

**REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE**  
**MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE**  
**SCIENTIFIQUE**

**UNIVERSITE DE BLIDA 1**  
**FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE**  
**DEPARTEMENT DES BIOTECHNOLOGIES**



MEMOIRE DE FIN D'ETUDE EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLOME DE MASTER  
ACADEMIQUE EN SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE

Spécialité : Biotechnologie végétale

**Evalauton de la réponse de cinq variétés d'orge locales  
algériennes à l'organogénèse**  
**(Culture de segment de tige méristématique)**

Présenté par :

**BOUSLIMANI HALIMA**

Devant le jury composé de :

M <sup>me</sup> FOURAR R.	Maitre de Conférences B	Université de blida1	Présidente
M <sup>me</sup> RAMLA D.	Chargé de la recherche	INRAA	Promoteur
M. BENMOUSSA M.	Professeur	Université de blida1	Co-promoteur
M <sup>me</sup> TELAIDJI A.	Maitre assistante A	Université de blida1	Examineur
M <sup>me</sup> BRADEA M.S.	Maitre de Conférences A	Université de blida1	Examineur

Année universitaire : 2013/2014

## **Remerciements**

*A DIEU seul revient ma gratitude en premier et dernier lieu.*

*Je tiens tout d'abord à remercier ma promotrice M<sup>m</sup> RAMLA.D chargé de la recherche à l'INRAA , qui m'as accueilli dans son équipe et m'as proposé un sujet riche et passionnant. Je la remercie très sincèrement pour l'encadrement scientifique apporté au cours de la réalisation de ce mémoire.*

*Je souhaite exprimer toute ma gratitude à mon co-promoteur Mr BENMOUSSA.M., Professeur à l'université du Blida1, pour sa direction, et sa compréhension sans qui ce mémoire n'aurait jamais vu le jour.*

*Mes remerciements s'adressent aussi à M<sup>me</sup> FOURAR.R Maître Assistant (A) de m'avoir fait l'honneur d'accepter de présider le jury.*

*A M<sup>me</sup> BRAEA.MS., et M<sup>me</sup> TELAJDI.A., pour avoir accepté d'examiner ce travail.*

*Je tiens à remercier sincèrement Monsieur Mr YAKHO M.S. s'est toujours montré à l'écoute et très disponible tout au long de la réalisation de ce travail, ainsi pour l'inspiration, l'aide et le temps qu'il a bien voulu me consacrer.*

*Les mots me manquent pour exprimer ma profonde reconnaissance à ma tendre famille dont l'amour, la patience et le sacrifice s'inscrivent à chaque page de ce document.*

*Enfin, j'adresse mes plus sincères remerciements à tous mes proches et amis, qui m'ont toujours soutenue et encouragée au cours de la réalisation de ce mémoire.*

## *Dédicaces*

*Je dédie ce mémoire à :*

*Ma mère, qui a œuvré pour ma réussite, de par son amour, son soutien, tous les sacrifices consentis et ses précieux conseils, pour toute son assistance et sa présence dans ma vie, reçois à travers ce travail aussi modeste soit-il, l'expression de mes sentiments et de mon éternelle gratitude.*

*Mon père, qui peut être fier et trouver ici le résultat de longues années de sacrifices et de privations pour m'aider à avancer dans la vie. Puisse Dieu faire en sorte que ce travail porte son fruit ; Merci pour les valeurs nobles, l'éducation et le soutien permanent venu de toi.*

*Mes frères : MOHAMMED, EBD ERREZAK, ABDE RRAHMEN, qui n'ont cessé d'être pour moi des exemples de persévérance, de courage et de générosité.*

*Ma chère sœur FATIMA pour ses encouragements incessants*

*A mon beau-frère MOHAMMED*

*À mes nièces et neveux : HANI. ALAA. MOUNAIM et SARAH*

*A ma meilleure amie YASMINE*

*A mes chères amies.*

*A tous ceux qui ont contribué d'une manière ou d'une autre à l'élaboration de ce travail.*

*A tous ceux qui m'aiment et que j'aime.*

## Résumé

---

Notre étude a porté sur l'étude de l'effet du génotype et de différentes concentrations de cytokinine sur la différenciation des segments méristématiques de tige (SMT) en pousses multiples.

Dans cette optique, 5 variétés d'orge algériennes (*Hordeumvulgare*L.) Azrir, Ras el Mouche, Temmassine, Ksar Megarine et Hoggar 2 ont été utilisées.

L'effet du génotype sur le taux de différenciation des (STM) en pousses s'est montré significativement différent d'une variété à l'autre. Le génotype Temmassine a donné le taux le plus élevé (18,0%), ce dernier est suivi par les génotypes [Ras el Mouche (15,4%) ; Ksar Megarine (14,3%) ; Hoggar2 (9,9%)] le génotype Azrir a marqué le plus faible taux de différenciation (2,0%).

En absence de la cytokinine BAP (0 mg/l), l'induction des pousses s'est montrée très faible avec un pourcentage de 0,7 %. 3 mg/l de cette même cytokinine optimise le plus efficacement l'induction des pousses avec un pourcentage de 18,5 %.

### Mots clés :

orge, segment méristématique, pousse, cytokinine .

## Abstract

---

The effect of genotype on the induction of multiple shoots in vitro adventitious bud from a segment of meristematic stem (STM) as explant and the effect of the concentration of a cytokinin BAP in hormonal balance [Auxin / cytokinin] on the induction of meristematic segments and their differentiation into shoots have been the objective of this work. To this end, five varieties of Algerian barley (*Hordeum vulgare* L.) Azrir, Ras el Fly, Temmassine Ksar Megarine Hoggar and 2 were used.

The effect of genotype on the differentiation rate (STM) in shoots was significantly different from one variety to the next. Genotype Temmassine gave the highest (18.0%) rate, it is followed by genotypes [Ras el fly (15.4%); Ksar Megarine (14.3%); Hoggar2 (9.9%)] genotype Azrir marked the lowest level of differentiation (2.0%).

In the absence of cytokinin BAP (0 mg / l), the induction of shoots was very low with a percentage of 0.7%. 3 mg / l of cytokinin even this most effectively optimize the induction of shoots with a percentage of 18.5%.

**Keywords:**

barley ,meristem segment, shoot, cytokinin.

## المخلص

يركز العمل الحالي على دراسة تأثير التركيب الوراثي و تأثير مختلف تراكيز السيتوكينين (BAP) على تجدد البراعم في المخبر لخمسة أصناف من الشعير: راس الموش, أزريز, تيماسين, قصر ميقرين و هقار 2.

أظهرت النتائج أن الأصناف الخمسة تختلف باختلاف تركيبها الوراثي في تطور القطع الجذعية المرستيمية (SMT) إلى براعم.

أظهرت تيماسين القدرة الأرقى على التمايز بمعدل (18,0%) تليها راس الموش بمعدل (15,4%) لتأتي بعدها قصر ميقرين (14,3%) متبوعة بهقار 2 بمعدل (9,9%) و في المرتبة الأخيرة تأتي أزريز (2,0%).

و بالتالي فإن غياب السيتوكينين BAP (0مغ/ل) يؤثر بشكل ملحوظ على تجدد البراعم في المخبر مسجلا بذلك أقل نسبة بمعدل 0,7% , في حين أن تركيز 3مغ/ل من نفس السيتوكينين سجل نسبة عالية تقدر بـ 18,5%.

### المفردات الجوهرية:

الشعير, البراعم, جذع مرستيمية, سيتوكينين, BAP.

## LISTE DES ABREVIATIONS

- **ANOVA**: Analysis Of Variance.
- **BAP** : 6-Benzylaminopurine.
- **C°** : Degré Celsius
- **INRAA** : Institut National de la Recherche Agronomique.
- **ITGC** : Institut National des Grandes Cultures.
- **Kg** : Kilogramme
- **MS** :Murashige et Skoog.
- **qx** : quintaux.
- **T** : Température.
- **UE27** : Union Européene.
- **USA** : United States American.
- **USDB** : Université Saad Dahleb de Blida.

## LISTE DES TABLEAUX

**Tableau 1 :** Tableau 1 : Différents stades de développement de l'orge (*Hordeumvulgare* L.)

**Tableau 2 :** Données économiques sur la culture de l'orge dans le monde.

**Tableau 3 :** Bilan de l'expérimentation

**Tableau4 :** Analyse de la variance pour le taux de différenciation des segments méristématiques de tige en pousse vertes des cinq variétés d'orge étudiées.

**Tableau 5 :** Classement des cinq variétés populations d'orge et des concentration de la [BAP]pour leur effet sur le pourcentage de différenciation des segments mérisématiques de tiges en pousses vertes.



## **LISTE DES FIGURES**

**Figure 1 :** Orge à six rangs à gauche et orge à deux rangs à droite.

**Figure 2 :** Vue ventrale et dorsale du grain d'orge.

**Figure 3 :** épillet d'orge à deux rangs.

**Figure 4 :** épillet d'orge à six rangs.

**Figure 5 :** les différentes étapes de préparation des explants (segments méristématiques de tiges).

**Figure 6 :** différenciation de pousses vertes chez la variété population Temassine dans trois concentrations de la BAP en milieu d'induction deux mois après la mise en culture des SMT.

## SOMMAIRE

<b>Introduction .....</b>	<b>1</b>
<b>Synthèse bibliographique</b>	
<b>1. Présentation du matériel végétal.....</b>	<b>2</b>
1.1. Origine et histoire.....	2
1.2. Présentation botanique.....	2
1.3. Développement et reproduction chez l'orge.....	5
1.4. Données économiques.....	6
1.5. Utilisation de l'orge.....	8
1.6. Les principales variétés d'orge cultivées en Algérie .....	8
<b>2. Méthodes de sélection et d'amélioration variétale .....</b>	<b>9</b>
2.1.1. Objectifs et critères de sélection de l'orge.....	9
<b>3. La culture in vitro.....</b>	<b>10</b>
3.1. La micropagation.....	10
3.2.La morphogénèse.....	11
3.2.1.L'organogénèse.....	12
<b>Objectifs du travail .....</b>	<b>23</b>
<b>Matériels et méthodes.....</b>	<b>23</b>
Observations.....	25
<b>Résultats et discussion.....</b>	<b>28</b>
<b>Conclusion.....</b>	<b>31</b>
<b>Références Bibliographiques .....</b>	<b>32</b>

## Introduction

---

Les céréales ont de tout temps été la base de l'alimentation humaine. En effet selon **Pierre et Gendron (1982)**, Le mot céréale provient du latin *cérealis*. Les Romains nommaient ainsi les cultures d'orge et de blé dont les grains moulus produisaient la farine du pain. Selon **Parry et Parry (1993)**, l'orge est probablement la céréale la plus ancienne.

Au plan mondial, vers la fin des années 80, selon la **FAO**, l'orge figure au quatrième rang des céréales après le blé, les riz et le maïs (**Jestin, 1992**). Cette espèce, ajoute le même auteur, possède une caractéristique essentielle qui est son extraordinaire adaptation à des conditions extrêmes. Les principaux pays producteurs sont l'URSS, l'Espagne, la France, le Canada, le Royaume Uni et l'Allemagne (ex.RFA)

Au niveau du continent africain, l'orge occupe la sixième place parmi les céréales; le Maïs étant en première place suivi du sorgho ensuite du blé qui occupe donc la troisième place (**Chantereau et Nicon, 1991**).

Au niveau maghrébin, mis à part le Maroc où seul le blé tendre continue à faire l'objet d'importation, dans l'ensemble des autres pays et spécialement en Algérie, l'importation porte sur toute les céréales **ITGC (1989)**.

Etant donné que les variétés locales cultivées ont un potentiel de rendement assez limité, ceci a conduit à l'importation de nouvelles variétés à haut rendement en vue d'améliorer la production (**ITGC, 1979**). Cependant, plusieurs travaux en Algérie ont prouvés la difficulté d'adaptation des variétés introduites d'orge à l'environnement sévère tel que celui des hautes plaines (**Benlaribi et al., 1990 in Kabouch et al., (2001), Bouzerzour et Benmahammed, 1993**).

L'amélioration génétique vis-à-vis des différents stress auxquels fait face l'orge par l'utilisation de la **culture *in vitro*** reste une préoccupation majeure et fait l'objet de multiples travaux de recherche à travers le monde. Elle nécessite la maîtrise du protocole de régénération *in vitro* via l'organogénèse pour les variétés d'orge concernées par le processus d'amélioration.

Le présent travail consiste à tester l'influence de la concentration de la BAP (cytokinine) et du génotype sur la réponse des explants de 5 variétés d'orge locales algériennes mesurés par le taux de différenciation de pousses vertes. L'objectif étant d'identifier les variétés ayant la meilleure réponse organogène au niveau de la phase d'induction

## 1. Présentation du matériel végétal

### 1.1 Origine et histoire :

L'orge est issue de formes sauvages d'*Hordeum spontaneum* que l'on trouve encore aujourd'hui au Moyen Orient. *Hordeum spontaneum*, l'orge à deux rangs, qui très réponde depuis la Grèce jusqu'au Moyen Orient, est connue comme étant la forme ancestrale de l'orge cultivée, avec laquelle, elle est parfaitement inter-fertile (Jestin, 1992).

### 1.2. Présentation botanique

L'orge commune (*Hordeum vulgare* L.) est une céréale à paille. C'est une monocotylédone qui appartient à la famille des **Poacées** et à la sous-famille des **Festucoidées**. Le genre *Hordeum* auquel l'orge cultivée appartient, se caractérise par des épillets uniflores groupés par trois, avec un central, flanqué de deux latéraux, disposés alternativement à chaque étage du rachis (Von Bothmer et Jacobsen, 1985). Sa classification est basée sur la fertilité des épillets latéraux, la densité de l'épi et la présence ou l'absence des barbes (Grillot, 1959)

Il existe deux types d'orge :



**Figure 1 :** Orge à six rangs à gauche et orge à deux rangs à droite (GNIS., 1990)

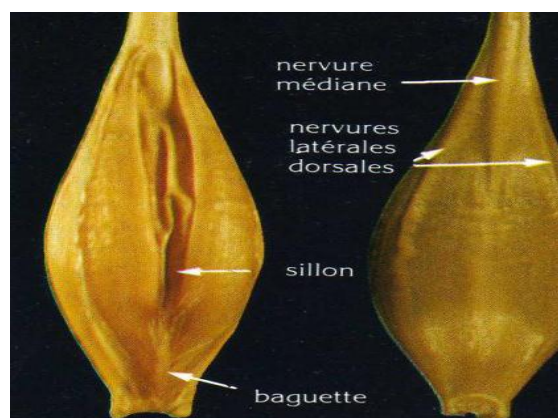
*Hordeum vulgare distichum* celle à épis plats à deux rangs de grains ; sur chaque article du rachis sont insérés, au même point, trois épillets : l'épillet central est seul fertile et ne comporte qu'une fleur, les épillets latéraux sont stériles ;

*Hordeum vulgare hexastichum* celle à épis cylindrique à 6 rangs de graines communément appelées escourgeon ; elle présente trois épillets fertiles, comportant un seul grain chacun par

## Synthèse bibliographique

---

niveau d'insertion. Les grains latéraux sont légèrement dissymétriques. L'ensemble des grains constitue alors six rangées autour du rachis (**Boyeldieu, 2002**).



**Figure 2 : Vue ventrale et dorsale du grain d'orge (GNIS., 1990).**

Les épillets latéraux peuvent se développer normalement et ainsi conférer la morphologie orge à "6 rangs" ou être stériles, réduits à des vestiges et caractériser les orges à "2 ou 4 rangs" (**Von Bothmer et al. 1995**). L'espèce *Hordeum vulgare* L. est diploïde et possède sept paires de chromosomes (**Thomas et Pickering, 1988**). Elle peut être annuelle ou vivace.

Parmi les variétés cultivées, il existe des orges d'hiver et des orges de printemps.

**Les orges d'hiver** nécessitent d'être vernalisées pour fleurir, c'est-à-dire qu'une exposition au froid et une photopériode plus courte sont indispensables pour induire leur floraison. Ces variétés sont donc semées en début d'hiver.

**Les variétés de printemps** quant à elles, ne résistent pas au froid et ne nécessitent pas de vernalisation, elles sont par conséquent semées au printemps (**Von Bothmer et al., 1995**).

La fleur d'orge est constituée d'un verticille de trois anthères, chacune constituée d'une anthère fixée au filet, et d'un ovaire surmonté de deux stigmates plumeux (**Jestin, 1992 et VonBothmer et al., 1995**). L'anthère représente l'organe reproducteur male de la fleur qui produit les grains de pollen. La floraison débute vers le tiers supérieur de l'épi, puis s'étend à l'épi entier. L'orge est le plus souvent autogame, c'est-à-dire que les anthères émettent une grande partie de leur pollen dans leur fleur d'origine, induisant une autopollinisation (**Nuutila et al. 2000**).

## Synthèse bibliographique

---

Selon Baum et Bailey (1989)in **Cherif-Hamidi (2004)**, le genre *Hordeum* est difficile à identifier sur le plan taxonomique. Ce genre se subdivise en quatre sections: *Hordeum*, *Anisolepis*, *Cristesion* et *stenostachys*(Von Bothmer et Jacosen, 1995in **Hanifi, 1999**).

Linné (1975)in**Benmahammed (1996)** a établi une classification des orges d'après la fertilité ou non des épillets latéraux et la compacité des épis, qui se résume ainsi :

Epillets médians et latéraux fertiles :

-Epi compact: *Hordeumhexasticum* L.

-Epi lâche: *Hordeumtetrastichum* L.

-Epi lâche à grain nu : *Hordeumvulgare*var.coelisti.L.

-Epillets medians seuls fertiles :

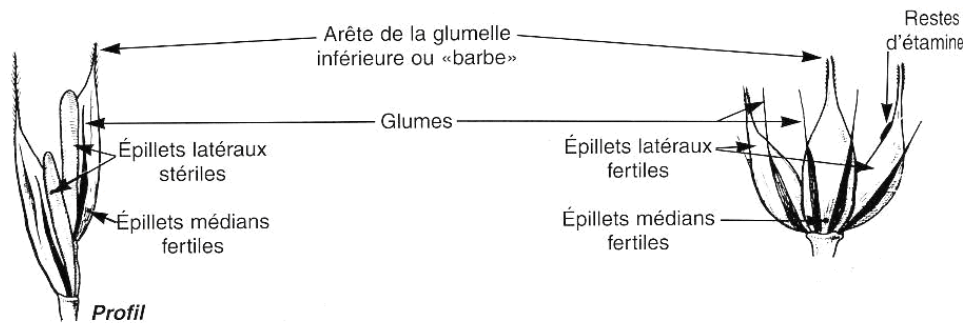
-Epi compact : *HordeumZeocrithon* L.

-Epi lâche: *Hordeumdistichum*L.

-Epi lâche à grain nu : *Hordeumdistichum*L. var.nudum.



**Figure 3** : Epillet d'orge à deux rangs (**Soltner, 2005**)



**Figure 4** : Epillet d'orge à six rangs (Soltner, 2005)

### 1.3. Développement et reproduction chez l'orge :

Selon **Jestin (1992)**, les caractéristiques de végétation et de reproduction de l'orge sont voisines de celle du blé ; les différences les plus marquées concernent :

- Une propension plus forte au tallage, avec une paille souvent plus fragile.
- Un cycle semi maturité souvent plus court.
- Une capacité de survie au froid n'atteignant pas celles des blés ou des seigles.

**Soltner (1988)**, ajoute d'autres différences, comme :









- les exigences en eau sont légèrement plus réduites et surtout importantes au début de la végétation.
- L'orge tire parti de sols légers et calcaires mieux que le blé.

Hormis le besoin éventuel en vernalisation, l'orge est une espèce dite "de jours longs" Selon le génotype, les orges ont des besoins nuls (orge de printemps) ou variables (orges dites d'hiver ou d'automne) de froid vernalisant pour pouvoir passer convenablement de leur phase végétative à la phase de reproduction. (**Jestin, 1992**).

## Synthèse bibliographique

Les différents stades de développement de l'orge sont indiqués dans le **Tableau 1**.

**Tableau 1. Différents stades de développement de l'orge (*Hordeum vulgare* L.)**

Stade		Echelle de Feekes	Caractéristiques
	Levée	1	1 <sup>er</sup> feuille perce le coléoptile 3 feuilles
	Début tallage	2	Formation de la 1 <sup>er</sup> talle
	Plein tallage	3	2 à 3 talles
	Fin tallage	4	
	Epi à 1 cm	5	Sommet de l'épi distant de 1 cm du plateau de tallage
	1 à 2 nœuds	6	01 nœud élongation de la tige
		7	2 nœuds
	Gonflement	8	Apparition de la feuille
	L'épi gonfle	9	Ligule juste visible
	La gaine de la dernière feuille	10	Gaine de la dernière feuille Sortie
	Epiaison	10 - 1	Sortie des barbes
		10 - 2	¼ épiaison
		10 - 3	½ épiaison
		10 - 4	¾ épiaison
		10 - 5	Tous les épis sortis
	Formation du grain	11 - 1	Grain laiteux
		11 - 2	Grain pâteux
		11 - 3	Grain dur
		11 - 4	Grain mûr

**Source : LT.C.F., 1983 in Aït-Rachid, 1991.**

### 1.4. Données économiques :

L'orge est la quatrième céréale cultivée au plan mondial après le maïs, le blé et le riz (OAIC, Alger, 2009). L'espèce *H.vulgare* L. possède une forte capacité d'adaptation à des conditions extrêmes, grâce à l'existence de variétés avec un cycle de culture court (100 à 120 jours) et sa résistance à la sécheresse et à la salinité. Ainsi sa culture va du niveau de la mer (bassin méditerranéen) à plus de 4500 mètres d'altitude dans la chaîne montagneuse himalayenne (Von Bothmer et al. 1995).

Les coefficients de variation du rendement en grains sont de 26.6%, 24.5 et 22,7% respectivement pour l'orge, le blé dur et le blé tendre, indiquant que l'orge est moins régulière, probablement parce qu'elle occupe les zones les moins favorables (Hakimi, 1989).



## Synthèse bibliographique

Le **Tableau 2** montre quelques données sur la culture de l'orge en Algérie :

<b>Tableau 2 :Données économiques sur la culture de l'orge dans le monde</b> Évolution 1995-2013 superficies emblavées-récoltées-productions- rendements				
<b>ANNEE</b>	<b>ORGE</b>			
	<b>Sup. emb (ha)</b>	<b>Sup. réc (ha)</b>	<b>Prod. (qx)</b>	<b>Rdt (qx/ha)</b>
<b>1995</b>	<b>1 395 140</b>	<b>824 170</b>	<b>5 849 800</b>	<b>7,10</b>
<b>1996</b>	<b>1 332 870</b>	<b>1 282 500</b>	<b>18 002 220</b>	<b>14,04</b>
<b>1997</b>	<b>1 204 900</b>	<b>264 840</b>	<b>1 908 920</b>	<b>7,21</b>
<b>1998</b>	<b>1 043 010</b>	<b>939 210</b>	<b>7 000 000</b>	<b>7,45</b>
<b>1999</b>	<b>964 700</b>	<b>468 960</b>	<b>5 100 000</b>	<b>10,88</b>
<b>2000</b>	<b>1 067 610</b>	<b>215 630</b>	<b>1 632 870</b>	<b>7,57</b>
<b>2001</b>	<b>872 080</b>	<b>515 690</b>	<b>5 746 540</b>	<b>11,14</b>
<b>2002</b>	<b>894 900</b>	<b>401 400</b>	<b>4 161 120</b>	<b>10,37</b>
<b>2003</b>	<b>833 510</b>	<b>782 380</b>	<b>12 219 760</b>	<b>15,62</b>
<b>2004</b>	<b>1 029 000</b>	<b>915 440</b>	<b>12 116 000</b>	<b>13,24</b>
<b>2005</b>	<b>1 023 414</b>	<b>684 648</b>	<b>10 328 190</b>	<b>15,09</b>
<b>2006</b>	<b>1 117 715</b>	<b>812 280</b>	<b>12 358 800</b>	<b>15,21</b>
<b>2007</b>	<b>1 057 700</b>	<b>971 246</b>	<b>11 866 580</b>	<b>12,22</b>
<b>2008</b>	<b>1 195 269</b>	<b>435 963</b>	<b>3 959 215</b>	<b>9,08</b>
<b>2009</b>	<b>1 275 616</b>	<b>1 250 762</b>	<b>25 666 000</b>	<b>20,52</b>
<b>2010</b>	<b>1 296 626</b>	<b>1 018 792</b>	<b>15 039 000</b>	<b>14,76</b>
<b>2011</b>	<b>1 214 225</b>	<b>852 379</b>	<b>12 580 800</b>	<b>14,76</b>
<b>2012</b>	<b>1 222 048</b>	<b>1 030 477</b>	<b>15 917 150</b>	<b>15,45</b>
<b>2013</b>	<b>1 304 720</b>	<b>897 719</b>	<b>14 986 386</b>	<b>16,69</b>

Source : MADR, 2014.

### 1.5. Utilisation de l'orge

L'orge est une espèce très adaptée aux systèmes de cultures pratiqués en zones sèches. Cette adaptation est liée à un cycle de développement plus court et à une meilleure vitesse de croissance en début du cycle.

Le grain d'orge est utilisé en alimentation animale. Il est considéré comme l'un des meilleurs aliments pour la qualité qu'il apporte à la viande mais aussi pour ses valeurs diététiques (**Becart et al.,2000; Fischbeck, 2002**). L'orge peut également être cultivée pour l'apport de nourriture sous forme d'ensilage (plante entière) ou générer des pâtures aux animaux dans les régions sèches du Proche-Orient (**Fischbeck, 2002; Briggs, 1987**). Même si l'utilisation de l'orge en alimentation humaine est de moins en moins importante, elle est encore présente pour la fabrication de pains, soupes et gruaux (**Fischbeck, 2002**). La principale utilisation de l'orge reste pour l'industrie brassicole et la fabrication de la bière et du whisky (**Fischbeck, 2002 ; Briggs, 1978**). Les critères de qualité nécessaires à ces utilisation sont partiellement conditionnées par le génotype (**Jestin, 1992 ; Fischbeck, 2002**).

### 1.6. Les principales variétés d'orge cultivées en Algérie :

L'orge est généralement, cultivée en Algérie le ou le blé ne peut donner un bon rendement, c'est-à-dire dans les zones semi-arides. Elle occupe les moins bonne terres, parmi celles réservées aux blés, comme on peut la trouver dans les zones marginales à sols plus au moins pauvres, et cela, grâce à sa rusticité (**Oufroukh et Hamidi, 1988**).

En Algérie, l'orge est à destination fourragère et alimentaire. Deux variétés locales, **Saida** et **Tichedrett** couvrent l'essentiel des superficies qu'occupe cette espèce. Des variétés nouvelles ont fait leur apparition en milieux producteurs, mais elles n'occupent, toutefois, que des superficies limitées suite à leur faible adaptabilité à l'environnement de production. Elles sont irrégulières et produisent peu de paille, sous stress (**Fischbeck, 2002**). La sélection de nouvelles variétés relativement mieux adaptées et plus productives reste donc un important objectif de recherche dans les régions semi-arides où de faibles progrès ont été faits en la matière(**Ceccarelli et al. 1998**).

### 2. Méthodes de sélection et d'amélioration variétale

Pendant longtemps, l'homme s'est basé sur des techniques classiques pour la sélection et l'amélioration variétales. Ces méthodes ont fourni à l'agriculteur de nombreuses variétés qui se sont imposées grâce à des rendements régulièrement élevés et à une qualité satisfaisante mais elles restent toujours limitées (**Dubois et al., 1992**).

Au fil des années, plusieurs recherches ont été réalisées dans ce domaine, en remplaçant ces techniques classiques par d'autres plus rapides et plus efficaces tel que les cultures *in vitro* qui ont déjà permis d'atteindre plusieurs objectifs dans le cadre d'amélioration variétale.

La plupart des céréales sont propagées de manière traditionnelle et efficace par l'intermédiaire de semences. La propagation clonale n'est donc requise que dans certains cas particuliers, comme, par exemple, l'évaluation de plantes mères dans un programme de sélection et, plus récemment, dans l'induction de variations de type somaclonal (**Zryd, 1988**).

#### 2.1. Objectifs et critères de sélection de l'orge

Trois principaux objectifs sont recherchés dans la sélection de l'orge :

**Productivité et stabilité du rendement** : L'élaboration du rendement implique l'enchaînement de multiples mécanismes liés à la croissance et au développement des peuplements végétaux en relation avec les facteurs et conditions du milieu (**Combe et Picard, 1994**).

**Résistance à la verse** : Selon **Moule (1980)**, l'orge est, des trois céréales (blé, orge, avoine), la plus sensible à cet accident qui est le facteur limitant principal de la fumure. Cependant selon les régions, la résistance à divers stress doit être considérée (sécheresse, salinité du sol) (**Jestin, 1992**). En effet l'adaptabilité au milieu est un phénomène essentiel en raison des relations entre conditions de culture et expression des potentialités génétique (**Combe et Picard, 1994**).

**Résistance aux maladies** : la maîtrise des maladies par les traitements chimiques n'est pas sans inconvénients (**Simon, 1989**), l'objectif est de rechercher des génotypes qui présentent avec l'agent pathogène un rapport *in vitro* d'incompatibilité (**Seilleur, 1989**).

### 3. La culture *in vitro*

Selon **Zryd (1988)**, Il est possible de produire des plantules de céréales *in vitro* par induction de structures adventives (racines et tiges feuillées) régénérées à partir de méristèmes pluricellulaires ou par embryogénèse adventive. On peut ainsi obtenir des plantes à partir de structures méristématiques en croissance rapide telles que embryons immatures, jeunes inflorescence rapide telles que embryons immatures, jeunes inflorescence et feuilles très jeunes. Les cultures *in vitro* de céréales peuvent donc être utilisées pour la multiplication clonale ainsi que pour la sélection

#### 3.1. La micropropagation

La multiplication végétative par culture *in vitro* ou micropropagation présente plusieurs avantages sur les méthodes classiques dites "conventionnelles" de propagation. Cette technique a rendu possible la multiplication d'espèces chez lesquelles les semences sont rares, où présentant des difficultés de germination et/ou dont les techniques de bouturage ou de greffage sont inapplicables, ce qui a conduit à une plus grande diversité des plantes commercialisées.

De même plusieurs autres techniques, toutes dérivées de la culture *in vitro*, ont un rôle important à jouer dans l'amélioration des performances agronomiques ou horticoles des plantes cultivées. La micropropagation est utilisé dans un but de multiplication en masse, puisqu'elle permet, en partant d'un seul individu (plant), l'obtention d'un nombre considérable de plantes génétiquement identiques à la plante mère (**Ferry *et al.*, 1998; Semal, 1998**). Les plants reproduits ne sont pas seulement conformes mais présentent aussi une grande uniformité.

Par ailleurs, l'usage de cette technique nécessite peu d'espace et peut-être programmé indépendamment des saisons. La technique représente donc sans contexte un outil puissant aux perspectives industrielles et économiques importantes (**Margara, 1982, Boxus, 1995; Semal, 1998; Skirvin *et al.*, 2000**).

## Synthèse bibliographique

---

Les techniques de micropropagation empruntent essentiellement deux voies,

· L'une qui utilise des tissus méristématiques (méristème ou apex de tige, bourgeons axillaires potentiellement capable de donner suite, au développement normal, d'un individu est appelée microbouturage (Saadi, 1991) cette technique est souvent appelée "multiplication conforme" car elle part de méristème préexistant dans les quels, les cellules sont génétiquement très stables (Amato, 1977 in Boxus, 1995), l'individu est généralement obtenu en deux étapes successives, d'abord la production de tige, puis son enracinement .

· L'autre voie, utilise toute sorte de tissus différenciés (fragments de tige, de racines, de pétiole, de feuilles, d'embryons matures et immatures, d'hypocotyles, cotylédons...etc) pour aboutir à la néoformation soit de bourgeons ou de racines, c'est l'organogenèse, soit de structures ressemblant aux embryons zygotiques, c'est l'embryogenèse somatique (Zryd, 1988 ; Margara, 1989).

### 3.2. La morphogénèse *in vitro*

Dans les cas favorables on peut induire la morphogénèse en plaçant les cultures sur un milieu contenant une plus faible concentration d'auxine (moins de  $10^{-6}$ M). Dans de nombreux cas cependant, la morphogénèse peut se manifester spontanément après quelques semaines sur le milieu initial, probablement à la suite d'une diminution (métabolisation) de la concentration d'auxine endogènes. Cette morphogénèse est fréquemment de type racinaire, parfois mais plus rarement de type foliaire ; une adjonction de cytokinine peut être favorable au développement de pousses feuillées normales. L'orientation du développement est fortement dépendante du génotype. Il semblerait que la plupart des cals que l'on peut obtenir, en présence d'auxine sur des segments basales des feuilles, soient formés de primordia racinaire proliférant de manière anormale en produisant des cellules de type "coiffe" en surface. La suppression de l'auxine ne ferait alors permettre une croissance normale des racines (Zryd, 1988).

### 3.2.1. L'organogénèse

#### 3.2.1.1. Définition :

L'organogénèse est une technique qui repose sur la réactivation des bourgeons axillaires et des zones méristématiques préexistantes à la base des jeunes feuilles de rejets, jeunes inflorescences et bourgeons axillaires indifférenciés de palmiers dattiers adultes (**El Hadrami, 1996**).

L'organogénèse est la base fondamentale de la multiplication végétative, laquelle s'appuie toujours sur la formation de méristèmes nouveaux (**Margara, 1989**). En partant d'un explant, elle aboutit à la formation d'un nouvel individu par l'élaboration de bourgeons (caulogénèse) et de racine (rhizogénèse).

#### 3.2.1.2. Phases de l'organogénèse

Le cycle de production comprend quatre (4) phases :

**1-Initiation de tissus organogènes** : elle se fait à partir de sites potentiellement méristématiques préexistants au niveau des explants. Cette phase se déroule à l'abri de la lumière (obscurité) et aboutit à la formation de souches réactives, nécessitant l'action d'hormones à dominance auxinique (**Djerbi, 1991, Al kaabi, 2001**).

**2-Multiplication des bourgeons** : elle s'effectue à la lumière dans un milieu là où la teneur en cytokinines est augmentée. On assiste durant cette phase à une initiation de bourgeons qui, après formation, seront repiqués pour être multipliés (**Benabdalah, 1989**). Cette étape est répétée autant de fois qu'il faut pour atteindre le nombre de bourgeons désirés (**Djerbi, 1991**).

**3-Allongement des bourgeons et enracinement des pousses** : cette phase nécessite au moins deux (2) milieux différents et doit déboucher vers la formation de plants vigoureux et bien constitués ayant la structure d'un petit poireau (**Djerbi, 1991 ; Al kaabi, 2001**).

**4-Acclimation** : il s'agit durant cette phase de soumettre progressivement les vitroplants aux conditions naturelles de plantation.

### 3.2.1.3. Lacaulogénèse

#### a. Définition :

La caulogénèse désigne à la fois l'initiation et le développement des bourgeons terminaux, axillaires, adventifs ou néoformés sur un cal.

- Les bourgeons terminaux dérivent de la gemmule de l'embryon.
- Les bourgeons axillaires sont produits généralement par les deux ou trois assises cellulaires superficielles de la tige.
- Les bourgeons adventifs sont formés en des endroits inhabituels. Ils sont formés à partir d'organes différenciés de la plante (entre-noeuds, tubercules, racines). Ils peuvent avoir pour origine des massifs cellulaires restés méristématiques ou bien provenir d'une différenciation de certaines cellules (**Camefort, 1977**).
- Les bourgeons néoformés *in-vitro* peuvent apparaître sur l'explant initial ou sur un cal, ils peuvent être considérés comme un cas particulier de bourgeons adventifs (**Boxus, 1995**). Ils sont induits sur n'importe quel type d'organe ou de tissu y compris sur ceux qui ne les produisent pas dans les conditions naturelles (**Camefort, 1977; Zryd, 1988; Margara, 1989**).

#### b. Origine des bourgeons

Les études cytologiques, conduites dans le but de déterminer l'origine des bourgeons néoformés à partir d'un fragment d'organe contenant divers tissus montrent souvent que l'aptitude à la caulogénèse se manifeste à partir de certaines catégories de tissus telle que: le cambium, le parenchyme vasculaire ou libérien (**Belanger, 1998; Fortes et Pais, 2000**).

L'intensité de cette néoformation est nettement dépendante de la nature des tissus contenus dans l'explant. Elle est maximale pour les tissus cambiaux, élevée pour les tissus du phloème et du xylème, très faible ou nulle pour le parenchyme cortical ou médulaire (**Margara, 1989**).

Chez les conifères, comme le pin, les premières divisions périclines apparaissent dans les couches sub-épidermiques du mésophylle, l'origine des pousses caulinaires paraît être unicellulaire. Par contre chez les Angiospermes, l'origine peut être pluricellulaire, des

## Synthèse bibliographique

---

méristèmes peuvent se former à partir de cellules épidermique ou encore à partir de tissus palissadiques, du mésophylle spongieux ou de la gaine péri-vasculaire des explants cultivés (Boxus, 1995).

### 3.2.1.4. La rhizogenèse

#### a. Définition

La rhizogenèse désigne la néoformation et la croissance de racine. Les méristèmes de racines se répartissent en plusieurs catégories selon leurs origines.

- Les racines latérales se forment de manière spontanée sur la racine principale dans les conditions naturelles.
- Les racines adventives sont produites par des organes divers, soit spontanément, soit accidentellement à la suite d'une blessure ou d'une manière provoquée, dans les conditions du bouturage et du marcottage.
- Les racines néoformées, au sein d'un cal, en culture *in-vitro*, peuvent être considérées comme un cas particulier de méristèmes adventifs (rhizogenèse indirecte) ou l'émission de racines sur un explant dans des endroits inhabituelles (rhizogenèse directe).

### 3.2.1.5. Les facteurs influençant

Les facteurs influant sur la régénération *in-vitro* peuvent être schématiquement répartis en 2 groupes. Le premier représente Les facteurs internes, (ceux liés à la plante) et concerne d'une part le génotype, la nature et l'âge ontogénique de l'explant et d'autre part l'état physiologique de la plante mère sur laquelle, l'explant a été prélevé. Le second réunit les différents facteurs externes qui englobent et les milieux (notamment leur composition en régulateurs de croissance et les sucres) et les conditions de cultures.

#### 2.4.1- Effet de l'explant

Un des atouts majeurs de la culture *in-vitro* est de montrer que des cellules somatiques (à 2n chromosomes), pouvaient produire, soit des structures comparables à des embryons somatiques, soit à des bourgeons et dont le développement permet de régénérer des plantes conformes à la plante mère. Pratiquement, n'importe quel organe (bourgeon, racine, feuille,



## Synthèse bibliographique

---

anthère, etc.) ou fragment d'organe (explant), prélevé sur celle-ci, peut être cultivé isolément sur milieu nutritif synthétique, mais le choix de celui-ci est d'une importance primordiale. On retiendra cependant que la réponse *in-vitro* est sous la dépendance de nombreux facteurs.

### ❖ *L'âge physiologique et ontogénique de l'organe*

Généralement dans les cultures *in-vitro*, on privilégiera les explants les plus jeunes (embryons immatures, jeunes feuilles, méristèmes etc.) car c'est l'état juvénile qui semble offrir le plus de possibilités de régénération (Davis, 1986., Saadi, 1991). Souvent, ce sont les tissus provenant d'embryons qui expriment le plus souvent, d'une manière nette et reproductible, l'aptitude à la régénération. C'est le cas par exemple du pois (Saadi, 1991); du lupin (Desire, 1988), du coton (Brar Et Al., 1998); du soja (Santarem et al., 1997); du tournesol (Charniere et al., 1999); *Pinus sylvestris* (Haggman et al., 1999) et bien d'autres espèces.

### ❖ *L'époque du prélèvement*

Ce problème se pose surtout pour les espèces vivaces, on peut distinguer un stade de vie active et un stade de vie ralentie de la plante ce qui conduit les explants à développer des réactions différentes en culture *in-vitro*. Cette différence peut être expliquée par la modification des équilibres internes des régulateurs de croissance (auxines, cytokinines, gibbérelline ...) lors des différentes saisons (Auge et al., 1989).

### ❖ *La taille de l'explant*

Plus la taille est importante et plus les équilibres endogènes sont déterminants et les conditions extérieures seront influentes. La taille choisie variera selon la nature de l'explant. Si le tissu végétal est de nature organisée, un ensemble assez complet sera nécessaire (soit un noeud, un apex, ou un bourgeon entier) mais dans le cas d'une structure différenciée (éléments de feuilles, de tige, de racines, inflorescence..) des fragments de 5 à 10 mm suffiront (Zryd, 1988., Auge et al., 1989; Hannweg et al., 1996).

D'une manière générale, il existe des tissus privilégiés appelés «tissus cibles» qui répondent à un stimulus inducteur qui orientera son programme morphogénétique vers une voie particulière de développement contrairement à certains tissus récalcitrants aux manipulations *in-vitro*, dues essentiellement à un manque de compétence cellulaire (Coleman et Ernst, 1990; Nuti Ronchi, 1995; Yadav et Rajam, 1998).

### 2.4.2-Influence du génotype

La plupart des plantes montrent une régénération génotypique spécifique liée à l'espèce.

A l'intérieur d'une même espèce, un génotype donne des bourgeons tandis qu'un autre ne peut fournir que des embryons (**Auge et al., 1989**)

Un tel contrôle de la régénération ( par la voie de l'embryogenèse somatique ou de la caulogenèse ) a été rapporté chez les Légumineuses fourragères est spécialement chez la luzerne par **Brown et Atanassov (1985)**; *Trifolium repens* par **Parrot (1991)** et bien d'autres espèces . **Bencheikh et Gallais (1996 )** indiquent la présence de quelques gènes majeurs pouvant contrôler l'embryogenèse somatique chez le pois. De même **Bingham et al (1975)** ont réussi à augmenter considérablement la fréquence embryogène chez *Médicagosativa* après deux étapes de sélection récurrente. **Reisch et Bingham , (1980)** trouvent chez un génotype de luzerne diploïde que la différenciation de bourgeons à partir de cal est contrôlée par deux gènes dominants désignés Rn1 et Rn2 dont la présence simultanée permet un taux élevé de régénération ( plus de 75 % des explants) . L'hétérogénéité existante chez les Légumineuses fourragères, permet d'expliquer la facilité à identifier les génotypes favorables à la régénération.

### 2.4.3-Influence du milieu de culture

Avec le développement des cultures de tissus, divers milieux de base comprenant des sels inorganiques, des composés organiques ( sucres , vitamines et régulateurs de croissances ) ont été progressivement utilisés .Certains milieux proposés dans un but donné sont en fait utilisables d'une manière beaucoup plus étendue.

Les milieux de culture sélectionnés doivent être le plus parfaitement adaptés aux besoins nutritifs de la plante soumise à l'étude afin de laisser s'exprimer pleinement son potentiel génétique.

Les principaux constituants d'un milieu de culture sont généralement représentés par les macro et les micro-éléments, une source carbonée et azotée, des vitamines et des régulateurs de croissance.

## Synthèse bibliographique

---

Selon **Evans et al**, (1981), dans 70% des cas, des milieux de culture de base de type **Murashige et Skoog (MS)** ont été utilisés. Il a été employé d'une manière générale pour tous les types de cultures *in-vitro*. Mais c'est essentiellement pour le déclenchement de l'organogenèse, en particulier pour la néoformation de bourgeons que s'est révélé nettement supérieur à d'autres milieux (**Margara, 1989**) c'est le cas du *Cunilagalioides* (**Fracaro Et Echeverrigaray, 2001**).

Le milieu de **Murashige Et SKOOG** est caractérisé principalement par une très forte teneur en sels minéraux, en particulier en potassium et par une concentration également élevée en azote (60mg/l environ sous forme de nitrate et d'ammonium) dont 1/3 apporté sous forme réduite (ionsNH<sub>4</sub><sup>+</sup>); le rapport nitrate / ammonium, dans ce milieu est très favorable à l'induction de l'embryogenèse somatique, en particulier chez *Feijoa sellowiana* (**Del Vesco et Guerra, 2001**).

### 2.4.3.1-Les régulateurs de croissance

Un régulateur de croissance est défini comme étant, une substance qui, suivant sa concentration absolue ou relative dans le milieu, peut supprimer, permettre ou modifier sous certaines conditions les processus de cytodifférenciations(**Street, 1977**).

Aucun régulateur de croissance ne provoque une initiation directe du phénomène d'organogenèse ou d'embryogenèse somatique, mais il interfère dans de nombreux métabolismes internes de la cellule végétale.

L'organogenèse est fortement influencée par les régulateurs de croissance. Les deux hormones, les plus souvent utilisés, d'une manière conjointe ou séquentielle, sont les auxines et les cytokinines. **Nitshet Nougarede, (1967)** ont montré que des explants de parenchyme médullaire de tabac cultivés *in-vitro* dans un milieu ne contenant ni auxine, ni cytokinine ne prolifèrent pas. Il en était de même lorsque seulement une auxine ou une cytokinine était incorporée au milieu. Par contre, la prolifération cellulaire se déclenchait lorsque ces deux substances sont présentes dans le même milieu de culture.

Le rapport hormonal (auxine/ cytokinine) conditionne, en grande partie, le type de néoformation obtenu. Ce rapport a conduit, dans le cas de la culture *in-vitro* du parenchyme médullaire de tabac, par exemple, à l'orientation des tissus, soit vers la caulogenèse, soit vers

## Synthèse bibliographique

---

la rhizogenèse (Skoog et Miller, 1957 in Zryd, 1988). Ainsi la néoformation de bourgeons est souvent favorisée par des teneurs élevées en Cytokinine (Frett, 1977; Walker et al., 1979; Margara, 1989; Abrie et Stadn, 2001; Compton et al., 2001; Tang et Guo, 2001) alors que les fortes doses en auxines stimulent la formation de racines et améliorent leurs qualités (Druart, 1992, Hobbie, 1998; Abrie et Stadn, 2001; Compton et al., 2001).

L'influence de ce rapport hormonal n'est, cependant, pas une règle générale pour toutes les espèces végétales. En effet, il suffit, dans certains cas, d'ajouter au milieu de culture l'un ou l'autre des deux régulateurs précités pour parvenir à une réponse morphogénétique (Seon et al., 1998). Dans ce cas précis, nous pouvons citer deux exemples : le premier, concerne le Triticale où l'organogenèse a été obtenue en se servant uniquement d'auxine (milieu dépourvu de cytokinine) (Vikrant et Rashid, 2001); le second, concerne l'espèce *Piper barberigamble* où l'équipe d'Anand et RAO, (2000) a obtenu des bourgeons néoformés en utilisant des cytokinines seules dans le milieu d'induction

Le transfert des tissus d'un milieu riche en auxine vers un milieu pauvre n'est pas toujours indispensable pour le déroulement des différentes phases annoncées précédemment. L'exemple des travaux de Maheswaren et Williams, (1984), portant sur l'embryogenèse du trèfle et la luzerne, est très significatif puisqu'ils ont réussi à obtenir, des embryons somatiques, directement sur les explants d'embryons immatures cultivés sur un milieu riche en cytokinine et totalement dépourvu d'auxine. C'est l'exemple aussi des travaux de Kristen et al., 2000 réalisés sur les explants de pétioles de *Echinacea purpurea L*

Par contre d'autres cultures exigent en phase inductive, la présence conjointe d'une auxine et d'une cytokinine, c'est le cas de la luzerne (JULLIEN, 1991); du papayer (MONMARSON et al., 1994); du cocotier (Serge, 1998); du caféier (Carneiro, 1999) et bien d'autres espèces.

Il est utile de rappeler, que les auxines les plus souvent utilisées en organogenèse ou en embryogenèse somatique sont le 2,4-D, l'AIA, l'AIB et l'ANA. A cause de son bon pouvoir inducteur, le 2,4-D semble détenir, d'après Evans et al., (1981), le record d'utilisation dans les études portant sur l'embryogenèse somatique (puisque 57 % des travaux de recherche l'utilisent comme régulateur). Quand aux cytokinines, elles sont représentées par la Kinétine, la benzyladenine (BA), la 2-isopentenyladénine et la zéatine.

## Synthèse bibliographique

---

Outre, les auxines et les cytokinines, d'autres régulateurs de croissance peuvent intervenir dans le processus d'organogenèse ou d'embryogenèse somatique tels que les gibbérellines et l'acide abscissique (ABA) ; cependant, leur utilisation reste limitée. Les gibbérellines, selon **Jayasreeth al, (2001)**, stimulent fortement la production de bourgeons néoformés chez la pomme de terre lorsqu'elles sont combinées aux cytokinines. Par contre, d'après MARGARA, 1989, les gibberellines ont la réputation d'inhiber l'organogenèse et particulièrement la rhizogenèse chez le Chou-fleur.

L'acide abscissique (ABA) quant à lui, est employé par certains auteurs dans le but de corriger ou d'améliorer la qualité morphologique des embryons (**Unnikrishan et al., 1990 ; Dodeman et al., 1997**). Son usage peut inhiber, en même temps, le déclenchement éventuel d'une embryogenèse secondaire et empêche la germination précoce des embryons somatiques (**Milenaet al., 1998; Svobodovaet al ., 1999**).

### ***2.4.3.2-Influence de la source carbonée***

Les tissus en cultures *in-vitro* sont largement hétérotrophes vis-à-vis du carbone en raison de l'absence ou de l'insuffisance de l'assimilation chlorophyllienne. Il est donc indispensable d'ajouter une source carbonée (des glucides) au milieu de culture. Les glucides remplissent deux fonctions principales dans les milieux de culture ; ils fournissent de l'énergie nécessaire pour la croissance des tissus et maintiennent une pression osmotique donnée du milieu de culture (**Zryd, 1988**). Cette pression osmotique, appelée aussi « effet osmoticum », peut avoir diverses actions sur les tissus. Elle agit, dans certains cas, sur l'orientation ou l'expression morphogénétique des tissus (**Belaizi et Boxus, 1995; Charniere et al., 1999**), dans d'autres, sur la maturation des embryons somatiques produits (**Walker et Parrott, 2001**).

Les glucides, les plus généralement utilisés sont le saccharose et le glucose (**Margara, 1989; Druart et Samyn, 1995**). Selon certains auteurs, le maltose peut constituer une bonne source carbonée puisqu'il permet, dans certains travaux portant sur l'embryogenèse, d'améliorer à la fois, et la qualité et la quantité des embryons somatiques produits (**Saadi, 1991**).

L'organogenèse ou l'embryogenèse somatique ne semblent pas être influencées uniquement par la nature des sucres mais aussi, et pour un même sucre, par sa concentration dans le milieu de culture. Généralement, selon **Piatti, (1988)**, les doses employées oscillent entre 2 et 12 %.

## Synthèse bibliographique

---

L'effet dose peut avoir, comme nous l'avons signalé ultérieurement, une grande influence sur le devenir morphogénétique des cultures. Dans ce cas, l'exemple du tournesol est très significatif, l'usage d'une concentration de 12% en saccharose peut orienter le processus vers la voie de l'embryogenèse somatique, alors qu'une concentration de 3 % conduirait vers la néoformation de bourgeons (**Charniere, 1999**).

### 3.2.1. L'embryogénèse somatique

L'embryogénèse somatique est la formation d'embryons à partir de cellules non issues de la fusion des gamètes (**Ammirato, 1983**).

Le développement de l'embryon somatique ressemble étroitement à celui de l'embryon zygotique à la fois morphologiquement et physiologiquement (**Zimmerman, 1993**). Il est caractérisé par l'existence d'un axe polarisé terminé par un méristème de tige et un méristème de racine et son développement s'effectue selon une séquence de stades définis dont les principaux sont: le stade globulaire, cordiforme, torpille, et cotylédonaire (**Margara, 1982**).

L'embryogénèse somatique est donc utilisée par extension comme un système expérimental pour examiner les événements morphologiques, physiologiques et biochimiques durant l'embryogénèse (**Zimmerman, 1993**). Cependant, Il y a quelques différences entre les deux types d'embryogénèse dont les principaux caractères sont l'absence de différenciation d'albumen, développement absent ou retardé, l'absence de dessiccations et de dormance et l'acquisition de la compétence avant le développement des embryons dans l'embryogénèse somatique (**Féher et al., 2003**).

L'embryogénèse somatique est un processus de régénération qui se déroule en 5 étapes essentielles (**Von Arnold et al., 2008**) :

**1-** Initiation des cultures embryogènes (PEMs) par culture de l'explant initial sur un milieu contenant des régulateurs de croissance surtout l'auxine avec souvent des cytokinines. Cette transition de la cellule somatique à l'état embryogène est un processus complexe comprenant la dédifférenciation, la réactivation des divisions cellulaires et une reprogrammation du développement (**Féher et al., 2003**). L'initiation de la voie de l'embryogénèse est limitée à certaines cellules de l'explant (**Von Arnold, 2008**) qui subissent un ensemble de modifications et se transforment en cellules dédifférenciées compétentes pour l'embryogénèse.

**2-** Prolifération des cultures embryogènes sur milieu solide ou liquide contenant une composition en régulateurs de croissance similaire à celle de l'étape précédente. Pour la

## Synthèse bibliographique

---

propagation à grande échelle, il est souvent préférable d'établir des suspensions cellulaires (**Von Arnold *et al.*, 2002**).

**3-Prématuration des embryons somatiques sur milieu généralement dépourvu de régulateurs de croissance** ce qui inhibe la prolifération cellulaire mais stimule la formation des embryons et le début du développement (**Von Arnold *et al.*, 2002**). L'élimination ou la réduction de l'auxine dans le milieu de culture est en général préconisée durant cette phase. Avec cette réduction, le blocage de l'expression des gènes nécessaires au passage au stade cordiforme est levé (**Zimmerman, 1993**).

**4-Maturation des embryons somatiques par culture sur un milieu contenant l'ABA et/ou un faible potentiel osmotique.**

**5-Développement de plants sur milieu dépourvu de régulateurs de croissance.**



## Matériels et méthodes

---

Notre expérimentation s'est déroulée au sein de la division « Biotechnologies et Amélioration des plantes » (équipe amélioration génétique de l'orge) de l'Institut National de la Recherche Agronomique d'Algérie, (INRAA-Mehdi Boualem-Baraki -Alger) durant la période s'étalant du mois de février au mois de juin 2014.

### Objectif de travail :

Évaluation de la réponse de 5 accessions d'orge algériennes à:

1-l'induction de pousse multiples par bourgeonnement adventifs in vitro à partir d'un fragment de tige méristématique comme explant (effet génotype).

2- l'effet de différentes concentrations d'une cytokinine BAP dans la balance hormonale Auxine/cytokinine.

### 1. Matériel végétal

Cinq variétés populations d'orge saharienne (*Hordeumvulgare*L.) issues de différentes régions du sud algérien ont été testées : **Azrir**, **Ras-el-mouch** (région du Touat-Adrar), **Temassine**, **Ksar Megarine** (Touggourt) et **Hoggar2** (Tamanrasset). Ces variétés populations sont cultivées en irrigué dans les jardins d'oasis du palmier dattier en tant que culture secondaire; Elles sont principalement caractérisées par leur précocité à l'épiaison et maturité.

### 2. Méthodes

L'expérimentation a été réalisée selon le protocole de **Sharma et al. (2004)**.

#### 2.1 Préparation de l'explant (segment meristématique de tige)

Les manipulations sont réalisées sous hotte à flux laminaire préalablement nettoyée avec l'éthanol 70°. Les instruments (les pinces, scalpels) sont stérilisés à l'étuve pendant 3 heures à une température de 180°C

##### 2.1.1 Désinfection des graines

Le protocole de stérilisation des graines a été mis au point par l'équipe « amélioration génétique de l'orge ». Les graines sont immergées dans de l'alcool (70°) pendant 1 minute puis

## Matériels et méthodes

---

sont de nouveau immergées dans l'eau de javel pure (32° chlore) et mis en agitation (100 tours/min) pendant 20 minutes. Les graines sont ensuite rincées à l'eau distillée stérile 6 fois au minimum. Elles sont ensuite mises en imbibition dans de l'eau distillée stérile pendant 24 heures sous agitation (100 tours/min) à une température de 25 °C). Le lendemain, les graines sont trempées dans l'eau de javel (12° chlore) et laissées 15 à 20 minutes en agitation (100 tours/min, 25°C) suivi de plusieurs rinçages avec l'eau distillée stérile.

### 2.1.2. Excision et culture des embryons matures

Sous une loupe binoculaire, la graine est posée sur un papier stérile, les glumes et les glumelles sont écartées délicatement avec une pince fine et un scalpel et l'embryon mature est prélevé soigneusement puis déposé dans une boîte de Petri contenant 20 ml du milieu d'induction **Sharma et al. (2004) additionné de 2mg/l de Picloram et de 3mg/l de BAP**. 200 embryons ont été mis en germination par variété et par répétition à raison de 10 embryons inoculés par boîte de Pétri. Les boîtes de Pétri sur lesquels sont inscrits le nom de la variété, la date de mise en culture, la répétition et le milieu sont scellées avec le cellophane (**Figure 5a**) et placées dans un incubateur à une température de 25°C et à l'obscurité pendant 7 jours.

### 2.2. Excision et culture des segments méristématiques de tige (SMT)

Après 7 jours, les embryons germent en une plantule de 5 à 6 cm (**Figure 5b**). Cette dernière est déposée sur un papier stérile puis, à l'aide d'une pince et d'un scalpel, les racines et la feuille sont coupées (**Figure 5 c-d**) et la tige raccourcie à un segment de 4-5 mm désigné par «segment méristématique de tige» (SMT) (**Figure 5e**). Les SMT sont déposés dans le milieu d'induction de pousses multiples organogènes (10 segments/boîte de Pétri) (**Figure 5f**). L'expérimentation a été répétée trois fois avec un nombre d'explants variant de 10 à 90 explants par répétition (**Tableau 3**). Les cultures sont incubées dans une chambre de culture à une température de 25°C et une photopériode de 16 heures de lumière/8 heures d'obscurité.

## Matériels et méthodes

---

### 2.3. Composition du milieu d'induction

Le milieu d'induction est constitué des macroéléments **MS**, des microéléments **MS**, des vitamines **MS**, Fer **MS**, de maltose 30g/l, d'hydrolysate de caséine 1g/L, myo-inositol 0,2 g/l, Thiamine 1mg/l, CuSO<sub>4</sub> 1,25 mg/l et 3g/l de phytagel. A ce milieu de base sont ajoutés l'auxine Picloram (2mg/l) et la cytokinine 6-Benzylaminopurine avec trois concentrations (0, 3 et 5 mg/l) (**Sharma et al. (2004)**).

### 2.4. Observations après une semaine de culture des SMT

Dès la première semaine de la mise en culture, le suivi de la réaction des SMT vis-à-vis de trois concentrations de BAP (0, 3, 5mg/l) se fait à l'œil nu. Les segments qui s'allongent sont raccourcis à chaque fois à 4mm avec un scalpel.

### 2.5. Paramètre mesuré (pourcentage de différenciation des segments meristematiques de tige en pousses vertes)

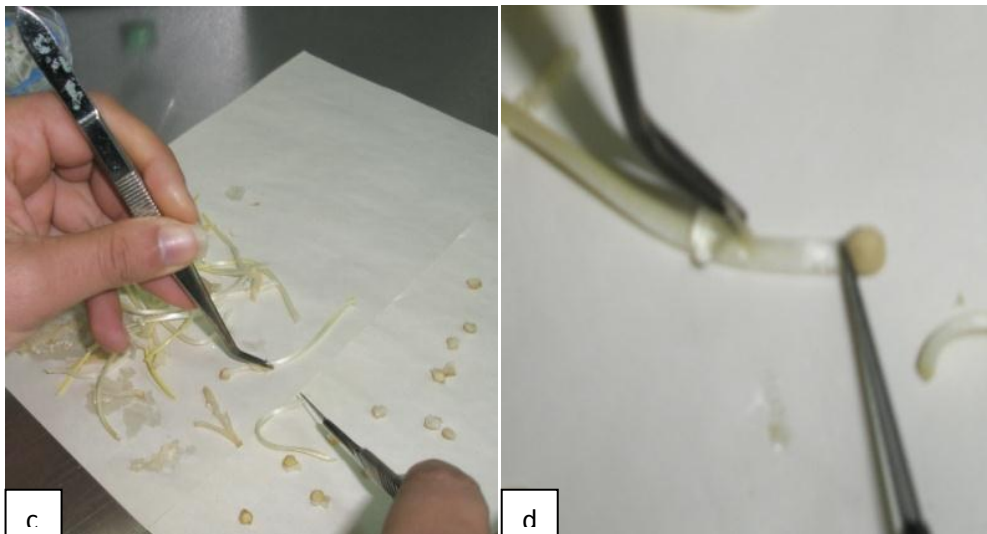
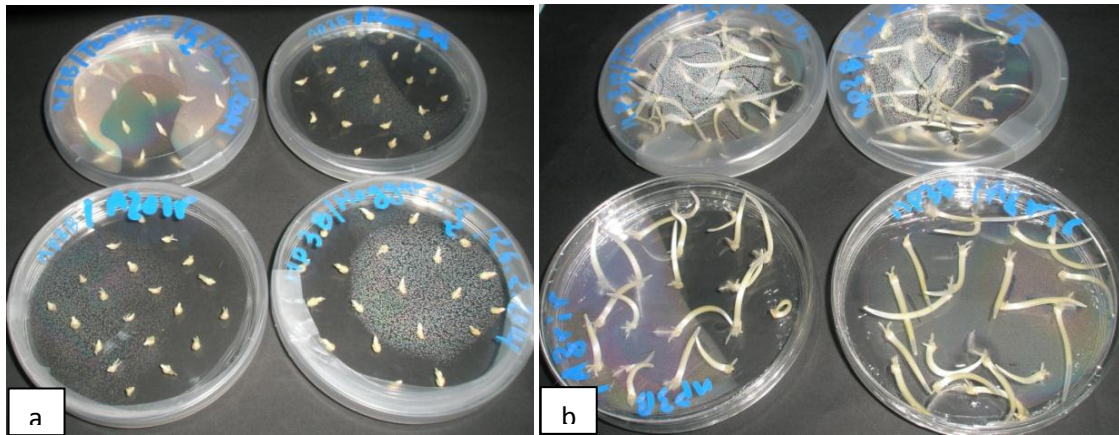
Les observations pour chaque concentration de la BAP ont portées sur la réaction des explants mesurée par le pourcentage de différenciation des segments meristematiques de tige en pousses vertes (% DPV) qui correspond au rapport entre le nombre total des segments différenciés en pousses vertes (NSDPV) et le nombre total de segments mis en culture (NSC). Le dénombrement des explants réactifs a été fait après deux mois de mise en culture dans le milieu d'induction. Une seule subculture a été réalisée quatre semaines après l'inoculation.

### 2.6. Traitement statistique des données

Une analyse de la variance à deux facteurs avec 3 répétitions a été réalisée afin de tester l'effet du génotype et la concentration de la BAP sur le pourcentage de différenciation des segments meristematiques de tige en pousses vertes. Les données (pourcentages moyens) sont transformées en  $\text{Arcsin}\sqrt{p}$  afin de normaliser la distribution avant l'analyse de la variance

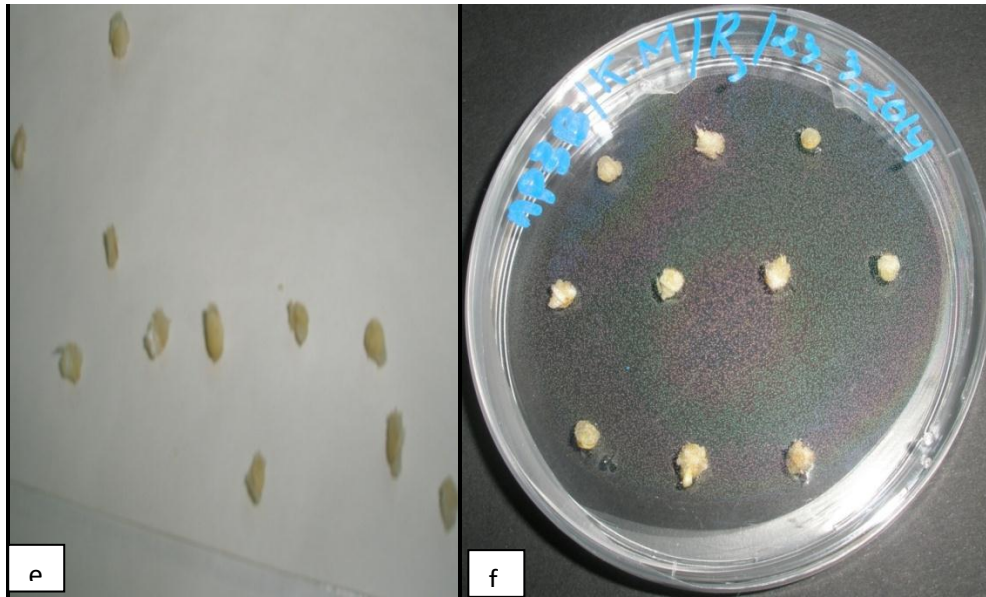
## Matériels et méthodes

(Fry J.C.,1996). Cette dernière est réalisée à l'aide du Module ANOVA factoriel du logiciel STATISTICA (Version 7, StatSoft, Inc. USA). La comparaison des moyennes est réalisée par le test de Duncan au seuil de 5%.



## Matériels et méthodes

---



**Figure 5** : Les différentes étapes de préparation des explants (segments meristimatiques de tige). (a) : culture des embryons matures. (b) : coléoptile de 5 à 6 cm (7-8 jours). (c-d) : excision des segments méristématiques de tige (e) : Explants SMT excisés de 4 mm (f) : SMT sur le milieu d'induction.

## Matériels et méthodes

**Tableau 3 :** Bilan de l'expérimentation

Variétés	[BAP]	Répétition	NSC	NSDPV	% DPV
Azrir	0B	R1	30	0	0,0
Azrir	0B	R2	30	0	0,0
Azrir	0B	R3	20	2	10,0
Azrir	3B	R1	45	0	0,0
Azrir	3B	R2	60	0	0,0
Azrir	3B	R3	10	0	0,0
Azrir	5B	R1	45	0	0,0
Azrir	5B	R2	60	5	8,3
Azrir	5B	R3	26	0	0,0
Ras el mouch	0B	R1	40	0	0,0
Ras el mouch	0B	R2	30	0	0,0
Ras el mouch	0B	R3	30	0	0,0
Ras el mouch	3B	R1	40	13	32,5
Ras el mouch	3B	R2	60	14	23,3
Ras el mouch	3B	R3	57	13	22,8
Ras el mouch	5B	R1	70	10	14,3
Ras el mouch	5B	R2	70	08	11,4
Ras el mouch	5B	R3	70	24	34,3
Temassine	0B	R1	30	0	0,0
Temassine	0B	R2	30	0	0,0
Temassine	0B	R3	30	0	0,0
Temassine	3B	R1	80	35	43,8
Temassine	3B	R2	90	0	0,0
Temassine	3B	R3	80	30	37,5
Temassine	5B	R1	80	30	37,5
Temassine	5B	R2	80	08	10,0
Temassine	5B	R3	90	30	33,3
Ksar Megarine	0B	R1	30	0	0,0
Ksar Megarine	0B	R2	40	0	0,0
Ksar Megarine	0B	R3	40	0	0,0
Ksar Megarine	3B	R1	80	24	30,0
Ksar Megarine	3B	R2	50	03	6,0
Ksar Megarine	3B	R3	60	26	43,3
Ksar Megarine	5B	R1	67	07	10,4
Ksar Megarine	5B	R2	70	06	8,6
Ksar Megarine	5B	R3	60	18	30,0
Hoggar2	0B	R1	30	0	0,0
Hoggar2	0B	R2	30	0	0,0
Hoggar2	0B	R3	30	0	0,0
Hoggar2	3B	R1	80	26	32,5
Hoggar2	3B	R2	78	0	0,0
Hoggar2	3B	R3	70	04	5,7
Hoggar2	5B	R1	70	10	14,3
Hoggar2	5B	R2	68	11	16,2
Hoggar2	5B	R3	60	12	20,0

## Résultats et discussion

### Résultats

L'analyse de variance pour le pourcentage de différenciation des segments méristématiques de tige en pousses vertes (**Tableau 4**), indique qu'il y a un effet principal génotype (variétal) significatif et un effet principale dose BAP très hautement significatif par contre, l'ANOVA n'a pas détecté une interaction significative entre le génotype et la concentration de la BAP.

**Tableau 4** : Analyse de variance<sup>1</sup> pour le taux de différenciation des segments méristématiques de tige en pousse vertes des cinq variétés populations d'orge étudiées.

Source de variation	DDL <sup>2</sup>	SCE <sup>3</sup>	CM <sup>4</sup>	F	P	Sig.	ETR <sup>5</sup>	CVR <sup>6</sup> (%)
Variétés	4	0,4425	0,1106	3,6013	0,0164	*		
[BAP]	2	1,2191	0,6096	19,8440	0,0000	***		
Variétés*[BAP]	3	0,5187	0,0648	2,1109	0,0663	NS		
Erreur	30	0,9215	0,0307				0,1752	69
Total	44	3,1019						

**1** : Les valeurs présentées dans ce tableau sont en Arcsin. **2** : degré de liberté. **3** : somme des carrés des écarts. **5** : écart-type résiduel =  $(\sqrt{CM_{\text{erreur}}})$ . **6** : coefficient de variation résiduel =  $(\sqrt{CM_{\text{erreur}}}) / \text{moyen générale de l'essai}$  (0,2539). (\*, \*\*\*, NS) : Significatif, Très hautement significatif et non significatif respectivement au seuil de 5%.

#### 1. L'effet du génotype

Le **Tableau 5** montre une réponse différentielle des cinq variétés populations pour le pourcentage de différenciation en pousses vertes, celui-ci varie entre **2,0%** et **18,5%**. Les cinq variétés-populations se regroupent en trois groupes homogènes : le groupe (**a**) réuni les trois variétés ayant donné la plus forte différenciation, il s'agit de Temassine (**18,0%**) (**Figure 6**), Ras el mouch (**15,4%**) et Ksar megarine ; suivi par le groupe intermédiaire (**ab**) formé par la variété Hoggar2 (**9,9%**) et enfin le groupe (**b**) caractérisé par la plus faible réaction de la variété Azrir (**2,0%**).

#### 2. L'effet de la concentration de la BAP

Les résultats du **Tableau 5** montrent que les concentrations **3mg/l** et **5mg/l** ont induit les plus forts pourcentages moyens de différenciation (**18,5%**) et (**16,6%**) respectivement. L'absence de la BAP dans le milieu d'induction ne permet pas la différenciation des explants en pousses vertes et pratiquement pour tous les génotypes (**0,7%**).

## Résultats et discussion

**Tableau 5 :** Classement des cinq variétés populations d'orge et des concentrations de la [BAP] pour leur effet sur le pourcentage de différenciation des segments méristématiques de tiges en pousses vertes.

Variétés	Concentration de la cytokinine [BAP] (mg/l)			
	0	3	5	Moyenne
Azrir	3,3±3,3	0,0±0,0	2,8±2,8	<b>2,0±1,4<sup>b</sup></b>
Ras el mouch	0,0±0,0	26,2±3,1	20,0±7,2	<b>15,4±4,6<sup>a</sup></b>
Temassine	0,0±0,0	27,1±13,7	26,9±8,6	<b>18,0±6,5<sup>a</sup></b>
Ksar Megarine	0,0±0,0	26,4±10,9	16,3±6,9	<b>14,3±5,4<sup>a</sup></b>
Hoggar2	0,0±0,0	12,7±10,0	16,8±1,7	<b>9,9±5,9<sup>ab</sup></b>
<b>Moyenne</b>	<b>0,7±0,7<sup>b</sup></b>	<b>18,5±4,5<sup>a</sup></b>	<b>16,6±3,1<sup>a</sup></b>	

1 : Les valeurs représentent la moyenne±erreur type. Les moyennes à l'intérieur de chaque colonne t/ou ligne suivies de la même lettre sont passivement différentes (test de Duncan à P< 0,05).



**Figure 6 :** Différenciation de pousses vertes chez la variété population Temassine dans trois concentrations de la BAP en milieu d'induction deux mois après la mise en culture des SMT.



## Résultats et discussion

---

### Discussion

Les observations faites pour les deux facteurs étudiés : effet de génotype, de la concentration du BAP, nous ont permis de constater que les SMT non réactif brunissent et finissent par se nécroser tandis que les SMT réactifs se différencient en pousses vertes (**Figure 6**)

D'après **Goldstein C.S. et Kronstad W.E. ; (1985)**, il existe des différences spécifiques dans la réponse *in vitro* des génotypes génétiquement divers, les distinctions peuvent être faites parmi les cultivars pour leur réponse de croissance de cal, pour leur capacité d'induire des pousses et des racines et pour leurs potentiels de régénération.

Nos résultats sont comparables à ceux obtenus dans l'étude faite par **Sharma V.K., et al ; (2004)**, qui ont observé que des variétés d'orge ont induit un grand nombre de pousse, tandis que d'autres ont induit 50% moins de pousses. **Goldstein C.S. et Kronstad W.E. (1985)** ont utilisé des embryons immatures de l'orge, et ont trouvé que 19/20 génotype ont régénéré des plantes mais avec des capacités différentes d'induire des pousses. La présence de telles différences vis-à-vis des génotypes est commune dans des espèces de céréales. Il y a plusieurs rapports qui étudient les effets des cultivars de blé tendre (**Caswell et al., 2000 ; Przetakiewicz et al., 2003**), de blé dur (**Bommineni et al., 1996 ; Benkiran et al., 2000 ; Gonzalez et al., 2001**), et d'orge (**Sharma et al., 2005**).

Nous avons également constaté une différenciation chez la variété Azrir de l'ordre de 3,3% (**Tableau 5**) en l'absence de la BAP dans le milieu d'induction, elle est probablement due aux cytokinines endogènes abondantes des SMT.

## Conclusion

---

L'utilisation d'une concentration plus forte de la BAP (5mg/L) n'a pas permis une amélioration importante du %DPV pour nos géotypes. Cependant, trois de nos variétés populations étudiées (Ras el mouch, Temassine, Ksar Megarine) ont positivement réagis avec un taux moyen de différenciation de pousses multiples de 16%.

## Bibliographie

---

**Ait Rachid L., (1991).** Essai comparatif de quelques lignées F6 d'orge (*Hordeumvulgare* L.). Thèsed'ingénieur. INA, El Harrach. 138 p.

**Ammirato P.V. (1983).** Recent progress in somatic embryogenesis. Newsletter international for plant tissue culture. **57**: 15-23.

**Auge R., Beauchesne G., Boccon -Gibod., Decourtye L., Digat B ., Jalouzot R .,MinierR.,Morand .Cl., Reynoirdj.P.,Strullud G Et Vidalie H.,(1989).** La culture *in-vitro* et ses application horticoles. Ed Lavoisier .225p

**Anand A. et Rao C.S., ( 2000).** A rapid *in-vitro* propagation protocol for *Piper barberi gamble*, a critically endangered plant. *In-vitro* Cellular et Developmental Biology Plant V36.

**Abrie A.L et StadenJ.V ., (2001).** Micropropagation of the endangered Aloe polyphylla . Plant Growth Regulation 33: 19 - 23.

**Becart C., Herbin A., Lefevre M., Molard P., Przybylski L., Rigaudiere P., Sagot N. et Wavelet S. (2000).**La filière alimentation animal. Lille.

**Ben Abdallah., Elloumi N., Bayouhd CH., Chaibi N., Lepoivre P., Harrzallah H., (1989).** Analysis of pollen androgenetic capacity of male Tunisian date palm (*Phoenix dactylifera* L.) genotypes.The International Conference on Date Palm.Assiut University. Egypt, November 9–11.

**Benmahammed A., (1996).** Associationet héritabilité de quelques caractères à variation continue chez l'orge (*hordeumvulgare*L.). Thèse de magister, INA, El Harrach. 80 p.

**Belanger I.A., (1998).** Enjeux du développement des recherches fondamentales : qu'avons-nous appris en analysant le génome *d'Arabidopsisthaliana*. Agronomie 6

**Bouzerzour A., andBenmahammed A., (1993).**Environmental factors limiting barley yield in the high plateau of Eastern Algeria. *Rachis*, vol. **12** (1-2). PP. 14-19.

## Bibliographie

---

- Boxus P., (1995):** Multiplication végétative: micropropagation et embryogenèse somatique in biotechnologies végétales. BV 93, Ed CNED. AUPELF- UREF 191p.
- Boyeldieu J., (2002).** Techniques agricoles. Institut National Agronomique. Paris-Grignon: 1-8.
- Briggs (1978).** Barley. London, Chapman and Hall (R. N. H. Whitehouse (1979). Review of D. E. Briggs Barley) Experimental Agriculture, **15**: 203-204.
- Belaizi M. et Boxus P.,(1995).** *In-vitro* shoot multiplication of Cork.oak(*Quercus suber L.*) influence of different carbohydrates. Bull Rech.Agron.Gembloux 30(1-2).
- Bencheikh M et Galais A ., (1996).** Somatic embryogenesis in pea (*Pisum sativum L* and *Pisum arvense L.*) : Diallel analysis and genetic control . Euphytica
- Bingham E.T., Hurley L.V ., Kaotz D.M .Et Sanders J.W .,( 1975) .** Breeding alfalfa which regenerates from callus tissue culture . Crop sci 15: 719 - 721.
- Brown C.W et Atanasova A ., (1985).** Role of genetic back ground in somatic embryogenesis in *Medicago*. Plant cell, Tissue organe culture 4: 111 -122.
- Camefort H., (1977):** Morphologie des végétaux vasculaires. Ed. Doin, 418p.
- Ceccarellis S, Grando S, et Impiglia A (1998).** Choice of selection strategy in breeding barley for stress environments, Euphytica 103.
- Chantereau J., Nicon R., (1991).** Le sorgho. Le technicien d'agriculture tropicale. Rene Coste. Ed. Maisonneuve et Larose. Paris. 159 p.
- Cherif-Hamidi S., (2004).** Etude de la variabilité génétique de quelques génotypes Algériens d'*Hordeum bulbosum L.* et perspectives de leur utilisation en sélection céréalière. Mémoire de magister. USTHB. 91 p.
- Carneiro F.M.,(1999).** Advances in coffee biotechnology . Agbiotechnet V(1) ABN 006 CAB international
- Charniere F., Sotta B .Miginiac E .et Hahne G.,(1999):** Induction of adventitious shoots or somatic embryos on *in-vitro* cultured zygotic embryos of *Helianthus annuus*: variation of endogenous hormone levels. Plant Physiology et Biochimestrie V36N9: 81-94.

## Bibliographie

---

- Dubois T., Dubois J., Guedira M., Diop A., Vasseur J., (1992).** SEM characterization of an extracellular matrix around somatic proembryos in roots of *Cichorium*. *Ann. Bot.***70**:119-124.
- Dalvesco L.L et Guerra P.M., (2001).** The effectiveness of nitrogen sources in Feijoa somatic embryogenesis. *Plant Cell Tissue and Organ Culture* 64:
- Dodeman V.L., Ducreux G. et Kreis M.,(1997).** Zygotic embryogenesis *versus* somatic embryogenesis. *Journal of Experimental Botany* 48N 313 : 1493 -1509.
- Druart Ph.,(1992):** *In-vitro* culture and micropropagation of plum (*Prunus*spp) " Biotechnology in Agriculture and forestry " V(18) High -Tech and micropropagation II Ed Y.P.S Bajaj .Springer - Verlag Berlin Heidelberg: 279-301.
- Druart Ph. et Samyn G.,(1995).** Carbohydrates and *in-vitro* organogenesis. *Bull.Rech.Agron.Gembloux* 30(1-2): 1-3.
- El Hadrami I.;Baaziz M.,(1995)** . Somatic embryogenesis and analysis of peroxidases in *Phoenix dactylifera* L. *Biologia Plantarum* ,.
- Evans D.A., Sharp W.R. et Flien C.E.,(1981).** Growth and behaviour of cell cultures : embryogenesis and organogenesis in Plant tissue culture , méthodes and application agricultures . Throupe T.A Ed Academic press: 45 - 113.
- Fracaro F et Echeverrigaray S., (2001).** Micropropagation of *Cunilagalioides*, a popular medicinal plant of south Brazil . *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 64: 1- 4
- Frett J., (1977)** : Influence of nutrient salts , auxines and cytokinines on the *in-vitro* growth of *salvia greggie* . *Plant cell tissu and organ culture* 9: 89 -102.
- Ferry M., Bouguedoura N., and El Hadrami I., (1998).** Patrimoine génétique et technique de propagation *in-vitro* pour le développement de la culture du palmier dattier. *Sécheresse*.**9** (2):139-146.
- Fehér A., Pasternak T.P., and Dudits D., (2003).** Transition of somatic plant cells to an embryogenic state. *Plant Cell Tissue Org Cult***74**:201–228.
- Fischbeck G. (2002).** Contribution of barley to agriculture: a brief overview. In: G. Slafter, JL. Molina-Cano, R. Savin, JL.Araus and Romagosa (eds). *Barley Science-Recent Advances*

## Bibliographie

---

from molecular biology to agronomy of yield and quality. New-York, London, Oxford, Food Product Press.

**Fortes A. M., and Pais M. S. (2000).** Organogenesis from internode-derived nodules of *Humulus lupulus* Var. Nugget (Cannabaceae): histological studies and changes in the starch content. *American Journal of Botany* **87** (7): 971 - 979.

**Fry J.C., (1996).** One-way analysis of variance. In *Biological data analysis. A practical approach. The practical approach series* : N°115. Series editors: Richard D. and James B. D., IRL PRESS, Great Britain. pp. 3-39.

**Hannweg K., Watt M.P. et Berjak ., (1996).** A simple method for the micropropagation of *Bowiea volubilis* from inflorescence explants. *Bot. Bull. Acad. Sin* **37**: 213 - 217.

**Hobbie L.J., (1998)** : Auxin molecular genetic approaches in *Arabidopsis* . *Plant. Physiology et Biochimie* **36** (1-) :91 -102

**GNIS., 1990-** Les biotechnologies appliquées à l'amélioration des plantes. <<**SDa** Identification des variétés d'orge. ASFIS et GNIS. Paris. 56p. >>

**Hakimi M. (1989).** Les systèmes traditionnels basés sur la culture de l'orge. Ed. WMO /ICARDA.

**I.T.G.C., (1979).** L'orge : importance et utilisation. *Céréaliculture*, **10** : 25-26.

**I.T.G.C., (1989).** Filière céréales. Thèse des travaux du symposium maghrébin sur la question alimentaire (26-29 juin 1989).

**Jestin L, 1992.** Amélioration des espèces végétales cultivées : objectif et critères de sélection. Ed. Paris: pp: 5-70.

**Jayasree T ., Pavan U ., Ramesh M ., Rao A.V ., Reddy J .M.K. Et Sadanandam A., (2001).** Somatic embryogenesis from leaf cultures of potato. *Plant Cell Tissue and Organ Culture*, **64** : 13 - 17 .

**Kabouche S., bouzerzour H., benmahammed A., Hassous K.L., (2001).** Les nouvelles variétés d'orge et les risques climatiques des hautes plaines de l'Est : cas de la région de Sétif. *Céréaliculture*, **35**: 4-12.

## Bibliographie

---

**Kristen L.G., Jerrin M.R.V., Murch S.J. et Saxena K.P., (2000):** *In-vitro* regeneration of *Echinacea purpurea* L. Direct somatic embryogenesis and indirect shoot organogenesis in petiole culture. *Rev in-vitro cellular et developementalbiology plant* (36).

**MADR., (2014).** Statistiques de Ministre De l'Agriculture et du Développement Rural.

**Margara F., (1982) :** La multiplication végétative *in-vitro*. Aspects généraux B.T.I.374 L1 Agro **15**:701-711.

**Margara F., (1989).** Bases de multiplication végétative : les méristèmes et l'organogénèse. Ed. INRA. Paris. 262p.

**Murashige T., and Skoog F., (1962).** A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiol. Plant.* **15**:473-497

**Moule.C (1980) :** Phytotechnie spéciale : Les céréales. Ed. Maison rustique. Paris. 318p.

**Maheswaren G. et Williams E.G., (1984).** Direct somatic embryoids formation on immature embryos of *Trifolium repens*, *Trifolium pratense* and *Medicago sativa* L. and rapid clonal propagation of *trifolium pratense* and *Medicago sativa* L. and rapid clonal propagation of *Trifolium repens*. *Ann. Bot.*, 54 : 201 - 211.

**Milena C., Mola J., Eder J., Hrubcava M. et Vagner M., (1998).** Abscisic acid, polyamines and phenolic acids in *Sessica oak* somatic embryos in relation to their conversion potential. *Plant physiology et biochemistry* 36N3.

**Nuutila A., Alkasalo R., Ritila A., Kau:Inen V. et Tammissola J. (2000).** Risk assessment of transgenic barley. Innovation in the barley-malt-beer chain, Nancy (France), Institut national polytechnique de Lorraine.

**Nougarede L.A. Et Nitsh J.P., (1967) .** L'action conjuguée des auxines et des cytokinines sur les cellules de moelles de tabac, étude physiologique et microscopique électronique. *Bull Soc Franç*, physiologie végétale, 13: 81 - 118.

**Nuti Ranchi V., (1995).** Mitosis and meiosis in cultured plant cells and their relationship to variant cell types arising in culture. *International reviews of cytology* 158: 65 - 139.

## Bibliographie

---

**OAIC (2009):** Evolution de la production et de la collecte de l'orge de 1999 à 2009. *Statistiques agricoles*. Alger, 4p.

**Oufroukh F., et Hamidi M., (1988).** Maladies et ravageurs des céréales. In Benchabane K.D et Ould-Mekhloufi L. 1998. Evaluation phénologique de quelques variétés d'orge. *Mém.Ing. INA. El Harrach*. 59p.

**Parry M.L., and Parry C.J., (1993).** Agricultural geography of barley. In the agrometeorology of rainfed barley-based farming systems. *Proceeding of an International symposium (6-10 march 1989, Tunis)*. Ed. Jones M., Marthys G., Rijks D. PP. 15-31.

**Parott W.A., (1991).** Auxin - stimulated somatic embryogenesis from immature cotyledons of white clover. *Plant Cell Reports*, 10: 17 -21.

**Piatti M.F., (1988).** Embryogenèse somatique et synchronisation du développement embryonnaire. Thèse de doctorat d'état en pharmacie. Paris VI 130p

**Picard. D, Combe. L** 1994: *Elaboration du rendement des principales cultures annuelles*. Editions Quae Paris

**Pierre C.A., Gendron G., (1982).** Les céréales et le maïs. Les presses de l'université Laval. Québec. P. 145.

**Seon E.J., Jeongae K.O. et Seon R.Y., (1998).** Mass propagation of *Wasabia japonica* by apical meristem culture. *Journal of the Korean society for Horticultural Science* 39(3): 278-282.

**Street H.E.,(1977).** *Culture in-vitro cytologie organogénèse plant - tissu and cell culture* 2 ED Oxford, London, 614 p

**Svobodova H., Albrechtova J., Kumstyrova L., Lipavska H., Vagner M. et Vondrakava Z., (1999).** Somatic embryogenesis in *Norway spruce*. *Anatomical study of embryo*



## Bibliographie

---

development and influence of polyethlen glycol on maturation process. *Plant physiology et biochemistry* V37N3:209-218.

**Saadi A., (1991).** Régénération de plantes de pois *Pisum sativum* L. par embryogenèse somatique. Thèse de doctorat. Paris. Grignon. 162p.

**Semal J., (1998).** Reproduire à l'identique : Mythe et réalité. *Cahiers Agricultures*, 7:6-8

**Sharma V.K., Robert H., Ralf R., Mendel. J. S., (2004).** A highly efficient plant regeneration system through multiple shoot differentiation from commercial cultivars of barley (*Hordeum vulgare* L.) using meristematic shoot segments excised from germinated mature embryos. *Plant Cell. Rep.* 23: 9-16.

**Sharma V.K., Hansch R., Mendel R., Schulz J., (2005).** Mature embryo axis based high frequency somatic embryogenesis and plant regeneration from multiple cultivars of barley (*Hordeum vulgare* L.); *Journal of Experimental Botany*, Vol. 56, No. 417, PP. 1913-1922, July 2005 doi: 10.1093/jxb/eri186.

**Simon H., Coddacioni P et Lecoœur X, (1989)** . Produire les céréales à paille, agriculture d'aujourd'hui scientifique et technique d'application. Ed Technique et document Lavoisier Paris pp89-101.

**Skirvin R.M., Cogner M., Norton A.M., Motoika S., Gorvin D., (2000):** Somaclonal variation: do we know what causes it. *Agrobiotech Net*. V12 ABNO48.

**Soltner D., 1988.,** les grandes productions végétales. Collection sciences et techniques agricoles. 16<sup>ème</sup> édition, Angers.

**Soltner D., 2005 -** Les grandes productions végétales. 20<sup>ème</sup> Edition. Collection science et techniques agricoles. 472p.

## Bibliographie

---

**Thomas H.M., and Pickering R.A., (1988)** the cytogenetics of a triploid *Hordeum bulbosum* and of some of its hybrid and trisomic derivatives. *Theoretical and Applied Genetics*

**Unnikrisham S.K., Mehta A.R. et Bhatt P.N., (1990).** Abscisic acid induced high frequency embryogenesis from *Sapindus trifolius* leaves :89-94 *Acta Horticulturae* 280. *In-vitro* culture and Horticultural breeding.

**Vikrant .et Rashid A ., (2001).** Comparative study of somatic embryogenesis from immature and mature embryos and organogenesis from leaf- base of *Triticale* .*Plant Cell Tissue and organ Culture* 64: 33 - 38.

**Von Arnold S., Izabela S., Bazhkov P., Dyochock J., and Filonova L., (2002).** Developmental pathways of somatic embryogenesis. *Plant cell tissue and organ culture*, **69** (3): 233-249.

**Von Arnold S., (2008).** Somatic Embryogenesis E. F. George et al. (eds.), *Plant Propagation by Tissue Culture*. 3<sup>rd</sup> edition. Chap. 9: 335–354.

**Von Bothmer R., and Jacobsen N. (1985).** Origin, taxonomy and related species. In: D. Rasmusson (eds). *Barley agronomy monograph*. 26p.

**Von Bothmer R., Jacobsen N., Baden C., Jorgensen R.B., LINDE- LAURSEN I., (1995).** An ecogeographical study of the genus *Hordeum*. Systematic and ecogeographic studies on crop gene pools 7. Rome, IBPGR.

**Walker K.A., Wendel M.L .et Jawarski E.G ., (1979).** Organogenesis in callus tissue of (*Medicago sativa* ) the temporal repartition of induction process from differentiation process . *Plant Science letters* (16) : 23 -30.

**Walker D.R .et Parrott A.W., (2001).** Effect of polyethylene glycol and sugar alcohols on soybean somatic embryo germination and conversion .*Plant Cell Tissue and organ Culture* 64: 55 - 62.

**Yadav J.S. et Rajam M.V ., ( 1998).** Temporal regulation of somatic embryogenesis by adjusting cellular polyamine content in eggplant. *Plant physiol* 116:617 - 625.

## Bibliographie

---

**Zimmerman JL (1993).** Somatic embryogenesis: a model for early development in higher plants. *The Plant Cell*. **5**: 1411-1423.

**Zryd J.P., (1988)** : Culture de cellules, tissus et organes végétaux. Ed. Press.Polytechniques Romandes. Suisse. 308p.