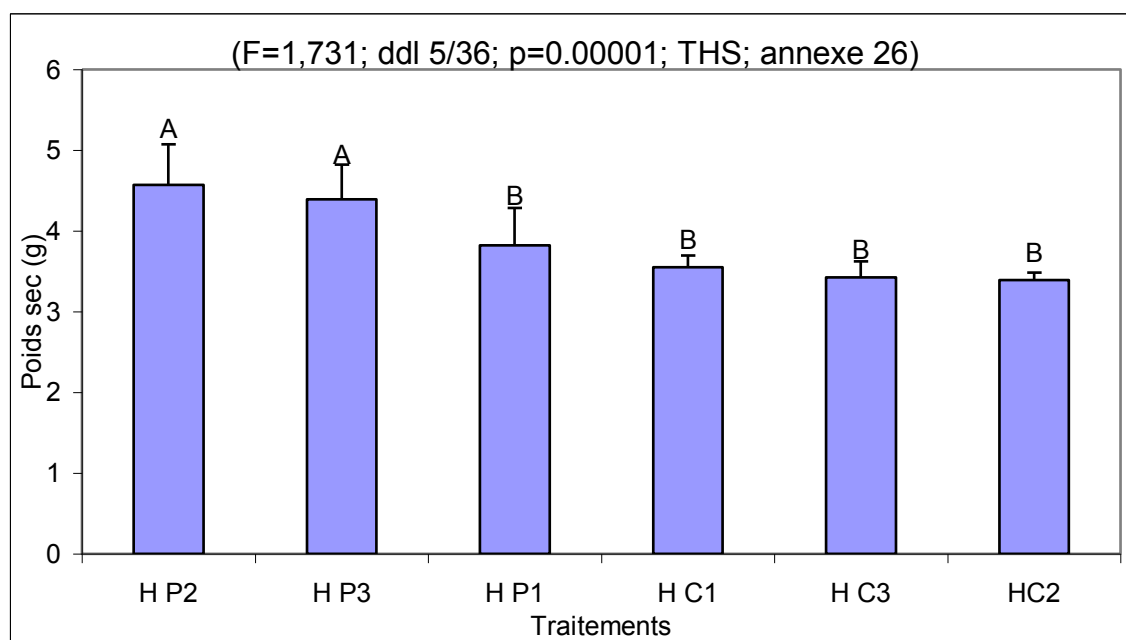
L'analyse de la variance ne montre cependant, aucun effet d'interaction entre la forme, la concentration hormonale, et l'origine de la bouture sur le rameau pour le paramètre étudié ( $P=0,20713$ ; annexe25). De même, l'ANOVA ayant porté sur les deux facteurs séparément, ne révèle pas d'effet significatif pour le facteur F2 ( $p=0.33725$ ; annexe25) et elle montre cependant pour le facteur F1 un effet très hautement significatif ( $p=0.00001$ ; annexe 26). Ainsi, le test de Newman-Keuls classe les traitements en deux groupes homogènes. Les boutures traitées avec 3000 et 3500 ppm en poudre donnent la plus importante croissance exprimée en poids frais soit de 15,069 g, 15,061 g, classées dans le groupe A les autres traitements appartiennent au groupes B (Fig35).



**Fig.35** : Variation du poids frais de la partie aérienne des pousses en acclimatation en fonction de la forme et la concentration d'AIB.

### 1.2.5. Poids sec de la partie aérienne

Les résultats obtenus après 6 mois montrent des résultats variables en fonction des traitements. L'analyse de la variance ne montre aucun effet d'interaction entre la forme, la concentration hormonale, ainsi que l'origine de la bouture sur le rameau pour le paramètre étudié ( $P=0,20713$ ; annexe26). De même, l'ANOVA ayant porté sur les deux facteurs séparément, ne révèle pas d'effet significatif pour le facteur F2 ( $p=0.33725$ ; annexe26), mais révèle un effet très hautement significatif pour le facteur F1 ( $p=0.00001$ ; annexe 26). Le test de Newman-Keuls classe les traitements en deux groupes homogènes. Les boutures traitées avec 3000 et 3500 ppm en poudre donnent la plus importante croissance exprimée en poids sec 4,567 gr et 4,389 gr, classées dans le groupe A. Les autres traitements donnent des poids secs appartenant au groupe B (Fig. 36).

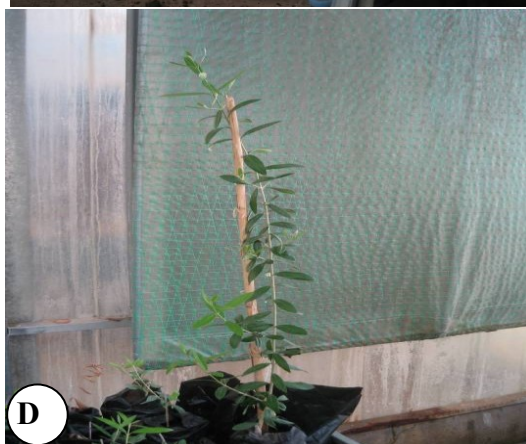


**Fig.36** : Variation du poids sec de la partie aérienne des pousses en acclimatation en fonction de la forme et la concentration d'AIB.

### 1.2.6. Conclusion

Le développement des boutures racinées en élevage montre la supériorité des boutures médianes par rapport aux autres. De même, la concentration de l'AIB à 3500 ppm en poudre donne les meilleurs résultats pour la majorité des paramètres étudiés à l'exception du poids frais de la partie aérienne dont les meilleurs résultats sont obtenus avec la concentration de 3000 ppm, en poudre .

La Planche 11 illustre le développement de la partie aérienne des boutures de différents origines enracinées par l'AIB.



**E** **Planche 10:** Aspect de la partie aérienne après 6 mois d'élevage des plants de la variété Chemlal obtenus à partir des boutures enracinées par traitement hormonal (AIB).

- A :** bouture basale traitée avec 3500ppm d'AIB en solution.
- B :** bouture apicale traitée avec 3500ppm d'AIB en poudre.
- C :** bouture médiane traitée avec 2500ppm d'AIB en solution.
- D :** bouture médiane traitée avec 3500ppm d'AIB en poudre.
- E :** vue générale des boutures racinées en acclimatation.

### 1.3. Biométrie de la partie racinaire

#### 1.3.1. Longueur moyenne de la racine principale

Les résultats montrent que les plants d'olivier obtenus à partir des boutures apicales traitées avec de l'AIB en poudre à 3500 ppm, ainsi que les boutures basales traitées avec la même concentration hormonale en solution, favorisent un important développement en longueur au sixième mois d'élevage avec respectivement 46,67cm et 45 cm. Cependant, les plus faibles longueurs sont enregistrées avec les boutures basales traitées avec de l'AIB en poudre à 3500 ppm, ainsi que les boutures médianes et apicales traitées respectivement avec de l'AIB en solution à 3000 ppm et 2500 ppm (Planche 11 : A, B et C).

L'analyse de la variance montre un effet très hautement significatif de l'interaction entre le traitement hormonal et l'origine de la bouture sur le rameau pour ce paramètre ( $p=0,0000$ ; annexe 27).

Le test de la PPDS montre trois groupes homogènes A, B, C dont deux sont chevauchants (BC). Les meilleures longueurs de racines sont obtenues avec les boutures apicales traitées avec de l'AIB en poudre à 3500 ppm et les plus faibles avec les mêmes boutures traitées avec de l'AIB en solution à 2500 ppm avec respectivement 46,67, 45,67 et 45 (Fig 37).

Les deux facteurs pris séparément ne montrent pas d'effet direct sur la longueur de la racine principale.

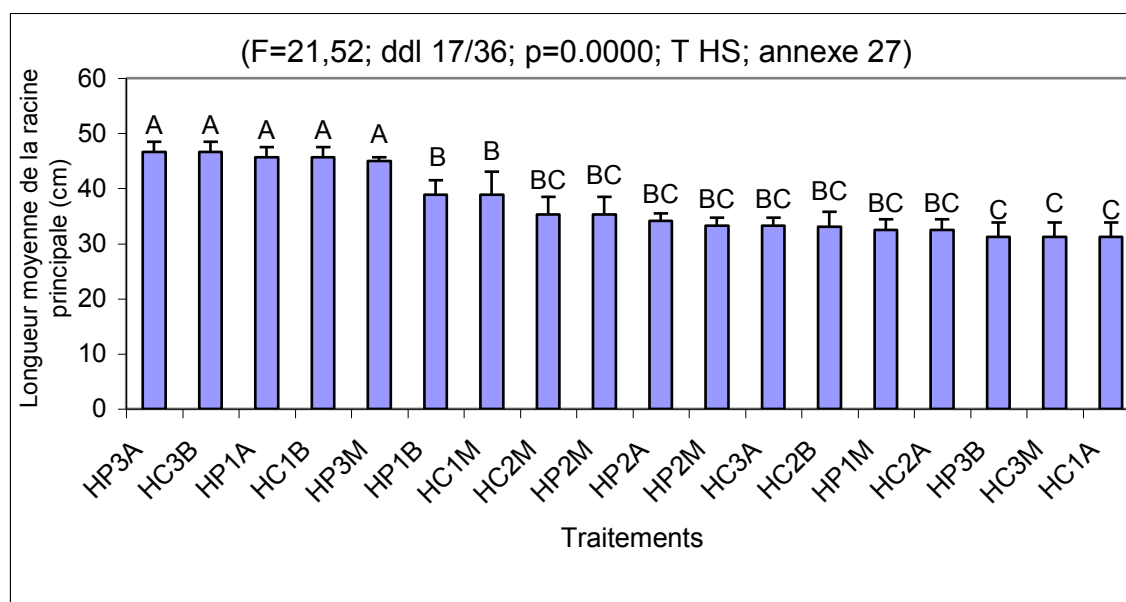
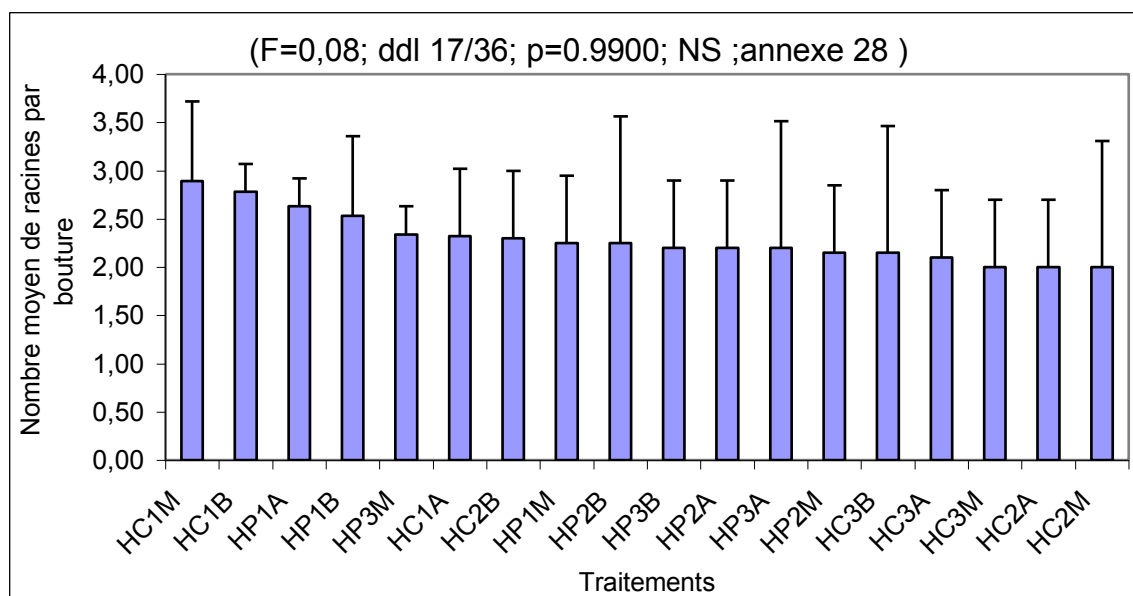


Fig. 37 : Variation de la longueur moyenne de la racine principale en fonction de la forme, la concentration d'AIB et l'origine de la bouture sur le rameau.

### 1.3.2. Nombre moyen de racines par plant

L'analyse de la variance ne montre aucun effet significatif de l'interaction entre le traitement hormonal et l'origine de la bouture sur le rameau pour ce paramètre ( $p=0,9900$ ; annexe 28). L'étude des deux facteurs séparément ne montre pas non plus d'effet significatif, pour le facteur F1 (la forme et concentration hormonale) ( $p=0,9791$ ; annexe 28), ni pour le facteur F2 (origine de la bouture sur le rameau), ( $p=0,9740$  ; annexe 28)



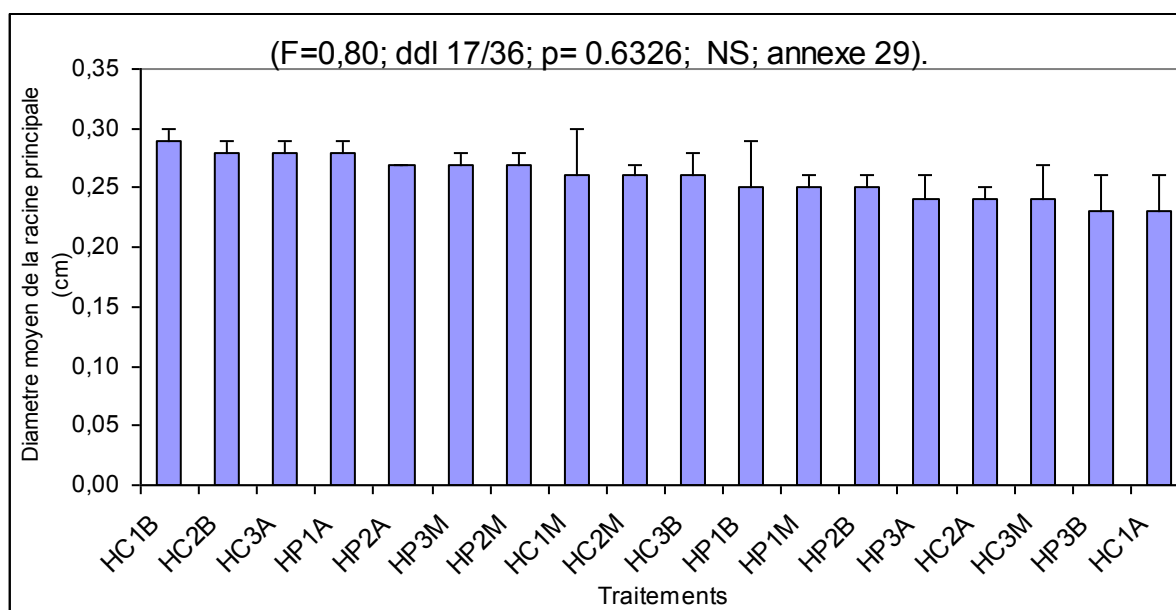
**Fig.38** : Variation du nombre moyen de racines par plants en fonction de la forme, la concentration d'AIB et l'origine de la bouture sur le rameau.

### 1.3.3. Diamètre moyen de la racine principale

L'analyse de la variance ne révèle pas d'effet d'interaction. ( $p= 0.6326$  ; annexe 29). L'étude des deux facteurs séparément ne montre aucun effet significatif, pour le facteur F1 (la forme et concentration hormonale) ( $p= 0.9614$ ; annexe 29), ni pour le facteur F2 (origine de la bouture sur le rameau), ( $p=0,9733$  ; annexe 29). La figure 39 exprime les diamètres obtenus en fonction des traitements à l'AIB et l'origine de la bouture sur le rameau. Ils varient de

0,23 cm à 0,29 cm respectivement pour les boutures apicales traitées avec 2500 ppm d'AIB en solution (HC1A) et les boutures basales traitées avec la même concentration d'AIB en poudre (HC1B).

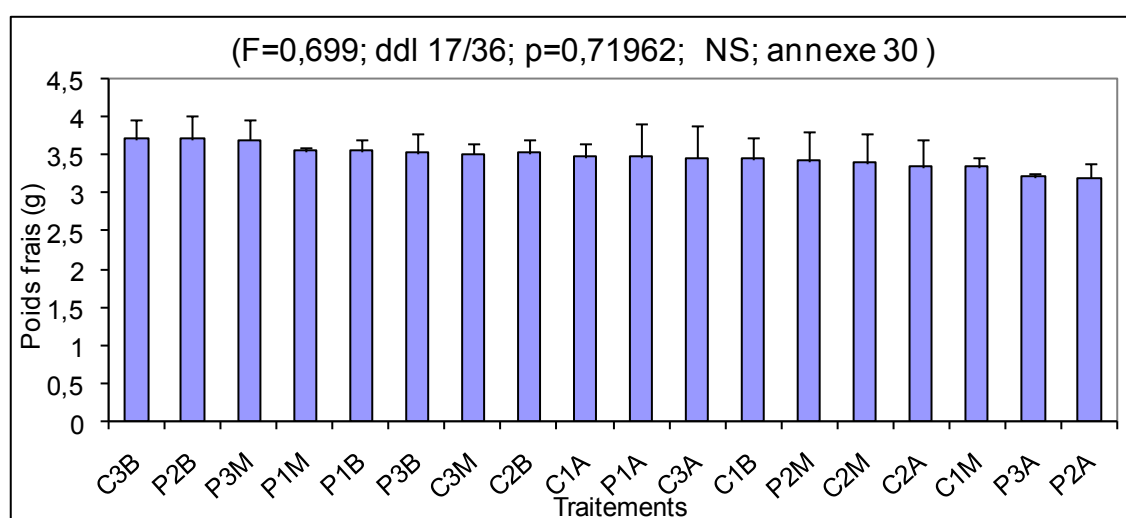




**Fig.39** : Variation du diamètre moyen des racines principales en fonction de la forme, la concentration d'AIB et l'origine de la bouture sur le rameau.

### 1.3.4. Poids frais de la partie racinaire.

Les résultats de l'analyse de la variance ne montrent aucun effet d'interaction significatif des traitements appliqués. ( $p=0,71962$ ; annexe 30), de même pour les deux facteurs séparément, pour le facteur F1 ( $p= 0,8399$  ; annexe 30) et pour le facteur F2, ( $p=0, 0,07289$  ; annexe 30), (Fig40). Le poids sec varie de 3 ,202 à 3,717 pour les boutures apicales traitées avec 3000 ppm d'AIB en poudre (P2A) et les boutures basales traitées avec 3500 ppm d'AIB en solution (C3B).

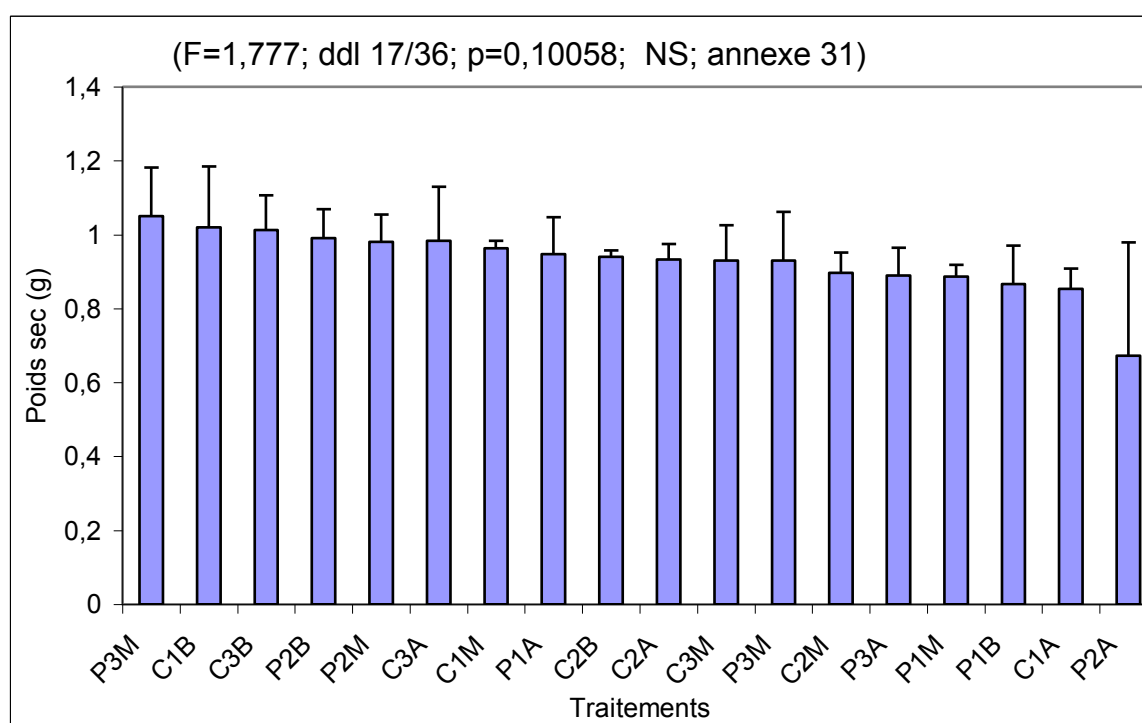


**Fig.40** : Variation du poids frais de la partie racinaire en fonction de la forme, la concentration d'AIB et l'origine de la bouture sur le rameau.

### 1.3.5. Poids sec de la partie racinaire

Les résultats de l'analyse de la variance ne révèlent ni effet d'interaction significatif des traitements appliqués ( $p=0,10058$ ; annexe 31), ni pour les deux facteurs pris séparément, pour le facteur F1 ( $p=0,51285$ ; annexe 31), pour le facteur F2 ( $p=0,08446$  ; annexe 31) (Fig 41).

Le poids frais varie de 0,673 à 1,05 g pour les boutures apicales traitées avec 3000 ppm d'AIB en poudre (P2A) et les boutures médianes traitées avec 3500 ppm d'AIB en poudre (P3M).



**Fig.41** : Variation du poids sec de la partie racinaire en fonction de la forme, la concentration d'AIB et l'origine de la bouture sur le rameau.

### 1.3.6. Conclusion

Ces résultats confirment, ceux obtenus pour le nombre moyen de racines lors de l'essai d'induction de l'enracinement par le traitement hormonal. Par contre, ils ne confirment pas ceux obtenus pour la longueur moyenne des racines. La concentration de l'AIB à 2500 ppm en solution donne les meilleurs résultats pour la majorité des paramètres étudiés à l'exception du poids sec dont le meilleur résultat est obtenu par la même concentration d'AIB mais en solution, de même pour le poids frais de la partie racinaire. La planche 11 illustre, les résultats de l'enracinement obtenus après 6 mois d'acclimatation.



**Planche 11:** Aspect de la partie racinaire après 6 mois d'acclimatation des boutures issues du traitement hormonal.

**A :** boutures apicales traitées avec 3500 ppm d'AIB en poudre.

**B :** boutures basales traitées avec 3500ppm d'AIB en solution.

**C :** boutures médianes traitées avec 3500ppm d'AIB en poudre

## 2. Enracinement par transformation génétique.

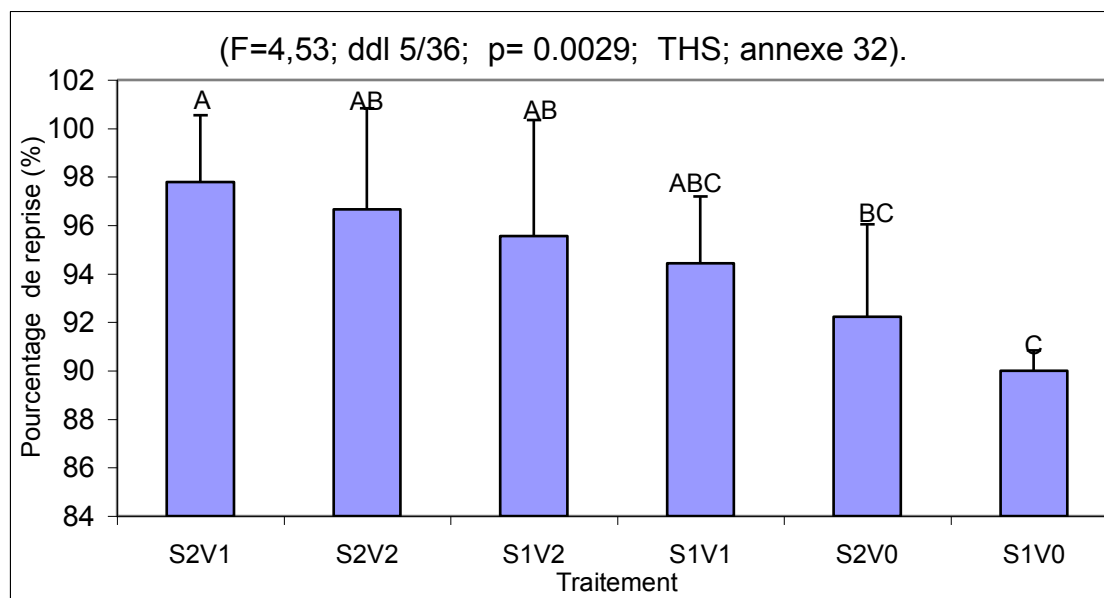
### 2.1 .Taux de reprise après acclimatation

Tous les traitements ont enregistré des taux de reprise très élevés. Cependant, l'analyse de la variance n'a révélé aucun effet d'interaction sur ce paramètre ( $p= 0.2871$ ; annexe 32).

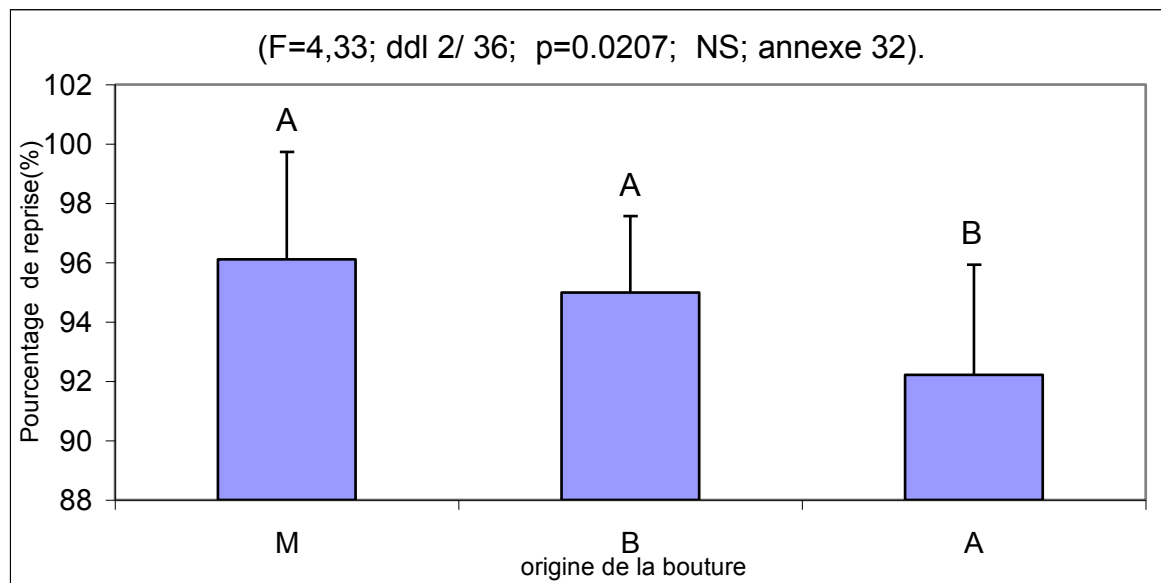
L'étude des deux facteurs séparément montre des effets hautement significatifs, pour le facteur F1 (souches d'*Agrobacterium rhizogenes* réactivée avec différentes concentrations d'Acétylsyringone), ( $p= 0.0029$ ; annexe 32), et pour le facteur F2 (origine de la bouture sur le rameau), ( $p=0.0207$ ; annexe 32).

Concernant, le facteur F1 (Fig 42), le test de Newman-Keuls classe les traitements en trois groupes homogènes; (A, B et C), tous chevauchants (AB, ABC et BC). En effet la souche K<sub>47</sub> réactivée avec 10 $\mu$ M d'acétylsyringone favorise le taux de reprise le plus élevé sur l'ensemble des boutures quelle que soit leur origine sur le rameau. Dans ces conditions, le taux de reprise le plus élevé est de 97,78 %, classé dans le groupe A.

Pour le facteur F2, la comparaison des moyennes donne deux groupes homogènes ; A et B. Ainsi, la bouture médiane donne le taux de reprise le plus élevé 96,11 %, classée dans le groupe A (Fig 43).



**Fig. 42** : Variation du taux de reprise en acclimatation en fonction des souches d'*Agrobacterium rhizogenes* et la concentration de l'acétylsyringone.



**Fig.43** : Variation du taux de reprise des boutures enracinées par *Agrobacterium rhizogenes* en fonction de l'origine de la boutures sur le rameau.

## 2.2. Biométrie de la partie aérienne

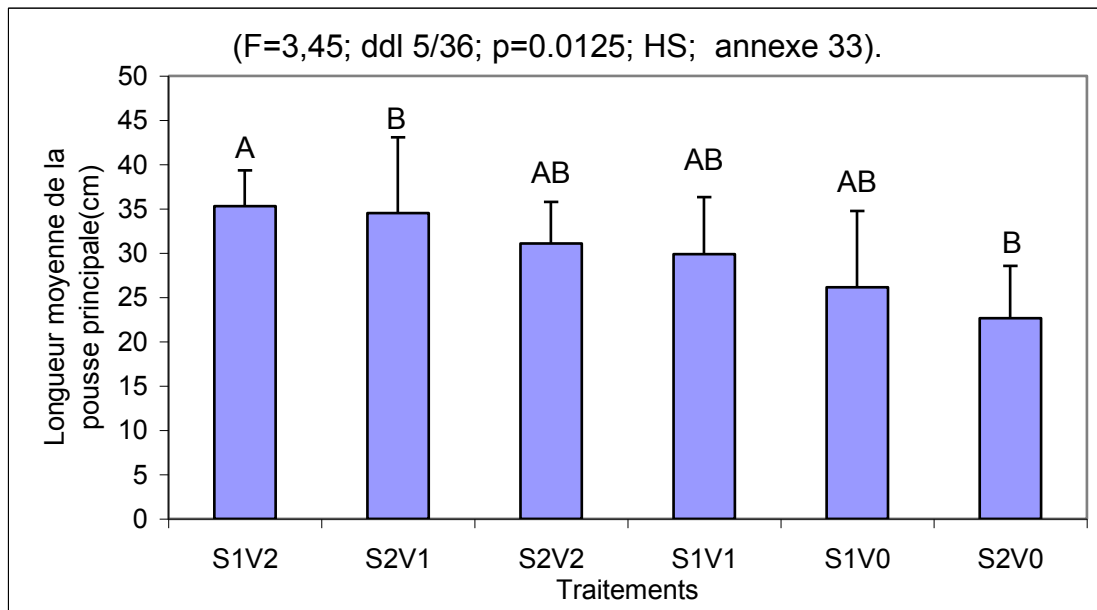
### 2.2.1. Longueur moyenne de la pousse principale

D'une manière générale, tous les traitements, induisent une croissance en longueur des pousses plus au moins importante.

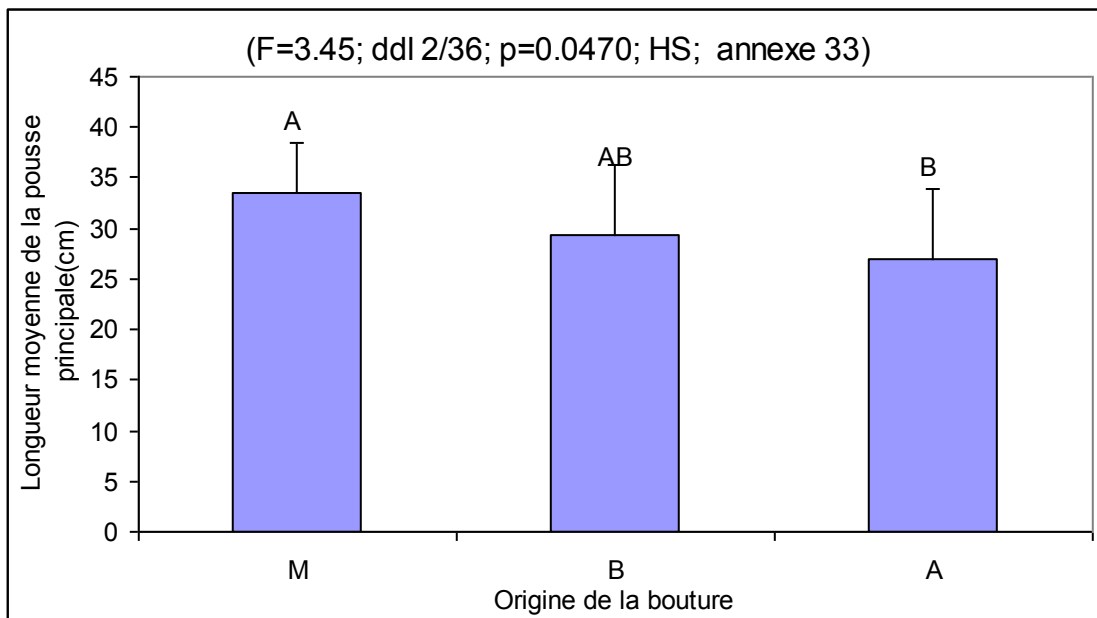
L'analyse de la variance ne montre cependant pas d'effet d'interaction entre les deux facteurs étudiés (origine de la bouture souches d'*Agrobacterium rhizogenes* réactivés ou non) ( $p=0.1530$ ; annexe 33). Toutefois, un effet significatif est mis en évidence lorsque les deux facteurs sont considérés séparément, pour le facteur F1 (souches d'*Agrobacterium rhizogenes* réactivé avec différentes concentrations d'acétylsyringone), ( $p=0.0470$ ; annexe 33), et le facteur F2 (origine de la bouture sur le rameau), ( $p=0.0125$ ; annexe 33).

Concernant, le facteur F1, le test de Newman-Keuls classe les traitements en deux groupes homogènes chevauchants A et B, (Fig 44). En effet la souche A<sub>4</sub> réactivée avec 20  $\mu\text{M}$  d'acétylsyringone favorise le plus important développement en longueur (35,29 cm) de la partie aérienne

Pour le facteur F2, la comparaison des moyennes donne toujours deux groupes homogènes chevauchants A et B (Fig 45). Ainsi, la bouture médiane enregistre le plus important développement en longueur 33, 56 cm.



**Fig.44** : Variation de la longueur moyenne des pousses en acclimatation en fonction de la souche d'*Agrobacterium rhizogenes* et la concentration de l'acétosyringone.



**Fig. 45** : Variation de la longueur moyenne des pousses en acclimatation en fonction de l'origine de la bouture sur le rameau.

### 2.2.2 Diamètre moyen de la pousse principale

Quelle que soit la souche *Agrobacterium rhizogenes* utilisée, c'est la souche K47 réactivée avec 10 $\mu$ M qui montre les meilleurs diamètres avec 0,37 cm pour les boutures médianes (Fig 46). Cependant l'analyse de la variance ne montre aucun effet d'interaction significatif ( $p=0.1759$ ; annexe 34). L'étude des deux facteurs séparément ne montre non plus pas d'effet significatif, pour le facteur F1 (souches d'*Agrobacterium rhizogenes* réactivée avec différentes concentrations d'acétosyringone) ( $p= 0.0788$  ; annexe 34), ni pour le facteur F2 (origine de la bouture sur le rameau), ( $p= 0. 0764$  ; annexe 34).

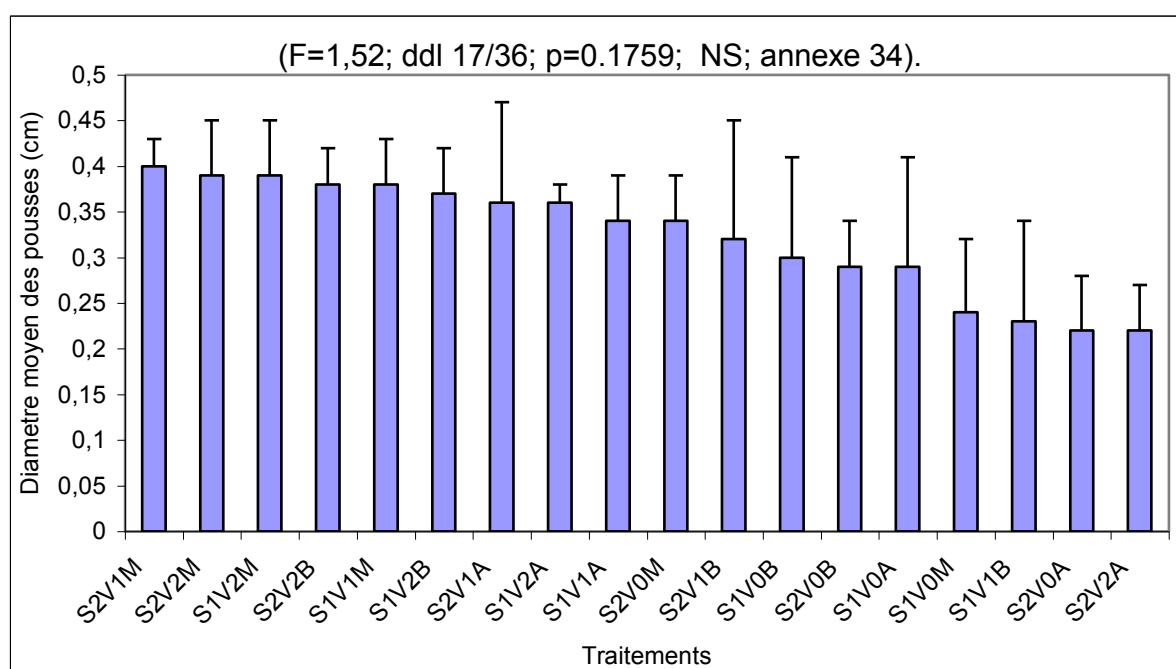
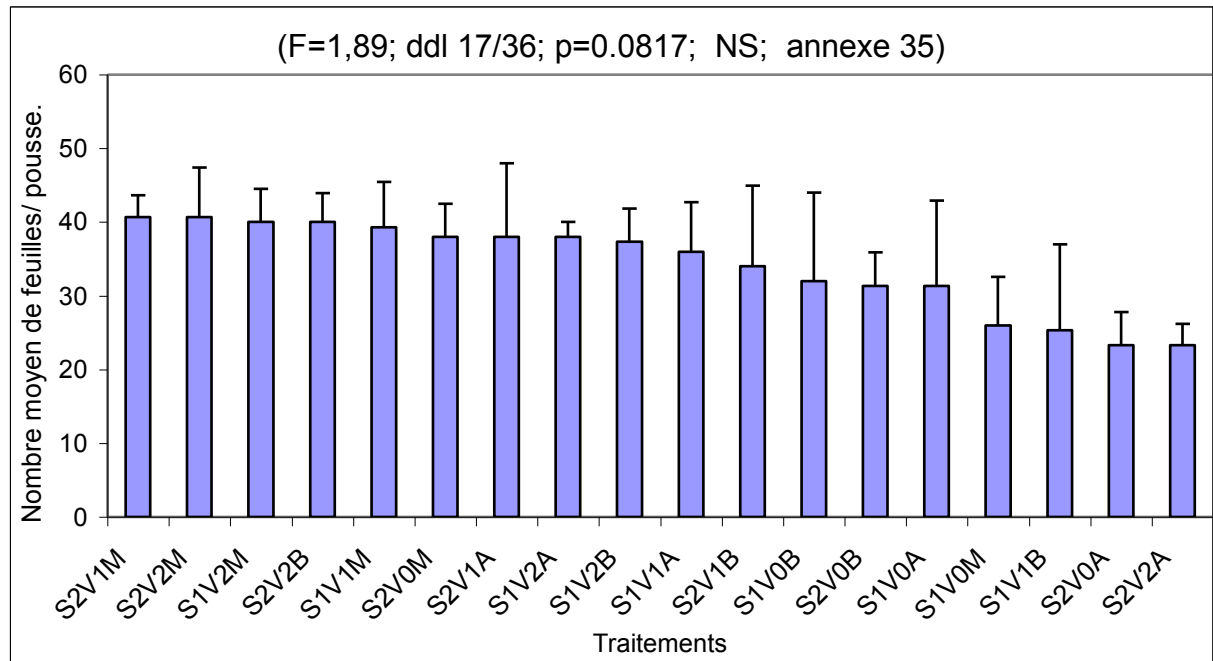


Fig. 46 : Variation du diamètre moyen des pousses en acclimatation en fonction de la souche d' *Agrobacterium rhizogenes*, la concentration de l'acétosyringone et l'origine de la bouture sur le rameau.

### 2.2.3. Nombre moyen de feuilles par plant

L'ensemble des traitements présente un nombre de feuilles très important, ainsi les boutures médianes inoculées par la souche K<sub>47</sub> réactivée avec 10 $\mu$ M d'acétosyringone (S2V1M) semble favoriser le plus élevé nombre de feuilles par plant (40,67), contrairement au même type de boutures inoculées par la même souche d'*Agrobacterium rhizogenes* réactivée avec 20 $\mu$ M d'acétosyringone (S2V1M) dont on enregistre le nombre de feuilles le moins important soit 22 (Fig 47). Cependant, l'analyse de la variance ne montre toujours pas d'effet d'interaction ( $p=0.0817$ ; annexe 35).

L'étude des deux facteurs séparément ne montre non plus pas d'effet significatif, pour le facteur F1 (souches d'*Agrobacterium rhizogenes* réactivées avec différentes concentrations d'acétosyringone) ( $p= 0.1097$ ; annexe 35), ni pour le F2 (origine de la bouture sur le rameau), ( $p= 0.0693$ ; annexe 35).



**Fig.47** : Variation du nombre moyen de feuilles de la partie aérienne en fonction de la souche d'*Agrobacterium rhizogenes* ainsi que l'origine de la bouture sur le rameau.

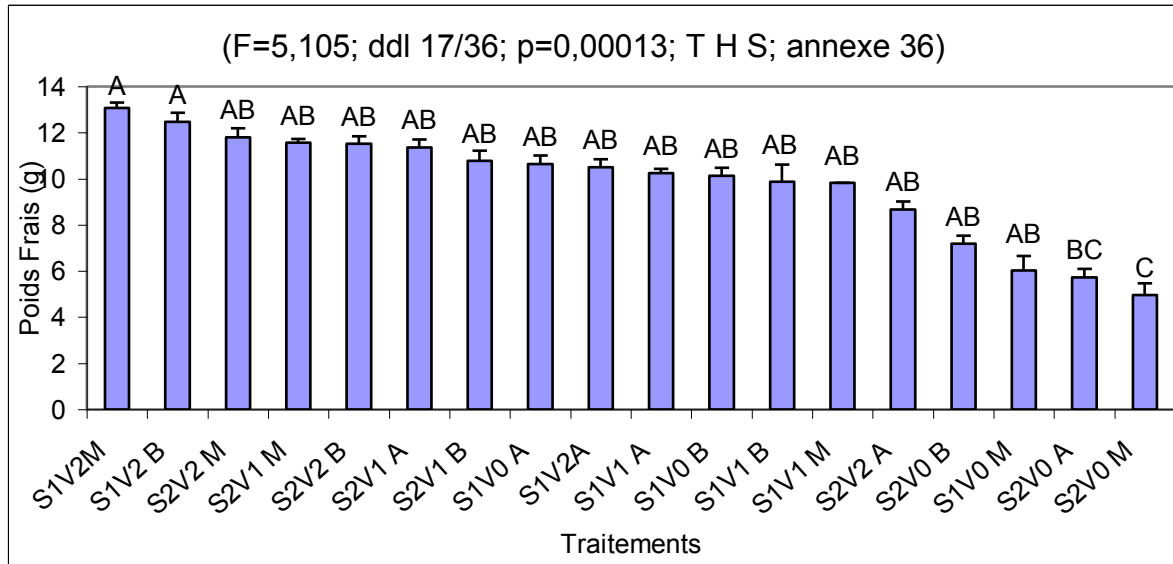
#### 2.2. 4. Poids frais de la partie aérienne

Les résultats montrent que, les boutures soumises à l'inoculation par l'*Agrobacterium rhizogènes* présentent des poids frais de la partie aérienne variables selon la souche d'*Agrobacterium rhizogenes*, ainsi que l'origine de la bouture sur le rameau.

L'analyse de la variance montre un effet d'interaction très hautement significatif ( $p= 0,00013$ ; annexe 36). La comparaison des moyennes pour ce paramètre donne trois groupes homogènes ; A, B et C dont deux sont chevauchants AB, et BC (Fig 48). En effet les boutures médianes traitées par la souche A<sub>4</sub> réactivées avec 20 $\mu$ M d'Acétosyringone favorisent la formation d'une importante biomasse de la partie aérienne (13,08 g), et les boutures apicales inoculées par la souche K<sub>47</sub> non réactivée par l'acétosyringone présentent les plus faibles résultats (4,977g).

Aucun effet significatif n'est observé lorsque les deux facteurs sont considérés séparément.



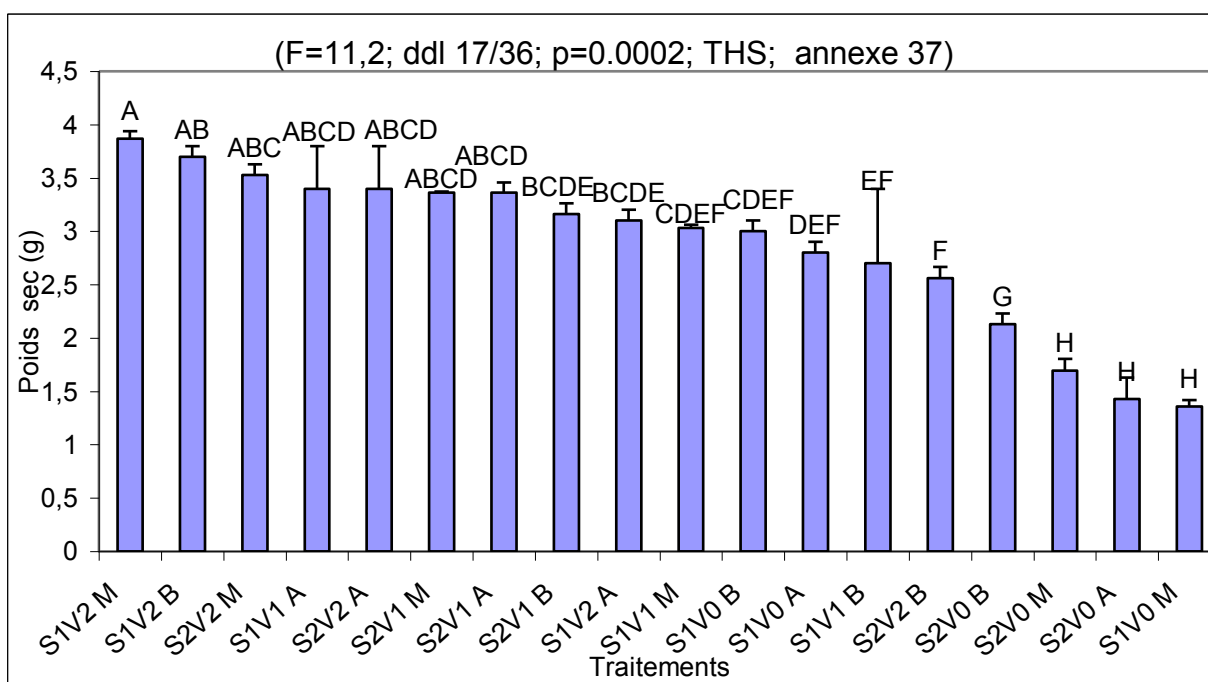


**Fig.48:** Variation du poids frais de la partie aérienne en fonction de la souche d '*Agrobacterium rhizogene*, la concentration de l'Acétosyringone et l'origine de la bouture.

### 2.2. 5. Poids sec de la partie aérienne

L'analyse de la variance révèle un effet d'interaction très hautement significatif de la souche, avec l'origine de la bouture sur le poids sec de la partie aérienne (p=0.0002; annexe 37).

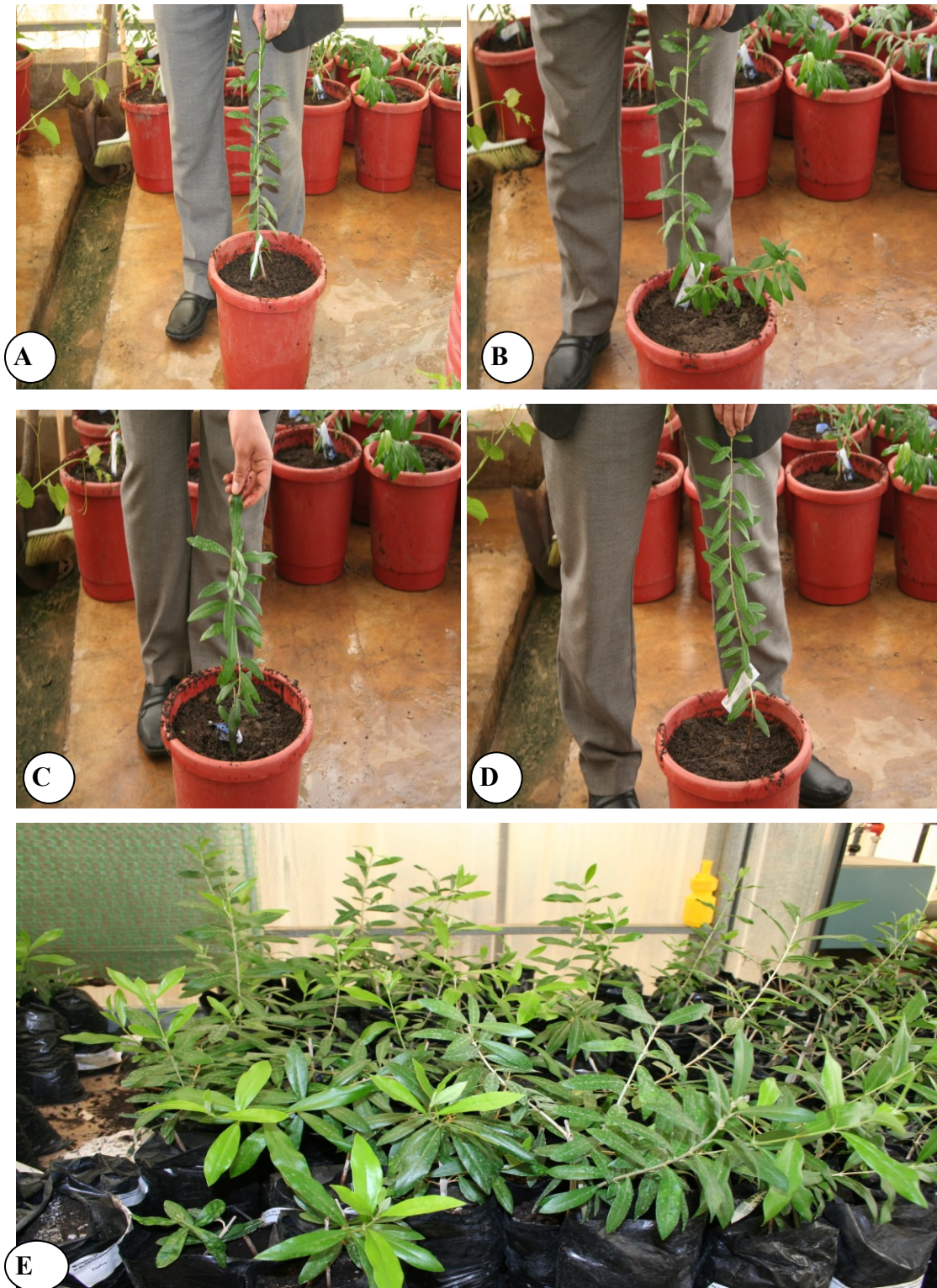
La comparaison des moyennes montre 8 groupes homogènes dont 7 sont chevauchants (Fig 49). Ainsi, le groupe A s'individualise est regroupe seulement les plants issus des boutures médianes inoculées par la souche A<sub>4</sub> réactivée avec 20µM d'acétosyringone avec 3, 87g. Le plus faible poids sec est enregistré avec le même type de boutures (médianes) inoculées par la même souche sans réactivation (1,36 g) classés dans le groupe H.



**Fig.49** : Variation du poids sec de la partie aérienne en fonction de la souche d '*Agrobacterium rhizogenes*, la concentration de l'acétosyringone et l'origine de la bouture.

### 2.2.6. Conclusion

Les résultats préliminaires du développement des boutures racinées de la variété Chemlal obtenus après transformation génétique par l'*Agrobacterium rhizogenes* montrent que les la souche A<sub>4</sub> réactivée avec 20µM présentent, le plus important développement en longueur des pousses principales (38,27 cm), Cependant, les boutures médianes inoculées par K<sub>47</sub> réactivée avec 10µM d'acétosyringone, (S2V1M) présentent, respectivement le plus important nombre moyen de feuilles par plants (40,67). Par ailleurs, les boutures médianes inoculées par la souche K<sub>47</sub> réactivée avec 10 µM (S2V1M) donnent le meilleur diamètre des pousses principales avec (0,37 cm). Les boutures médianes inoculées par A<sub>4</sub> souche réactivée avec 20µMd'acetosyringone (S1V2M) donnent les poids frais et secs les plus élevés (13,08g). (3,87g). La Planche 12 illustre les résultats relatifs à la partie aérienne des boutures enracinées par transformation à l'aide d '*Agrobacterium rhizogenes*.



**Planche 12:** Aspect de la partie aérienne en phase d'acclimation (6 mois) des plants de la variété Chemlal obtenus, par transformation génétique.

- A : bouture médiane inoculée par la souche A4 réactivée avec 20  $\mu$ M acetosyringone
- B : bouture basale inoculée par la souche K47 réactivée avec 10  $\mu$ M acetosyringone.
- C : bouture médiane inoculée par la souche A4 réactivée avec 10  $\mu$ M acetosyringone
- D : bouture basale traitée avec par la souche K47 réactivée avec 20  $\mu$ M acetosyringone.
- E : Vue d'ensemble tout traitement confondu.

## 2.3. Biométrie de la partie racinaire.

### 2.3. 1 Longueur moyenne de la racine principale.

L'analyse de la variance n'a révélé aucun effet d'interaction significatif des traitements appliqués ( $p=0.3085$ ; annexe 38).

L'étude des deux facteurs séparément ne montre pas non plus d'effet significatif, ni pour le facteur F1 (souches d'*Agrobacterium rhizogenes* réactivées avec différentes concentrations d'acétyrsyngone) ( $p= 0.5504$  annexe 38), ni pour le facteur F2 (origine de la bouture sur le rameau), ( $p= 0.2221$  annexe 38).

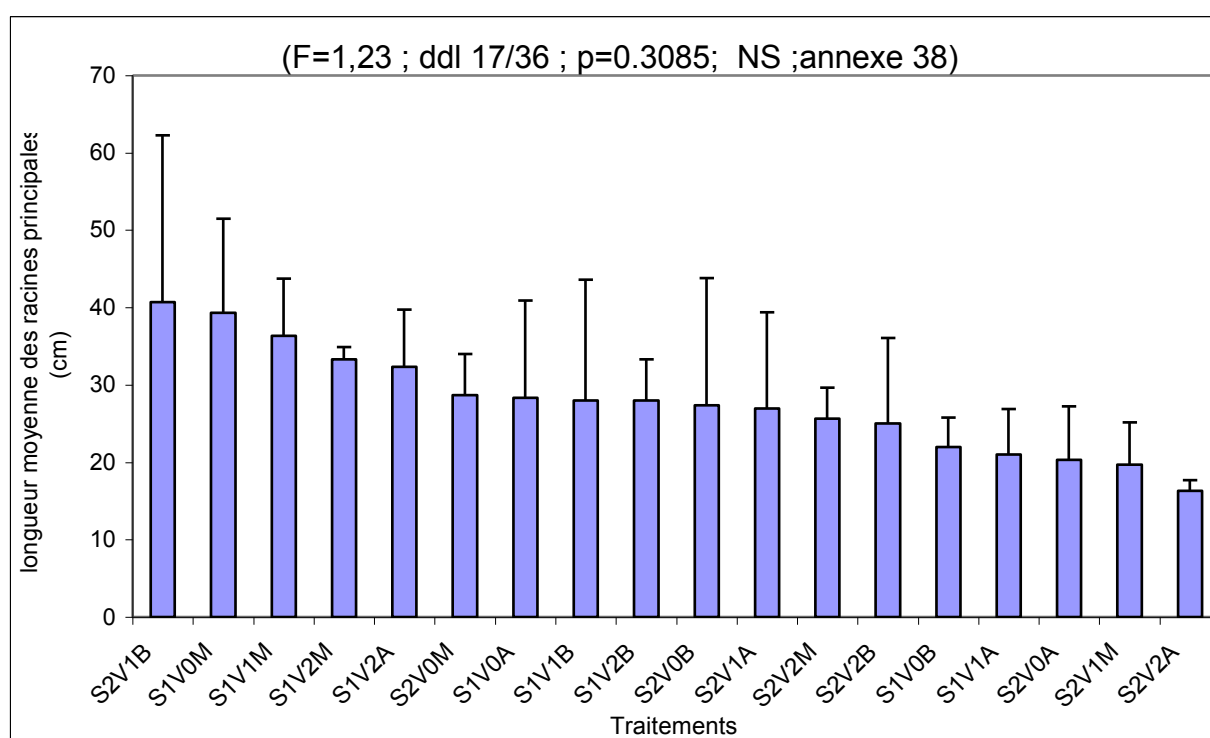
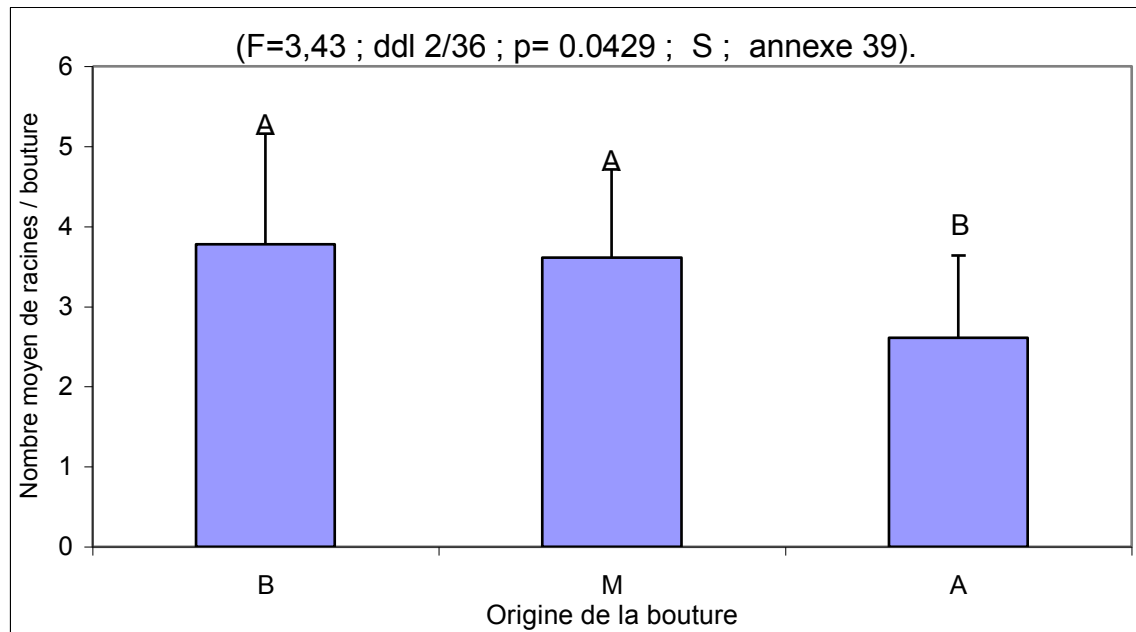


Fig. 50: Variation de la longueur moyenne des racines principales en fonction de la souche d'*Agrobacterium rhizogenes*, la concentration de l'acétyrsyngone, ainsi que l'origine de la bouture sur le rameau .

### 2.3.2. Nombre moyen de racines par plant

Pour ce paramètre, les plants d'olivier obtenus à partir des boutures médianes inoculés par la souche A<sub>4</sub> réactivée avec 10 $\mu$ M d'Acétyrsyngone enregistrent le développement d'un plus grand nombre de racines principales. Dans ces conditions, le nombre moyen de racines par bouture est de 5,33. Cependant, l'analyse de la variance ne confirme pas ce résultat et ne montre ni effet d'interaction, ni effet du facteur F1 significatifs. Néanmoins, l'ANOVA révèle un effet significatif du facteur F2 ( $p= 0,0429$  ; annexe 39). Ainsi, la comparaison des

moyennes donne deux groupes homogènes ; A et B (Fig 51). Les boutures basales donnent le nombre de racines par bouture le plus élevé (3,78)

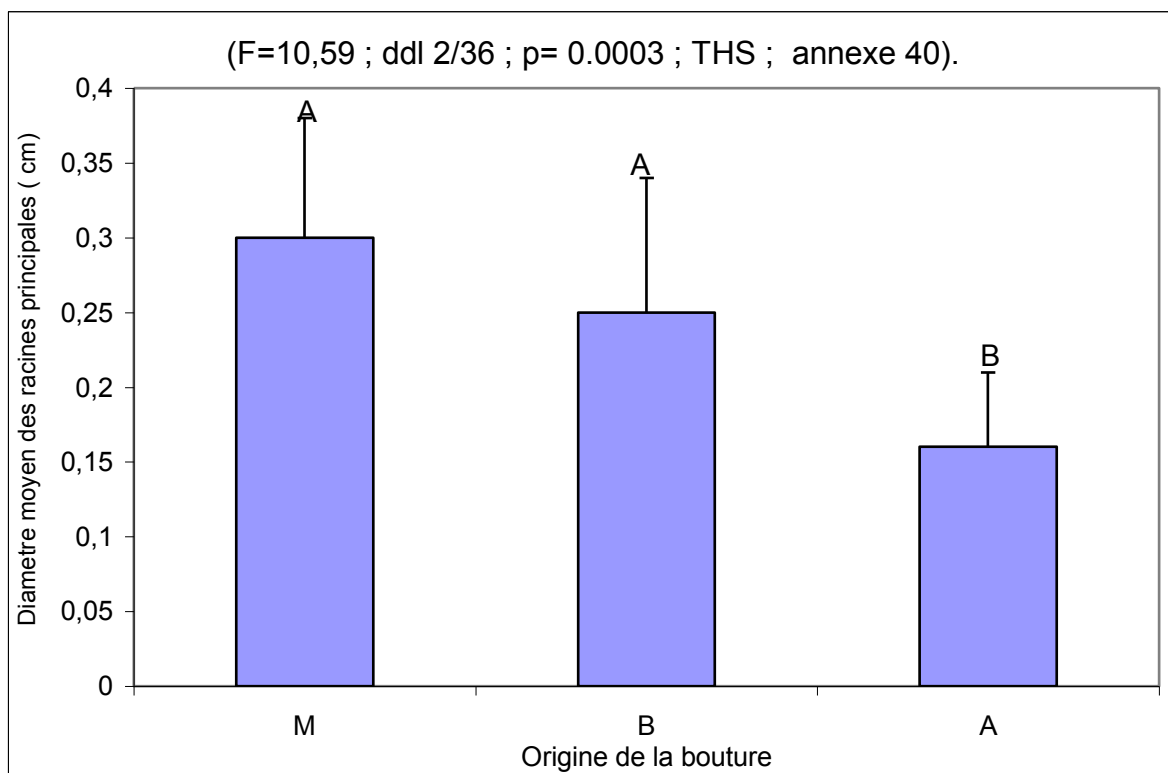


**Fig.51** : Variation du nombre moyen des racines principales en fonction de l'origine de la bouture sur le rameau

### 2.3. 3. Diamètre moyen de la racine principale.

Les résultats obtenus montrent que les plants obtenus à partir des boutures médianes inoculées par la souche A<sub>4</sub> réactivée avec 10µM d'acétosyringone enregistrent le plus important diamètre. Dans ces conditions, le diamètre moyen des racines principales par bouture est de 0,43 cm. Cependant, l'analyse de la variance ne montre aucun effet significatif (p= 0.3889; annexe 40).

L'ANOVA ayant porté sur les deux facteurs séparément, ne révèle aucun effet significatif pour le facteur F1 (souches d'*Agrobacterium rhizogenes* réactivée avec différentes concentrations d'Acétosyringone) (p= 0,2688, annexe 40) et révèle pour le facteur F2 (origine de la bouture sur le rameau) un effet très hautement significatif (p= 0,0003, annexe 40). La comparaison des moyennes donne deux groupes homogènes ; A et B (Fig 52). Ainsi, les boutures médianes présentent le plus important diamètre des racines (0,30 cm).



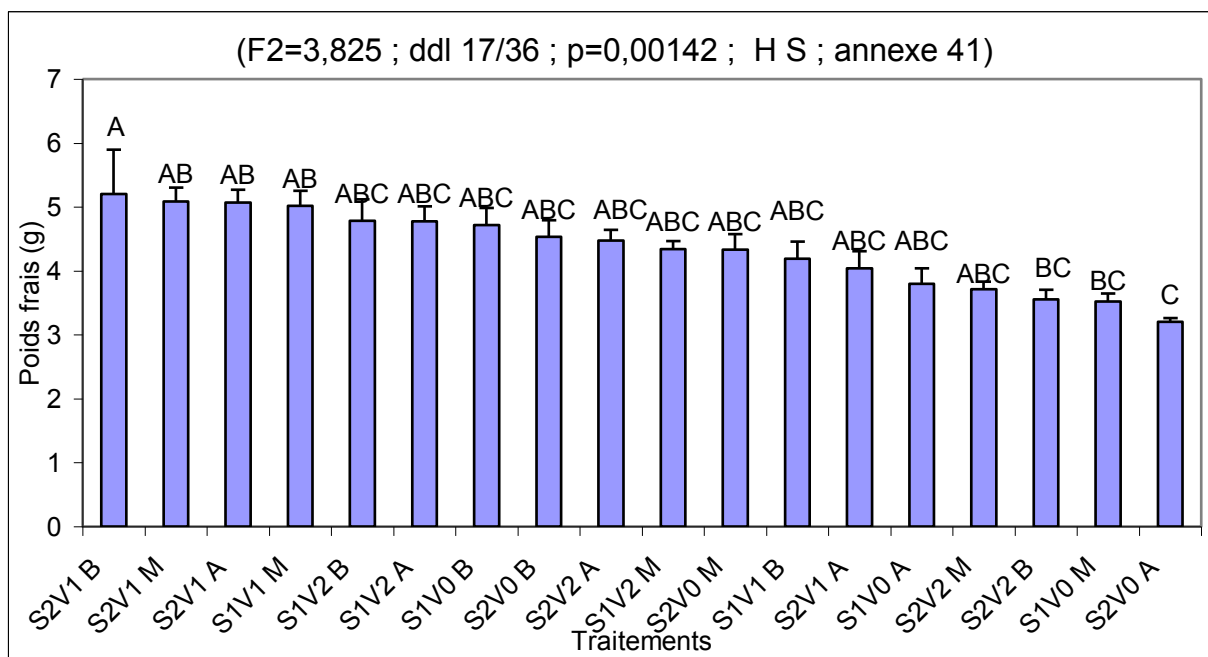
**Fig.52** : Variation du diamètre moyen des racines principales en fonction de l'origine de la bouture sur le rameau.

#### 2.3. 4. Poids frais de la partie racinaire.

Les résultats montrent que les plants d'olivier de la variété Chemlal obtenus à partir des boutures soumises à l'inoculation par *Agrobacterium rhizogenes* présentent un important chevelu racinaire, son intensité est variable selon la concentration de l'acétylsyringone ayant servi pour réactiver les souches *Agrobacterium rhizogenes*, ainsi que l'origine de la bouture sur le rameau initial.

L'analyse de la variance révèle un effet hautement significatif de la souche ainsi que l'origine de la bouture sur le poids frais de la partie racinaire ( $p=0.00142$ ; annexe 41).

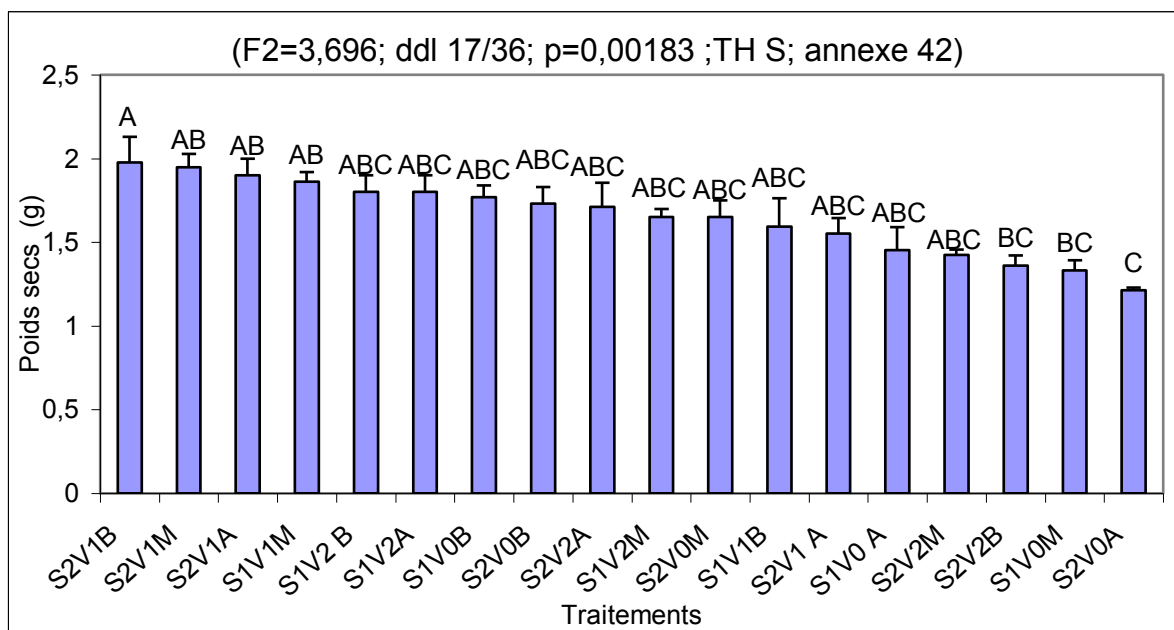
La comparaison des moyennes montre 3 groupes homogènes (A, B et C) dont tous chevauchants (Fig 53). En effet, les plants obtenus à partir des boutures basales inoculées par la souche  $k_{47}$  réactivée avec  $10\mu\text{M}$  d'acétylsyringone ont permis la production d'un important chevelu racinaire (5,203 g). Le plus faible poids frais est enregistré avec les boutures apicales inoculées par la même souche sans réactivation (3,207 g).



**Fig. 53:** Variation du poids frais de la partie racinaire en fonction de la souche d'*Agrobacterium rhizogenes* la concentration de l'acétosyringone, ainsi que l'origine de la bouture sur le rameau.

### 2.3.5 Poids sec de la partie racinaire

L'analyse de la variance révèle un effet très hautement significatif de la souche, ainsi que l'origine de la bouture sur le poids sec de la partie racinaire ( $p=0.00001$ ; annexe 42). La comparaison des moyennes montre 3 groupes homogènes A, B et C tous chevauchants (Fig 54). En effet les plants obtenus à partir des boutures basales inoculées par la souche  $k_{47}$  réactivée avec  $10\mu\text{M}$  d'acétosyringone permettant la production d'un important chevelu racinaire (1,977g). Cependant, le plus faible poids sec est enregistré avec les boutures apicales inoculées par la même souche sans réactivation (1,213g).



**Fig.54:** Variation du poids sec de la partie racinaire en fonction de la souche d'*Agrobacterium rhizogenes*, la concentration de l'acétosyringone t ainsi que l'origine de la bouture sur le rameau.

### 2.3. 6. Conclusion

Les résultats précédents confirment, ceux obtenus pour le nombre moyen des racines lors de l'essai d'induction préliminaire de l'enracinement par transformation génétique. Par contre, ils ne confirment pas la longueur moyenne des racines. Par ailleurs, les boutures basales inoculées par la souche K<sub>47</sub> réactivée avec 10 µM d'acétosyringone donnent les meilleurs résultats pour la majorité des paramètres étudiés à l'exception du diamètre de la racine principale, le nombre de racines dont les meilleurs résultats sont obtenus chez les boutures médianes inoculées par la souche A<sub>4</sub> réactivée avec 10 µM d'acétosyringone. La planche 13 illustre les résultats relatifs à la partie racinaire des boutures enracinés par transformation à l'aide d '*Agrobacterium rhizogenes*.





**Planche 13** : Aspect de la partie racinaire des plants d'olivier enracinés par transformation par d'*Agrobacterium rhizogenes* après six mois d'acclimatation.

- A** : boutures basales inoculées par la souche K<sub>47</sub> réactivée avec 10 µM acetosyringone
- B** : boutures médianes inoculées par la souche K<sub>47</sub> réactivée avec 10 µM acetosyringone.
- C** : boutures médianes inoculées par la souche A<sub>4</sub> réactivée avec 10 µM acetosyringone
- D** : boutures basales traitées avec par la souche A<sub>4</sub> réactivée avec 20 µM acetosyringone.

### **III. Comparaison entre enracinement induit à l'AIB et enracinement induit à l'*Agrobacterium rhizogenes*.**

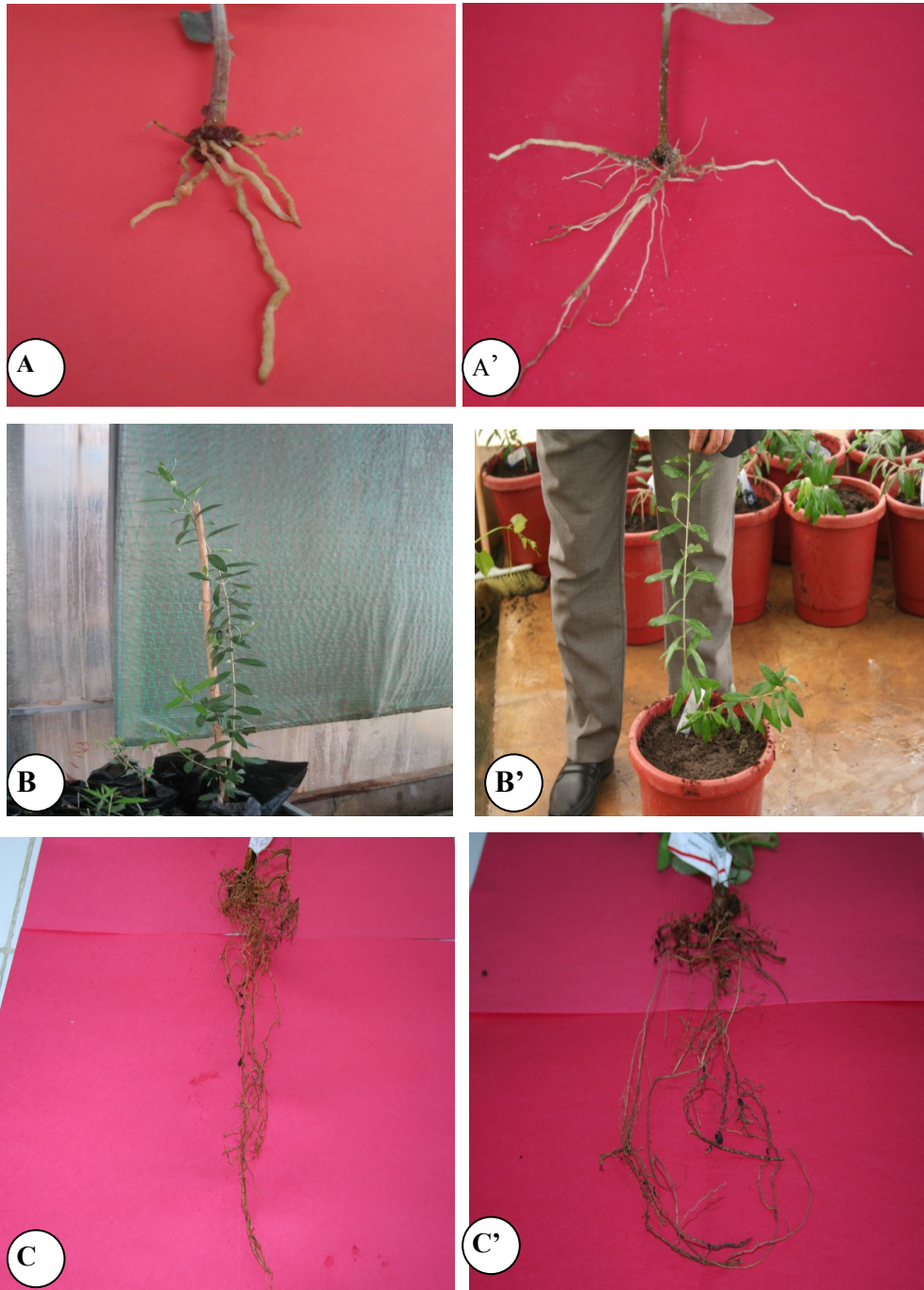
L'étude comparative a été réalisée en se basant sur le test de Fisher. Elle a porté sur la comparaison des meilleurs résultats obtenus avec les traitements à l'AIB et les meilleurs résultats obtenus avec la souche *Agrobacterium rhizogenes* A<sub>4</sub>. Au total 15 paramètres liés à l'enracinement ont été considérés. Sur les 15 paramètres, (tableau 15) et (Planche 14), les résultats de la comparaison montrent :

1. Une supériorité de la souche A<sub>4</sub> par rapport à l'AIB notamment en ce qui concerne le pourcentage d'enracinement et la qualité des racines induites (nombre de racines/bouture) et leur développement ultérieur en phase d'acclimatation (ramifications racinaires, poids sec et frais, et diamètre de la racine principale)
2. Une égalité des résultats obtenus avec la souche A<sub>4</sub> avec ceux de l'AIB, c'est le cas pour le pourcentage d'acclimatation, le nombre moyen de ramifications par racine principale, le diamètre moyen de la pousse principale et la longueur moyenne de la racine principale (en phase d'acclimations)
3. Une infériorité des résultats de la souche A<sub>4</sub> par rapport à ceux obtenus avec l'AIB, c'est le cas pour la majorité des paramètres liés à la croissance de la partie aérienne en phase d'acclimatation (longueur de la pousse principale, nombre moyen de feuilles par pousse, poids frais et sec).

La souche A<sub>4</sub> a donc permis d'obtenir les meilleurs résultats pour tous les paramètres liés à l'enracinement. Elle peut donc être envisagée pour surmonter les difficultés de bouturage qui caractérisent la variété Chemlal, et toutes les autres variétés récalcitrantes.

**Tableau 15:** Effet de l'AIB et de la souche A<sub>4</sub> d'*Agrobacterium rhizogenes* sur l'enracinement et la qualité des plants obtenus.

Statistique Paramètres	Traitement avec AIB (A)	Traitement avec la souche A <sub>4</sub> x10 $\mu$ M Acetosyringone (B)	Analyse de la variance	Comparaison
1. Pourcentage de boutures avec cal	45,± 2,89	40,48 ± 2,13	(F=4,33; ddl 4/6; P=0,8165; NS; Annexe 43)	A= B
2. Pourcentage de boutures racinées	35,000±18,03	61,907±10,35	(F=3,03; ddl 4/6; P=0,008884 ; NS; Annexe 43)	B > A
3. Nombre moyen de racines par bouture	5,317±1,55	9,770± 0,21	(F=56,58; ddl 4/6; P=0,00079; HS; Annexe 43)	B > A
4. Longueur moyenne de la racine principale	11,830± 0,95	8,090± 0,62	(F=2,39; ddl 4/6; P=0,0046; HS; Annexe 43)	A > B
5. Nombre moyen de ramifications par racine principale	4,333±2,52	5,333± 0,76	(F=10,86; ddl 4/6; P=1,0000; NS; Annexe 43)	A = B
6. Taux de reprise après acclimatation	100,000±	100,000±	NS	A = B
7. Longueur moyenne de la pousse principale	57,033± 8,70	37,067 ± 4,53	(F=3,69; ddl 4/6; P=0,0243; S; Annexe 43)	A > B
8. Diamètre moyen de la pousse principale	0,500± 0,15	0,387± 0,04	(F=13,41; ddl 4/6; P=0,2699; NS; Annexe 43)	A = B
9. Nombre moyen de feuilles par pousse.	60,000± 9,17	40,000± 3,46	(F=7,00; ddl 4/6; P=0,0241; S; Annexe 43)	A > B
10. Poids frais de la partie aérienne	16,083± 0,83	13,080± 0,23	(F=13,11; ddl 4/6; P=0,0038; HS; Annexe 43)	A > B
11. Poids sec de la partie aérienne	5,067± 0,64	3,870± 0,07	(F=84,35; ddl 4/6; P=0,0327; S; Annexe 43)	A > B
12. Longueur moyenne de la racine principale	46,667± 1,50	39,333±4,72	(F=9,91; ddl 4/6; P=0,0625 ; NS; Annexe 43)	A = B
13. Nombre moyen de racines par bouture	2,333±0,58	5,333± 1,53	(F=7,00; ddl 4/6; P=0,0335; S; Annexe 43)	B > A
14. Diamètre moyen de la racine principale	0,193± 0,02	0,430±0,07	(F=9,19; ddl 4/6; P=0,0051; HS; Annexe 43)	B>A
15. Poids frais de la partie racinaire	3,700± 0,28	5,017± 0,24	(F=1,40; ddl 4/6; P=0,0034; HS; Annexe 43)	B>A
16. Poids sec de la partie racinaire	1,050±0,13	1,860± 0,06	(F=4,86; ddl 4/6; P=0,0006; THS; Annexe 43)	B>A



**Planche 14:** Aspect du matériel végétal issu de la transformation par l'*Agrobacterium rhizogenes* et du traitement à l' AIB

**A :** bouture médiane traitée avec 3500 ppm d'AIB en poudre.

**A' :** bouture médiane inoculée par la souche A<sub>4</sub> réactivée avec 10 µM acétosyringone.

**B :** Partie aérienne de la bouture médiane traitée avec 3500 ppm d'AIB en poudre.

**B' :** bouture médiane inoculée par la souche A<sub>4</sub> réactivée avec 10 µM acétosyringone.

**C :** Partie racinaire des boutures médianes traitées avec 3500 ppm d'AIB en poudre.

**C' :** boutures médianes inoculées par la souche A<sub>4</sub> réactivée avec 10 µM acétosyringone.

## **Discussion**

Le présent travail a porté sur l'induction de l'enracinement par voie biotechnologique en utilisant deux agents inducteurs de l'enracinement (Hormone et *Agrobacterium rhizogenes*) sur les possibilités de bouturage de six variétés autochtones d'olivier: Chemlal, Zeltani, Bouichret, Akerma, Boukaila et Aberkane réputées récalcitrantes au bouturage et deux variétés Sigoise et Ferkani dites faciles à l'auto enracinement. L'étude menée par LAMBERT et al (1988) montre que de nombreuses espèces sont multipliées par bouturage, cependant, cette technique présente des limites, en particulier d'ordre génétique. Le même auteur indique aussi que chez les ligneux et en particulier les arbres fruitiers, le bouturage n'est réalisable que sur un nombre limité de variétés.

D'autres travaux menés par (LAMBERT et al, 1988 ; RUGINI et MARIOTI, 1991 et MANKESSI, 2005) suggèrent que l'induction, l'initiation, et le développement racinaire dépendent, de l'âge des tissus et que le pourcentage de l'enracinement décroît avec l'âge du matériel végétal utilisé. Cependant, les essais menés par KHABOU et DRIRA (2000), sur deux variétés d'olivier l'une adulte et l'autre jeune: Chemlali de Sfax et Meski, ont montré que pour les deux variétés les boutures semi ligneuses des plantes âgées donnent les pourcentages d'enracinement les plus élevés.

LAMBERT et al (1988), indiquent aussi que la multiplication des espèces ligneuses est conditionnée par l'état physiologique de la plante. En effet, les boutures utilisées dans ce travail répondent à cette exigence. Elles sont semi-ligneuses, prélevées sur du matériel rajeuni conduit en plein champ.

### ***I. AIB et enracinement de l'olivier***

L'émission des racines de néoformation à partir des cellules cambiales est induite par les auxines et ne tient pas compte du niveau trophique des boutures. La seule technique préconisée est l'apport exogène d'une hormone, dont la plus couramment utilisée, est l'AIB, HADJI (1974).

D'après FAVREAU (1980), le but recherché est une accélération de l'initiation de méristèmes radiculaires et aussi une augmentation du pourcentage de reprise et de la qualité des boutures par le nombre de racines formées. Dans la pratique du bouturage, on distingue deux phases : l'initiation des méristèmes racinaires, qui est généralement favorisée par un apport d'auxines exogènes à des concentrations relativement élevées ( $10^{-7}$  à  $10^{-5}$  M), tandis

que la croissance ultérieure des racines se contente d'un apport d'auxines très faible (MARGARA,1989).

### ***1-Effet de la dose et la forme d'AIB sur l'enracinement*** (cas de la variété Chemlal)

D'après LOUSSERT et BROUSSE, (1978) l'effet de la dose d'hormone rhizogène utilisée marque son influence sur la formation du cal qui est la première étape de la rhizogénèse. Certe importante, mais n'est pas suffisante pour obtenir une bonne bouture enracinée. Par ailleurs, DAOUDI et al, (1987) indiquent que les variations de la capacité d'enracinement des boutures sont liées à la capacité de ces dernières à synthétiser des substances de croissance. D'après CABALLERO (1983), l'effet de la concentration en AIB sur l'enracinement de l'olivier a été mis en évidence, mais le gradient de réponse positive des capacités à l'enracinement de cette espèce en fonction de la concentration hormonale appliquée à des doses allant de 1000 et 10000 ppm d'AIB, et le pourcentage d'enracinement reste très faible (19%) lors des différents essais pour la variété Chemlal. Cependant, d'après MONTARONE et al. (1997), les concentrations en AIB moins élevées de l'ordre de 500, 1000 ppm peuvent améliorer le pourcentage d'enracinement des Protéacées.

Dans la présente étude, nous avons observé que, l'ensemble des boutures de la variété Chemlal, a montré une callogénèse à la base de celle-ci mais leur intensité varie selon la dose et la forme d'AIB employée. En effet, le taux le plus élevé (35,56%) de cal est obtenu avec la dose 3500 ppm en poudre et cela indépendamment du type de boutures utilisées.

Les résultats préliminaires obtenus avec l'utilisation de l'AIB sous deux formes (poudre et solution) à des concentrations allant de 2500 ppm à 3500 ppm, a révélé un effet hautement significatif, pour le pourcentage d'enracinement soit une amélioration de 21,11% avec la dose de 3000 ppm par rapport à celui obtenu (19%) par CABALLERO (1983).

Concernant l'influence de la dose d'hormone et sa forme sur le nombre moyen de racines par bouture, nous avons remarqué des différences significatives. Ainsi, le nombre moyen de racines par bouture le plus élevé est induit avec la dose 2500 ppm en solution indépendamment du type de bouture employé soit 3,99. Ces résultats ne confirment pas les résultats obtenus par (HARTMANN, 1946, HARTMANN et PONET 1952, LORETI et HARTMANN, 1964, CABALLERO et NAHLAWI, 1979) cités par DAOUDI et al. (1987), qui ont montré l'existence d'une corrélation positive entre la dose d'hormone utilisée et le nombre moyen de racines par bouture.

Il convient de souligner des différences hautement significatives assez importantes qui sont dues à l'effet de la dose et la forme d'hormone qui ont permis un développement en longueur plus élevé (7,38cm), pour la dose 3000 ppm. De même pour le nombre moyen de ramifications racinaires par racine principale qui a révélé des différences significatives dont le nombre moyen de racines par bouture le plus élevé est induit par la dose 3000 ppm en poudre soit (2,33).

### ***2/Effet du type de boutures sur l'enracinement*** (cas de la variété Chemlal)

Selon leurs origine sur le rameau, on distingue trois types de bouture : basale, médiane, apicale. Sur le même rameau, le fonctionnement histologique et les propriétés physiologiques varient, ce qui a pour conséquence l'existence de gradients, en particulier au niveau de l'aptitude à l'enracinement. Les études menées par MANSOURI et ABOUSALIM, (1992) montrent que l'enracinement des boutures médianes de la variété Picholine prélevées au printemps sont meilleures que les boutures apicales, suivies des boutures basales. Pour ces mêmes auteurs, les boutures des différentes origines réagissent de la même manière pour le taux de callogenèse. En outre, les boutures d'origine basales expriment une meilleure rhizogenèse et donnent le pourcentage le plus élevé (21,11% ) ainsi que le nombre de racines par bouture .Toutefois, l'origine basale a été la plus réactive. En plus de l'enracinement, les boutures basales semblent avoir une plus forte réactivité pour le nombre de ramifications des racines principales (1,54) que celles issues des parties médianes et apicales (0,79) et (0,58) Par contre, les boutures médianes présentent les meilleures longueurs de racines principales.

Nos résultats corroborent ceux de NEGUROLES et AGRAR, (1983) qui recommandent les boutures basales pour l'automne. Ceci s'explique par le fait qu'il y ait une migration des réserves de l'extrémité du rameau vers la base de celui-ci. Des résultats contradictoires ont cependant, été obtenus avec les boutures de la variété Picholine dont l'origine apicale a été la plus rhizogène pour la même période automnal (ABOUSALIM et al, 1993).

### ***3/ Effet de l'Anatomie de la bouture sur l'enracinement***

Selon CABALLERO (1985), la nature mécanique de l'anneau sclérenchymatique est la cause de d'initiation d'une série de recherches destinées à vérifier si l'enracinement dépend du dépassement par la racine de la barrière physique que représente ce tissu dans la bouture. En effet, pour la Variété Chemlal, il y a eu présence de cals rigides avec parfois de petites

ébauches de racines. Cet aspect peut être expliqué par le fait que les ébauches racinaires formées n'arrivent à se développer à cause de l'obstacle mécanique qui est l'anneau sclérenchymateux résistant aux hydrolyses enzymatiques (FAVREAU, 1980). De même, AIT HADDAD et OUAMER (1989) ont pu prouver par la réalisation de coupes histologiques au niveau de la tige des variétés Sigoise et Chemlal la présence de différences morphologiques au niveau de l'assise sclérenchymateuse. Cette dernière est relativement continue et épaisse chez la variété Chemlal par rapport à la variété Sigoise, d'où la présence d'une discontinuité des amas constituant cette assise. Malgré ces contraintes structurelles on a enregistré un taux d'enracinement de 31,19 % pour la dose de 3500 ppm en poudre est cela indépendamment du type de bouture utilisé, soit une amélioration de l'ordre de 60 % par rapport aux résultats de CABALLERO (1983).

***4-Effet de l'époque de prélèvement des boutures sur l'enracinement*** (cas de la variété Chemlal)

NEGUROLES et AGRAR, (1983) recommandent les boutures apicales pour le printemps et les boutures basales et médianes pour l'automne du fait qu'il y ait une remontée de sève vers l'extrémité des rameaux au printemps et l'inverse qui est enregistré en automne. De même, CABALLERO (1983), indique aussi que les boutures des zones de croissance actives (zones apicales) ne sont pas bonnes pour le bouturage en automne. Cependant, les études menées par MANSOURI et ABOUSALIM, (1992) ont montré que l'enracinement des boutures médianes de la variété Picholine prélevées au printemps sont meilleures que les boutures apicales suivies des boutures basales. Pour la même variété, un prélèvement automnal a donné les meilleurs taux d'enracinement pour les boutures apicales, puis médianes et enfin basales (ABOUSALIM et al, 1993).

***5-Effet de l'origine histologique des racines sur l'enracinement***

D'après ALTAMURA (1996), l'origine histologique des racines constitue la principale cause de la difficulté d'enracinement, ainsi les cellules de l'explant seraient incapables de s'organiser en méristèmes. En effet FALASKA et al, (2000) pensent que la genèse des racines adventives est de deux types: la première est indirecte, dans laquelle les cellules de l'explant primaire forment un cal qui donne par la suite les racines adventives, la deuxième est directe, dans laquelle les racines adventives se développent directement à partir des cellules de



l'explant primaire, principalement, celles présentes à proximité étroite du système vasculaire. Mais, dans les deux types de rhizogenèse, la racine se développe toujours à partir des cellules méristématiques.

## ***6- Effet du génotype sur l'enracinement***

Dans notre cas l'effet du génotype a été très significatif sur la formation de cals, première étape de la rhizogenèse. Cependant, selon LOUSSERT et BROUSSE, (1978) malgré son importance, il n'est pas suffisant pour obtenir une bouture enracinée. En effet d'après TREFOIS (1981), l'aptitude d'une plante à s'enraciner varie non seulement d'une espèce à l'autre, mais aussi d'une variété à une autre. De même, les études menées par CABALLERO (1985), indiquent que chez l'olivier la diversité de l'aptitude des variétés à la rhizogenèse est tellement vaste que l'on peut l'attribuer à la constitution génétique des variétés, qui se traduit par des différences physiologiques et anatomiques existantes au sein des boutures. CABALLERO (1979), observe que le cultivar Swan Hill a une plus grande activité promotrice d'enracinement que le cultivar Ascolano. Dans notre étude, nous avons observé que, l'ensemble des génotypes, a montré une callogénèse à la base des boutures, mais l'intensité de celle-ci varie d'un génotype à l'autre.

Pour les Variétés Chemlal, Zeltani, Bouichret, Akerma, Boukaila et Aberkane, il y a eu présence de cals rigides avec parfois de petites ébauches de racines.

Les deux cultivars Sigoise et Ferkani ont donné respectivement le pourcentage le plus élevé de boutures enracinées (75,67 % et 73,67%), pour une concentration en AIB 3000 ppm. Ce taux élevé revient d'abord à l'effet génotype. Il est à noter aussi que les variété Ferkani et Sigoise ont enregistré les taux les plus faibles de cals (22,33 % et 21,67%). Ce qui nous a permis de les qualifier comme étant des variétés à enracinement facile, il s'agit d'une rhizogenèse directe dans la majorité des cas.

Pour l'influence des variétés sur le nombre moyen de racines par bouture et la longueur moyenne des racines, nous avons remarqué des différences assez importantes dues à l'effet variétal. Les variétés qui ont un taux d'enracinement élevé, cas de la Sigoise et la Ferkani, ont montrée presque le même nombre moyen de racines par bouture, ainsi que la même longueur moyenne des racines. Pour la même dose utilisée, les six variétés autochtones d'olivier Chemlal, Zeltani, Bouichret, Akerma, Boukaila et Aberkane ont un faible taux d'enracinement, donc dites récalcitrantes au bouturage. FALASCA et al. (2000) ont pu

prouver qu'aucune auxine n'est efficace à elle seule pour induire la formation de racines chez les espèces ligneuses récalcitrantes.

### ***7- Acclimatation des plants enracinés***

Le taux de reprise a été mesuré pour l'ensemble des boutures ayant survécu après un séjour d'un mois dans la serre de durcissement, les meilleurs résultats sont enregistrés pour les boutures médianes traitées respectivement avec de l'AIB 2500 ppm en solution ainsi que les mêmes boutures traitées avec 3000 ppm sous les deux formes (HP2M, HC2M, HC1M

100 %). Ensuite, les boutures enracinées poursuivent leur développement normal. Après un séjour de 6 mois dans les mêmes conditions, les boutures racinées poursuivent leur croissance et développent un système racinaire long et fasciculé avec un certain nombre de racines peu ramifiées, rappelant ainsi les systèmes racinaires issus du bouturage. Cependant, le développement des boutures en élevage a montré la supériorité des boutures médianes traitées à l'AIB, par rapport aux autres. En effet la concentration d'AIB à 3500 ppm en poudre donne les meilleurs résultats pour la majorité des paramètres étudiés à l'exception des poids frais et sec de la partie aérienne dont les meilleurs résultats sont obtenus respectivement à la même concentration de 3000 ppm en solution, pour le premier et en poudre pour le deuxième.

En ce qui concerne la partie racinaire, les résultats confirment, ceux obtenus pour le nombre moyen de racines lors de l'essai préliminaire d'induction de l'enracinement par traitement hormonal. Par contre, elles ne confirment pas ceux obtenus pour la longueur moyenne des racines. En outre la concentration d'AIB à 3500 ppm en poudre donne les meilleurs résultats pour les paramètres poids sec de la partie racinaire et la longueur de la racine principale, à l'exception du poids frais dont les meilleurs résultats sont enregistrés pour la même concentration en solution, s'ajoute à celui ci le diamètre et le nombre moyen des racines.

## ***II. Agrobacterium rhizogenes et l'enracinement de l'olivier***

La difficulté de l'enracinement des variétés autochtones d'olivier est connue principalement pour les six variétés Chemlal, Zeltani, Bouichret, Akerma, Boukaila et Aberkane. Celles ci ont fait l'objet de la présente étude. RUGINI (1984) confirme que beaucoup de variétés d'olivier sont réfractaires au bouturage classique. De même, les études menées par FALASCA et al. (2000) et ABOUSALIM et al (2005) montrent que les capacités

à l'enracinement sont dépendantes du génotype, les génotypes les plus utiles seraient les plus récalcitrants pour l'induction racinaire. Pour tenter d'améliorer ce caractère, la stratégie choisie consiste à utiliser la transformation génétique par *Agrobacterium rhizogenes* pour intégrer au génome des variétés récalcitrantes, les gènes de la rhizogénèse portés par le plasmide Ri de ces bactéries (TEPFER 1983). Ces gènes peuvent provoquer l'induction et l'initiation des racines après infection d'une blessure (RIKER et al. 1930). Cette induction est due à l'intégration et l'expression d'un fragment, le T-DNA, du plasmide Ri dans les cellules végétales (MOORE et ANDERSON 1979, WHITE et NESTER 1980). Par ailleurs, les expériences menées par LAMBERT et al (1988) montrent que les réponses à l'induction dépendent de la souche utilisée, du niveau d'expression des gènes, de la variété et de l'état physiologique de la plante. Selon le même auteur, en général les espèces difficiles à enraciner sont aussi difficiles à transformer.

MONTICELLI et al. (1997), ainsi que DAMIANO et al. (1995), affirment que l'inoculation avec *Agrobacterium rhizogenes* a toujours été utilisée pour l'amélioration de l'enracinement d'espèces récalcitrantes. Ainsi, Plusieurs auteurs ont fait état d'une réussite de l'enracinement par la transformation génétique d'arbres fruitiers en utilisant *Agrobacterium rhizogenes*, telles que l'Olivier (RUGINI et WANG 1986), le KIWI (RUGINI et MARIOTI, 1991), le Pommier (SUTTER et LUZA, 1993), l'Amandier (DAMIANO et al, 1995), le Noyer (CABONI et al, 1996) et bien d'autres espèces ligneuses forestières telles le genre *Pinus* (MCAFEE et al, 1993; MAGNUSSEN et al, 1994; MIHALIEVIE et al, 1996; BURNS et SCHWARZ, 1996; TZFIRA et al, 1996), le *Larix* (MCAFEE et al, 1993), l'*Eucalyptus* (MACRAE et VEN STADEN, 1993).

RUGINI et WANG (1986), et d'après les paramètres de l'enracinement qu'ils ont étudiés lors de leurs travaux sur certain cultivars d'olivier démontrent que les taux d'enracinement varient entre 15 et 50 %. Ils suggèrent ainsi, que cette bactérie du sol peut considérablement stimuler l'enracinement. De même, LAMBERT et al (1988) ayant travaillé sur le porte greffe nanifiant du pommier M 9 b qui présente des caractères agronomiques intéressants pour l'implantation de vergers à haute densité mais présentant une très faible aptitude à l'enracinement avec les traitements auxiniques. De même, HAN et al. (1997) montrent qu'il est possible de surmonter le problème de l'enracinement du Peuplier par l'inoculation des boutures de divers génotypes avec des *Agrobacterium rhizogenes*. En effet, les gènes du plasmide Ri de l'*Agrobacterium rhizogenes* peuvent fournir un approvisionnement continu en hormone de croissance en offrant une croissance stable biochimiquement et génétiquement des tissus racinaires.

***1-Effet des souches d'Agrobacterium rhizogenes sur l'induction de chevelus racinaires***  
(cas de la variété Chemlal)

L'induction racinaire par transformation dépend des souches d'*Agrobacterium rhizogenes* employées, qui présentent des virulences variables d'une souche à une autre. Certaines n'induisent aucune réaction, d'autres seulement la formation de cals et certaines d'autres la formation de chevelus racinaires (ERCAN et TASKIN, 1999; PARK et FACCHINI, 2000; GIRI *et al.*, 2001). Cet effet se trouve accentué en présence d'acétosyringone à des doses adéquates et en milieu acide (CANGELOSI *et al.*, 1990; WISE *et al.*, 2005). L'acétosyringone est un polyphénol qui stimule l'activité des gènes Vir chez les Agrobactéries.

Selon ECRAN et TASKIN (1999), le taux d'induction de chevelus racinaires est fortement influencé par la souche *Agrobacterium rhizogenes* employée, en effet pour la même population de *Rubia tinctorum* les taux d'induction étaient de 75 % avec la souche 15834,

50 % avec la souche R1000, 18 % avec la souche 9365 et 23 % avec la souche 2628 d'*Agrobacterium. rhizogenes*

Dans notre cas, l'inoculation des boutures d'olivier par les souches A<sub>4</sub> et K<sub>47</sub> induit la formation abondante de chevelus racinaires (hairy root). Ce phénomène est contrôlé par le T-DNA provenant du plasmide Ri des souches A<sub>4</sub> et K<sub>47</sub> portant les gènes codant la synthèse de substances indispensables pour la différenciation des cellules en racines sous l'influence de la synthèse d'auxines endogènes (TEPFER, 1983; OOMS *et al.*, 1986; CASSE-DELBART, 1990; MARTIN *et al.*, 2003 et TAO et LI, 2006). En effet, après 3 mois d'inoculation les boutures de la variété Chemlal, réagissent par la formation de chevelus racinaires qui se ramifient et s'allongent d'une manière intense mais dépendant de la souche bactérienne. En effet, la souche A<sub>4</sub> s'avère plus efficiente que la souche K<sub>47</sub> quelle que soit l'origine de la bouture et la concentration d'acétosyringone ayant servi pour leur réactivation. Ainsi, la souche A<sub>4</sub> permet d'obtenir les pourcentages d'enracinement les plus élevés 11,9 à 61,9 %, contre seulement 2,38 à 11,9 % avec la souche K<sub>47</sub>, de même pour le nombre de racines induites avec la souche A<sub>4</sub> réactivée avec 10µM d'acétosyringone. Dans ces conditions, le nombre moyen de racines par bouture est de 6,67. Nos résultats confirment ceux obtenus par MARTIN *et al.* (2003), chez *Vitis vinifera*, pour ce qui est du nombre de racines induites qui est de 10,4 racines suite à l'infection par la souche A<sub>4</sub>.

## ***2-Effet de la concentration d'acétyrsyngone sur l'induction des chevelus racinaires***

L'acétyrsyngone joue un rôle important pour l'efficacité de la transformation et l'induction des chevelus racinaires (HU *et al.*, 1993 in GIRI et NARASU, 2000). En effet, la suractivation des gènes *vir* est obtenue en ajoutant de l'acétyrsyngone au milieu de suspension de la bactérie (KOVALENKO et MALIUTA, 2003) et au milieu de co-culture plante-bactérie (GIRI *et al.*, 2001; TAO et LI, 2006). Selon CANGELOSI *et al.* (1990) et WISE *et al.* (2005), en présence d'une concentration de 2,5µM d'acétyrsyngone, l'expression de gène *virB* chez l'*Agrobacterium* est augmentée de 5 à 10 fois. Les résultats de notre essai confirment ceux obtenus par ces auteurs et montrent que la concentration de l'acétyrsyngone semble exercer une interaction positive avec la souche *Agrobacterium rhizogenes* se traduisant par un effet appréciable sur le pourcentage d'enracinement. Ainsi, la concentration de 10µM d'acétyrsyngone associée à la souche A<sub>4</sub> donne toujours les meilleurs résultats (61,9 % d'enracinement).

## ***3- Effet du type de bouture sur l'induction de chevelus racinaires (cas de la variété Chemlal)***

Les résultats de cette étude montrent des différences significatives sur la rhizogénèse entre les trois types de boutures: apicales, médianes et basales. Ainsi, les résultats obtenus montrent qu'il est possible d'induire l'enracinement sur les trois types de boutures avec des niveaux de réponses variables. Les boutures médianes, sont les plus rhizogènes. Ceci serait en relation avec le niveau de concentration interne en auxine dû à la présence de nombreuses feuilles et bourgeons, siège de biosynthèse de cette hormone rhizogène. En outre, les essais expérimentaux réalisés par KARMARKAR, (2001) et AMDOUN *et al.*, (2006) corroborent ces résultats et montrent que la réponse de la plante à la transformation dépend aussi du type, de l'âge et de l'état physiologique de l'explant utilisé. En effet les résultats obtenus lors de l'essai montrent que dans le cas des souches A<sub>4</sub> et K<sub>47</sub> ce sont les boutures issues de la partie médiane du rameau qui donnent des pourcentages d'enracinement les plus élevés (61,9 %, 11,9 %). L'effet de l'origine des boutures sur le rameau est donc en étroite relation avec l'efficacité des souches A<sub>4</sub> et K<sub>47</sub> sur l'induction de l'enracinement. Des résultats contradictoires ont cependant, été obtenus avec les boutures du noyer dont l'origine basale a été la plus rhizogène (FALASKA et al, 2000).

#### **4-Effet de l'époque de prélèvement des boutures sur l'induction de chevelus racinaires** (cas de la variété Chemlal)

Les résultats de cette étude montrent un effet appréciable de l'époque de prélèvement sur la rhizogenèse de la variété Chemlal. Ainsi, les résultats obtenus montrent qu'il est possible d'induire l'enracinement pour les deux époques de prélèvement de boutures avec des niveaux de réponses variables. Les boutures médianes prélevées au printemps, sont les plus rhizogènes que celles prélevées en automne. Ceci serait dû à la qualité de la bouture qui est en étroite relation avec la remontée de sève qui est plus importante au printemps qu'en automne.

Dans la présente étude le taux d'induction de chevelus racinaires est fortement influencé par l'époque de prélèvement. Ceci se traduit chez la variété Chemlal par une amélioration significative du taux d'enracinement (74,83%) au printemps contre (61,9%) en automne, de même pour le nombre de racines par bouture (8,56), la longueur de racine (12,82 cm) et le nombre de ramifications des racines principales (6,33).

#### **5 - Effet du génotype sur l'induction de chevelus racinaires**

Le facteur génotype est très important pour la réponse à la transformation, certaines espèces sont réactives, d'autres récalcitrantes (DE CLEEN et DE LEY, 1981 *in* DHAKULKA *et al.*, 2005 ; ECRAN et TASKIN, 1999). De même les études menées par, De CLEEN et DE LEY, 1981, *in* DHAKULKAR *et al.*, 2005 ont montré que le taux d'induction de chevelus racinaires est fortement influencé par le génotype à infecter. En effet, plusieurs espèces infectées par la souche A<sub>4</sub> présentent des taux d'induction différents : il est de 70 % pour *Valeriana wallichii* DC (BANERJEE *et al.*, 1998), 98% pour *Nicotiana* 80%, pour *Duboisia* et 34% pour *Datura metel* (MOYANO *et al.*, 1999). D'autres auteurs ont obtenu avec la même souche A<sub>4</sub> des taux d'induction de 13,52 % pour *Holostemma ada-kodien* K (KARMAKAR, 2001), 75 % pour *Artemisia annua* (GIRI *et al.*, 2001), 85 % pour *Vitis vinifera* (MARTIN *et al.*, 2003), 55 % pour *Torenia forneri* (TAO et LI, 2006) et 37 % pour *Salvia officinalis* et une densité très élevée des poils racinaires (FLORES et MEDINA-BOLIVAR, 1995). Nos résultats confirment ceux obtenus par ces différents auteurs et montrent que l'enracinement des variétés d'olivier récalcitrantes, serait sous contrôle génétique. En effet, nos résultats sont plus ou moins variables d'un génotype à un autre. Ainsi, la variété Akerma, vient en tête du point de vue de sa capacité d'enracinement induit par la souche A<sub>4</sub> (82,50 %), les variétés Boukaila (77, 33 %) et Aberkane (74, 17 %), Chemlal (74,83 %), Zeltani (70 %), semblent présenter

presque les mêmes potentialités rhizogènes. Cependant, les plus faibles enrachement sont obtenus avec la variété Bouichret (66, %).

Chez *Opium poppy* le nombre de racines induites par explant est de 4,1 racines ; pour *California poppy* il est de 4,6 racines par explant (PARK et FACHINI, 2000). *Vitis vinifera* a donné une moyenne de 10,4 racines par explant après infection par la souche A<sub>4</sub> (MARTIN *et al.*, 2003), pour le *Prosopis* il est de 12 racines par bouture après inoculation avec la souche A<sub>4</sub> (FELKER *et al.*, 2005). Ces résultats montrent que le génotype est un facteur important pour l'induction de chevelus racinaires par *Agrobacterium rhizogenes*. De ce point de vue, la variété Chemlal constitue, la variété la plus réactive à l'induction de chevelus racinaires avec (8,56), suivie par les variétés Boukaila (6,69), Aberkane (6,56), Zeltani (6,33) qui donnent des valeurs rapprochées. Cependant, les variétés Bouichret (5,56) et Akerma (5,33) présentent les plus faibles valeurs.

Les racines induites seraient des racines transformées parce qu'elles ont montré toutes les caractéristiques typiques d'un chevelu racinaire. Par ailleurs, la variation de la vitesse de croissance en longueur, observée et les différences morphologiques entre ces lignées racinaires pourraient être attribuées d'une part aux différents sites d'insertion de l'ADN-T dans le génome des cellules végétales (ABHYANKAR *et al.*, 2005) et d'autre part, au nombre de copies de l'ADN-T insérées (PARK et FACCHINI, 1999., FURZE *et al.*, 1987 in DHAKULKAR *et al.*, 2005), de même pour l'allongement à une vitesse beaucoup plus importante que des racines normales cultivées dans les mêmes conditions (TEPFER, 1982 ; FLORES et MEDINA-BOLIVAR, 1995 ; KOVALENKO et MALIUTA, 2003 ; WOO *et al.*, 2004 ; GUILLON *et al.*, 2006). Nos résultats sont plus ou moins variables d'un génotype à un autre. Ainsi, les variété Chemlal et Boukaila viennent en tête avec respectivement (12,82cm) et (12,35cm), ensuite les variétés Bouichret (9,76), Zeltani (8, 88), Aberkane (8,70) et enfin Akerma (7,92) qui présentent les plus faibles longueurs.

Dans le cas de la transformation génétique la ramification latérale est obtenue avec une fréquence élevée (TEPFER, 1982 ; FLORES et MEDINA-BOLIVAR, 1995 ; KOVALENKO et MALIUTA, 2003 ; WOO *et al.*, 2004 ; GUILLON *et al.*, 2006).

Le présent travail montre que la variété Chemlal est la plus réactive à l'induction de chevelus racinaires par la souche A<sub>4</sub> avec un nombre de ramifications racinaires de 8,56, suivi par les variétés Boukaila (6,69), Aberkane (6,56), Zeltani (6,33) qui donnent des valeurs rapprochées. Cependant, les variétés Bouichret (5,56) et Akerma (5, 33) présentent les plus faibles valeurs.

### **7. Effet du temps de trempage des boutures dans la suspension bactérienne sur l'induction chevelus racinaires**

Les résultats de cette étude ne montrent pas de différences significatives sur la rhizogenèse entre les différents temps de trempage des boutures: 10, 20 et 30 secondes. Les résultats obtenus montrent qu'il est possible d'induire l'enracinement pour ces trois temps de trempage avec des niveaux de réponses semblables. Le temps de trempage de 10 secondes a donc été retenu puisqu'il donne des résultats plus intéressants que les autres temps pour la majorité des génotypes à l'exception de la variété Bouichret dont le meilleur taux est obtenu par trempage pendant 20 secondes. Ceci indique que 10 s sont largement suffisantes pour l'adhésion des bactéries aux boutures.

### **8. Acclimatation et suivi des plants enracinés**

Après un séjour d'un mois dans la serre de durcissement, l'ensemble des boutures ayant survécu à l'acclimatation ont été soumises à un antibiotique (Céfotaxime) dans la perspective d'éliminer toute trace de bactérie. A ce stade le taux de reprise a été mesuré pour les boutures racinées, ensuite ces boutures poursuivent leur développement, avec un système racinaire vigoureux et ramifié. Les ramifications intenses rappellent les chevelus racinaires très caractéristiques de l'induction par les gènes du plasmide Ri. La partie aérienne des boutures racinées poursuit un développement normal. .

Le trempage des systèmes racinaires transformés durant 48 h dans la solution de Céfotaxime à 500 mg /l après un mois d'élevage, n'entrave pas le développement des plants racinés. Les mêmes résultats ont été signalés par DAMIANO et al, (1995), RUGINI et PESCE (2006) pour 200 mg/l Céfotaxime.

Les résultats préliminaires du développement des boutures racinées de la variété Chemlal obtenus après transformation génétique par l'*Agrobacterium rhizogenes* montrent que les boutures basales et médianes inoculées par la souche K<sub>47</sub> réactivée avec 10µM d'acétosyringone (S2V1B), (S2V1M) présentent, respectivement le plus important développement en longueur des pousses principales (38,27 cm), et le plus important nombre moyen de feuilles par plant (40,67). Cependant, les boutures médianes inoculées par la souche A<sub>4</sub> réactivée avec 20µM d'acétosyringone (S1V2M) donnent le meilleur diamètre des pousses principales avec (0,37 cm), ainsi qu'une importante biomasse de la partie aérienne exprimée en poids frais avec (13,08gr). Par ailleurs, les boutures basales inoculées par la même souche réactivée avec la même concentration d'acétosyringone (S1V2B) donnent les poids secs les plus élevés (3,87gr).



### **III Comparaison entre enracinement induit à l'AIB et enracinement induit à l'*Agrobacterium rhizogenes*.**

Après un séjour de 6 mois dans la serre de durcissement, les boutures racinées poursuivent leur développement. La souche A<sub>4</sub> a permis d'obtenir les meilleurs résultats aussi bien pour les paramètres liés à l'enracinement notamment en ce qui concerne le pourcentage d'enracinement et la qualité de racines induites (nombre de racines/ bouture,) que pour leur développement ultérieur en phase d'acclimatation (ramification racinaires, poids sec et frais, et diamètre de la racine principale). Ainsi, des différences significatives ont été observées en comparaison avec les boutures traitées avec l'AIB.

La souche A<sub>4</sub> permet notamment :

- Les meilleurs pourcentages d'enracinement, et ce quelle que soit le niveau de la bouture sur le rameau et quelle que soit la variété utilisée.

- Un allongement de racines plus important que celui des racines témoins cultivées dans les mêmes conditions (TEPFER, 1982; FLORES et MEDINA-BOLIVAR, 1995; KOVALENKO

et MALIUTA, 2003 ; WOO *et al.*, 2004 ; GUILLON *et al.*, 2006).

- La ramification latérale avec une fréquence plus élevée que celle du traitement à l'AIB (TEPFER, 1982 ; FLORES et MEDINA-BOLIVAR, 1995 ; KOVALENKO et MALIUTA, 2003 ; WOO *et al.*, 2004 ; GUILLON *et al.*, 2006).

- La densité plus élevée des poils racinaires par rapport au traitement à l'AIB (FLORES et MEDINA-BOLIVAR, 1995).

- La croissance plagiotrope qui caractérise les chevelus racinaires (TEPFER, 1982 ; GIRI et NARASU, 2000 ; KOVALENKO et MALIUTA, 2003 ; GUILLON *et al.*, 2006).

Par ailleurs, la partie aérienne des boutures racinées par la souche A<sub>4</sub> poursuit un développement également ordinaire, mais présentant des différences significatives comparativement à celles traitées à l'AIB pour la majorité des paramètres liés à la croissance de la partie aérienne en phase d'acclimatation (longueur de la pousse principale, nombre moyen de feuilles par pousse, poids frais et sec).

## CONCLUSION GENERALE

Le présent travail de recherche entrepris dans le cadre des activités de recherches de laboratoire des ressources génétiques et biotechnologiques de l'INA, et celles de l'ITAF a permis de publier une partie des résultats préliminaires (ALLEG., 2008; KHELIFI et al. 2008 a; KHELIFI et al. 2008 b; KHELIFI et al. 2007).

La multiplication de l'olivier par bouturage herbacé en serre à nébulisation a permis non seulement d'améliorer les pourcentages d'enracinement, mais également d'éliminer l'effet d'hétérogénéité du porte greffe lors de la multiplication par semis greffage, elle a permis aussi des gains (d'argent et de temps). Le patrimoine oléicole Algérien offre des possibilités très importantes pour le développement d'une oléiculture moderne mais son exploitation se trouve confrontée à des problèmes de difficulté de l'enracinement pour des variétés qui occupent une place très importante dans le verger oléicole national.

Le présent travail offre de nouvelles possibilités pour la multiplication du matériel végétal herbacé et semi ligneux de six variétés d'olivier ; Chemlal, Zeltani, Bouichret, Akerma, Boukaila et Aberkane reconnues difficiles à bouturer en utilisant deux agents inducteurs de l'enracinement (hormone de croissance et *Agrobacterium rhizogenes*),

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

Le traitement hormonal enregistre une amélioration du taux d'enracinement (31,19 %) pour la variété Chemlal par rapport à (19%) obtenu par CABALLERO (1989) mais toujours insuffisant. Par ailleurs les autres variétés Aberkane, Zeltani, Boukaila, Akerma et Bouichret, semblent moins favorables à l'auto enracinement à l'AIB (récalcitrantes) avec des taux d'enracinement considérés comme faibles 21,67 %, 20 %, 18,67 %, 15,33 % et 14,67 %.

La transformation génétique de ces six variétés réputées récalcitrantes au bouturage pourrait constituer une alternative à leur multiplication par voie végétative. En effet, nous avons obtenu des taux d'induction de 82,5 % pour Akerma, 77,33 % pour Boukaila, 74,83 % pour Chemlal, 74,17 % pour Aberkane, 70 % pour Zeltani et 66 % pour Bouichret.

Les résultats montrent en outre, que plusieurs facteurs influencent non seulement le pourcentage d'enracinement mais aussi la qualité des racines induites par *Agrobacterium rhizogenes*. La souche A<sub>4</sub> s'est montrée plus réactive que la souche K<sub>47</sub>

## REPHERENCE BIBLIOGRAPHIQUES

1. **ABHYANKAR G., REDDY V. D., GIRI C. C., RAO K. V., LAKSHMI V. V. S., PRABHAKAR S., VAIRAMANI M., THIPPESWAMY B. S., BHATTACHARYAP. S., 2005.** Amplified fragment length polymorphism and metabolic profiles of hairy roots of *Psoralea corylifolia* L. photochemistry. N° 66: 2441-2457.
2. **ABOUSALIM A., WALALI LD., SLAOUI K., 1993.** Effet du stade phrénologique sur l'enracinement des boutures semi-ligneuses de l'olivier en tablettes chauffantes. Revue Oliveae N°46: 30-37.
3. **ABOUSALIM A., BRHADDA N., WALALI LD., 2005.** Essais de prolifération et d'enracinement de material issu de rajeunissement par bouturage d'oliviers adultes *Olea europaea* L et de germination in Vitro: effet de cytokinines et d'auxines. Biotechnol. Agro. Soc. Environ. N°4: 237-240
4. **AIT HADDAD F., OUEMER N., 1989.** Contribution à l'étude de l'enracinement des boutures de l'olivier (*Olea europaea* L.).varieté « Chemlal »,These ,Université de Tiziouzou, Algérie,93 p.
5. **ALLEG A., 2008.** Induction de l'enracinement par *Agrobacterium rhizogènes* chez 3 variétés d'olivier : Chemlal, Ferkani et Bboukaila, Mem. Magister, université Larbi Tebessi, Tébessa. 105p.
6. **ALTAMURA M., 1996.** Histological events in adventitious rooting. Agronomie. N°16: 589-602.
7. **AMDOUN R., KHELIFI-SLAOUI M., AMROUN S., KHELIFI L., 2005.** Ressources génétiques des Daturas en algérie. Actes du séminaire international sur l'amélioration des productions végétales. Alger. Édition. Khelifi : 212-213.
8. **AMDOUN R., KHILIFI L., ZAROURI B., AMROUN S., KHELIFI-SLAOUI M., 2006.** Production de chevelus racinaires par transformation génétique *in vitro* de deux espèces de Datura. Biotechnologie végétale. Ed. Khelifi. Alger. 0 : 83-85.
9. **AMIROUCHE M., 1977.** Contribution à la caractérisation des principales variétés d'olivier cultivés en Kabylie, par l'analyse des donnés biométriques et morphologiques. Thèse de Magistère. Int. Nat. Agr., EL-HARRACH.47p.
10. **ARGENSON A., 1999.** Olivier. Ed. Centre technique inter. Professionnel. Paris 1999, 203 p.

11. **BALDY CH., RIEU J-P., LHOEL J-CL., 1986.** Modification du rayonnement solaire. Sous les oliviers. Conséquences. Agronomiques. Revue Olivaea N°17pp:135-138.
12. **BALDY CH., 1990.** Le climat de l'olivier (*Olea europaea*). Volume jubilaire du professeur P.Quézel. Ecologia méditerranéa XVII1990. pp113-121.
13. **BANERJEE S., RAHMAN L., UNİYAL G.C., AHUJA P.S., 1997.** Enhanced production of valepotriates by *Agrobacterium rhizogènes* induced hairy root cultures of *Valeriana wallichii* DC. Plant Science. 131 : 203-208.
14. **BARTOLINI B A., FABBRI., 1982.** Effecto dell ACC (ciclopropano-1-amino-1-carbossilato) sulla radicazione di talee di olivo. Riv. Ortoflorofrutt . It.N°66: 377-384.
15. **BELKOURA I., OUAZZANI N., SGIR S., 2007.** Application des techniques de multiplication in vitro chez l'olivier : pour une production de plants sains et la conservation de la biodiversité. Journées Méditerranéennes de l'olivier. 22-26 Octobre. Meknès. N°1 :2-6.
16. **BOULOUHA B., 1995.** Contribution à l'amélioration de la production et la régularité de production chez l'olivier (*Olea europaea L*) " Picoline Marocaine" Revue olivae N°58: 54-57.
17. **BOUZAR H., 1983.** Asevey of *Agrobacterium* strains associated with Georgia pecan trees and an immunological study of bacterium. These Master of Science. Oregan state university.75 p.
18. **BRHADDA N., ABOUSALIM A., WALALIL., BENALI D., 2003.** Effet du milieu de culture sur le microbouturage de l'olivier (*Olea europaea L*). CV. Picoline Marocaine. Biotechnologie. Agron. Environ. Soc. Environ, N°3-4 :177-182.
19. **BURNS J., SCHWARZ O., 1996.** Bacterial stimulation of adventitious rooting *in Vitro* cultured slash pine (*Pinus elliottii Engelm*) seedling explants. Plant Cell Report. N°15: 405-408.
20. **CABALLERO J. M., 1979.** Promotores e inhibidores encógenos de la iniciación radical en olivo. Anales del I.N. I. A. Série : Producción Vegetal. 201-207.
21. **CABALLERO J. M., 1983.** Reproduction de l'olivier par bouturage semi ligneux sous nébulisation. In « la multiplication de l'olivier » INIA Espagne. 129-176.
22. **CABALLERO J. M., 1985.** Reproduction de l'olivier par bouturage semi-ligneux sous nébulisation in multiplication de l'olivier. Projet régional d'amélioration et de la production oléicole. Ed. Cordoux. Espagne ,1985.

- 23. CABONI E., LAURI., TONELLI M., FALASCA G., DAMIANO C., 1996.** Root induction by *Agrobacterium rhizogènes* in walnut. Plant Science.N°8: 203-208.
- 24. CANGELOSI G.A., ANKEBAUER R.G., NESTER E.W., 1990.** Sugars induce the *Agrobacterium* virulence genes through a periplasmic binding protein and a transmembrane signal protein. Genetics. Vol.87. 6708-6712.
- 25. CANOZER O., OZAHCI E., 1994.** Aptitude à l'enracinement de cultivars de Sfax : contraintes et possibilités d'alimentation.
- 26. CASSE-DELBART F., 1990.** Utilisation d'*Agrobacterium* pour l'obtention de plantes transgéniques. Cinquantenaire des cultures in vitro. Les colloques de l'INRA. Versailles. Ed., Clair doré. Paris. N°51 :219-230.
- 27. CASSE F., BREITLER J.C., 2001.** OGM : description, méthodes d'obtention, domaines d'application. Ed., France agricole. Paris. 166p.
- 28. CHAUSSAT., COURDUROUX., 1980.** Régulation de croissance et multiplication végétatif des plantes supérieures. Ed Gautier-Velars. Paris. 227 p.
- 29. CHUPEAU Y., 2001.** Les raffinements sexuels d'une bactérie du sol...au service du génie génétique. Médecine/Sciences.Versailles.N°17 : 856-866.
- 30. CIAMPI A., GELLINI R., 1958.** Estudio anatomico sui rapporti tra struttura e capacita di radicazione in talee di olivo.Nuevo Giorn. Bot. It. N°3 :417-424.
- 31. CIAMPI A., GELLINI R., 1963.** Insorgenza e sviluppo delle radici avventizie in O. Europ. L : Importanza della struttura anatomica agli effecti dell sviluppo delle radichete. Giorn . Bot. It N°70 : 62-74.
- 32. CIVANTOS L., 1998.** L'olivier, l'huile d'olive et l'olive. Ed. C. O.I. 130 p.
- 33. CORNU D., VERGER M., 1992.** La multiplication végétative de feuilles précieuses et de clones fournissant des bois.
- 34. CRETE P., 1965.** Précis de botanique. Systématique des Angiospermes. Tomes II. Ed Masson et Cie. Paris. 429 p.
- 35. DAMIANO C., ARCHILLETTI T., CABONI E., LAURI P., FALASCA G., MARIOTTI D., FERRAIOL O. G., 1995.** *Agrobacterium rhizogènes* mediated transforation of almond: *In Vitro* rooting through Localised of *A. rhizogènes* w. t. Acta Horticulturae. N° 392: 161-169.
- 36. DAOUD D-A., ABU-LEBDA K-H., AL- KHAIAT M-S., 1987.** Incidence de l'AIB sur l'enracinement des boutures feuillées d'olivier. Revue Olivaea N°27: 28-30.

- 37. DAOUDI L., 1994.** Etude des caractères végétatifs et fructifères de quelques variétés d'olivier locales et étrangères cultivée a la station expérimentale d'arboriculture fruitière de Sidi-Aich.
- 38. DAVET P., 1996.** Vie microbienne du sol et production végétale. Ed. INRA Paris.383 p.
- 39. DE CLEEN M., DE LEY J., 1981.** The host range of infectious hairy root, Bot Rev. N°47: 147-194.
- 40. DHAKULKAR S., GANAPATHI T.R., BHARGAVA S., BAPAT V.A., 2005.** Induction of hairy roots in *Gmilina arborea* Roxb. And production of verbascoside in hairy root. Plant science.169: 812-818.
- 41. ERCAN A.G., TAŞKIN M., 1999.** *Agrobacterium rhizogènes* mediated hairy root formation in some *Rubia tinctorum* L. population Grown in Turkey. Tr. J. of Botany. 23 : 373-377.
- 42. ERETEO.F., 1988.** L'olivier. Plantation, taille, entretien et récolte. Ed. Pollin. Paris.1996.
- 43. FADY C., CHARLET M., 1972.** Multiplication de l'olivier.Compte- rendu des essais de bouturage herbacée de la variété picholine.Inf. Oleic.Intern. (nueva serie) N°58/59 :19-30
- 44. FALASCA G., REVERBERI M., LAURI P., CABONI E., DE STRADIS A., ALTAMURA M. M., 2000.** How *Agrobacterium rhizogènes* triggers de novo root formation in a recalcitrant woody plant: an interated histological. Ultra structural and molecuar análisis. Research New Phyttol. N°1: 77-39.
- 45. FAVRE J-M., 1980.** Rhizogenèse et bouturage Multiplication végétative des plantes supérieures.
- 46. FAVREAU J., 1980.** Aspects pratique de la multiplication des ligneux par bouturage sous abris. Multiplication végétative des plantes supérieures.
- 47. FELKER P., MEDINA D., SOULIERB C., VELICCEC G., VELARDEA M., GONZALEZB C., 2005.** A survey of environmental and biological factors (*Azospirillum spp*, *Agrobacterium rhizogènes*, *Pseudomonas aurantiaca*) for their influence in rooting cuttings of *Prosopis alba* clones. Journal of Arid Environments. N°2: 227 p.
- 48. FLORES H. E., MEDINA-BOLIVAR F., 1995.** Root culture and plant natural products: « unearthing » the hidden half of plant metabolism. Plant tissue culture and biotechnology. N°1: 59-74.
- 49. FONTANAZZA G., RUGINI E., 1977.** Aspects génétiques et technologiques de la propagation pour une plantation intensive .Encyclopédie mondiale de l'olivier.

- 50. FONTANAZZA G., BALDONI L., 1990.** Proposition pour un programme d'amélioration génétique de l'olivier. Revue Oliveae, N°34, pp 32-39
- 51. FONTANAZZA G., 1997.** Aspects génétiques et techniques de la propagation pour une plantation intensive. Encyclopédie mondiale de l'olivier.
- 52. GIRI A., NARASU M.L., 2000.** Transgenic hairy roots: recent trends and applications. Biotechnology advances. N°18: 1-22.
- 53. GIRI A., RAVINDRA S.T., GHINGRA V., NARASU M.L., 2001.** Influence of different strains of *Agrobacterium rhizogenes* on induction of hairy roots and artemisinin production in *Artemisia annua*. Current science. 81, 4: 378-382.
- 54. GUILLON S., TREMOUILLAUX-GUILLER J., PATI K.P., RIDEAU M. GANTET P., 2006.** Hairy root research: recent scenario and exciting prospects. Current opinion in plant biology. N°9: 341-346.
- 55. HADJI B., 1974.** Les conditions d'amélioration de la variété Chemlal sous Mist-System. Thèse d'ingénieur INA Alger.
- 56. HAMLAT.M., 1995 :** Influence des phytohormones sur les embryons, les micros boutures d'olivier (*Olea europaea*.L.), variété. Chemlal cultivée in vitro Thèse. Magister. 167 p.
- 57. HAN K. GORDON M., STRAUSS S., 1997.** High-frequency transformation of otton woods (*genus populus*) by *Agrobacterium rhizogenes*, journal for Researches.N°27: 464-468.
- 58. HANSON R., FULBRIGHT E., JAWORSKI L., 2008.** Methods for producing transgenic plants. Congress Avenue. US.
- 59. HARTMAN H.T., 1946.** The use of root-promoting substances in the propagation of olives by soft-wood cutting. PASHS.N°48:303-308.
- 60. HARTMAN H.T., PANET. , 1952.** Effet de la déficience de l'humidité de sol pendant la floraison et fructification de l'olivier. Inf. inter. Oléicoles N° 19 ; juillet-oût-sep1962.
- 61. HAUSSAT R., COURDUROUXJ-C., 1980.** Régulateurs de Croissance et multiplication végétative. Multiplication végétative des plantes supérieures. Ed. Bordas, Paris, 277p.
- 62. HUGARD E., 1975.** Pollinisation fécondation. Revue Oliveaea N° : 04. 63-72.
- 63. ISTAMBOULI A., 1974.** Etude de la dormance des semences de l'olivier (*Olea europaea* L). Role des enveloppes dans l'inhibition de la graine et l'embryon. Rev. Gel. Bot. N°81 : 215-221.

- 64. JACOBONI N., 1987.** L'olivier, remis en question, abandon, reconstitution ou réimplantation ? *Olivae* N°14 :18-32.
- 65. JACOBONI B., 1989.** La propagation. *Revue Oliveae*. N°25: 26-29.
- 66. KARMARKAR S.H., KESHAVACHANDRAN R., NAZEEM P.A., GIRIJA D., 2001.** Hairy root induction in *Adapathiyam (Holostemma ada-kodien* k. SCHUM.). *Journal of Tropical Agriculture*. N° 39 :102-107.
- 67. KHABOU W., DRIRA N., 2000.** Variation de la rhizogenèse des boutures semi-ligneuses de quelques variétés et clones d'olivier (*Olea europaea* L.) cultivés en Tunisie. *Revue Oliveae*. N°84: 47-49.
- 68. KHELIFI L, HADDAD B, HADDAD N, KHELIFI-SLAOUI M, AMDOUN R., MENDIL M., 2007.** Transformation génétique de l'olivier : une alternative pour améliorer sa multiplication végétative, *Proceeding du colloque international sur les biotechnologies, Quelles Biotechnologies pour les pays sud ? Oran 24et 25 Novembre.*
- 69. KHELIFI L, HADDAD B, HADDAD N, KHELIFI-SLAOUI M, AMDOUN R., MENDIL M., 2008 A.** Transformation génétique de l'olivier: une alternative pour améliorer sa multiplication végétative, *rev. Biotechnologies végétales*, 10-14.
- 70. KHELIFI L., KHELIFI-SALOUI M, ALLEG A. HADDAD B, AMDOUN R., MORSLI A., 2008. B** Induction de l'enracinement par *Agrobacterium rhizogenes* chez 3 variétés d'Olivier: Chemlal, Ferkani et Boukaila. 7èmes Journées Biotechnologiques de l'A.T.Biotech, Hammamet- Tunisie, du 15 - 18 Décembre 2008.
- 71. KIM Y., WYSLOUZIL B E., WEATHERS P.J., 2002.** Secondary metabolism of hairy root cultures in bioreactors. *In vitro Cell. Dev.-Plant*. N° 38: 1-10.
- 72. KOVALENKO P.G., MALIUTA S.S., 2003.** An effect of transformation by Ri-plasmids and elicitors on licorice cells and secondary metabolites production. *Ukrainica bioorganica acta*. 1, 1: 50-60.
- 73. LAMBERT C., THOMAS G., LEGER D., PAMBOUKDJIAN N., TEPFER D., 1988.** Utilisation de la transformation génétique par *Agrobacterium rhizogenes* pour améliorer la rhizogenèse d'arbres fruitiers. 8ième colloque sur les recherches fruitières-Bordeaux Ed. INRA-CTIFL : 73-84.
- 74. LANOUE A., SHAKOURZADEH K., MARISON I., LABERCHE J-C., CHRISTEN P., SNGWAN-NORREEL B., BOITEL-CONTI M., 2004.** Occurrence of circadian rhythms in hairy root cultures grown under controlled conditions. *Biotechnology and bioengineering*, N° 6: 722-731.



- 75. LAVEE N., 1997.** Biologie et physiologie de l'olivier. Encyclopédie mondiale de l'olivier. Ed. C.O.I., 61-110.
- 76. LEE Y.W., JIN S., SIM W.S., NESTER E.W., 1996.** The sensing of plant signal molecules by *Agrobacterium*: genetic evidence for direct recognition of phenolic inducers by the VirA protein. *Gene*.179: 83-88.
- 77. LI L., JIA Y., CHARLES C.T., NESTER E.W., PAN S. Q., 2002.** A global pH sensor: *Agrobacterium* sensor protein ChvG regulates acid-inducible genes on its two chromosomes and Ti plasmid. *PNAS*. Sept 2002. *Microbiology*. N°19: 12369-12373.
- 78. LORETI F., HARTMANN H T., 1964.** Propagation of olive trees by rooting cuttings under mist. *Proc .Amer. Soc. Hort. Sci.* N°85 :257-264.
- 79. LOUSSERT R., BROUSSE G., 1978.** L'olivier. Techniques et production méditerranéenne. Ed. G.P Maisonneuve et Larose, Paris, 1978. 448 p.
- 80. MACRAE S., STADEN V., 1993.** *Agrobacterium rhizogènes*-mediated transformation to improve rooting ability of eucalypts. *Tree Physiology*. N°12:411-418.
- 81. MADR., 2004.** Série statistiques B. Ministère de l'Agriculture et du Développement Rural. Alger.
- 82. MADR, 2006.** Série statistiques B. Ministère de l'Agriculture et du Développement Rural. Alger.
- 83. MAGNUSSEN D., CLAPHAM D., GRONROOS R., ARNOLD V., 1994.** Induction of hairy and normal roots on *Picea abies*. *Pinus sylvestris* and *Pinus contorta* by *Agrobacterium rhizogenes*. *Scandinavian Journal of Forest Research*.N°9: 46-51.
- 84. MAILLARD R., 1975.** L'olivier. Ed. I. N.V.U.F.L.E.C., Paris, 147p.
- 85. MAMMOU S., 2007.** Marché mondial des huiles d'olives, des olives de table. Article ITAFV. Chambre National de l'Agriculture 30p.
- 86. MANKESSI F., 2005.** Etude comparative de l'enracinement de boutures de *Eucalyptus urophylla* X *Eucalyptus grandis* issues de différents types de pieds-mères. Mémoire pour l'obtention du Diplôme d'Etudes Approfondies de Sciences Biologiques. Spécialité ; Production végétal. 43p.
- 87. MANSOURI L., ABOUSALIM A., 1992.** Bouturage semi-ligneux de l'olivier (*Olea europaea L*) sur tablette chauffantes. *Al awamia* .N° 76: 67-76.
- 88. MANTIS N.J., WINANS S.C., 1992.** The *Agrobacterium tumefaciens* vir Gene Transcription Activator vir G Is TRANSCRIPTIOALLY I Nduced by Acid Ph and other Stress Stimuli. *Journal of Bacteriology*.N°4: 1189-1195

- 89. MARGARA J., 1989.** Bases de la multiplication végétative. INRA. Paris.254 p.
- 90. MARTIN T.M., DOMINGOS N.C., LOURENCO P.M.L., 2003.** Effect of *Agrobacterium rhizogenes* infection on in vitro rooting of *vitis vinefera* . Journal of Bacteriology. N°3: 132-159.
- 91. MAZILIAK P., 1982.** Physiologie végétale : croissance et développement. Tome 2 Ed. Hermann, Paris .465p.
- 92. MCAFEE B., WHITE E., PELCHER., LAPP., 1993.** Root induction in Pine (*Pinus*) and Larch (*Larix*) spp. Using *Agrobacterium rhizogenes* Plant Cell. Tissue and Organ Culture.N° 34: 53-62.
- 93. MENDIL M., SEBAI A., 2006.** Catalogue des variétés Algériennes de l'olivier, Ed. ITAFV, Algérie.
- 94. MIHALIEVIE S., STIPKOVIC S., JELASKA S., 1996.** Increase of root induction in *Pinus nigra* explants using *Agrobacterium rhizogenes*. Plant Cell Reports.N° 15: 610-614.
- 95. MONTARONE M., SAVIGNAC D., MARICOT C., 1997.** La multiplication par bouturages dans le genre protea. INRA. COLLOQUE SteCatherine. 45p.
- 96. MONTICELLI S., DANIANO C., SCIARRONI R., 1997.** *In Vitro* localizad infection by *Agrbacterium rhizogenes* w.t. and rooting of fruittreesn species. Mededelingen Faculty Landbouwkundige of Agricultural and Applied Biological Sciences. University of Gent. N°62: 1421-1428.
- 97. MOORE LW., ANDERSON AR., 1979.**” Host Specificity in the genus *Agrobacterium*” Phytopathologiy. N°69: 320- 323.
- 98. MORINI S., LORETI F., SCIUTTE R., 1980.** Effect of light quality on rooting of Leccino olive cuttings. Acta horticulture, N°286:73-76.
- 99. MOYANO E., FORNALEB S., PALAZONA R.M., CUSIDOA M., BONFILLA M., MRALESA C., PINOLA M.T., 1999.** Effect of *Agrobacterium rhizogenes* T-DNA on alkaloid production in *Solanaceae* plants. Phytochemistry. N°52: 1287-1292.
- 100. NEGUEROLES J., AGRAR S-A., 1983.** Bouturage semi-ligneux en nébulisation. Bases physiologiques de l'enracinement. La multiplication de l'olivier. INIA., Espagne: 41-45.
- 101. NEGUEROLES J., 1985.** Propagation asexuée, bouturage semi-ligneux en nébulisation. Les bases physiologiques de l'enracinement. Ed. Codoue. Espagne : 41-49.
- 102. NILSON O., OLSSON O., 1997.** ‘Getting to the root: the role of the *Agrobacterium rhizogènes* rol genes in the formation of hairy roots ‘Physio. Plant. N°100: 463-473.

- 103. NURHAYAT C., 1989.** Les facteurs ayant une incidence sur la formation des bourgeons à fleurs chez l'olivier. Revue Olivae N°27 :25-27.
- 104. OOMS G., TWELL D., BOSSEN M. E., HOGE J. H. C., BURRELL M. M., 1986.** Development regulation of Ri T-DNA gene expression in roots. Shoots and tubers of transformed potato (*Solanum tuberosum* cv Descrea) Plant mol Biol. N°32 :6-30.
- 105. OUKSSIL I.A., 1983.** L'olivier : connaissance de la plante .3ieme cours international d'oléiculture. Tizi ouzou.28Nov/14Dec 1983.
- 106. OUKSILI. I.A., 1989.** Contribution à l'étude de la biologie florale de l'olivier (*Olea europaea* L.) de la formation des fleurs à la période pollinisation effective. Thèse docteur, in .Université des sciences et techniques du Longdouc.
- 107. PAGNOL J., 1985.** L'olivier .Troisième édition .Aubanel.France, 15-27.
- 108. PARK S-U., FACCHINI P.J., 2000.** *Agrobacterium rhizogenes*-mediated transformation of *Opium poppy*, *Papaver somniferum* L., and California poppy, *Eschscholzia californica* Cham., root cultures. Journal of experimental botany. N°51: 1005-1016.
- 109. PERRY J.J., STALY J.T., LORUS., 2004.** Microbiologie. Ed. Dunod. 891p.
- 110. POLI M., 1979.** Etude bibliographique de la physiologie de l'alternance de production chez l'olivier (*Olea europaea* L) fruits, Vol. 34, 687-695.
- 111. PORRAS PIEDRA A., SORIANO MARTIN M-I., SOLANA MALDONADO P., 1998.** Techniques performantes de propagation de l'olivier sous nébulisation. Revue Olivaea N° 74: 58-61.
- 112. RIKER A. J., BANFIELD W. M., WRIGHT W. H., KEITT W. H., SAGEN H. E., 1930.** "Studies on infectious hairy root of nurse apple trees", J.Agricult. Sci. 41:507-540.
- 113. RUGINI E., 1984.** *In Vitro* propagation of some olive (*Olea europaea sativa l.*) cultivars with different root-ability. Andmedium development using analytical data from developing hoots and embryos. Scientia Horticulturae. Perugia. Italy. N°24: 123-134.
- 114. RUGINI E., WANG X.S., 1986.** Effet of polyamines. 5-azacytidine and growth regulators on rooting *in vitro* of fruit trees. Treated and untreated with *Agrobacterium rhizogenes*; Proc; Vith iNTL; Cong. Plant Tissue and Cell Cult. Minneapolis.N°2:368-374 p.
- 115. RUGINI E., MARIOTI D., 1991.** *Agrobacterium rhizogenes* T-DNA genes and rooting in woody species. Acta Horticulturae *in Vitro* culture. N°2:285-305.
- 116. RUGINI E., PESCE P., 2006.** Genetic improvement of olive. Original scientific paper. Pomologia croatica. N°1:43-74.

- 117. SANTOS P.A.G., FIGUEIREDO A.C., OLIVEIRA M.M., BARRASO J.G., PEDROL G., DEANS S.G., SCHEFFER J.J.C., 2005.** Growth and essential oil composition of hairy root cultures of *Levisticum officinale* W.D.J.Koch (lovage). *Plant science*. 168: 1089-1096.
- 118. SCRIBAN R., 1999.** *Biotechnologie*. Ed. Techniques et documentation. Paris. 1042p.
- 119. SUTTER E., LUZA J., 1993.** Developmental anatomy of roots induced by *Agrobacterium rhizogenes* in *Malus pumila* 'M26' shorts grown *in Vitro*. *International Journal of Plant Sciences*. N°154: 59-67.
- 120. TAO J., LI L., 2006.** Genetic transformation of *Torenia fournieri* L. mediated by *Agrobacterium rhizogenes*. *South African journal of botany*. 72: 211-216.
- 121. TEPFER D., 1982.** La transformation génétique de plantes supérieures par *Agrobacterium rhizogenes*. Deuxième colloque sur les recherches fruitières. Bordeaux. Ed. INRA- CTIFL. Bordeaux : 46-53.
- 122. TEPFER D., 1983.** 'The biology of genetic transformation of higher plants by *Agrobacterium rhizogenes*. In A Puhler. Ed. *Molecular Genetics of the bacteria Plant Interaction*', Springer Verlag, Berlin. 248-258.
- 123. [TIKHOMIROFF C.](#), 2001.** Etude des métabolismes primaire et secondaire de racines transformées de *Catharanthus roseus* en vue du développement d'un modèle cinétique. Mémoire de maître et sciences appliquées (m.sc.a.). Génie chimique. Université de Montréal Ecole polytechnique. 235 p.
- 124. TIKHOMIROFF C., 2002.** Mécanismes de transformation de plantes dicotylédones par *A. tumefaciens*. <http://tikho.com/tikho.PHP>.
- 125. TOURMIROUX J.A., 1929.** *Oléiculture en Tunisie*. Ed. Imp centrale, Tunisie, 369 p.
- 126. TOURTE., 2002.** *Génie génétique et Biotechnologies: concept, méthodes et applications agronomiques*. 2<sup>ème</sup> édition. Ed., DUNOD. Biotech-Info. Belgique. 434p.
- 127. TOUZANI N., BELKOURA I., 2001.** Multiplication et certification des plants d'olivier. Un nouvel enjeu pour l'oléiculture du 3<sup>ème</sup> Millénaire. Actes du séminaire International-Meknés-Maroc. 236p.
- 128. TREFOIS R., 1981.** Le bouturage sous brouillard. *Revue fruit belge*, N°396, pp259-279.
- 129. TZFIRA T., YARNITZKY O., VAINSTEIN A., ALTMAN A., 1996.** *Agrobacterium rhizogenes*-mediated DNA transfer in *Pinus halepensis* Mill. *Plant Cell Reports*. N° 16 : 26-31.

- 130. TZFIRA T., LI J., LACROIX B., et CITOSKY V., 2004.** *Agrobacterium* T-DNA integration: molecules and models. *TRENDS in Genetics*.N°8: 362-375.
- 131. VALLET A., 1996.** Contribution à l'étude de la biosynthèse des alcaloïdes tropaniques chez le *Datura innoxia* Mill. ; Transformation par *Agrobacterium tumefaciens*, *Agrobacterium rhizogenes* et culture de chevelus racinaires. Thèse D.E.A. Université de Picardie Jules Verne. Amiens.
- 132. VAN DEW HEED., 1976.** L'art de bouturer et de multiplier les plants horticoles. Ed. La maison rustique. Paris, 159 p.
- 133. VILLEMUR P. DOSBA F., 1997.** Oléiculture .Evolution variétale et acquisition de la maîtrise des pratiques culturales.
- 134. VINCENT J.M., 1970.** Manual for the pratique study of the root nodule bacteria. ED., IBP.164p.
- 135. WHITE F.F., NESTER E.W., 1980.** Relationship of plasmids responsible for hairy root and crown gall tumorigenicity. *Journal of bacteriology*. N°144: 710-720.
- 136. WIESMAN Z., LAVEE S., 1995.** The rooting ability of olive cutting from CV. Manzanillo.F. Progency plants relation to their mother cultivars. *Acta horticultural* N°3:62-69.
- 137. WISE A., VOINOV L., BINNS A.N., 2005.** Intersubunit complementation of sugar signal transduction in VirA hereridimers and posttranslational regulation of Vir A activity in *Agrobacterium tumefacien*. *Journal of Bacteriology*. Vol. 189, N°1.
- 138. WOO S-S., SONG J-S., LEE J-Y., SU IN D., CHUNG H-J., LIU J.R., CHOI D-W., 2004.** Selection of high ginsenoside producing ginseng hairy root lines using targeted metabolic analysis. *Phytochemistry*.N° 64: 2751-2761.
- 139. YVON A., 2006.** Etude sur la filière oléicole en amont en Algérie expertise effectuée par le groupe d'étude Geomar International, pour le compte du MADR, Algérie, Juin. 2006, 46 p.
- 140. ZRYD J-P., 1988.** Culture de cellules, tissus et organes végétaux. Fondement théorique. Ed. Technique et documentation Lavoisier, 80 p.

## I- Induction de l'enracinement

### 1. Essai préliminaire

#### 1.1. Induction de l'enracinement par traitement hormonal

##### ANNEXE 1. Pourcentage de boutures avec cal

###### Analyse de la variance

Tableau ANOVA

Source	S. CE	DDL	C. M	Test F	Probabilité	E.T	C.V
Var .Totale	20360,84	71	286,71				
Var .Facteur 1	7514,41	7	1073,49	5,81	0,0001		
Var .Facteur 2	69,79	2	34,89	0,19	0,8302		
Var. Inter. F 1.2	3452,82	14	246,63	1,33	0,2251		
Var. Résiduelle	9323,81	48	184,92			13,60	61,0 %

###### Comparaison des moyennes

Méthode : PPDS. 95,0 %

- Facteur 1

Traitements	Moyennes (%)	Groupes homogènes
HP3	35,56	A
HP1	31,67	AB
HP2	28,89	A B
HC1	27,78	A B
HC2	23,89	ABC
HC3	16,11	BCD
HP0	9,0	CD
HC0	5,56	D

##### ANNEXE 2. Pourcentage de boutures en racinées

###### Analyse de la variance

Tableau ANOVA

Source	S. CE	DDL	C. M	Test F	Probabilité	E.T	C.V
Var .Totale	8549,10	71	120,41				
Var .Facteur 1	3566,03	7	509,43	8,94	0,0000		
Var .Facteur 2	577,74	2	288,87	5,07	0,0102		
Var. Inter. F 1.2	1438,81	14	102,77	4,04	0,0670		
Var. Résiduelle	2966,51	48	56,96			7,55	86,98%

###### Comparaison des moyennes

Méthode : PPDS. 95,0 %

- Facteur 1

Traitements	Moyennes (%)	Groupes homogènes
HP2	21,11	A
HC1	14,44	AB
HP3	12,22	B
HC2	10,56	BC
HP1	8,89	BCD
HC3	2,22	CD
HC0	0	D
HP0	0	D

- Facteur 2

Traitements	Moyennes (%)	Groupes homogènes
B	11,46	A
M	9,79	A
A	4,79	B

### ANNEXE 3. Nombre moyen de racines par bouture

#### Analyse de la variance

Tableau ANOVA

Source	S. CE	DDL	C. M	Test F	Probabilité	E.T	C.V
Var .Totale	377,44	71	5,32				
Var .Facteur 1	120,34	7	17,19	4,53	0,0001		
Var .Facteur 2	9,25	2	4,63	1,22	0,3052		
Var. Inter. F 1.2	64,98	14	4,64	1,22	0,2923		
Var. Résiduelle	182,87	48	3,80			1,95	99,3%

#### Comparaison des moyennes

Méthode : PPDS. 95,0 %

- Facteur 1

Traitements	Moyennes (%)	Groupes homogènes
HC1	3,99	A
HP2	2,93	A
HP3	2,49	A B
HC2	2,31	A B
HP1	2,31	A B
HC3	1,67	A B
HP0	0,00	B
HC0	0,00	B

### ANNEXE 4. Longueur moyenne des racines principales

#### Analyse de la variance

Tableau ANOVA

Source	S. CE	DDL	C. M	Test F	Probabilité	E.T	C.V
Var .Totale	1822,99	71	25,68				
Var .Facteur 1	506,20	7	72,31	4,30	0,010		
Var .Facteur 2	219,27	2	109,63	6,52	0,0034		
Var. Inter. F1.2	318,29	14	22,73	1,35	0,2458		
Var. Résiduelle	779,23	48	16,83			4,10	102,2%

#### Comparaison des moyennes

Méthode : PPDS. 95,0 %

- Facteur 1

Traitements	Moyennes (%)	Groupes homogènes
HP2	7,38	A
HP3	6,98	A
HC1	5,93	A
HC2	4,18	AB
HP1	4,09	AB
HC3	3,55	A B
HC0	0,00	B
HP0	0,00	B

- Facteur 2

Traitements	Moyennes (%)	Groupes homogènes
M	6,04	A
B	4,22	A
A	1,78	B

## ANNEXE 5. Nombre moyen de ramifications par racine principale

### Analyse de la variance

Tableau ANOVA

Source	S. CE	DDL	C. M	Test F	Probabilité	E.T	C.V
Var .Totale	175,86	71	2,53				
Var .Facteur 1	47,02	7	6,72	4 15	0,0013		
Var .Facteur 2	12,19	2	6,10	3,77	0,0299		
Var. Inter. F 1.2	34,01	14	2,43	1,50	0,1486		
Var. Résiduelle	74,63	48	1,62			1,27	130,8%

### Comparaison des moyennes

Méthode : PPDS. 95,0 %

- Facteur 1

Traitements	Moyennes (%)	Groupes homogènes
HP2	2,33	A
HP3	1,67	AB
HC1	1,332	A B
HC2	1,33	AB
HP1	1,00	AB
HC3	0,11	B
HC0	0,00	B
HP0	0,00	B

- Facteur 2

Traitements	Moyennes (%)	Groupes homogènes
B	1,54	A
M	0,79	B
A	0,58	B

## I.2. Induction de l'enracinement par transformation génétique

### ANNEXE 6. Pourcentage de boutures avec cal

### Analyse de la variance

Tableau ANOVA

Source	S. CE	DDL	C. M	Test F	Probabilité	E.T	C.V
Var .Totale	19402,89	62	312,95				
Var .Facteur 1	8823,80	6	1470,63	5 16	0,0080		
Var .Facteur 2	824,47	2	412,23	3,11	0,0590		
Var .Inter. F 1.2	1533,64	12	127,80	0,96	0,5032		
Var. Résiduelle	7133,52	42	417,78			27,40	119,6%



## Comparaison des moyennes

Méthode : PPDS. 95,0 %

- Facteur 1

Traitements	Moyennes (%)	Groupes homogènes
S22	36,51	A
S21	36,51	A
S11	27,78	AB
S20	26,98	AB
S12	26,19	AB
S0	6,40	B
S10	5,83	B

## ANNEXE 7. Pourcentage de boutures enracinées

### Analyse de la variance

Tableau ANOVA

Source	S. CE	DDL	C. M	Test F	Probabilité	E.T	C.V
Var .Totale	22726,82	62	366,56				
Var .Facteur 1	11003,01	6	1833,84	8,83	0,0009		
Var .Facteur 2	2177,09	2	1088,54	12,74	0,0001		
Var .Inter. F 1.2	4138,64	12	344,89	4,04	0,0012		
Var.Résiduelle	4883,38	42	293,03			23,65	210,7%

## Comparaison des moyennes

Méthode : PPDS. 95,0 %

- Facteur 1X Facteur2

Traitements	Moyennes (%)	Groupes homogènes
S11-M	61,91	A
S12-M	52,38	A
S12-B	21,43	B
S11-B	21,43	B
S12-A	21,43	B
S20-M	11,91	B
S11-A	11,91	B
S20-B	9,52	B
S21-M	4,76	B
S22 -M	4,76	B
S22-B	4,76	B
S21-B	2,38	B
S20-A	2,38	B
S21-A	2,38	B
S22-A	2,38	B
S0-B	0,00	B
S0-A	0,00	B
S10-B	0,00	B
S0-M	0,00	B
S10-M	0,00	B
S10-A	0,00	B

## ANNEXE 8. Nombre moyen de racines par bouture

### Analyse de la variance

Tableau ANOVA

Source	S. CE	DDL	C. M	Test F	Probabilité	E.T	C.V
Var .Totale	657,34	62	10,60				
Var .Facteur 1	327,41	6	54,57	8 58	0,0010		
Var .Facteur 2	58,14	2	29,07	6,33	0,0055		
Var .Inter. F 1.2	52,95	12	4,41	0,96	0,5068		
Var.Résiduelle	24,98	42	10,96			27,66	176,9%

### Comparaison des moyennes

Méthode : PPDS. 95,0 %

- Facteur 1

Traitements	Moyennes (%)	Groupes homogènes
S21	6,67	A
S12	5,02	AB
S21	2,56	BC
S22	2,11	BC
S20	2,11	BC
S0	0,00	C
S10	0,00	C

- Facteur 2

Traitements	Moyennes (%)	Groupes homogènes
M	3,98	A
B	2,18	B
A	1,76	B

## ANNEXE 9. Longueur moyenne des racines principales

### Analyse de la variance.

Tableau ANOVA

Source	S. CE	DDL	C. M	Test F	Probabilité	E.T	C.V
Var .Totale	1296,86	62	7,10				
Var .Facteur 1	319,89	6	53,31	2 22	0,1125		
Var .Facteur 2	14,20	2	12,00	0,41	0,6703		
Var .Inter. F 1.2	143,94	12	32,90	070	0,7398		
Var.Résiduelle	768,67	42	41,17			9,04	260,8%

## ANNEXE 10. Nombre moyen de ramifications par racine principale

### Analyse de la variance.

Tableau ANOVA

Source	S. CE	DDL	C. M	Test F	Probabilité	E.T	C.V
Var .Totale	204,91	62	3,30				
Var .Facteur 1	809,509	6	13,42	5 36	0,0068		
Var .Facteur 2	18,81	2	9,16	11,54	0,0003		
Var .Inter. F 1.2	49,45	12	4,12	5,19	0,0002		
Var. Résiduelle	52,22	42	3,29			5,72	279,1%

## Comparaison des moyennes

Méthode : PPDS. 95,0 %

- Facteur 1X Facteur2

Traitements	Moyennes	Groupes homogènes
S11-M	5,33	A
S12-M	5,33	A
S11-B	2,00	B
S12-B	1,67	B
S12-A	1,67	B
S20-B	1,33	B
S20-M	0,67	B
S21-M	0,67	B
S21-B	0,33	B
S20 -A	0,33	B
S21-A	0,33	B
S22-A	0,33	B
S22- B	0,33	B
S11-A	0,33	B
S10-B	0 ,00	B
S0-B	0 ,00	B
S0-A	0 ,00	B
S22-M	0 ,00	B
S0-M	0 ,00	B
10-A	0 ,00	B
S10-M	0 ,00	B

## 2 Extension de l'essai à huit variétés

### 2.1. Induction de l'enracinement par traitement hormonal

#### ANNEXE 11. Pourcentage de boutures avec cal

##### Analyse de la variance.

Tableau ANOVA

Source	S. CE	DDL	C. M	Test F	Probabilité	E.T	C.V
Var .Totale	28028,85	47	596,36				
Var .Facteur 1	6935,67	7	990,81	75,12	0,0000		
Var .Facteur 2	13735,52	1	13735,52	1041,33	0,0000		
Var .Inter. F1.2	6935,67	7	990,81	75,12	0,0000		
Var. Résiduelle	395,71	32	13,19			3,63	21,5

## Comparaison des moyennes

Méthode : PPDS. 95,0 %

- Facteur 1X Facteur2

Traitements	Moyennes (%)	Groupes homogènes
V3-HP2	58,33	A
V5- HP2	54,67	A
V1- HP2	52,33	B
V7- HP2	48,33	C
V6- HP2	46,67	C
V4 HP2	45,67	C
V2- HP2	22,33	C
V8- HP2	21,67	C
V5-HP1	18,67	D
V8- HP1	17,7	D
V7- HP1	17,33	D
V4- HP1	16,00	D
V1- HP1	15,67	D
V6- HP1	15,00	D
V3- HP1	14,67	D
V2- HP1	14,67	D

## ANNEXE 12. Pourcentage de boutures enracinées

### Analyse de la variance.

Tableau ANOVA

Source	S. CE	DDL	C. M	Test F	Probabilité	E.T	C.V
Var .Totale	16076,98	47	342,06				
Var .Facteur 1	2106,81	7	300,97	3,60	0,0063		
Var .Facteur 2	910252	1	9102,52	109,00	0,0000		
Var .Inter. F1.2	2096,31	7	299,47	3,59	0,0062		
Var .Résiduelle	2505,17	32	83,51			9,14	30,5%

### Comparaison des moyennes

Méthode : PPDS. 95,0 %

- Facteur 1X Facteur2

Traitements	Moyennes (%)	Groupes homogènes
V2-HP2	75,67	A
V8- HP2	73,67	A
V1- HP2	31,00	B
V7- HP2	21,67	C
V3- HP2	20,00	C
V6- HP2	18,67	C
V5- HP2	15,33	C
V4- HP2	14,67	C

### ANNEXE 13. Nombre moyen racines par bouture

#### Analyse de la variance.

Tableau ANOVA

Source	S. CE	DDL	C. M	Test F	Probabilité	E.T	C.V
Var .Totale	787,50	47	16,76				
Var .Facteur 1	173,88	7	24,84	40,10	0,0000		
Var .Facteur 2	417,82	1	417,82	674,53	0,0000		
Var .Inter. F1.2	173,90	7	24,84	40,11	0,0000		
Var. Résiduelle	18,58	32	0,62			0,79	26,7%

#### Comparaison des moyennes

Méthode : PPDS. 95,0 %

- Facteur 1X Facteur2

Traitements	Moyennes (cm)	Groupes homogènes
V2-HP2	13,25	A
V8- HP2	11,11	B
V5- HP2	5,67	C
V6- HP2	4,87	C
V4- HP2	4,14	C D
V3 HP2	3,20	D
V7- HP2	2,54	D
V1- HP2	2,45	D

### ANNEXE 14. Longueur moyenne des racines principales

#### Analyse de la variance.

Tableau ANOVA

Source	S. CE	DDL	C. M	Test F	Probabilité	E.T	C.V
Var .Totale	1190,39	47	25,33				
Var .Facteur 1	120,44	7	17,21	5,32	0,0005		
Var .Facteur 2	850,39	1	850,39	263,13	0,0000		
Var .Inter. F1.2	120,44	7	1,08	0,33	0,0000		
Var. Résiduelle	96,95	32	3,23			1,80	42,7%

#### Comparaison des moyennes

Méthode : PPDS. 95,0 %

- Facteur 1X Facteur2

Traitements	Moyennes (cm)	Groupes homogènes
V2-HP2	13,33	A
V8- HP2	11,67	B
V5- HP2	11,05	C
V6- HP2	8,33	C
V4- HP2	7,33	C D
V3 HP2	6,50	D
V7- HP2	6,00	D
V1- HP2	3,13	D

## ANNEXE 15. Nombre moyen de ramifications par racine principale

### Analyse de la variance.

Tableau ANOVA

Source	S. CE	DDL	C. M	Test F	Probabilité	E.T	C.V
Var .Totale	242,32	47	5,16				
Var .Facteur 1	18,33	7	2,62	1,67	0,1546		
Var .Facteur 2	18,33	1	154,01	98,07	0,0000		
Var .Inter. F1.2	18,33	7	2,62	1,67	0,1546		
Var. Résiduelle	47,11	32	1,57			1,25	69,9

## 2.2. Induction de l'enracinement par transformation génétique

## ANNEXE 16. Pourcentage de boutures avec cal

### Analyse de la variance.

Tableau ANOVA

Source	S. CE	DDL	C. M	Test F	Probabilité	E.T	C.V
Var .Totale	7493,05	53	141,38				
Var .Facteur 1	17,12	2	8,56	0,03	0,9705		
Var .Facteur 2	567,30	5	113,46	0,85	0,5252		
Var .Inter. F1.2	1742,27	10	174,23	1,31	0,2698		
Var. Résiduelle	4090,23	36	317,70			28,15	118,4%

## ANNEXE 17. Pourcentage de boutures enracinées

### Analyse de la variance.

Tableau ANOVA

Source	S. CE	DDL	C. M	Test F	Probabilité	E.T	C.V
Var .Totale	1481,54	53	185,19				
Var .Facteur 1	997,79	2	498,89	5,39	0,0743		
Var .Facteur 2	587,63	5	117,53	0,97	0,4520		
Var .Inter. F 1.2	1479,99	10	148,00	1,22	0,3164		
Var. Résiduelles	4361,04	36	225,65			20,62	30,0%

## ANNEXE 18. Nombre moyen de racines par bouture

### Analyse de la variance.

Tableau ANOVA

Source	S. CE	DDL	C. M	Test F	Probabilité	E.T	C.V
Var .Totale	253,91	53	4,40				
Var .Facteur 1	18,35	2	9,18	3,03	0,1581		
Var .Facteur 2	58,65	5	11,73	3,52	0,0128		
Var .Inter. F1.2	59,97	10	6,00	1,80	0,1043		
Var. Résiduelle	112,22	36	6,37			3,57	57,%

## Comparaison des moyennes

Méthode : PPDS. 95,0 %

- Facteur 2

Traitements	Moyennes (cm)	Groupes homogènes					
Source	S. CE	DDL	C. M	Test F	Probabilité	E.T	C.V
Var .Totale	842,71	53	15,90				
Var .Facteur 1	8,55	2	4,28	0,45	0,6623		
Var .Facteur 2	186,53	5	37,31	3,01	0,0254		
Var .Inter. F1.2	232,23	10	23,22	1,87	0,0893		

V1	8,56	A
V5	6,59	AB
V6	6,56	AB
V2	6,33	AB
V3	5,56	B
V4	5,33	B

## ANNEXE 19. Longueur moyenne des racines principales

Analyse de la variance.

Tableau ANOVA

Var. Résiduelle	408,71	36	21,66			5,26	61,8%
-----------------	--------	----	-------	--	--	------	-------

C

### comparaison des moyennes

Méthode : PPDS. 95,0 %

- Facteur 2

Traitements	Moyennes (cm)	Groupes homogènes
V1	12,82	A
V5	12,34	A
V3	9,76	B
V2	8,88	B
V6	8,70	B
V4	7,92	B

### ANNEXE 20. Nombre moyen de ramifications par racine principale

#### Analyse de la variance.

Tableau ANOVA

Source	S. CE	DDL	C. M	Test F	Probabilité	E.T	C.V
Var .Totale	237,16	53	4,47				
Var .Facteur 1	46,25	2	23,12	6,79	0,0532		
Var .Facteur 2	38,31	5	7,66	2,41	0,0589		
Var .Inter. F1.2	27,96	10	2,60	0,88	0,5612		
Var. Résiduelle	108,84	36	6,58			3,63	79,2%

### II Acclimatation et suivie des boutures enracinée

#### II.1. Enracinement à l'AIB

### ANNEXE 21. Taux de reprise

#### Analyse de la variance

Tableau ANOVA

Source	S. CE	DDL	C. M	Test F	Probabilité	E.T	C.V
Var .Totale	1548,15	53	29,21				
Var .Facteur 1	148,15	5	29,63	1,23	0,3161		
Var .Facteur 2	403,70	2	201,85	8,38	0,0012		
Var .Inter F 1.2	129,63	10	12,96	0,54	0,8510		
Var. Résiduelle	818,52	36	24,07			4,91	5,2%

### Comparaison des moyennes

Méthode : PPDS. 95,0 %

- Facteur 2

Traitements	Moyennes (cm)	Groupes homogènes
M	98,33	A
B	95,56	A
A	91,67	B

### ANNEXE 22. Longueur moyenne de la pousse principale

#### Analyse de la variance.

Tableau ANOVA

Source	S. CE	DDL	C. M	Test F	Probabilité	E.T	C.V
Var .Totale	12869,79	53	242,83				
Var .Facteur 1	1911,58	5	382,32	2,03	0,0980		



Var .Facteur 2	3231,12	2	1615,56	8,58	0,0010		
Var .Inter F 1.2	1271,95	10	127,19	0,68	0,7389		
Var .Résiduelle	6392,66	36	188,02			13,71	36 ,1%

### Comparaison des moyennes

Méthode : PPDS. 95,0 %

- Facteur 2

Traitements	Moyennes (cm)	Groupes homogènes
M	48,79	A
B	33,88	B
A	31,21	B

## ANNEXE 23. Diamètre moyen de la pousse principale

### Analyse de la variance

Tableau ANOVA

Source	S. CE	DDL	C. M	Test F	Probabilité	E.T	C.V
Var .Totale	0,79	53	0,01				
Var .Facteur 1	0,18	5	0,04	3,71	0,0088		
Var .Facteur 2	0,20	2	0,10	10,58	0,0003		
Var .Inter F 1.2	0,08	10	0,01	0,84	0,5913		
Var .Résiduelle	0,32	36	0,01			0,10	26,9

### Comparaison des moyennes

Méthode : PPDS. 95,0 %

- Facteur 1

Traitements	Moyennes (cm)	Groupes homogènes
HP3	0,45	A
HC1	0,41	AB
HP2	0,39	AB
HP1	0,34	AB
HC2	0,32	A B
HC3	0,28	B

- Facteur 2

Traitements	Moyennes (cm)	Groupes homogènes
M	0,45	A
B	0,33	B
A	0,31	B

## ANNEXE 24. Nombre moyen de feuilles par plant

### Analyse de la variance.

Tableau ANOVA

Source	S. CE	DDL	C. M	Test F	Probabilité	E.T	C.V
Var .Totale	13230,12	53	249,62				
Var .Facteur 1	4058,06	5	811,61	6,26	0,0003		
Var .Facteur 2	3802,13	2	1901,07	14,66	0,0000		
Var .Inter F 1.2	820,78	10	82,08	0,63	0,7762		
Var .Résiduelle	4410,10	36	129,71			11,39	31,0

### Comparaison des moyennes

Méthode : PPDS. 95,0 %

- Facteur 1

Traitements	Moyennes (cm)	Groupes homogènes
HP3	49,33	A
HP2	40,44	AB
HC1	38,89	AB
HP1	38,22	AB
HC2	33,00	B
HC3	20,68	C

- Facteur 2

Traitements	Moyennes (cm)	Groupes homogènes
M	47,79	A
B	35,22	B
A	27,34	C

## ANNEXE 25. Poids frais de la partie aérienne

### Analyse de la variance

Tableau ANOVA

Source	S. CE	DDL	C. M	Test F	Probabilité	E.T	C.V
Var .Totale	107,901	53	2,036				
Var .Facteur 1	64,008	5	12,802	15,321	0		
Var .Facteur 2	1,877	2	0,938	1,123	0,33725		
Var .Inter F 1.2	11,937	10	1,194	1,429	0,20713		
Var .Résiduelle	30,079	36	0,836			0,914	6,74%

### Comparaison des moyennes

Méthode : PPDS. 95,0 %

- Facteur 1

Traitements	Moyennes (g)	Groupes homogènes
HP2	15,069	A
HP3	15,061	A
HP1	13,259	B
HC1	12,901	B
HC3	12,571	B
HC2	12,521	B

## ANNEXE 26. Poids sec de la partie aérienne

### Analyse de la variance

Tableau ANOVA

Source	S. CE	DDL	C. M	Test F	Probabilité	E.T	C.V
Var .Totale	20,434	53	0,386				
Var .Facteur 1	11,617	5	2,323	14,324	0		
Var .Facteur 2	0,169	2	0,085	0,521	0,60346		
Var .Inter F 1.2	2,808	10	0,281	1,731	0,11091		
Var .Résiduelle	5,84	36	0,162			0,403	10,44%

### Comparaison des moyennes

Méthode : PPDS. 95,0 %

- Facteur 1

Traitements	Moyennes (cm)	Groupes homogènes
HP2	4,567	A
HP3	4,389	A
HP1	3,822	B
HP1	3,549	B
HC2	3,422	B
HC3	3,389	B

## ANNEXE 27. Longueur moyenne de la racine principale

### Analyse de la variance

Tableau ANOVA

Source	S. CE	DDL	C. M	Test F	Probabilité	E.T	C.V
Var .Totale	2057,74	53	38,83				
Var .Facteur 1	366,17	5	73,33	11,27	0,0000		
Var .Facteur 2	54,27	2	27,13	4,17	0,0235		
Var .Inter F 1.2	1398,54	10	139,85	21,52	0,0000		
Var .Résiduelle	220,99	36	6,50			2,55	6,8%

### Comparaison des moyennes

Méthode : PPDS. 95,0 %

- Facteur 1

Traitements	Moyennes (cm)	Groupes homogènes
HP3-A	46,67	A
HC3-B	46,67	A
HP1-A	45,67	A
HC1-B	45,67	A
HP3-M	45,00	A
HP1-B	38,83	B
HC1-M	38,83	B
HC2-M	35,83	BC
HP2-B	35,83	BC
HP2-A	34,13	BC
HP2-M	33,27	BC
HC3-A	33,27	BC
HC2-B	33,10	BC
HP1-M	32,43	BC
HC2-A	32,43	BC
HP3-B	31,20	C
HC3-M	31,20	C
HC1-A	31,20	C

- Facteur 2

Traitements	Moyennes (cm)	Groupes homogènes
M	0,45	A
B	0,33	B
A	0,31	B

## ANNEXE 28. Nombre moyen de racines par plant

### Analyse de la variance

Tableau ANOVA

Source	S. CE	DDL	C. M	Test F	Probabilité	E.T	C.V
Var .Totale	30,54	53	0,58				
Var .Facteur 1	0,54	5	0,11	0,14	0,9791		
Var .Facteur 2	0,04	2	0,02	0,02	0,9764		
Var .Inter F 1.2	0,63	10	0,06	0,08	0,9900		
Var .Résiduelle	25,74	36	0,76			0,87	41,6%

## ANNEXE 29. Diamètre moyen de la racine principale

### Analyse de la variance

Tableau ANOVA

Source	S. CE	DDL	C. M	Test F	Probabilité	E.T	C.V
Var .Totale	0,02	53	0,00				
Var .Facteur 1	0,00	5	0,00	0,19	0,9614		
Var .Facteur 2	0,00	2	0,00	0,03	0,9733		
Var .Inter F 1.2	0,00	10	0,00	0,80	0,6362		
Var .Résiduelle	0,02	36	0,00			0,02	11,8%

## ANNEXE 30. Le Poids fais de la partie racinaire.

### Analyse de la variance

Tableau ANOVA

Source	S. CE	DDL	C. M	Test F	Probabilité	E.T	C.V
Var .Totale	3,862	53	0,073				
Var .Facteur 1	0,156	5	0,031	0,41	0,8399		
Var .Facteur 2	0,426	2	0,213	2,794	0,07289		
Var .Inter F 1.2	0,533	10	0,053	0,699	0,71962		
Var .Résiduelle	2,746	36	0,076			0,276	7,94%

## ANNEXE 31. Le Poids sec de la partie racinaire

### Analyse de la variance

Tableau ANOVA

Source	S. CE	DDL	C. M	Test F	Probabilité	E.T	C.V
Var .Totale	0,835	53	0,016				
Var .Facteur 1	0,057	5	0,011	0,869	0,51285		
Var .Facteur 2	0,069	2	0,035	2,626	0,08446		
Var .Inter F 1.2	0,234	10	0,023	1,777	0,10058		
Var .Résiduelle	0,474	36	0,013			0,115	12,34%

## I.2. Enracinement par transformation génétique

### ANNEXE 32. Taux de reprise après acclimatation

#### Analyse de la variance

Tableau ANOVA

Source	S. CE	DDL	C. M	Test F	Probabilité	E.T	C.V
Var .Totale	1333,33	53	25,16				
Var .Facteur 1	377,78	5	75,56	4,53	0,0029		
Var .Facteur 2	144,44	2	72,22	4,33	0,0207		
Var .Inter F 1.2	211,11	10	21,11	1,27	0,2871		
Var .Résiduelle	566,67	36	16,67			4,08	4,3%

### Comparaison des moyennes

Méthode : PPDS. 95,0 %

- Facteur 1

Traitements	Moyennes (%)	Groupes homogènes
S21	97,78	A
S22	96,67	AB
S12	95,56	AB
S11	94,44	ABC
S20	92,22	BC
S10	90,00	C

- Facteur 2

Traitements	Moyennes (%)	Groupes homogènes
M	96,11	A
B	95,00	A
A	92,22	B

### ANNEXE 33. Longueur moyenne de la pousse principale

#### Analyse de la variance

Tableau ANOVA

Source	S. CE	DDL	C. M	Test F	Probabilité	E.T	C.V
Var .Totale	4840,96	53	91,34				
Var .Facteur 1	1067,10	5	213,47	3,45	0,0125		
Var .Facteur 2	410,93	2	205,47	3,32	0,0470		
Var .Inter F 1.2	979,61	10	97,96	1,59	0,1530		
Var .Résiduelle	2101,29	36	61,80			7,86	26,38

### Comparaison des moyennes

Méthode : PPDS. 95,0 %

- Facteur 1

Traitements	Moyennes (cm)	Groupes homogènes
S12	35,29	A
S21	34,51	A
S22	31,10	AB
S11	29,86	AB
S10	26,16	AB
S20	22,63	B

- Facteur 2

Traitements	Moyennes (cm)	Groupes homogènes
M	33,56	A
B	29,33	A B
A	26,88	B

### ANNEXE 34. Diamètre moyen de la pousse principale

#### Analyse de la variance

Tableau ANOVA

Source	S. CE	DDL	C. M	Test F	Probabilité	E.T	C.V
Var .Totale	0,43	53	0,01				
Var .Facteur 1	0,07	5	0,01	2,18	0,0788		
Var .Facteur 2	0,03	2	0,02	2,75	0,0764		
Var .Inter F 1.2	0,09	10	0,01	1,52	0,1759		
Var .Résiduelle	0,21	36	0,01			0,08	24,4%

## ANNEXE 35. Nombre moyen de feuilles par plant

### Analyse de la variance

Tableau ANOVA

Source	S. CE	DDL	C. M	Test F	Probabilité	E.T	C.V
Var .Totale	4046,81	53	76,35				
Var .Facteur 1	543,70	5	108,74	1,96	0,1097		
Var .Facteur 2	318,37	2	159,19	2,87	0,0693		
Var .Inter F 1.2	1048,74	10	104,87	1,89	0,0817		
Var .Résiduelle	188,74	36	55,55			7,45	21,8%

### Comparaison des moyennes

Méthode : PPDS. 95,0 %

- Facteur 1

Traitements	Moyennes (cm)	Groupes homogènes
S12	35,29	A
S21	34,51	A
S22	31,10	AB
S11	29,86	AB
S10	26,16	AB
S20	22,63	B

- Facteur 2

Traitements	Moyennes (cm)	Groupes homogènes
M	33,56	A
B	29,33	A B
A	26,88	B

## ANNEXE36. Poids frais de la partie aérienne

### Analyse de la variance

Tableau ANOVA

Source	S. CE	DDL	C. M	Test F	Probabilité	E.T	C.V
Var .Totale	332,178	53	6,268				
Var .Facteur 1	208,777	5	41,755	32,162	0		
Var .Facteur 2	10,38	2	5,19	3,997	0,02654		
Var .Inter F 1.2	66,283	10	6,628	5,105	0,00013		
Var .Résiduelle	46,739	36	1,298			1,139	11,63%

### Comparaison des moyennes

Méthode : PPDS. 95,0 %

- Facteur 1X Facteur2

Traitements	Moyennes	Groupes homogènes
S1V2M	13,08	A
S1V2 B	12,467	A
S2V2 M	11,787	A B
S2V1 M	11,567	A B
S2V2 B	11,517	A B
S2V1 A	11,357	A B
S2V1 B	10,767	A B

S1V0 A	10,64	A B
S1V2A	10,493	A B
S1V1 A	10,25	A B
S1V0 B	10,14	A B
S1V1 B	9,883	A B
S1V1 M	9,817	A B
S2V2 A	8,66	BC
S2V0 B	7,197	CD
S1V0 M	6,017	D
S2V0 A	5,717	D
S2V0 M	4,97	D

### ANNEXE37. Poids sec de la partie aérienne

Analyse de la variance

Tableau ANOVA

Source	S. CE	DDL	C. M	Test F	Probabilité	E.T	C.V
Var .Totale	31,209	53	0,589				
Var .Facteur 1	20,7	5	4,054	75,822	0		
Var .Facteur 2	1,198	2	0,599	11,2	0,0002		
Var .Inter F 1.2	7,817	10	0,782	14,619	0		
Var .Résiduelle	1,925	36	0,053			0,231	8,07%

Comparaison des moyennes Méthode : PPDS. 95,0 %

- Facteur 1X Facteur2

Traitements	Moyennes	Groupes homogènes
S1V2M	3,87	A
S1V2 B	3,7	AB
S2V2M	3,53	A BC
S1V1A	3,4	A BCD
S2V2A	3,4	A BCD
S2V1M	3,36	A BCD
S2V1A	3,36	A BCD
S2V1B	3,16	B CDE
S1V2A	3,1	B CDEF
S1V1M	3,03	CDEF
S1V0 B	3	CDEF
S1V0 A	2,8	DEF
S1V1 B	2,7	EF
S2V2 B	2,56	F
S2V0 B	2,13	G
S2V0 M	1,693	G
S2V0 A	1,43	G
S1V0 M	1,36	G

### ANNEXE.38. Longueur moyenne de la racine principale

Analyse de la variance.

Tableau ANOVA

Source	S. CE	DDL	C. M	Test F	Probabilité	E.T	C.V
Var .Totale	6371,51	53	120,22				
Var .Facteur 1	482,05	5	96,41	0,81	0,5504		
Var .Facteur 2	371,67	2	185,83	1,57	0,2221		
Var .Inter F 1.2	1456,96	10	145,70	1,23	0,3085		
Var .Résiduelle	4032,27	36	118,60			10,89	39,3%

## ANNEXE 39. Nombre moyen de racines par plant.

### Analyse de la variance.

Tableau ANOVA

Source	S. CE	DDL	C. M	Test F	Probabilité	E.T	C.V
Var .Totale	126,00	53	2,38				
Var .Facteur 1	14,67	5	2,93	1,40	0,2468		
Var .Facteur 2	14,33	2	7,17	3,43	0,0429		
Var .Inter F 1.2	23,00	10	2,30	1,10	0,3889		
Var .Résiduelle	71,00	36	2,09			1,45	43,4%

### Comparaison des moyennes

Méthode : PPDS. 95,0 %

- Facteur 2

Traitements	Moyennes	Groupes homogènes
B	3,78	A
M	3,61	A
A	2,61	B

## ANNEXE 40. Diamètre moyen de la racine principale

### Analyse de la variance.

Tableau ANOVA

Source	S. CE	DDL	C. M	Test F	Probabilité	E.T	C.V
Var .Totale	0,72	53	0,01				
Var .Facteur 1	0,06	5	0,01	1,35	0,2688		
Var .Facteur 2	0,18	2	0,09	10,59	0,0003		



Var .Inter F 1.2	0,16	10	0,02	1,88	0,0831		
Var .Résiduelle	0,29	36	0,01			0,09	39,2%

### Comparaison des moyennes

Méthode : PPDS. 95,0 %

- Facteur 2

Traitements	Moyennes (cm)	Groupes homogènes
M	0,30	A
B	0,25	A
A	0,16	B

## ANNEXE 41. Poids frais de la partie racinaire

### Analyse de la variance

Tableau ANOVA

Source	S. CE	DDL	C. M	Test F	Probabilité	E.T	C.V
Var .Totale	29,201	53	0,551				
Var .Facteur 1	7,546	5	1,509	5,202	0,00113		
Var .Facteur 2	0,111	2	0,056	0,192	0,82802		
Var .Inter F 1.2	11,098	10	1,11	3,825	0,00142		
Var .Résiduelle	10,446	36	0,29			0,539	12,38%

### Comparaison des moyennes

- Méthode : PPDS. 95,0 % Facteur 1X Facteur2

Traitements	Moyennes	Groupes homogènes
S2V1B	5,203	A
S2V1M	5,087	AB
S2V1A	5,067	A B
S1V1M	5,017	A B
S1V2B	4,78	A BC
S1V2A	4,773	A BC
S1V0B	4,717	A BC
S2V0B	4,533	A BC
S2V2A	4,477	A BC
S1V2M	4,34	A BC
S2V0 M	4,333	A BC
S1V1 B	4,187	A BC
S2V1 A	4,04	A BC
S1V0 A	3,793	A BC
S2V2M	3,713	A BC
S2V2 B	3,553	BC
S1V0 M	3,517	BC
S2V0 A	3,207	C

## ANNEXE 42. Poids sec de la partie racinaire

### Analyse de la variance

Tableau ANOVA

Source	S. CE	DDL	C. M	Test F	Probabilité	E.T	C.V
Var .Totale	4,063	53	0,077				
Var .Facteur 1	0,981	5	0,196	4,651	0,00231		
Var .Facteur 2	0,005	2	0,003	0,064	0,93775		
Var .Inter F 1.2	1,559	10	0,156	3,696	0,00183		
Var .Résiduelle	1,518	36	0,042			0,205	12,44%

## Comparaison des moyennes

Méthode : PPDS. 95,0 %

- Facteur 1X Facteur2

Traitements	Moyennes	Groupes homogènes
S2V1B	1,977	A
S2V1M	1,947	AB
S2V1A	1,9	A B
S1V1M	1,86	A B
S1V2B	1,8	A BC
S1V2A	1,8	A BC
S1V0B	1,77	A BC
S2V0B	1,73	A BC
S2V2A	1,71	A BC
S1V2M	1,65	A BC
S2V0 M	1,65	A BC
S1V1 B	1,593	A BC
S2V1 A	1,553	A BC
S1V0 A	1,453	A BC
S2V2M	1,423	A BC
S2V2 B	1,36	BC
S1V0 M	1,333	BC
S2V0 A	1,213	C

**ANNEXE 43.** Effet de l'AIB et de la souche A<sub>4</sub> d'*Agrobacterium rhizogènes* sur l'enracinement et la qualité des plants obtenues.

### Analyse de la variance.

Tableau ANOVA

	Moyenne	Moyenne	Valeur t	ddl	p	NActifs	NActifs	Ec-Type	Ec-Type	Ratio-F	p
	AIB	A4				AIB	A4	AIB	A4	variance	variance
P1	46,667	47,620	0,248	4/6	0,8165	3	3	2,89	6,01	4,33	0,38
P2	35,000	61,907	2,242	4/6	0,0884	3	3	18,03	10,35	3,03	0,50
P3	5,317	9,770	4,919	4/6	0,0079	3	3	1,55	0,21	56,58	0,03
P4	11,830	8,090	5,721	4/6	0,0046	3	3	0,95	0,62	2,39	0,59
P5	4,333	4,333	0,000	4/6	1,0000	3	3	2,52	0,76	10,86	0,17
P6	100,000	100,00		4/6		3	3	0,00	0,00		
P7	57,033	37,067	3,525	4/6	0,0243	3	3	8,70	4,53	3,69	0,43
P8	0,500	0,387	1,280	4/6	0,2699	3	3	0,15	0,04	13,41	0,14
P9	60,000	40,000	3,536	4/6	0,0241	3	3	9,17	3,46	7,00	0,25
P10	16,083	13,080	6,022	4/6	0,0038	3	3	0,83	0,23	13,11	0,14
P11	5,067	3,870	3,205	4/6	0,0327	3	3	0,64	0,07	84,35	0,02

P12	46,667	39,333	2,562	4/6	0,0625	3	3	1,50	4,72	9,91	0,18
P13	2,333	5,333	3,182	4/6	0,0335	3	3	0,58	1,53	7,00	0,25
P14	0,193	0,430	5,561	4/6	0,0051	3	3	0,02	0,07	9,19	0,20
P15	3,700	5,017	6,225	4/6	0,0034	3	3	0,28	0,24	1,40	0,83
P16	1,050	1,860	9,658	4/6	0,0006	3	3	0,13	0,06	4,86	0,34