

UNIVERSITE SAAD DAHLEB BLIDA

Faculté des sciences Agro-vétérinaires et de biologie

Département d'Agronomie

MEMOIRE DE MAGISTER

Spécialité : Amélioration des productions végétales

MACRO ET MICRO-PROPAGATION DU PISTACHIER DE L'ATLAS

Pistacia atlantica Desf.

Par

Hamid ABBAS

Devant le jury composé de :

A. BOUTEKRABT	Professeur, U. de Blida	Président
F.Z. CHAOUCH	Chargé de cours, U. de Blida	Directeur de thèse
M. BOUDJENIBA	Maître de conférences, E.N.S Alger	Examineur
S.A. SNOUSSI	Maître de conférences, U. de Blida	Examineur
A.E.K. AISSAT	Chargé de cours, U. de Blida	Examineur

Blida, Mai 2005

RESUME

La dégradation des éco-systèmes arides et semi-arides pose un problème majeur, pour les pays concernés. Pour y remédier, ces pays utilisent des espèces autochtones entre autre le pistachier de l'Atlas *Pistacia atlantica Desf.* qui est un arbre d'importance écologique et économique supérieure, mais sa reproduction sexuée cause de difficultés, qui souvent mène à la production des fruits parthénocarpiques, ainsi que des graines qui ne peuvent se conserver au delà d'un an, à cela s'ajoute la séparation spatiale des deux sexes (la dioïcie) et le déséquilibre du sexe ratio en faveur des pieds mâles. C'est la raison pour laquelle nous sommes intéressé dans cette étude aux deux techniques de multiplication, à savoir : le macro-bouturages des boutures ligneuses ainsi que des boutures semi-ligneuses issues des plants âgés, et le micro-bouturages ou la culture "in vitro" du matériel végétal âgé (adulte), âgé d'un an et un matériel végétal issu de vitro-semis, en utilisant plusieurs modes de désinfections, plusieurs traitements antioxydants, plusieurs balances hormonales et plusieurs milieux de culture.

Mots clés : Pistachier de l'Atlas, macro-propagation, micro-propagations, désinfectants, anti-oxydants, balances hormonales et milieux de culture

الملخص

أصبح تدهور المناطق الجافة خطراً يهدد الأراضي الفلاحية، و لمقاومة هذه الظاهرة، تلتجأ الدول المعنية إلى زراعة الأصناف المحلية، و من بينها شجرة الفستق الأطلسي، لما تتميز بها هذه الشجرة من خصائص بيئية و إقتصادية. إلا أن بيولوجية الشجرة تطرح مشكل الإكثار الجنسي بسبب وجود أشجار مذكرة و أخرى مؤنثة، إذ ما يؤدي غالباً إلى إنتاج بذور لا تتعدى قدرتها الإنباتية سنة واحدة و غالباً ما تكون فارغة، إلى جانب ذلك ظاهرة تتميز بها بذرة الفستق و هي إنتاجها لأشجار ذكورية أكثر منها أشجار أنثوية، و كذا صعوبة الإكثار عن طريق التطعيم نتيجة تأكسد النسغ المطروح من النبتة مع الهواء مما يؤدي إلى موت الخلايا، و عليه تناولنا من خلال هذه الدراسة طرق الإكثار اللاجنسي عن طريق الماكرو عقل بإستعمال العقل القاسية و العقل الفضة المأخوذة من أشجار معمرة، أما الطريقة الثانية عن طريق الميكرو عقل بإستعمال عقل مؤخوذة من أشجار معمرة، شجيرات ذات سنة واحدة و شجيرات الأنبوب، و هذا بتجربة عدة تراكيز لمواد معقمة، مانعة التأكسد، هرمونية و أوساط غذائية.

الكلمات المفتاحية : الفستق الأطلسي، الماكرو عقل (العقل القاسية، العقل الفضة)، الميكرو عقل، مطهرات مضادات التأكسد، مواد هرمونية و أوساط غذائية.

SUMMARY

The degradation of the arid and semi-arid earth, eco-systems is really a major problem for the concerned countries. To remedy this problem, these countries use the autochthones species such as *Pistacia atlantica Desf.* Which is a tree of an ecological and economical importance, but its reproduction cause certain difficulties that often lead to the production of parthenocarpic fruits. In this the seeds can't be stored no more than one year, to this we add the separation of the two sexes and the lack of balance of the sex in favour to the male sex. In this thesis we are interested in two techniques of multiplication. First the macro-cutting of ligneous cutting and the semi-ligneous cutting out coming from the old plants. Second the micro-cutting or cultivation "in vitro"; from old plant, plant that have one year old and plant materiel out coming from vitro-seedling. Using severel modes of disinfections, severel anti-oxidants treatment, severel hormonal balance, different anti-oxidants and severel milieu of culture.

Words keys : *Pistacia atlantica Desf.*, macro-cutting, micro-cutting, disinfectants, hormonal balance, anti-oxidants, milieu of culture.

DEDICACES

Je dédie ce modeste travail

- A mes très chères parents.

- A ma très chère femme Nacera.

- A ma très jolie fille Khaoula.

- A mon très joli fil Mohamed Ayoub.

- A ma très chère sœur et ses enfants ainsi que son mari.

- A tous qui m'ont aidé de près ou de loin surtout Sid Ali et sa petite famille, Chaouki et à la promotion de magister 2001.

- A la mémoire de tous les Palestiniens et les Iraquiens qui sont tombés et qui tombent martyres par les forces des occupants.

Hamid

REMERCIEMENTS

Au terme de ce travail, je tiens à remercier en premier lieu Dieu le miséricordieux qui ma donné la force, la volonté et la patience pour achever ce travail.

Je suis tout particulièrement reconnaissant à madame CHAOUCH F.Z., directeur de thèse, pour tous les efforts qu'elle a consenti pour me guider, pour avoir supervisé et suivi attentivement la progression de ce travail et pour tous ses conseils judicieux et ses critiques constructives sans lesquels cette étude mémoire ne saurait aboutir.

Q'elle accepte l'expression de mon profond respect et ma haute gratitude.

Je tiens à remercier vivement M^r BOUTEKRABT A. qui ma fait l'honneur de présider le jury.

Qu'il me soit également permis d'adresser mes remerciements à M^r AISSAT A.E.K, M^r BOUDJNIBA et M^r SNOUSSI S.A. pour accepter d'examiner ce travail.

A tous les travailleurs de la station expérimentale du département d'agronomie de BLIDA, ainsi que le personnel de la bibliothèque et ceux ayant participé de près ou de loin à la réalisation de cette étude, trouvent ici l'expression de ma profonde gratitude.

TABLE DES MATIERES

RESUME	1
DEDICACES	4
REMERCIEMENTS	5
TABLE DES MATIERES	5
LISTE DES TABLEAUX	9
LISTE DES FIGURES	11
INTRODUCTION	13
CHAPITRE 1 : ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE	15
1.1- Généralité sur l'espèce	15
1.1.1- Systématique	16
1.1.2- Caractéristiques phénologiques et écologiques	16
1.1.2.1- Caractéristiques phénologiques	16
1.1.2.2- Caractéristiques écologiques	18
1.1.3- Répartition du pistachier de l'Atlas	20
1.1.3.1- Dans le monde	20
1.1.3.2- En Algérie	20
1.1.4- Intérêt de l'espèce	21
1.1.4.1- Intérêt écologique	21
1.1.4.2- Intérêt socio-économique	21
1.2- Propagation de l'espèce	22
1.2.1- Multiplication par voie génératrice (sexuée)	22
1.2.1.1- La germination	22
1.2.1.2- Amélioration de la germination	24
1.2.2- Multiplication par voie végétative (asexuée)	25
1.2.2.1- Macro-bouturage	25
1.2.2.1.1- Bouturage ligneux	25
1.2.2.1.2- Bouturage en vert	26
1.2.2.1.3- Facteurs influençant le bouturage (rhizogénèse)	26
1.2.2.2- Micro-propagation (culture "in-vitro")	33
1.2.2.2.1- Intérêt de la technique	34
1.2.2.2.2- Présentation de certaines méthodes de propagation	34
1.2.2.2.3- Exigences des végétaux en culture "in vitro"	36

CHAPITRE 2 : MATERIEL ET METHODES	40
2.1- Macro-bouturage	40
2.1.1- Bouturage ligneux	40
2.1.1.1- Lieu d'expérimentation	40
2.1.1.2- Origine et époque de prélèvement du matériel végétal	40
2.1.1.3- Préparation du matériel végétal	42
2.1.1.4- Traitements auxiniques (hormonaux)	42
2.1.1.5- Substrat et containers	43
2.1.1.6- Dispositif expérimental	43
2.1.1.7- Mise en culture	45
2.1.1.8- Conduite de la culture	45
2.1.1.9- Méthodes d'analyse statistique	46
2.1.2- Bouturage semi-ligneux	46
2.1.2.1- Matériel végétal et époque de prélèvement	46
2.1.2.2- Traitements auxiniques (hormonaux)	46
2.1.2.3- Substrat et containers	46
2.1.2.4- Dispositif expérimental	47
2.1.2.5- Mise en culture	47
2.1.2.6- Conduite de la culture	48
2.1.2.7- Méthodes d'analyse statistique	48
2.2- Micro-bouturage (culture "in vitro")	48
2.2.1- But recherché	48
2.2.2- Lieu d'expérimentation	49
2.2.3- Matériel végétal (origine)	49
2.2.4- Désinfection du matériel végétal	50
2.2.5- Milieu de culture	52
2.2.6- Traitements hormonaux	54
2.2.7- Traitements anti-oxydants	54
2.2.8- Mise en culture	55
2.2.9- Condition de culture	55
2.2.10- Matériel végétal âgé (adulte)	55
2.2.11- Matériel végétal âgé d'un an	58
2.2.12- Matériel végétal obtenu par vitro-semis	60
CHAPITRE 3 : RESULTATS ET DISCUSSIONS	63
3.1- Macro-bouturage	63
3.1.1- Macro-bouturage ligneux	63
3.1.1.1- Nombre de boutures ligneuses desséchées sans débourrement	63
3.1.1.2- Nombre de boutures ligneuses desséchées après débourrement	64
3.1.1.3- Nombre total de boutures ligneuses racinées et boutures desséchées	65
3.1.1.4- Nombre de ramifications des boutures ligneuses	67
3.1.1.5- Diamètre des ramifications des boutures ligneuses	67

3.1.1.6-	Diamètre de la tige principale des boutures ligneuses	67
3.1.1.7-	Longueur des ramifications des boutures ligneuses	
3.1.1.8-	Nombre de feuilles des boutures ligneuses	
3.1.1.9-	Poids des feuilles des boutures ligneuses	69
3.1.1.10-	Poids des tiges des boutures ligneuses	70
3.1.1.11-	Poids de la partie aérienne des boutures ligneuses	70
3.1.1.12-	Poids des racines des boutures ligneuses	72
3.1.1.13-	Poids total des boutures ligneuses	74
3.1.1.14-	Aspect et longueur des racines des boutures ligneuses	77
3.1.1.15-	Conclusion partielle	78
3.1.2-	Macro-bouturage semi-ligneux	79
3.1.2.1-	Nombre de boutures semi-ligneuses racinées et boutures desséchées	79
3.1.2.2-	Nombre de ramifications par bouture semi-ligneuse	80
3.1.2.3-	Longueur des ramifications des boutures semi-ligneuses	81
3.1.2.4-	Diamètre de la tige principale des boutures semi-	81
ligneuses		
3.1.2.5-	Diamètre des ramifications des boutures semi-ligneuses	81
3.1.2.6-	Nombre de feuilles des boutures semi-ligneuses	82
3.1.2.7-	Poids des feuilles des boutures semi-ligneuses	82
3.1.2.8-	Poids des tiges des boutures semi-ligneuses	83
3.1.2.9-	Poids de la partie aérienne des boutures semi-ligneuses	84
3.1.2.10-	Poids des racines des boutures semi-ligneuses	84
3.1.2.11-	Poids total des boutures semi-ligneuses	85
3.1.2.12-	Aspect et longueur des racines des boutures semi-	88
ligneuses		
3.1.2.13-	Conclusion partielle	89
3.2-	Micro-bouturage	90
3.2.1-	Matériel végétal âgé (adulte)	90
3.2.1.1-	Contaminations	90
3.2.1.2-	Sécrétions phénoliques	94
3.2.1.3-	Débourrement	96
3.2.1.4-	Allongement des bourgeons débourrés	97
3.2.1.5-	Conclusion partielle	99
3.2.2-	Matériel végétal âge d'un an	100
3.2.2.1-	Contaminations	100
3.2.2.2-	Sécrétions phénoliques	101
3.2.2.3-	Débourrement	102
3.2.2.4-	Allongement des bourgeons débourrés	103
3.2.2.5-	Conclusion partielle	105
3.2.3-	Matériel végétal issu de vitro semis	106
3.2.3.1-	Obtention de vitro-plants à partir d'un semis "in vitro"	106
3.2.3.1.1-	Désinfection de la semence	106
3.2.3.1.2-	Germination	106
3.2.3.1.3-	Longueur des vitro-semis	108
3.2.3.1.4-	Nombre de nœuds	110
3.2.3.2-	Micro-propagation par micro-bouturage	111
3.2.3.2.1-	Sécrétions phénoliques	111
3.2.3.2.2-	Débourrement	111

3.2.3.2.3- Conclusion partielle	113
CONCLUSION	114
LISTE DES ABREVIATIONS	
REFERENCES	...

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 2.1 :	Composition chimique de la solution nutritive selon les normes de LESAINTE et COIC	45
Tableau 2.2 :	Différents modes de désinfections du matériel végétal	51
Tableau 2.3 :	Composition des milieux de culture MS/2 et LEPOIVRE	53
Tableau 2.4 :	Différents traitements anti-oxydants du matériel végétal	54
Tableau 2.5 :	Différents traitements combinés du matériel végétal issus de plants âgés	57
Tableau 2.6 :	Différents traitements combinés du matériel végétal issus des plants âgés d'un an	60
Tableau 2.7 :	Répartition des différents traitements utilisés pour le matériel végétal obtenu par vitro-semis	61
Tableau 3.1 :	Nombre de boutures ligneuses desséchées sans débourrement	64
Tableau 3.2 :	Nombre de boutures ligneuses desséchées après débourrement	64
Tableau 3.3 :	Nombre total de boutures ligneuses racinées et boutures desséchées	65
Tableau 3.4 :	Nombre de ramifications des boutures ligneuses	67
Tableau 3.5 :	Diamètre des ramifications des boutures ligneuses	67
Tableau 3.6 :	Diamètre de la tige principale des boutures ligneuses	68

Tableau 3.7 :	Longueur des ramifications des boutures ligneuses	69
Tableau 3.8 :	Nombre de feuilles par bouture ligneuse	69
Tableau 3.9 :	Poids des feuilles des boutures ligneuses	69
Tableau 3.10 :	Poids des tiges des boutures ligneuses	70
Tableau 3.11 :	Poids de la partie aérienne des boutures ligneuses	
Tableau 3.12 :	Poids des racines des boutures ligneuses	72
Tableau 3.13 :	Poids total des boutures ligneuses	74
Tableau 3.14 :	Longueur des racines des boutures ligneuses	77
Tableau 3.15 :	Nombre de boutures semi-ligneuses racinées et boutures desséchées	80
Tableau 3.16 :	Nombre de ramifications par bouture semi-ligneuse	80
Tableau 3.17 :	Longueur des ramifications des boutures semi-ligneuses	81
Tableau 3.18 :	Diamètre de la tige principale des boutures semi-ligneuses	81
Tableau 3.19 :	Diamètre des ramifications des boutures semi-ligneuses	81
Tableau 3.20 :	Nombre de feuilles des boutures semi-ligneuses	82
Tableau 3.21 :	Poids des feuilles des boutures semi-ligneuses	82
Tableau 3.22 :	Poids des tiges des boutures semi-ligneuses	83
Tableau 3.23 :	Poids de la partie aérienne des boutures semi-ligneuses	84
Tableau 3.24 :	Poids des racines des boutures semi-ligneuses	84

Tableau 3.25 :	Poids total des boutures semi-ligneuses	85
Tableau 3.26 :	Longueur des racines des boutures semi-ligneuses	88
Tableau 3.27 :	Taux de contamination du matériel végétal âgé	90
Tableau 3.28 :	Sécrétion des phénols du matériel végétal âgé	94
Tableau 3.29 :	Débourrements obtenus sur le matériel végétal âgé	96
Tableau 3.30 :	Longueur de la tige et nombre de feuilles avant et à la fin de la mise en culture sur milieu contenant l'AG ₃	98
Tableau 3.31 :	Taux de contamination du matériel végétal âgé d'un an	101
Tableau 3.32 :	Nombre et taux de débourrement des micro-boutures issues d'un matériel végétal âgé d'un an	102
Tableau 3.33 :	Allongement des vitro-plants du matériel végétal âgé d'un an	104
Tableau 3.34 :	Germination des graines "in vitro"	108
Tableau 3.35 :	Longueur moyenne des vitro semis	108
Tableau 3.36 :	Nombre de nœuds des vitro semis	110
Tableau 3.37 :	Taux de débourrement des micro-boutures issues des vitro-semis	11

LISTE DES FIGURES

Figure 2.1 :	Ensemble d'arbres de pistachier de l'Atlas au centre synergétique de Zéralda	41
Figure 2.2 :	Arbre de pistachier de l'Atlas au centre synergétique de Zéralda	41
Figure 2.3 :	Dispositif expérimental du bouturage ligneux	44
Figure 2.4 :	Matériel végétal âgé d'un an	49
Figure 2.5 :	Matériel végétal obtenu par vitro-semis	50
Figure 3.1 :	Nombre de boutures ligneuses desséchées, boutures desséchées sans débourrement et boutures desséchées après débourrement	65
Figure 3.2 :	Dessèchement des boutures ligneuses après débourrement	65
Figure 3.3 :	Nombre total de boutures ligneuses racinées et boutures desséchées	66
Figure 3.4 :	Aspect de la partie aérienne des boutures ligneuses	71
Figure 3.5 :	Aspect des boutures ligneuses du substrat S ₁	73
Figure 3.6 :	Aspect des boutures ligneuses du substrat S ₂	73
Figure 3.7 :	Aspect des boutures ligneuses	74
Figure 3.8 :	Poids frais des boutures ligneuses (plant, racines et partie aérienne)	75
Figure 3.9 :	Poids sec des boutures ligneuses (plant, racines et partie aérienne)	75
Figure 3.10 :	Poids frais des boutures ligneuses (plant, racines, feuilles et tiges)	76
Figure 3.11 :	Poids sec des boutures ligneuses (plant, racines, feuilles et tiges)	76
Figure 3.12 :	Longueur des racines des boutures ligneuses	77
Figure 3.13 :	Nombre de boutures semi-ligneuses racinées et boutures desséchées	80
Figure 3.14 :	Aspect de la partie aérienne des boutures semi-ligneuses	83
Figure 3.15 :	Aspect des boutures semi-ligneuses	85

Figure 3.16 :	Poids frais des boutures semi-ligneuses (plant, racines et partie aérienne)	86
Figure 3.17 :	Poids sec des boutures semi-ligneuses (plant, racines et partie aérienne)	86
Figure 3.18 :	Poids frais des boutures semi-ligneuses (plant, racines, feuilles et tiges)	87
Figure 3.19 :	Poids sec des boutures semi-ligneuses (plant, racines, feuilles et tiges)	87
Figure 3.20 :	Aspect des racines des boutures semi-ligneuses	88
Figure 3.21 :	Contamination cryptogamique sur le semis "in vitro"	92
Figure 3.22 :	Contamination bactérienne sur le semis "in vitro"	92
Figure 3.23 :	Aspect des explants du matériel végétal âgé non débourrés et non contaminés	92
Figure 3.24 :	Allongement des bourgeons débourrés des micro-boutures issus du matériel végétal âgé d'un an	105
Figure 3.25 :	Hétérogénéité des vitro-semis du pistachier de l'Atlas sur milieu LEPOIVRE (AG3/AIB) 0.6/0.4 après 4 semaines de culture	107
Figure 3.26 :	Longueur des vitro-semis en fonction du milieu de culture et du rapport hormonal (AG ₃ / AIB)	109
Figure 3.27 :	Nombre moyen de nœuds des vitro-semis en fonction du milieu de culture et du rapport hormonal (AG ₃ / AIB)	110
Figure 3.28 :	Evolution d'une micro-bouture issue d'un vitro-semis sur milieu LEPOIVRE sans hormones	112

INTRODUCTION

La dégradation des éco-systèmes arides et semi-arides est devenue un fait palpable, qui fait planer une menace grave sur le progrès humain dans les pays concernés. Dans ces milieux exceptionnellement fragiles, le recul de la végétation se fait selon une progression alarmante et l'érosion domine en maîtresse.

En Afrique, environ deux milliards d'hectares sont considérés comme des terres arides dont les trois quarts sont touchés par la désertification. Le quasi totalité de ces zones dégradées est considéré comme des terres de parcours principalement utilisées par la population nomade.

L'Algérie est l'un des pays qui sont affectés par une désertification croissante qui avance d'année en année vers les terres cultivées. La carte de dégradation se superpose à celle des régions à longues saisons chaudes et sèches estivales et à une faible pluviométrie. Le phénomène de surpâturage qui s'est accru ces dernières années est certainement un facteur déterminant dans la réduction et la dégradation de la végétation.

La majorité des plans nationaux de lutte contre la désertification réservent une place importante à la plantation d'arbres et d'arbustes forestiers, paraforestiers et fourragères.

Par ailleurs, le programme de repeuplement des zones arides et semi arides à intérêt économique, doit comprendre plusieurs espèces manifestant une résistance élevée à la sécheresse et intéressantes sur le plan agronomique.

En effet, les espèces autochtones ont un rôle important à jouer dans la reconstitution et le repeuplement des massifs forestiers dégradés. Parmi ces espèces, le pistachier de l'Atlas *Pistacia atlantica Desf.* . Naguère très abondant dans les dayas, aujourd'hui il est très dispersé. Sa régénération se fait rarement dans les touffes du jujubier (*Zizyphus lotus*) dont il est l'hôte classique. Le

pistachier de l'Atlas est une espèce très rustique, il s'adapte aux conditions les plus dures des zones semi arides. Son intérêt économique est certain, il présente un bois de qualité, il est utilisé comme porte greffe du pistachier comestible (*pistacia vera*), il est utilisé dans le reboisement et la lutte contre la désertification. Valoriser le pistachier de l'Atlas c'est permettre aux forestiers et aux pépiniéristes de disposer de plants, obtenus en grand nombre par les différentes méthodes de multiplications végétatives.

Le problème posé par cette espèce est en premier lieu, sa reproduction par voie sexuée. Cette dernière mène le plus souvent à la production de fruits parthénocarpiques, dépourvus de graines. En deuxième lieu, le système de reproduction du pistachier est caractérisé par la ségrégation spatiale des deux sexes, les fleurs mâles et femelles sont portés par de pieds distincts. Au phénomène de dioïcie s'ajoute celui du déséquilibre du sexe ratio en faveur des pieds mâles. Ce phénomène se traduit, par la diminution de semences et la survie de l'espèce serait doublement menacé, de même les grains sont pourvus d'un endocarpe osseux qui inhibe la germination et leur pouvoir germinatif ne peut être conservé plus d'un printemps.

La multiplication végétative du pistachier de l'Atlas est assez difficile à mener car les techniques classiques de bouturage se heurtent à une biologie particulière ne permettant pas la réussite totale de ces opérations, à cause de sa sève très oxydante, qui au contact de l'air, induit la mort des cellules qui sont sensées former un cal pour protéger la bouture.

Dans le présent travail, nous nous sommes intéressé à réaliser plusieurs modes de multiplication, à savoir, le macro-bouturage en utilisant des boutures ligneuses ainsi que des boutures semi-ligneuses issues de plants âgés (adultes), et le micro-bouturage ou culture "in vitro" en utilisant un matériel végétal âgé (adulte), âgé d'un an et un matériel végétal issu de vitro-semis. La culture "in vitro" qui a été toujours un outil de prédilection pour la production en masse de plusieurs espèces fruitières et ligneuses.

L'objectif à atteindre au cours de notre étude est d'obtenir des plants entiers racinés aptes à être implantés tout en conservant les caractères du pied-mère, en testant en combinaison plusieurs milieux de culture, plusieurs modes de

désinfection, plusieurs traitements anti-oxydants, plusieurs balances hormonales afin d'en tirer la méthode la plus propice pour atteindre cet objectif.

CHAPITRE 1 ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

1.1- Généralité sur l'espèce

Le pistachier est un arbre dioïque appartenant à la famille des Anacardiaceae. L'étude monographique du genre *Pistacia* faite par ZOHARY [1] montre que ce genre comprend quatre sections et onze espèces, *Pistacia vera* est la seule espèce produisant des fruits comestibles [2].

Il est probablement originaire d'Asie centrale [3]. En Algérie le pistachier est présent à l'état spontané sous diverses conditions pédoclimatiques. Il se trouve représenté par des espèces sauvages en particulier *Pistacia atlantica* Desf. ; *P. terebinthus* ; *P. lentiscus* et *P. palestina*. L'aire de répartition de *Pistacia atlantica* Desf. au Maghreb et plus particulièrement en Algérie a été décrite par [4].

Le pistachier de l'Atlas *Pistacia atlantica* Desf. encore appelé "bétoum" en Arabe; "Iggh" ou "Tissemlal" en berbère a été décrit par DESFONTAINES en 1789 [5]. Ces appellations se rapportent à la forme des feuilles, et des folioles qui sont de taille moyenne [6].

Le pistachier de l'Atlas est un arbre autochtone des régions steppiques des zones semi-arides et arides, il constitue la strate arborescente des dépressions de ces régions et il est endémique des dayas. Il supporte les conditions de

sécheresse les plus extrêmes, comme il tolère les conditions de salinité et peut ainsi valoriser de larges zones des régions arides et semi-arides où le problème de salinité se pose avec acuité [3].

D'après MONJAUZE [5] le bétoum se distingue par la production de résine qui est d'autant plus abondante que la température de la station est élevée.

1.1.1- Systématique

Selon EMBERGER [7], *Pistacia atlantica* Desf. est classé taxonomiquement de la façon suivante :

Règne : Végétal

Embranchement : Spermaphytes

Sous embranchement : *Angiospermae*

Classe : *Dicotyledoneae*

Sous classe : *Terebinthaleae*

Ordre : *Terebinthales*

Famille : *Anacardiaceae*

Sous famille : *Rhoïdeae*

Genre : *Pistacia*

Espèce : *Pistacia atlantica* Desf.

1.1.2- Caractéristiques phénologiques et écologiques

1.1.2.1- Caractéristiques phénologiques

Le pistachier de l'Atlas est un arbre dioïque, dont on distingue les pieds mâles et les pieds femelles, sa pollinisation est anémophile rarement entomophile [4]. Les pieds mâles ont une entrée en dormance plus précoce par rapport aux pieds femelles.

En effet, pour la plupart des variétés mâles, l'énergie de débournement est nulle.

Arbre de 3 à 16 mètres à tronc bien individualisé et à formation hémisphérique en régions semi-arides et arides. Planté dans les régions sub-

humides, il présente un port plus étalé, il peut atteindre 25 mètres de hauteur et 1 mètre de diamètre au niveau du tronc [5].

Les feuilles

Le pistachier de l'Atlas fait partie des espèces à feuilles caduques, un peu coriaces aux 7 à 11 folioles (2.5 à 6 cm de longueur et 0.5 à 1.5 cm de largeur), sont alternes et mesurant rarement plus de 12 cm de longueur totale [5].

Selon une étude menée par MORSLI [8], il en ressort l'existence de quatre stades pour les nouvelles pousses végétatives à savoir :

- Bourgeons végétatifs formés.
- Débourrement correspondant à l'éclatement des écailles protectrices.
- Folioles légèrement apparentes, collées les unes aux autres, elles sont apparentes de couleur rougeâtre.
- Plusieurs feuilles bien apparentes et individualisées teintées d'un vert clair.

Les fleurs

Selon MONJAUZE [5] et SALHI [9], les fleurs sont apétales et rougeâtres, les fleurs mâles sont des grappes terminales à calice de 3 à 5 sépales avec 5 à 7 étamines. Les fleurs femelles sont en grappes axillaires à calice très réduit et à ovaire surmonté de trois styles pourpres. MORSLI [8] a identifié quatre stades phénologiques pour la floraison mâle et cinq pour la floraison femelle.

Floraison mâle

- Inflorescence regroupée.
- Pré-déhiscence des inflorescences
- Déhiscence des inflorescences.
- Fanage des inflorescences.

Floraison femelle

- Fleurs femelles non apparentées
- Début d'apparition des fleurs
- Fleurs apparentées
- Fleurs femelles en cours de pollinisation
- Fleurs femelles fécondées

Les fruits

Selon CHAIB DRAA [10], le fruit est une drupe monosperme à endocarpe osseux et à mésocarpe sec plus ou moins plissé. Il mesure environ 5 à 8 mm de longueur sur 5 à 6 mm de largeur. Il est largement ovale et quelques fois trapu. Il atteint sa maturité en Septembre en prenant la couleur bleuâtre. On compte en moyenne 10000 graines par kilogramme.

Les racines

Le système racinaire du pistachier de l'Atlas présente quant à lui un type d'architecture bien hiérarchisé comportant un épais pivot vertical, orthogéotrope à croissance rapide et indéfinie et de fines racines latérales plagiotropes à croissance lente et peu durable [11].

1.1.2.2- Caractéristiques écologiques

1.1.2.2.1- Température

Selon MONJAUZE [4], le pistachier de l'Atlas ne serait à sa place dans la moitié de l'étage aride tempéré et de l'étage semi-aride, se trouvant généralement dans les dayas. Il a été jadis très abondant mais aujourd'hui très dispersé, il ne se régénère que rarement dans l'ombre du *Zizyphus lotus Desf.* (Jujubier) dont il est l'hôte classique.

Le pistachier de l'Atlas résiste aux températures basses et aux températures élevées. Les amplitudes thermiques importantes n'affectent pas sa floraison, les fleurs échappent en général à l'action néfaste des températures en raison de leur éclosion tardive [12].

Afin de permettre la levée de dormance des bourgeons, il est nécessaire que le besoin en froid du pistachier de l'Atlas soit satisfait, les valeurs rapportées par la littérature varient selon les régions. Elles sont comprises entre 200 et 1000 heures de froid inférieures à 7°C [13].

1.1.2.2.2- Pluviométrie

L'altitude d'implantation du pistachier de l'Atlas varie de 100 à 1200 m d'altitude, d'après EVREINOFF [14]. Il semble que l'altitude comprise entre 600 et 1200 m permet un meilleur développement de l'espèce.

Ainsi le bétoum se développe sous une tranche pluviométrique allant de 250 à 600 mm/an [5]. Vu sa plasticité, cette espèce, bénéficie d'une pluviométrie maximale voisine de 1000 mm/an au niveau de sa limite septentrionale à l'Ouest d'Alger et au versant Sud du Zaccar, 600 mm/an sur le bord méridional de l'Atlas Tellien et 250 mm/an au niveau de la plaine de Boghari [11].

Bien que le pistachier se trouve implanté sur une large gamme de sols, cette espèce est réputée être gypso-calcicole préférant les sols profonds et bien drainés [15]. Il faut noter aussi que le pistachier de l'Atlas tolère les conditions de salinité des régions arides et semi-arides [3].

Dans une étude réalisée au Maroc sur les zones à vocation pistachier, les facteurs climatiques et plus particulièrement les températures et les précipitations ont constitué les données de base pour la délimitation des zones à vocation pistachier, l'altitude a également été retenue comme paramètre de séparation. Compte tenu des exigences climatiques du pistachier, le choix des paramètres a été basé essentiellement sur la satisfaction des besoins en froid, tout en assurant des étés chauds pour la maturation des fruits. Les critères retenus sont :

- Isotherme 2 à 4°C comme indicateur des températures minimales moyennes des mois les plus froids
- Isotherme 30 à 36°C comme indicateur des températures maximales moyennes des mois les plus chauds.
- Isoyetes 150-300 et 600 mm des précipitations moyennes annuelles.

Partant du principe que la satisfaction des besoins en froid est primordiale pour la délimitation des zones à vocation pistachier, les surfaces utiles sont situées entre les courbes de niveau altitudinales de 500 à 1500 m.

D'après AIT RAD1 [12], le pistachier de l'Atlas est un arbre xérophile avec des racines pouvant descendre jusqu'à 5 à 6 mètres de profondeur, ce qui l'amène à végéter sous des tranches pluviométriques très faibles, la profondeur et le volume de sol important prospectés par les racines mettent à la disposition de la plante l'eau et les éléments minéraux nécessaires à sa croissance.

1.1.3- Répartition du pistachier de l'Atlas

1.1.3.1- Dans le monde

Selon MONJAUZE [4], *Pistacia atlantica* Desf. est répandu depuis les îles Canaris jusqu'au Pamir en passant par :

- L'Afrique du Nord, le Sahara Septentrional et Tripolitaine, avec réplique au Hoggar.
- Chypre, Rhodés, la Grèce, la Turquie, la Bulgarie, le Caucase, la Transcaucasie et l'Arménie.
- La Palestine, la Syrie, la Jordanie, l'Iraq et l'Iran.
- L'Arabie, le Batoutchistan et l'Afghanistan.

Il a aussi été signalé en 1973 par DANIN au Nord et au centre de Sinaï en Egypte [16].

Il a été largement utilisé en Californie comme porte-greffe dans les plantations réalisées entre 1970 et 1980, il est aussi utilisé comme porte-greffe en Turquie, en Syrie ainsi qu'en Espagne [17] et [18].

1.1.3.2- En Algérie

D'après MONJAUZE [4], l'aire de répartition du pistachier de l'Atlas s'étend du Nord jusqu'aux hauts plateaux et aux régions sahariennes.

Le même auteur note que dans le secteur oranais, il est très répandu aux frontières algéro-marocaines, à Saïda et Tiaret, entre Sidi Bel-Abbes et Mascara, ainsi que dans la plaine du Chélif.

Dans le secteur algérois occidental, le pistachier de l'Atlas est assez rare, il est cependant signalé dans l'Atlas Mitidjien au Sud-Ouest de Larbaa, entre Bouira et M'echedellah, ainsi que dans les gorges de Kherrata au Sud-Est de Bejaia. On le trouve aussi à Mila. Sa présence est aussi signalée sur les hauts plateaux et les hautes plaines, en petit peuplement au niveau des dayas, dans l'Atlas saharien ainsi qu'au Sud de ce dernier à l'état de pieds isolés ou par petits bouquets [4].

1.1.4- Intérêt de l'espèce

1.1.4.1- Intérêt écologique

Le pistachier de l'Atlas est l'espèce la plus représentée de la steppe pastorale et des zones arides en raison de sa rusticité et de sa résistance. Le bétoum occupe généralement les sols peu profonds grâce à son système racinaire puissant. Il contribue favorablement à la lutte contre l'érosion et la désertification qui menace constamment ces régions [19].

1.1.4.2- Intérêt socio-économique

Le genre *Pistacia* regroupe (à l'exception de l'espèce *Pistacia vera*) un important nombre d'espèces qui n'ont d'autres intérêts agronomiques que leur possible utilisation comme porte-greffe. Les plus fréquemment utilisés sont : *Pistacia atlantica* Desf. ; *P. palestina* ; *P. terebinthus* ou *P. intergerrima* [20].

Le bétoum peut être utilisé comme espèce pastorale surtout en période de disette car ses feuilles constituent un apport en unités fourragères important dont la valeur nutritive est estimée à 0.35 UF et 41g de matière azotée digestible par kilogramme de matière sèche [21].

Le bois de bétoum est lourd et de bonne conservation. C'est un bois d'artisan et bien entendu un bois excellent pour le chauffage et la carbonisation, seulement sa dureté le met quelque peu à l'abri des coupes [22] et [5].

La résine produite par son écorce est une résine mastique en quelque sorte un ancêtre méditerranéen du chewing-gum et dont la pharmacie s'est longtemps servit pour la fabrication d'onguent [5].

Selon le même auteur, il sert d'aliment pour la population locale qui en consomme les graines.

1.2- Propagation de l'espèce

1.2.1- Multiplication par voie génératrice (sexuée)

La multiplication par voie sexuée est considérée comme l'une des meilleures méthodes de production de porte-greffe [23].

Selon MONJAUZE [5], la régénération du bétoum reste aléatoire du fait notamment de la dureté des téguments qui inhibent la germination. Les rares cas de régénération de cette espèce ont lieu dans les touffes du jujubier (*Ziziphus lotus*) qui assurent au semis une protection contre le pâturage et la gelée.

Selon le même auteur, pour que le semis lève, il faut que les fruits soient cueillis à maturité et disséminés par l'homme et les animaux sans retard et sous un micro-climat aux facteurs amortis.

1.2.1.1- La germination

La germination des semences de *Pistacia atlantica* Desf. passe pour être capricieuse [24]. MULLER [25], pense que c'est un problème de dormance que l'on rencontre fréquemment chez les feuillus. La maturité de la semence joue un rôle

important car une immaturité à la récolte se traduit généralement par une inaptitude à la conservation [26].

La germination des graines dépend le plus souvent des conditions de conservation. D'après MONJAUZE [5], la semence du pistachier de l'Atlas est trop huileuse pour être conservée longtemps dans la nature. Elle ne peut garder son pouvoir germinatif plus d'un printemps même en cave et stratifiée dans le sable. En chambre froide, par contre, ce pouvoir peut subsister plusieurs années.

Par ailleurs, d'après MONJAUZE [4], les graines de bétoum exigent une stratification et elles ne doivent être semées qu'à une température moyenne ayant atteint au moins 12°C.

Mais selon BROUSSE [27], les coques des graines de *Pistacia atlantica Desf.* gênent la germination et doivent être enlevées avant la plantation, le pourcentage de germination ne dépasse pas les 50 p100 lorsque les graines en coques sont trempées pendant une journée dans de l'eau de robinet à 10-15 °C.

CHAIB DRAA [10], a obtenu 83.33 % de germination pour les graines de provenance de Messaad et 53.33 % de germination pour les graines de provenance de Hassi bahbah, il estime que la cause de cette différence de pourcentage est attribuée à un épuisement des réserves des semences, ce qui se traduit par une perte de réactivité et à une forte influence du facteur provenance des graines. En outre, ce même auteur affirme qu'une densité de semis élevée permet dans une certaine mesure une meilleure fécondation.

D'autre part, MORSLI [8] rajoute que, la reproduction sexuée du pistachier de l'Atlas aboutit le plus souvent à la production de fruits parthénocarpiques, c'est à dire la transformation de l'ovaire en fruit ou en graine dépourvue d'embryon ou graine infertile. Ce phénomène se traduit par une diminution des semences fertiles. A ceci s'ajoute le phénomène du sexe ratio qui est largement en faveur des pieds mâles, et la désynchronisation entre les deux fonctions mâle et femelle aurait pour conséquence la limitation de la production d'où la survie de l'espèce serait menacée.

1.2.1.1.1- Inhibition de la germination

1.2.1.1.1.1- Inhibition tégumentaire

Une inhibition tégumentaire est caractérisée par le fait que la germination n'est possible qu'après la suppression des enveloppes séminales. La présence d'un épiderme non mouillable ou de couches cellulaires imperméables s'oppose parfois à la pénétration de l'eau dans les enveloppes [28]. Pour les graines du pistachier et selon ALETA et al [23], le mésocarpe doit être éliminé car il est considéré comme inhibiteur de la germination.

1.2.1.1.1.2- Inhibition chimique

Selon AUGÉ et al [29], différentes substances chimiques dans le tégument s'opposent à la germination, les composées phénoliques se rencontrent dans les téguments auxquels ils donnent une coloration brune. Les phénols sont des pièges d'oxygène, ils s'oxydent très facilement en quinones. Ainsi la quantité d'oxygène disponible pour l'embryon se trouve diminuée, lorsque la température s'élève.

1.2.1.2- Amélioration de la germination

Selon AUGÉ et al [29], l'entrée en dormance de l'embryon est induite par la déshydratation de la graine. Après la mise en réserve des substances nutritives dans l'albumen ou les cotylédons, la graine est alors susceptible d'être disséminée, elle pourra se conserver et résister aux mauvaises conditions du milieu.

Pour les semences à mettre en germination, différents traitements dits de "post-maturations" permettent d'obtenir une germination plus rapide et plus homogène, en éliminant artificiellement la cause de l'inhibition.

D'après CÔME in MAZLIAK [30], le froid est un facteur très important pour la levée de dormance. L'étude du rôle du froid dans la levée de dormance embryonnaire découle d'observations empiriques.

Suite aux travaux effectués à l'IRTA en Espagne, il semble que le traitement au froid humide (2-4 °C pendant 30 jours) influe significativement ($p > 0.99$) sur le pourcentage et la vitesse de germination de 4 espèces de pistachier étudiées avec 46 % de germination [23].

Ainsi, il est possible d'augmenter le taux de germination des graines du pistachier de l'Atlas par scarification qui est habituellement mécanique mais peut être aussi chimique à l'aide de l'acide sulfurique ou de la soude [31]. C'est ainsi que AIT RADl [12], obtient au laboratoire après 45 jours 60 % de germination pour les graines scarifiées mécaniquement et 20 à 28 % de germination avec les graines traitées à l'aide d'une solution normale d'acide sulfurique.

Le traitement à l'acide gibbérellique permet généralement une meilleure germination des embryons dormant [32].

Suite aux travaux effectués par ALETA et al [23] à l'IRTA en Espagne, il a été prouvé qu'un trempage des graines de 4 espèces de pistachier dans une solution de gibbérelline (GA_3) pendant 24 heures influe directement et de façon identique pour les quatre espèces, le meilleur pourcentage de germination a été celui des semences traitées à 50 ppm de GA_3 (avec 52.1 % de germination).

1.2.2- Multiplication par voie végétative (asexuée)

La reproduction asexuée est basée sur deux principes : la totipotence cellulaire (reconstitution d'un individu à partir d'une cellule ou d'un petit nombre de cellules) et le pouvoir de régénération (dédifférenciation puis différenciation qui aboutissent respectivement à la formation d'un tissu ayant les caractères cytologiques et les potentialités des cellules embryonnaires et à la mise en place des différents tissus) [33] et [34].

De nombreux programmes d'amélioration et de production intègrent ou reposent sur la multiplication végétative [35] et [36].

1.2.2.1- Macro-bouturage

Le bouturage est une technique traditionnelle en horticulture se basant sur le principe de développement des racines sur un rameau détaché de l'arbre mère pour constituer un individu [37]. Mais ce n'est que récemment, que cette méthode commence à être utilisée dans les programmes d'amélioration de nombreuses espèces forestières dans le monde comme le merisier, le frêne, l'érable, le chêne, l'aulne, le noyer, le hêtre, le prunier, le platane, le peuplier et l'acacia [38],[35]et[39]. Selon BOUDRU [40], le bouturage permet de reproduire d'une manière conforme des individus sélectionnés lors de l'étape de l'amélioration.

Le bouturage peut être favorisé par des hormones de bouturage, qui facilitent l'émission des racines, dont l'auxine est la principale hormone. L'auxine a depuis longtemps débouché dans le domaine pratique où les hormones de bouturage sont d'usage courant [29].

Pour ce type de multiplication, on distingue deux méthodes de bouturage; dont le bouturage ligneux et le bouturage en vert.

1.2.2.1.1- Bouturage ligneux

Le bouturage ligneux encore appelé à sec emploie des rameaux qui ont perdu leurs feuilles à l'automne et qui possèdent des bourgeons au repos. Ce bouturage à lieu à la fin de l'hiver, la base des rameaux est taillée en biseau et enfoncée dans un sol frais et aéré. La terre doit bien adhérer à la portion de la tige qui donnera des racines.

Le bouturage du pistachier est très difficile à réaliser, la plupart des travaux concernant ce type de multiplication n'ont pas donné de résultat positif [41].

Ainsi les résultats obtenus par AIT RAD1 [12] ne sont pas significatifs, même après traitement à l'acide indol acétique (AIA) à des concentrations de 0.6 à 5 g.l⁻¹.

Selon HADJ BRAHIM [42], la multiplication végétative "in situ" par bouturage chez le bétoum paraît presque impossible, ceci est dû à sa sève très résineuse, qui s'oxyde rapidement à l'air. Cette oxydation aboutit à la mort des tissus périphériques au niveau des deux extrémités des boutures, et limite ainsi les échanges entre les tissus intérieurs encore vivants et le milieu externe.

1.2.2.1.2- Bouturage en vert

Le bouturage en vert emploie des rameaux feuillés ligneux ou herbacés dont on supprime les feuilles inférieures pour limiter l'évapo-transpiration, on parle alors d'habillage.

Les recherches menées par l'ISF "Institut expérimental des arbres fruitiers" de Rome ont montré que les espèces; *Pistacia atlantica* Desf., *P. intergerrima* et *P. terébinthus* pouvaient être multipliées par bouturage semi-ligneux, traitées à l'AIB, après l'étiollement des pied-mères sur lesquels sont prélevées ces boutures. Pour l'espèce *Pistacia intergerrima*, les taux d'enracinement sont nettement supérieurs (70 % d'enracinement) si on utilise une concentration de 4000 ppm d'acide indol butyrique [23].

1.2.2.1.3- Facteurs influençant le bouturage (rhizogénèse)

Certains facteurs conditionnent la réussite au bouturage et par la même, la rhizogénèse, ceux ci peuvent être endogènes ou exogènes.

1.2.2.1.3.1- Facteurs endogènes

a- Facteurs génétiques

Ils représentent l'aptitude de la plante ou une partie de la plante à la rhizogénèse caractéristique de l'espèce sans l'intervention d'agents externes [43].

b- Age des pied-mères

L'enracinement des boutures décroît avec l'âge des pied-mères. Il est pratiquement nul pour les arbres adultes tels que le noyer, le chêne et l'érable [44], [35] et [39].

c- Juvénilité des rameaux

Toutes les pousses d'un plant ne sont pas susceptibles de fournir de bonnes boutures. Les gros rameaux mal aoûtés comme ceux qui sont très petits conduisent à des résultats faibles [35].

Ainsi, les rameaux basaux à feuilles narcescentes, les axes issus des aisselles cotylédonaire, les rejets basilaires (après recepage) et les dragons constituent en général, un matériel s'enracinant bien. Ce sont même dans certains cas (pommiers, chêne, hêtre), les seuls axes utilisables pour le bouturage [44] et [39].

d- Etat physiologique des boutures

L'état physiologique des boutures, conduisant à un bon enracinement, varie selon la saison de prélèvement [35]. En général, les meilleurs résultats sont enregistrés pour les feuillues (chênes, merisier,...), en phase active de croissance, c'est à dire en été. Une deuxième vague d'enracinement est fréquemment obtenue en fin d'été, quand l'élongation a cessé et que la lignification commence.

Selon JOURDAN et al [45] et MARGARA [44], l'apport énergétique nécessaire au développement des feuilles et à la formation de racines provient en grande partie de l'hydrolyse des réserves glucidiques de la bouture et tout particulièrement de l'amidon.

SMITH et WAREING in BESSAFA [46], suggèrent qu'une teneur suffisante en sucre endogène, en présence d'une concentration hormonal exogène inductrice, doit favoriser l'enracinement.

e- Action des bourgeons

La rhizogénèse est déclenchée par l'action des substances hormonales produites au niveau du bourgeon et circulant en direction basipède [44]. La présence du bourgeon à proximité de la base de la bouture présente une action inhibitrice de la rhizogénèse.

Ainsi chez *Populus alba*, la conservation d'un seul bourgeon terminal fait passer le taux d'enracinement de 60 à 80 % [46].

Par contre chez *Quercus ilex*, le fait de supprimer le bourgeon terminal et les deux derniers nœuds fait passer le taux d'enracinement de 33 à 77 % [39].

f- Action des feuilles

Selon WIESMAN et LAVÉE [47], la feuille fournit des substances qui agissent de façon synergique avec les hormones apportées artificiellement, favorisant par conséquent l'enracinement. L'influence des feuilles s'exprime à travers leur nombre sur la bouture et leur âge:

- Leur nombre : en effet, l'enracinement serait même en proportion directe avec le nombre de feuilles présentes sur la bouture ou autrement dit de la surface foliaire totale. Il est important que la surface foliaire soit maximum d'où la nécessité d'avoir des boutures avec de nombreuses feuilles ayant atteint leur expansion maximale.

- Leur âge : les feuilles doivent être adultes, sans être trop vieilles, sinon elles risquent de tomber pendant la période d'enracinement. Les feuilles âgées ou sénescents peuvent perdre tout effet stimulateur et devenir inhibiteur de la rhizogénèse [44].

g- Dimension de la bouture

La richesse de la bouture en substances organiques est un facteur important pour la formation des racines

L'importance des réserves de la bouture est étroitement liée aux dimensions de celles ci (longueur et diamètre). Ces derniers peuvent par conséquent, influencer fortement le taux de reprise et la qualité du système racinaire obtenu [48] et [46].

h- Position de la bouture sur le rameau

FAVRE [49] et MARGARA [44], ont observé l'existence de gradient d'aptitude à la rhizogénèse en fonction de la situation de la bouture sur le rameau.

En général, pour obtenir une bouture, on élimine la partie apicale trop fine du rameau et on retient la meilleure, soit le tiers ou la moitié restante [50], c'est ce qui a été effectivement observé chez un certain nombre de plantes tel que *Olea europea* et ce au niveau des rameaux d'un an [49].

Par contre, certaines espèces comme le prunier et l'aulne, ce sont les parties terminales des rameaux qui se bouturent le mieux [51]. Chez les végétaux ligneux, la zone de transition entre la portion préformée d'origine intra-gemmaire et le tronçon néoformé extra-gemmaire accroît les capacités d'enracinement [49].

i- Influence de l'anatomie de la tige sur l'initiation racinaire

Le mécanisme de la rhizogénèse est étroitement lié à l'existence du cambium qui joue un rôle important dans la naissance des racines. Deux schémas voisins l'un de l'autre sont possibles :

A : un îlot de cellules méristématiques de type primaire se développe à partir du cambium, puis s'organise ensuite en un méristème de type racinaire.

B : à la base de la bouture et essentiellement à partir du cambium, une prolifération cellulaire intense commence pour la formation d'un cal de défense. A l'intérieur de ce cal, certaines cellules évoluent en cellules méristématiques de type primaire, puis s'organisent en méristème de type racinaire.

Il n'y a pas de règles précises pour qu'une espèce évolue suivant l'un ou l'autre de ces schémas. On peut simplement préciser que le schéma "A" est plutôt rencontré chez les plantes herbacées alors que le schéma "B" est plutôt en vigueur chez les plantes ligneuses [52].

Selon CHAUSSAT et BIGOT [32], BOUTHERIN et BRON [52], Le processus qui aboutit à la naissance des racines, selon le modèle de BUVAT [53], n'est pas un phénomène global mais une succession d'étapes étroitement liées les unes aux autres.

- **Activité initiale** : immédiatement après le bouturage, on observe dans certaines cellules des modifications en particulier l'activation de la biosynthèse de certaines molécules, le cytoplasme devient plus dense, les noyaux se dilatent de façons importantes. Ces modifications sont particulièrement marquées au niveau du cambium et des vaisseaux conducteurs. Bien marquées au pôle basale des boutures, elles s'atténuent jusqu'à disparaître lorsqu'on s'en éloigne. Cette première étape n'est pas directement visible, elle est importante car c'est le premier pas vers la naissance des racines. C'est une activation générale peu spécifique et polarisée à la base de la bouture.

- Dédifférenciation cellulaire : parmi les tissus activés, seules les assises génératrices et, à degré moindre, les tissus voisins sont le siège de divisions nombreuses. Ces divisions aboutissent à la formation d'un tissu cicatriciel d'importance variable qui peut, chez les ligneux et les conifères en particulier, évoluer en cal.

Au niveau des assises génératrices ou dans le cal, les mitoses successives donnent progressivement des cellules ayant les caractéristiques des méristèmes primaires. L'édification de ces îlots est en fait l'étape décisive de la rhizogenèse.

- Réorganisation : à partir des îlots méristématiques, les cellules vont se différencier et donner naissance à un méristème de racine. Au niveau de la région basale et interne, les cellules s'allongent dans le sens radial et se divisent transversalement, constituant ainsi une ébauche de cylindre central. Dans la région apicale et superficielle, des recloisonnements parallèles à la surface du massif méristématique amènent la mise en place du cortex et de l'épiderme de la future racine. Près du sommet, au sein des assises les plus superficielles, des divisions périclines et anticlines conduisent à l'édification de la coiffe. L'individualisation du centre quiescent caractéristique des apex radicaux se produit en général plus tard. Le jeune méristème radical entrera en croissance et, après avoir traversé les tissus voisins, la racine adventive deviendra visible.

La croissance des racines adventive suppose la traversée préalable des tissus de l'organe parent. Pour une large part, cette progression s'effectue grâce à l'intervention d'hydrolases enzymatiques, permettant la désagrégation de la lamelle moyenne pectique des parois, la destruction des acides nucléiques et de certaines protéines.

Ce mouvement, cependant peut être arrêté par l'obstacle mécanique que constituent parfois certaines assises cellulaires particulièrement résistantes comme l'anneau sclérenchymateux séparant le phloème du cortex. Dans ce cas, des traitements amollissant ou disloquant l'écorce sont utiles pour obtenir un enracinement satisfaisant.

1.2.2.1.3.2- Facteurs exogènes

a- La lumière

HESS et SNYDER in CHAUSSAT et BIGOT [32], notent que de nombreux travaux, ont montré que l'enracinement était amélioré lorsque les végétaux bouturés pouvaient bénéficier d'une quantité plus importante de lumière. Cette amélioration résulte d'une augmentation de l'activité photosynthétique dont les produits sont utilisés au niveau de la rhizogénèse.

De même, LOACH [54], suppose que l'augmentation de la production d'hydrate de carbone, suite à une exposition à la lumière intense, peut certainement contribuer à la croissance et au développement des racines. En outre, dans le cas où l'accumulation des hydrates de carbone est excessive, elle devient défavorable à l'initiation racinaire.

GAUTRY [55], note qu'un apport de lumière durant la conservation des boutures ligneuses au froid a un effet favorable sur l'enracinement des jeunes Douglas.

b- Effet du froid

Le maintien des boutures au froid (0 à 5°C) pendant plusieurs semaines pour supprimer la dormance des bourgeons favorise l'enracinement de ces derniers.

En effet, le traitement au froid de *Populus canescens* pendant 16 semaines améliore fortement l'enracinement sachant que cette espèce présente une faible aptitude au bouturage [19].

Cependant, les boutures de *Populus alba* prélevées en Décembre et conservées au froid ont donné un nombre élevé de racines par rapport à celles prélevées au mois de Février [46].

c- Effet de la température

Selon MONCOUSIN [56], il existe pour chaque végétal la température d'enracinement optimale, alors que la température infra-optimale provoque toujours une réduction du pourcentage d'enracinement et de la vitesse

d'enracinement, les températures supra-optimales peuvent quant à elles accélérer l'enracinement (jusqu'à certaines limites).

LOSSER et BOWSE in SAFIR [57] précisent qu'un thermopériodisme favorable à la rhizogénèse se situe entre 20°C et 25°C le jour et autour de 15°C la nuit. Le substrat aurait une température comprise entre 20°C et 23°C.

Selon MARTIN et QUILLET [58], le développement optimal des boutures herbacées de l'Eucalyptus est obtenu quand la température ambiante varie de 25°C à 30°C et la température du substrat de 21°C à 24°C.

Les températures excessives tendent à promouvoir le développement des bourgeons au détriment du développement racinaire et ainsi, augmenter les pertes d'eau à partir des feuilles [57].

d- Effet de l'humidité

L'hygrométrie est un facteur essentiel pour la survie de la bouture vu l'absence de racine [35].

La multiplication à partir de boutures feuillées nécessite que les boutures demeurent turgescentes jusqu'à ce que de nouvelles racines se développent. A cet effet des systèmes conventionnels de couverture avec un film plastique ou mist (ou brouillard) sont utilisés [59].

Le maintien d'une humidité relative élevée autour des feuilles des boutures est la meilleure méthode pour éviter la transpiration à des valeurs de luminosité et de températures élevées [60].

La reprise des boutures des peupliers à bouturage difficile est fortement influencée par le taux d'humidité du sol [50]. FAVREAU in CHAUSSAT et BIGOT [32] rapporte que le taux d'humidité du substrat agit sur la grosseur du cal de cicatrisation et sur la qualité de l'enracinement. En effet, pour favoriser une émission de racines, il faudrait avoir un taux d'humidité du substrat se situant entre 60 et 80 %.

e- Effet du substrat

D'après POISSONNIER et al [61] et CORNU et BOULAY [35], la nature du substrat intervient directement sur la qualité et la quantité de racines. Le choix est conditionné par de nombreux critères dont :

- La capacité de rétention en eau et de la disponibilité de l'air.
- La méthode de production adoptée (conteneur).

f- Traitement auxiniques des boutures

Le rôle principal de l'auxine dans le déclenchement hormonal de la rhizogénèse est suggéré à la fois par l'application d'auxines exogènes et par les dosages d'hormones endogènes [44].

Selon le même auteur [44], en pratique de bouturage, l'application d'AIA stimule fréquemment l'enracinement des boutures. Des résultats similaires sont souvent obtenus avec des auxines de synthèse tel que l'ANA, l'AIB et l'AIP.

Selon HELLER [62], même les espèces réputées autrefois de bouturage impossible (Gymnospermes) peuvent maintenant être bouturées grâce à des mélanges d'hormones. Toutefois, les doses doivent être soigneusement calculées et l'application à la base des boutures ne doit pas être trop prolongée (car les auxines à forte dose inhibent la croissance racinaire).

g- Apport en éléments minéraux

Selon BOUTHRIN et BRON [52], des pied-mères correctement nourris donnent des boutures qui s'enracinent plus facilement. L'équilibre des éléments nutritifs est également important. La teneur en oligo-éléments semble être également importante, c'est un équilibre primordial; le bore semble jouer un rôle très positif.

Pour DEIRICHE-ANGERS [63], l'alimentation minérale serait peu importante pour la naissance des racines par contre, elle retentit sur leur croissance.

1.2.2.2- Micro-propagation (culture "in-vitro")

La multiplication "in vitro" des plantes, communément appelée micro-propagation consiste à produire un type parental donné, à partir d'un fragment plus ou moins grand de ce végétal, placé en condition d'asepsie plus ou moins rigoureuse. Comme dans le cas de la multiplication classique, cette reproduction ne s'effectue que par division des cellules des tissus concernés [64].

A l'inverse du bouturage, la micro-propagation s'effectue tout au long de l'année par la mise en jeu successive de différents milieux de culture, on provoque la formation de bourgeons, puis des racines afin de reconstituer un plant. Les régulateurs de croissance jouent un rôle prépondérant dans ces différentes phases d'organogenèse. Les cytokinines favorisent le bourgeonnement et les auxines favorisent la formation des racines [34], [65], [35], [67], [68] et [36].

La culture "in vitro" est susceptible aussi de détourner le problème du vieillissement des essences forestières auquel est confrontée la multiplication végétative par voie classique [69], [65], [70], [71] et [72].

1.2.2.2.1- Intérêt de la technique

La culture "in vitro" présente plusieurs intérêts :

- C'est une méthode rapide de propagation et de création de nouveaux clones ;
- La multiplication conforme avec un taux élevé ;
- L'amélioration et la création variétale ;
- La régénération de plantes saines ;
- La diffusion de structures génétiques qui ne peuvent par être stabilisées par la reproduction sexuée ;

- La diffusion d'individus stériles qui peuvent provenir soit d'hybridation somatique, soit par une manipulation de génie génétique ;
- La sauvegarde des espèces en voie de disparition ;
- La formation de banques de variétés clonales (fixées) ;
- La disponibilité du matériel végétal à n'importe quelle époque de l'année ;
- La conservation du matériel végétal à l'abri des contaminations [73], [74], [69], [65], [67], [71] et [75].

Cependant, le principal inconvénient de la culture "in vitro" selon ZRYD [67] est le risque de l'érosion génétique, mais ce problème pourrait être résolu par le développement en parallèle des banques de gènes.

1.2.2.2- Présentation de certaines méthodes de propagation

Plusieurs techniques de culture "in vitro" sont utilisées pour la propagation des essences forestières.

1.2.2.2.1- Multiplication par bourgeonnement axillaire

Un bourgeon ou une portion terminale de tige mis en culture développe un axe par la croissance du méristème caulinaire principal [76].

Le développement des bourgeons de l'explant mis en culture est accéléré par la suppression de la dominance apicale grâce à l'ablation de l'apex, des feuilles et une balance hormonale favorable aux cytokinines [64].

Toutefois, l'inconvénient de cette technique réside dans le fait que les performances d'un clone à un autre sont différentes, même quand ils sont juvéniles [36].

Cette méthode permet d'éviter l'apparition de variants et assure la reproduction de copies conformes [44].

La multiplication du pistachier de l'Atlas par cette méthode a été initiée au département d'agronomie de Blida par MAROK [77] et selon lui, la micro-propagation à partir de micro-boutures semi-ligneuses est possible, mais ceci dépendrait de la maîtrise de la libération des phénols dans le milieu de culture et des nécroses des micro-boutures qui s'y installent.

1.2.2.2.2- Multiplication par bourgeonnement adventif

L'initiation des bourgeons est induite par n'importe quel type d'organes ou de tissu.

Dans ce type de multiplication, la conformité des plantes issues de cals n'est jamais garantie [76].

Ce développement peut intervenir directement sur l'explant mis en culture, le plus souvent ce sont des morceaux de feuilles, dans l'autre cas la morphogenèse est indirecte et les bourgeons sont induits sur des cals. Cette voie est moins sûre du point de vue stabilité génétique, car les divisions cellulaires au niveau des cals présentent parfois des erreurs de copies [64].

En 1995, les travaux de CHATTIBI et al [78] sur la multiplication du pistachier vraie (*Pistacia vera* .L) à partir de feuilles prélevées sur des plantules issues de vitro-semis, ont permis d'avoir des néoformations directes de bourgeons sur les feuilles. Cette néoformation varie en fonction de la nature de la combinaison des régulateurs de croissance utilisés.

A la lumière des résultats obtenus, il apparaît que les combinaisons tri-hormonales (BAP, AIB, ANA) respectivement (0.5, 1.0, 0.05) et (1.5, 2.0, 0.5) mg.l⁻¹ demeurent les plus adéquates pour l'induction de pousses adventives vigoureuses. Ces deux combinaisons ont permis d'induire la néoformation de bourgeons avec un pourcentage très élevé d'explants, 75 et 80 % respectivement, la taille des pousses obtenues après 7 semaines de culture est comprise entre 2.8 et 4.5 cm.

1.2.2.2.3- Culture de méristème

Le terme culture de méristème devrait s'appliquer à la culture du dôme apical lui même ou à la rigueur à celle du méristème pourvu de quelques primordiums foliaires et d'un petit sous bassement médullaire [44].

Les observations qui ont conduit à la mise au point de cette technique ont débuté avec les travaux de WHITE en 1934 qui remarqua que les extrémités de racines de tomate virosées mises en culture redonnaient dans quelques cas des racines sans virus [29].

1.2.2.2.3- Exigences des végétaux en culture "in vitro"

Certains facteurs sont à la base de la réussite de la culture "in vitro".

1.2.2.2.3.1- Milieu de culture

Un milieu de culture s'élabore aux moyens d'éléments minéraux majeurs (macro- éléments) et d'éléments mineurs (micro-éléments ou oligo-éléments).

On utilise en général, des milieux de composition connus déjà éprouvés tels que MURACHIGE et SKOOG, 1962; HELLER, 1953; NITSCH, 1956 [32].

Cependant chaque espèce a des exigences propres vis à vis des macro-éléments, des micro-éléments, des vitamines et de l'alimentation carbonée.

Toutefois, il est impossible d'étudier pour un nouveau matériel l'équilibre le plus convenable, d'où la technique consistant à essayer, successivement toutes les formules minérales complètes ou diluées. Il suffit quelques fois d'une modification dans la concentration d'un élément chimique pour obtenir le meilleur résultat.

Selon MEDROS et TRUJULLO [79], la modification du milieu QUORIN et LEPOIVRE (425 mg.l⁻¹ de NaNO₃ et 200 à 220 mg.l⁻¹ de NH₄NO₃) a démontré l'influence des basses concentrations de nitrate d'ammonium sur le potentiel d'organogenèse de *Pistacia atlantica Desf.*.

Pour l'alimentation carbonée, cette dernière est apportée sous forme de saccharose notamment à des doses variants de 10 à 40 g.l⁻¹ [69].

Chaque nouvelle espèce nécessite l'élaboration très précise d'au moins deux milieux de culture : l'un pour la multiplication exponentielle et répétitive, l'autre pour l'enracinement de ces plantes [70].

1.2.2.2.3.2- Traitements hormonaux

Hormis les régulateurs de croissance naturels des végétaux appelés souvent phytohormones, il en existe d'autres synthétisés par l'homme dont les formules sont voisines ou différentes des substances naturelles, elles présentent une activité physiologique similaire.

Les régulateurs de croissance sont à la base de toute manipulation "in vitro", on distingue 3 groupes :

- Les auxines : elles sont stimulatrices de l'enracinement, on citera, l'AIA, l'AIB, l'ANA et le 2.4D.

- Les cytokinines : elles favorisent la néoformation des bourgeons ou l'entrée en croissance des zones apicales situées à l'aisselle des feuilles, on distingue la zeatine (Z), BAP, la Kinétine (K)...etc.

- Les gibbérellines : elles sont destinées à stimuler la croissance des tiges, l'AG₃ est la plus communément utilisée sous forme de sel de potassium.

L'équilibre délicat des deux principales hormones (auxines, cytokinines) permet le démarrage de la culture.

Un rapport cythokinine/auxine supérieur à l'unité déclenche une formation de bourgeons (caulogénèse).

Un rapport cythokinine/auxine inférieur à l'unité déclenche une formation de racines (rhizogénèse).

L'action d'une molécule régulatrice sur un processus physiologique obéit à une loi permettant de décerner une concentration seuil en dessous de laquelle l'effet est nul, une concentration optimale ou une concentration maximale au-dessus de laquelle un effet toxique est enregistré, conduisant à la nécrose [80].

1.2.2.2.3.3- Environnement de la culture

Selon MARGARA [44], les principaux facteurs physiques de l'environnement climatique des cultures "in vitro" sont la température, la lumière et l'état hygrométrique. Pour cette dernière l'obturation des récipients de culture assure généralement une humidification suffisante de l'atmosphère ambiante. La température des chambres de culture est habituellement réglée de façon constante entre 22 et 25°C. L'éclairement des chambres de culture est généralement assuré par des tubes fluorescents dont l'intensité d'éclairement varie entre 2000 et 5000 Lux pour des photopériodes de 16 heures d'éclairement.

1.2.2.2.3.4- Inhibiteurs de la croissance

En culture "in vitro", des substances secrétées par l'explant initial (composés phénoliques, tanins, ...etc.) peuvent entraîner à la fois un brunissement du milieu et des effets inhibiteurs ou toxiques qui peuvent être accompagnés de nécroses [44].

Ces composés phénoliques sont très divers, ils proviennent de la phénylanine, acide aminé cyclique dont dérive également l'acide phényl acétique (auxine active) [32].

Ce sont des pièges à oxygène, ils s'oxydent très facilement en quinones. De ce fait, ils inhibent le métabolisme qui intervient dans de nombreux processus. Ils agissent aussi comme antagonistes de substances de croissance et comme inhibiteurs des réactions métaboliques [81] et [29].

Pour le pistachier de l'Atlas et à travers les travaux de HADJ BRAHIM [42] et MAROK [77], les phénols ont constitué le problème majeur de la multiplication "in vitro" de cette espèce.

1.2.2.2.3.5- Anti-oxydants

Les agents anti-oxydants ont pour but de ralentir, voir de supprimer les altérations des produits dues à l'oxydation, il s'agit le plus souvent d'éviter l'oxydation et les modifications de coloration.

Certains d'entre eux sont des agents anti-oxygène, c'est le cas de l'acide ascorbique, des ascorbates de sodium ou de calcium et du palmitate d'ascorbyle [82].

Cependant, il existe d'autres produits en culture "in vitro" pour pallier à l'inconvénient due aux phénols, comme le charbon actif qui est le plus utilisé à une concentration variant généralement de 0.5 à 5 g.l⁻¹ [44].

1.2.2.2.3.6- Stérilisation du matériel végétal

La stérilisation du matériel végétal trouve sa difficulté dans l'âge du matériel.

En effet, amener le matériel végétal dans des conditions axéniques croît avec l'âge des organes utilisés.

Il faut trouver un compromis entre les exigences d'une stérilisation complète et le souci de préserver l'intégrité du tissu [67].

CHAPITRE 2

MATERIEL ET METHODES

2.1- Macro-bouturage

2.1.1- Bouturage ligneux

2.1.1.1- Lieu d'expérimentation

Notre expérimentation s'est déroulée au niveau de la station expérimentale au département d'agronomie de l'université de Blida, sous serre en polyméthacrylate de méthyle dont :

- L'orientation est Nord-Sud.
- L'aération est assurée par des fenêtres placées de part et d'autre de la serre.
- Des relevés quotidiens de la température ambiante ont été effectués à trois moments de la journées (9h, 12h, 16h).

Pour des raisons drastiques survenues au cours de l'expérimentation dus aux fortes chaleurs au niveau de la serre et par manque d'eau sur ce site durant la saison d'été, l'expérience a été poursuivie en plein air sur une terrasse au centre ville de Blida.

2.1.1.2- Origine et époque de prélèvement du matériel végétal

Le prélèvement des boutures ligneuses a été effectué sur des rameaux ligneux durant le repos végétatif (début Mars 06/03/2001) avant le débourrement des bourgeons, sur des pied- mères âgés, implantés à l'INA El Harrach et au

centre synergétique de Zéralda (Figure 2.1 et 2.2). Notre choix a porté sur des pieds vigoureux présentant un bon port.



Figure 2.1 : Ensemble d'arbres de pistachier de l'Atlas au centre synergétique de Zéralda



Figure 2.2 : Arbre de pistachier de l'Atlas au centre synergétique de Zéralda

Les boutures ligneuses sont d'environ 40 à 50 cm de longueur et de 0.8 à 1.2 cm de diamètre, prélevées sur des rameaux de 1 à 2 m de longueur tout en éliminant la partie basale et la partie apicale, et en gardant la partie médiane.

Aussitôt les boutures sont mises dans un sachet en plastique noir et sont conservées dans un réfrigérateur à une température de 4°C durant une période de 1 mois jusqu'au moment du bouturage.

2.1.1.3- Préparation du matériel végétal

Une fois sortie du réfrigérateur, les boutures subissent un trempage entier dans de l'eau de robinet pendant une durée de 36 heures afin de permettre la turgescence des tissus. A leur sortie de l'eau, les boutures subissent un rafraîchissement de leurs deux extrémités, pour avoir la taille finale moyenne d'environ 30 cm de long. Elles sont ensuite réparties de manière aléatoire en 4 lots prêts à subir les traitements hormonaux correspondants.

2.1.1.4- Traitements auxiniques (hormonaux)

Pour étudier l'effet des auxines sur la formation des racines sur des boutures du pistachier de l'Atlas nous avons utilisé l'AIB car elle est considérée comme la plus stable, appelée encore hormone de bouturage.

En outre, la dose d'AIB et la durée de trempage influent directement sur le taux d'enracinement [83] et [84]. Les faibles concentrations correspondent à des trempages longs. Par contre les fortes concentrations hormonales correspondent à des temps de trempage très courts (quelques secondes).

Les doses d'hormones choisies au cours de notre étude sont : 2000 ppm, 4000 ppm, 6000 ppm et un témoin sans hormone.

Pour chaque dose d'hormone retenue, nous avons procédé à la préparation de 500 ml de solution hormonale, en solubilisant les quantités retenues dans quelques ml d'alcool puis en ajustant le volume à 500 ml avec de l'eau distillée. L'application des hormones a été effectuée à la base des boutures pendant une durée de 5 secondes, à une hauteur d'émersion d'environ 5 cm suivi d'un égouttage.

2.1.1.5- Substrat et containers

Les substrats utilisés dans notre expérimentation sont en nombre de deux. Ce sont les substrats les plus fréquemment utilisés par les expérimentateurs et les pépiniéristes.

Le premier substrat est constitué du sable de carrière 0.3 à 0.5 mm de diamètre, ayant subi un lavage abondant et répété à l'eau courante afin d'éliminer toutes les particules terreuses et les débris végétaux, ainsi qu'une désinfection avec une solution javalisée à 12° durant 24 heures suivit d'un rinçage abondant à l'eau permettant l'élimination de toutes traces d'eau javel fortement nocif pour les boutures.

Le deuxième substrat est composé de 2/3 de fumier bien décomposé et 1/3 de sol, le mélange est tamisé à travers un tamis dont les mailles sont de 0.5 cm de diamètre.

Le substrat ainsi obtenu est soumis à une stérilisation sur une plaque métallique, posée sur une source de chaleur (feu de bois).

Après refroidissement, le substrat est mis dans des containers de 4000 ml de volume de couleur noir, présentant un orifice de drainage à leur base permettant ainsi l'évacuation des eaux en excès.

2.1.1.6- Dispositif expérimental

Le dispositif expérimental adopté pour notre travail est en bloc aléatoire complet à 2 facteurs étudiés et à 3 répétitions (3 blocs).

Facteur 1 : Substrat à 2 niveaux S_1 et S_2 .

S_1 : Représente le substrat 1, composé de 100 % de sable

S_2 : Représente le substrat 2, composé de 2/3 de fumier et de 1/3 de sol.

Facteur 2 : Traitement auxinique d'AIB à 4 niveaux D_0 , D_1 , D_2 et D_3 .

D_1 : Représente le traitement auxinique avec 2000 ppm d'AIB

D_2 : Représente le traitement auxinique avec 4000 ppm d'AIB

D_3 : Représente le traitement auxinique avec 6000 ppm d'AIB

D_0 : Représente le traitement sans auxine.

Nos traitements correspondent à l'interaction des niveaux des deux facteurs c'est à dire $2 \times 4 = 8$ traitements qui sont comme suit : S_1D_0 , S_1D_1 , S_1D_2 , S_1D_3 , S_2D_0 , S_2D_1 , S_2D_2 , S_2D_3 .

Au niveau de chaque traitement sont implantés 15 boutures réparties sur 5 pots (3 boutures par pot), d'où $15 \times 8 = 120$ boutures par bloc et 360 boutures au niveau des 3 blocs (Figure 2.3).



Figure 2.3 : Dispositif expérimental du bouturage ligneux

La répartition des blocs ainsi que les traitements est réalisé aléatoirement en utilisant la table des permutations des nombres de 1 à 10, et on a abouti au dispositif expérimental qui suit :

Bloc2	S ₁ D	S ₁ D	S ₂ D	S ₂ D	S ₂ D	S ₁ D	S ₁ D	S ₂ D
	2	3	1	0	3	1	0	2

Bloc1	S ₂ D	S ₂ D	S ₁ D	S ₁ D	S ₂ D	S ₁ D	S ₁ D	S ₂ D
	1	0	3	0	2	1	2	3

Bloc3	S ₁ D	S ₂ D	S ₂ D	S ₂ D	S ₁ D	S ₁ D	S ₁ D	S ₂ D
	1	1	0	3	2	3	0	2

2.1.1.7- Mise en culture

Le 05/04/2001 et après avoir subi le traitement auxinique, les boutures sont immédiatement implantées verticalement au niveau de leur unité expérimentale correspondante. Les 2/3 inférieures des boutures sont enfoncés dans le substrat et le 1/3 est exposé à l'air ambiant de la serre, présentant en moyenne 5 bourgeons par bouture.

2.1.1.8- Conduite de la culture

Les arrosages ont été effectués par l'eau de robinet jusqu'au stade débourrement, tout en maintenant une certaine humidité au niveau des substrats car selon CHAUSSAT et BIGOT [32], il est essentiel d'éviter la perte d'eau des boutures, car leur dessèchement a des conséquences sur leur survie et sur leur enracinement. Les réserves des boutures ligneuses permettent de subvenir aux besoins nutritifs de ces dernières.

Au stade débourrement et jusqu'à la fin de l'essai, l'eau de robinet a été substitué par une solution nutritive permettant de subvenir aux besoins croissant des boutures. Cette dernière solution nutritive est établi selon les normes de COIC et LESAIN [85], elle est préparée à partir de l'eau de Blida additionnée de macro-éléments et de micro-éléments. Le pH est de 5.5 à 5.8, valeurs optimale pour les végétaux en culture (Tableau 2.1).

Tableau 2.1 : Composition chimique de la solution nutritive selon les normes de COIC et LESAIN [85]

Solution de macro-éléments	Concentration
HNO ₃ (Acide nitrique)	138.6 mg.l ⁻¹
H ₃ PO ₄ (Acide phosphorique)	107.8 mg.l ⁻¹
Ca NO ₃ (Nitrate de calcium)	271.4 mg.l ⁻¹
KNO ₃ (Nitrate de potassium)	358.55 mg.l ⁻¹
KH ₄ NO ₃ (Nitrate d'ammonium)	144 mg.l ⁻¹
Solution de micro-éléments	
(NH ₄) ₆ NO ₇ , 14H ₂ O (Molybdate d'ammonium)	4.97 x 10 ⁻⁵ mg.l ⁻¹
H ₃ BO ₃ (Acide Borique)	1.49 x 10 ⁻³ mg.l ⁻¹
Mn SO ₄ , 4H ₂ O (Sulfate de Manganèse)	1.99 x 10 ⁻³ mg.l ⁻¹
Cu SO ₄ 5H ₂ O (Sulfate de cuivre)	2.48 x 10 ⁻⁴ mg.l ⁻¹
ZnSO ₄ , 7H ₂ O (Sulfate de zinc)	9.95 x 10 ⁻⁴ mg.l ⁻¹
Séquestrène de fer	9.95 x 10 ⁻³ mg.l ⁻¹

2.1.1.9- Méthodes d'analyse statistique

Les analyses de la variance et de corrélation sont réalisées par un logiciel de STATITCF version 4.

2.1.2- Bouturage semi-ligneux

2.1.2.1- Matériel végétal et époque de prélèvement

Le matériel végétal est prélevé sur les mêmes pieds choisis pour le bouturage ligneux. Les rameaux semi-ligneux de 60 à 130 cm de longueur et d'environ 5 mm de diamètre sont débités le même jour en boutures de 15 cm de longueur. Les boutures sont préparées en faisant une coupe basale sous un nœud. La section apicale se fait au dessus d'un nœud en biseau pour que l'eau ne stagne pas, et en laissant une paire de feuille avec une paire de bourgeons.

Nous avons utilisé toute la longueur du rameau pour confectionner les boutures à l'exception de la partie apicale qui est constituée de tissus très jeunes et dont les feuilles n'ont pas résisté au transport.

2.1.2.2- Traitements auxiniques (hormonaux)

Les boutures semi-ligneuses, ont subi à leur base et à une hauteur de 2 cm un trempage rapide (5 secondes) dans des solutions hormonales d'AIB à différentes concentrations à savoir 2000 ppm, 4000 ppm, 6000 ppm et un témoin sans hormone.

2.1.2.3- Substrat et containers

Le substrat utilisé pour le bouturage semi-ligneux est constitué de sable de carrière de 0.3 à 0.5 mm de diamètre ayant subit les mêmes opérations de lavage et de désinfection que celui utilisé pour le bouturage ligneux. Il est mis dans des bacs de 4000 ml de volume (30 cm de longueur, 15 cm de largeur et de profondeur) de couleur marron perforés à leur base pour permettre l'évacuation de l'eau de drainage.

2.1.2.4- Dispositif expérimental

Le dispositif expérimental adopté pour le bouturage semi-ligneux est en bloc aléatoire avec un seul facteur étudié et à 4 répétitions. Les traitements ou les

niveaux de ce facteur étudiée est représenté par 4 doses d'AIB, D₁, D₂, D₃ et D₀ dont les valeurs respectives sont 2000 ppm, 4000 ppm, 6000 ppm et un traitement sans auxines. La table des permutations de 1 à 10 nous a permis de répartir les blocs et les traitements d'une manière aléatoire aboutissant au dispositif expérimental ci dessous.

Bloc 2	D ₂	D ₃	D ₁	D ₀
--------	----------------	----------------	----------------	----------------

Bloc 4	D ₃	D ₀	D ₁	D ₂
--------	----------------	----------------	----------------	----------------

Bloc 1	D ₁	D ₂	D ₃	D ₀
--------	----------------	----------------	----------------	----------------

Bloc 3	D ₁	D ₃	D ₂	D ₀
--------	----------------	----------------	----------------	----------------

Le dispositif expérimental comprend 160 boutures réparties sur quatre blocs soit 40 boutures par bloc, et 10 boutures par traitement (unité expérimentale).

2.1.2.5- Mise en culture

Avant la mise en place des boutures, le substrat est arrosé abondamment avec de l'eau de robinet. Les boutures sont disposées sur une ligne et espacées de 4 cm pour permettre d'avoir les deux feuilles de part et d'autre de cette ligne, 1 cm sépare le substrat et la dernière feuille basale de la bouture.

2.1.2.6- Conduite de la culture

L'essai est conduit sous un tunnel de polyéthylène sous lequel est appliqué une alternance entre une pulvérisation manuel d'un brouillard ou d'un arrosage manuel avec de l'eau de robinet ou d'une solution nutritive établi précédemment par COIC et LESAIN (1975) [85], afin de maintenir un niveau d'humidité

appréciable assurant le maintien en vie des boutures ainsi que leur développement.

2.1.2.7- Méthodes d'analyse statistique

Le traitement des résultats est basé sur l'analyse de la variance suivie de la comparaison multiple des moyennes par le test de NEWMAN-KEULS au seuil de 5 %.

Toutes les moyennes suivies de la même lettre alphabétique ne sont pas statistiquement différentes au seuil 5 %.

Les analyses de la variance et de corrélation sont réalisées par un logiciel de STATITCF version 4.

2.2- Micro-bouturage (culture "in vitro")

2.2.1- But recherché

Selon BOXUS et QUOIRIN [86], l'obtention de plants entiers à partir de méristèmes excisés passe par trois phases critiques, chacune d'elle requiert des exigences spécifiques qui peuvent parfois être contradictoires.

Nous distinguons d'abord la formation, d'ébauches et leur organisation en bourgeons, ensuite l'élongation des bourgeons et finalement la formation des racines.

Le but recherché dans notre travail est d'obtenir en culture "in vitro" et par bourgeonnement axillaire des plants feuillés et racinés de *Pistascia atlantica Desf.*, tout en maintenant les potentialités morpho-génétiques de la plante mère, en réalisant les étapes suivantes :

- Un débourrement des bourgeons;
- Une élongation des bourgeons;
- Un enracinement des micro-boutures;
- Et enfin une acclimatation des plants obtenus.

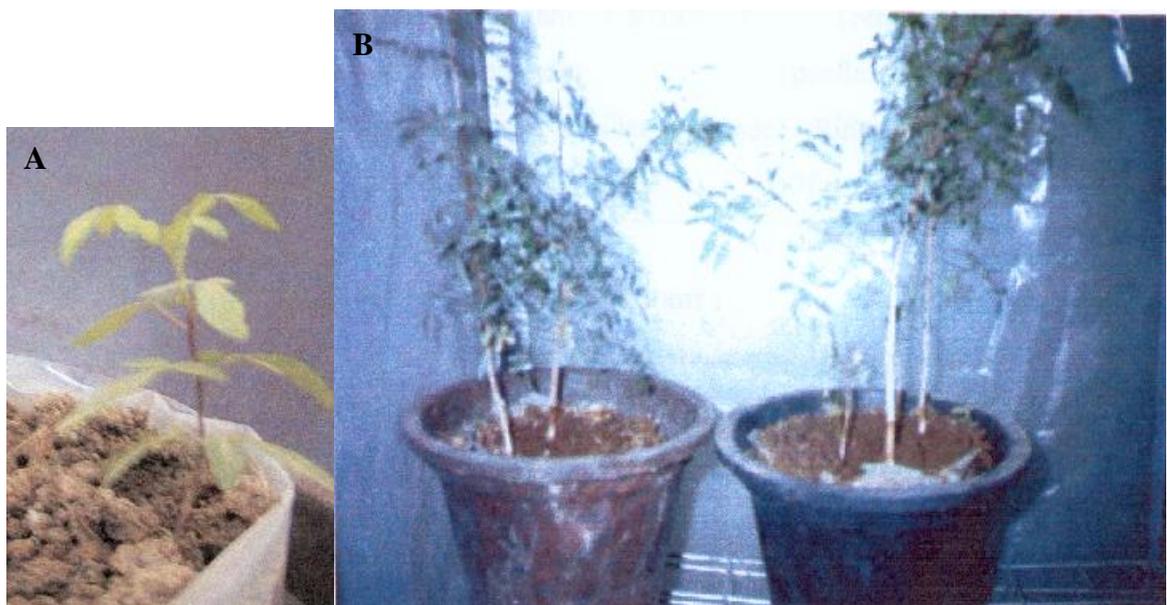
2.2.2- Lieu d'expérimentation

L'expérimentation s'est déroulée au laboratoire d'amélioration des plantes au département d'agronomie de la faculté des sciences agro-vétérinaires et de biologie de l'université Saad Dahleb Blida.

2.2.3- Matériel végétal (origine)

Le matériel végétal utilisé au cours de notre expérimentation est comme suit :

- Un matériel végétal âgé (adulte) (Figure 2.2).
- Un matériel végétal âgé d'un an (Figure 2.4).
- Un matériel végétal obtenu par vitro-semis (Figure 2.5).



(A) : Plantule du pistachier de l'Atlas

(B) : Plants de pistachier de l'Atlas âgés d'un an

Figure 2.4 : Matériel végétal âgé d'un an



Figure 2.5 : Matériel végétal obtenu par vitro-semis

2.2.4- Désinfection du matériel végétal

La stérilisation du matériel végétal en particulier chez les ligneux, est souvent difficile. La détermination d'une technique efficace de stérilisation est décisive afin de réduire au maximum le taux de contamination et d'optimiser le nombre d'explant en réaction.

A cet effet, une étude comparative sur l'efficacité de plusieurs substances stérilisantes sur le matériel végétal est testée à des concentrations et à des temps de trempage variés (Tableau 2.2).

Il faut noter que les manipulations se réalisent sous hotte à flux laminaire horizontal. La hotte est nettoyée entièrement à l'alcool 70°, les instruments de dissection sont placés dans une étuve et stérilisés pendant 2 heures à 180 °C. Après leur refroidissement, ils sont plongés dans un Erlenmeyer contenant l'alcool 70°.

2.2.5- Milieu de culture

Un milieu de culture s'élabore au moyen d'éléments minéraux majeurs (macro-éléments) et d'éléments mineurs (micro-éléments). Toutefois, d'autres substances doivent donc venir en complément de la solution minérale ; il s'agit des vitamines, acides aminés, source de carbone et régulateur de croissance, indispensables à l'entrée en croissance ou à la différenciation d'organes mis en culture.

Deux milieux de culture de base ont été testés pour une meilleure croissance du matériel végétal (âgé, âgé d'un an et vitro semis). Il s'agit du milieu MURACHIGE et SKOOG (1962) dilué au demi, noté MS/2 et le milieu LEPOIVRE (Tableau 2.3).

L'ajustement du pH aux valeurs situées entre 5.6 et 5.8 se fait à l'aide d'une solution de NaOH à 0.1N.

Les milieux de cultures sont distribués dans des tubes en verre à raison de 25 ml par tube. Pour les cultures réalisées en boîtes de Pétri, le milieu de culture est stérilisé dans un Erlenmeyer avant d'être coulé près de la flamme sous hotte stérile, à raison de 25 ml par boîte.

Tous les milieux de cultures sont stérilisés à l'autoclave à une température de 120°C et à une pression de 1 bar pendant 20 mn.

Tableau 2.3 : Composition des milieux de culture MS/2 et LEPOIVRE

Eléments	Milieux	MS/2	LEPOIVRE
Macro-éléments		mg.l ⁻¹	mg.l ⁻¹
NH ₄ NO ₃ (Nitrate d'ammonium)		825	400
KNO ₃ (Nitrate de potassium)		950	1800
MgSO ₄ , 7H ₂ O (Sulfate de magnésium)		185	360
CaCl ₂ , 2H ₂ O (Chlorure de calcium)		220	-
(CaNO ₃) 4H ₂ O (Nitrate de calcium)		-	1200
Micro-éléments		mg.l ⁻¹	mg.l ⁻¹
MnSO ₄ , H ₂ O (Sulfate de manganèse)		22.30	0.75
ZnSO ₄ , 7H ₂ O (Sulfate de zinc)		8.6	8.6
H ₃ BO ₃ (Acide borique)		6.10	12
CuSO ₄ , 5H ₂ O (Sulfate de cuivre)		0.025	0.025
Na ₂ MoO ₄ , 2H ₂ O (Molybdate de sodium)		0.25	0.25
CoCl ₂ , 6H ₂ O (Chlorure de cobalt)		0.025	0.025
KI (Iodure de potassium)		0.83	0.08
Vitamine de MOREL		mg.l ⁻¹	mg.l ⁻¹
Pentothénate de calcium		1	1
Meso Inositol		100	100
Biotine		0.01	0.01
Acide nicotinique		1	1
Pyridoxine (B6)		1	1
Thiamine (B1)		1	1
Glycine		20 m g.l ⁻¹	20 m g.l ⁻¹
Saccharose		30 g.l ⁻¹	30 g.l ⁻¹
Agar		8 g.l ⁻¹	8 g.l ⁻¹
Le fer EDTA		mg.l ⁻¹	mg.l ⁻¹
FeSO ₄ , 7H ₂ O		27.85	27.85
Na ₂ EDTA		37.25	37.25
pH		5.6 – 5.8	5.6 – 5.8

2.2.6- Traitements hormonaux

Les principaux régulateurs de croissance utilisés sont:

- * Pour les cytokinines
 - La benzyl amino purine (BAP)
- * Pour les auxines
 - L'acide indol acétique (AIA)
 - L'acide indol butyrique (AIB)
- * Pour les gibbérellines
 - L'acide gibbérellique (AG₃)

Ils sont utilisés seuls ou combinés et ceci afin de tester les réponses morphogénétiques du matériel végétal mis en culture.

2.2.7- Traitements anti-oxydants

Les ligneux sont caractérisés par la présence de poly-phénols dans leurs tissus. Ceci nous a orienté vers l'utilisation d'anti-oxydants, afin de réduire l'oxydation phénolique.

L'anti-oxydant utilisé est l'acide ascorbique. Selon la concentration et le mode d'emploi utilisé, on dénombre quatre types de traitements (Tableau 2.4).

Tableau 2.4 : Différents traitements anti-oxydants du matériel végétal

Traitements anti-oxydants	T ₁	T ₂	T ₃	T ₄
Trempage dans la solution d'acide ascorbique à :	0.1 g.l ⁻¹	0.2 g.l ⁻¹	0.5 g.l ⁻¹	0.2 g.l ⁻¹
Durée de trempage	60 mn	60 mn	20 mn	60 mn

Acide ascorbique contenu dans le milieu de culture	0.1 g.l ⁻¹	0.1 g.l ⁻¹	0.2 g.l ⁻¹	-
--	-----------------------	-----------------------	-----------------------	---

2.2.8- Mise en culture

Toutes les opérations de mise en culture se font sous hotte, sur du papier filtre stérilisé et à proximité d'une flamme qui sert au flambage des instruments de dissection (pinces et scalpel à lames interchangeable).

2.2.9- Condition de culture

Le matériel végétal repiqué dans des tubes de culture "in vitro", sur milieu de culture, est placé dans une chambre de culture avec des conditions contrôlables de lumière et de température.

- Une photopériode de 16 heures de lumière sur 8 heures d'obscurité, la lumière est générée par des tubes fluorescents.

- Une température d'environ $24 \pm 1^{\circ}\text{C}$

Les vitro-plants sont transférés toutes les quatre semaines sur le même milieu de culture frais ou sur un nouveau milieu frais.

La démarche à entreprendre au cours de notre travail est fonction du matériel végétal utilisé en culture "in vitro" et des objectifs à court terme à atteindre qui sont le mode de désinfection et les traitements anti-oxydants les plus appropriés.

2.2.10- Matériel végétal âgé

Le matériel végétal âgé est constitué par :

- Des micro-boutures semi-ligneuses
- Des micro-boutures herbacées
- Des bourgeons isolés en voie de débourrement

Vu la rareté du matériel végétal dans le Nord du pays, ce matériel végétal est prélevé sur des pied-mères implantés à l'institut national d'agronomie d'El Harrach, et au centre synergétique de Zéralda implantés en 1957. Le prélèvement a été échelonné du mois de Janvier au mois de Juin 2001.

Dans un premier temps, le matériel végétal âgé est lavé à l'eau courante pour enlever toutes traces de souillure (terre le plus souvent). Pour faciliter la désinfection, les petits rameaux de 15 à 20 cm sont fragmentés à l'aide de ciseaux en petites boutures comportant 2 à 3 bourgeons.

Après lavage à l'eau, nous avons procédé à une opération préliminaire qui est nécessaire dans le cas des espèces ligneuses. Cette opération consiste à :

- Un lavage dans du mercuryle laurylé à raison de 3 ml / 500 ml d'eau pendant 20 mn.
- Un trempage dans une solution fongique de bénomyle à raison de 1.5 g.l⁻¹ pendant 20 mn.

Dans un deuxième temps, le matériel végétal passe à la désinfection proprement dite, d'ou l'utilisation de l'alcool de l'hypochlorite de sodium et de l'hypochlorite de calcium. Vu les difficultés rapportées par certaines recherches sur la désinfection du matériel végétal ligneux en général, et du pistachier en particulier, nous avons testé plusieurs modes de désinfection.

Le matériel végétal (boutures semi-ligneuses et herbacées) est décapité sur les deux extrémités pour en laisser un bourgeon axillaire par micro-bouture, ensuite introduit "in vitro" et déposé verticalement dans le milieu de culture tout en respectant la polarité, et de façon individuelle (un explant par tube) afin d'isoler les tubes infectés.

Le milieu de culture utilisé pour les différents explants du matériel végétal âgé est le milieu MS/2.

Les anti-oxydants utilisés pour le matériel végétal âgé sont T₁, T₂ et T₃.

Les régulateurs de croissance additionnés au milieu de culture destinés au matériel végétal âgé sont l'AIA à 0.1 mg.l⁻¹ et la BAP à 0.2 mg.l⁻¹.

Trois facteurs étudiés influencent la mise en culture du matériel végétal âgé (adulte):

* Le premier facteur est le type de matériel végétal âgé à trois niveaux de facteurs

- Bourgeons isolés
- Micro-boutures semi-ligneuses
- Micro-boutures herbacées

* Le deuxième facteur est le mode de désinfection à 15 niveaux de facteurs M₁, M₂, M₃, M₄, M₅, M₆, M₇, M₈, M₉, M₁₀, M₁₁, M₁₂, M₁₃, M₁₄ et M₁₅.

* Le troisième facteur est les traitements anti-oxydants à trois niveaux de facteurs T₁, T₂ et T₃.

L'établissement d'un dispositif expérimental pour le matériel végétal âgé a fait défaut du fait de l'indisponibilité du matériel végétal au temps voulu qui est lui-même influencé par l'époque de son prélèvement et la quantité insuffisantes en explants qui permettent d'effectuer les différentes combinaisons. Pour cela, nous nous sommes limité à l'utilisation de quelques combinaisons des niveaux des trois facteurs étudiés.

Les traitements résultants de la combinaison des niveaux des trois facteurs étudiés sont au nombre de 20 indiqués dans le tableau ci-dessous. Pour chaque traitement, il lui est réservé 48 explants.

Tableau 2.5 : Différents traitements combinés du matériel végétal issus de plants âgés

Type de boutures	Mode de désinfection	Traitements anti-oxydants
Boutures herbacées	M ₁	T ₁
	M ₂	T ₁
	M ₃	T ₁
	M ₄	T ₁
	M ₅	T ₁
	M ₆	T ₁
	M ₇	T ₁
	M ₈	T ₁
	M ₁₀	T ₁

	M ₁₁	T ₁
	M ₁₂	T ₁
	M ₁₃	T ₁
	M ₁₄	T ₁
	M ₁₅	T ₁
	M ₁₃	T ₂
Boutures semi-ligneuses	M ₁	T ₁
	M ₂	T ₁
	M ₉	T ₂
	M ₁₂	T ₃
Bourgeons isolés	M ₁₃	T ₃

2.2.11- Matériel végétal âgé d'un an

Le matériel végétal âgé d'un an à fait l'objet d'un semis "in situ" dont les graines sont originaires de Messaad wilaya de Djelfa. Elles proviennent des arbres autochtones qui se développent dans les dayas spontanément, dont l'âge reste inconnu, et sont récoltées en l'an 2001.

Les graines ont été mises en conservation dans des bocaux hermétiquement fermés et placés au réfrigérateur à une température de 4°C durant un mois dans le but de lever leur dormance par un traitement au froid. Puis elles ont subi d'abord un trempage dans de l'eau distillée pendant 24 heures, renouvelée fréquemment afin de ramollir le mésocarpe (couche verte très huileuse qu'en élimine) et afin de favoriser l'ouverture de l'endocarpe. Cette opération est suivi d'une scarification mécanique pour éliminer de ce dernier (Endocarpe).

Durant ce traitement à l'eau, un tri densimétrique des graines par flottaison qui est d'usage courant, nous a permis d'éliminer les graines vides qui flottent à la surface de l'eau.

Le semis "in situ" est réalisé sous serre au département d'agronomie de Blida, dans un substrat composé de 1/3 de terre, 1/3 de fumier bien décomposé et 1/3 de sable. Le semis est effectué dans un carré de bois, en lignes avec 4 cm entre les graines et 10 cm entre les lignes avec une profondeur de 2 cm. L'arrosage est presque quotidien durant une période allant du 12 Avril au 12 Mai.

Par la suite, les plantules sont transplantées dans des pots contenant le même substrat, pour servir de matériel végétal de base pour le micro-bouturage "in vitro".

Le matériel végétal âgé d'un an -issu du semis "in situ"- a subi les mêmes opérations préliminaires de désinfection que le matériel végétal provenant de plants âgés, seulement la désinfection proprement dite est établie au moyen des modes de désinfections M₁₂ et M₁₃.

Les milieux de culture utilisés pour le matériel végétal âgé d'un an sont les milieux MS/2 et LEPOIVRE.

Les traitements anti-oxydants utilisés pour le matériel végétal âgé d'un an sont T₁ et T₄.

Les régulateurs de croissance additionnés au milieu de culture destiné au matériel végétal âgé d'un an sont l'AG₃ et l'AIB. Les balances hormonales (AG₃ / AIB) utilisés pour les milieux de cultures sont : R₀ (0.0/0.0), R₁ (0.4/0.2), R₂ (0.6/0.4), R₃ (0.8/0.4), R₄ (1/0.8). Par manque du matériel végétal, plusieurs traitement ont fait défaut sur le milieu de culture LEPOIVRE.

Le matériel végétal issues du semis "in situ" est formé de petit rameaux herbacées juvéniles, qui après effeuillage, désinfection et traitement aux anti-oxydant, est fragmenté en micro-boutures de 1 à 2 cm de longueur comportant un bourgeon axillaire est mis dans des tubes de façon individuelle tout en respectant leur polarité.

Le renouvellement du milieu de culture à lieu toutes les trois à quatre semaines.

Les facteurs étudiés influençant la mise en culture du matériel végétal âgé d'un an sont au nombre de quatre trois :

- * Le premier facteur : milieu de culture à deux niveaux de facteurs
- Le milieu de culture MS/2
- Le milieu de culture LEPOIVE

* Le deuxième facteur : mode de désinfection à deux niveaux de facteurs M₁₂ et M₁₃.

* Le troisième facteur : traitement anti-oxydant à deux niveaux de facteurs T₂ et T₄.

* Le quatrième facteur : traitement hormonal (AG₃ / AIB) à cinq niveaux de facteur R₀ (0/0), R₁ (0.4/0.2), R₂ (0.6/0.4), R₃ (0.8/0.4), R₄ (1/0.8).

La répartition des modes de désinfection, des traitements anti-oxydants et des rapports hormonaux sur les deux milieux de culture est illustrée dans le tableau 2.6.

Tableau 2.6 : Différents traitements combinés du matériel végétal issus des plants âgés d'un an

Milieu de culture	Traitements anti-oxydants	Mode de désinfection	Balance hormonale (AG ₃ /AIB)
MS/2	T ₂	M ₁₂	R ₀ (0.0/0.0)
	T ₂	M ₁₂	R ₁ (0.4/0.2)
	T ₂	M ₁₂	R ₂ (0.6/0.4)
	T ₂	M ₁₂	R ₃ (0.8/0.4)
	T ₂	M ₁₂	R ₄ (1.0/0.8)
	T ₄	M ₁₃	R ₀ (0.0/0.0)
	T ₄	M ₁₃	R ₁ (0.4/0.2)
	T ₄	M ₁₃	R ₂ (0.6/0.4)
	T ₄	M ₁₃	R ₃ (0.8/0.4)
	T ₄	M ₁₃	R ₄ (1.0/0.8)
	T ₂	M ₁₂	R ₀ (0.0/0.0)
	T ₂	M ₁₂	R ₁ (0.4/0.2)

LE POIVRE	T ₂	M ₁₂	R ₂ (0.6/0.4)
	T ₂	M ₁₂	R ₃ (0.8/0.4)
	T ₂	M ₁₂	R ₄ (1.0/0.8)

2.2.12- Matériel végétal obtenu par vitro-semis

C'est un matériel végétal juvénile constitué de micro-boutures prélevées sur des plantules issues de vitro-semis. Les graines utilisées pour l'obtention de vitro-semis sont originaires de Messaad. Récoltées en 2001, elles ont subi les mêmes opérations de conservation, de trempage à l'eau, de tri densimétrique et de scarification que les graines destinées à la culture "in situ".

Le mode de désinfection adopté pour les graines introduites en "in vitro" est le M₁₂. Il consiste à faire un trempage des graines dans l'alcool 70° pendant 10 secondes suivi d'un trempage dans l'hypochlorite de calcium 6 % pendant 10 mn. Trois rinçages à l'eau distillée sont nécessaires pour éliminer toute trace d'hypochlorite de calcium.

Après stérilisation, les graines sont mises à germer d'une façon collective en boîtes de Pétri. Ce procédé fut abandonné pour être remplacé par un semis individuel à raison d'une graine par tube pour éviter l'infection du milieu de culture par les graines contaminées.

Deux milieux de culture de base ont été testés pour une meilleure croissance des vito-semis et de leurs mico-boutures. Il s'agit du milieu MS/2 et le LEPOIVRE.

Pour chaque milieu de culture, nous avons additionné différentes doses d'hormones de croissance en combinaison, qui sont l'AG₃ et l'AIB. Nous avons établi plusieurs balances hormonales d'AG₃ / AIB qui sont comme suit : R₀ (0.0/0.0), R₁ (0.4/0.2), R₂ (0.6/0.4), R₃ (0.8/0.4), R₄ (1.0/0.8), et cela pour mettre en évidence leur influence sur l'allongement des pousses ainsi que l'allongement des entres-nœuds des vitro-plants. Une meilleure élongation des entre-noeuds permet une bonne fragmentation des vitro-plants provenant de l'introduction primaire.

L'anti-oxydant utilisé est l'acide ascorbique additionné au milieu de culture à la concentration de 0.1 g.l⁻¹.

Le dispositif expérimental adopté dans notre travail est la randomisation totale avec trois répétitions et avec deux facteurs étudiés. Les traitements ainsi obtenus sont la combinaison des niveaux des deux facteurs étudiés, à savoir le facteur milieu à deux niveaux, MS/2 et LEPOIVRE, et le facteur apport hormonal (AG₃ / AIB) à cinq niveaux R₀, R₁, R₂, R₃ et R₄ (Tableau 2.7).

Les analyses de la variance et de corrélation sont réalisées par un logiciel de STATITCF version 4.

Tableau 2.7 : Répartition des différents traitements utilisés pour le matériel végétal obtenu par vitro-semis

Milieu de culture	Balances hormonales AG ₃ / AIB (mg.l ⁻¹)
LE POIVRE	R ₀ (0.0/0.0)
	R ₁ (0.4/0.2)
	R ₂ (0.6/0.4)
	R ₃ (0.8/0.4)
	R ₄ (1.0/0.8)
MS/2	R ₀ (0.0/0.0)
	R ₁ (0.4/0.2)
	R ₂ (0.6/0.4)
	R ₃ (0.8/0.4)
	R ₄ (1.0/0.8)

La mise en culture se déroule dans des conditions d'asepsie totale sous la hotte à flux laminaire. En premier lieu, les graines sont mises à germer chacune dans un tube à essai contenant environ 20 ml de milieu de culture. Les graines sont réparties suivant les 10 traitements. Chaque traitement est répété trois fois et chaque répétition comprend 24 graines. En deuxième étape, le matériel juvénile provenant de la germination des vitro-semis est prélevé sur des vitro-plants âgés de 4 à 5 semaines. Ces derniers, subissent un effeuillage et sont fragmentés en micro-boutures de 1 à 1.5 cm de hauteur comprenant un ou deux bourgeons axillaires selon la longueur des entre-nœuds, et sont placés individuellement et verticalement en milieu de culture tout en respectant leur

polarité. Les micro-boutures ainsi obtenues sont mises dans les mêmes types de milieux dont sont issues leurs vitro-plants mères.

CHAPITRE 3

RESULTATS ET DISCUSSIONS

3.1- Macro-bouturage

3.1.1- Macro-bouturage ligneux

Après la mise en culture des 360 boutures réparties au niveau de leurs blocs et traitements respectifs, nous nous sommes intéressés aux paramètres suivants:

- Nombre de boutures racinées et boutures desséchées par traitement
- Nombre de ramifications par bouture
- Longueur des ramifications
- Nombre de feuilles par bouture
- Diamètre des ramifications
- Diamètre de la tige principale
- Poids des feuilles
- Poids des tiges
- Poids des racines
- Poids de la partie aérienne
- Poids total des boutures
- Aspect et longueur des racines

3.1.1.1- Nombre de boutures ligneuses desséchées sans débourrement

Les résultats obtenus (Tableau 3.1), montrent que seul le facteur substrat a un effet significatif sur le nombre de boutures desséchées et n'ayant présentés aucun signe de débourrement. Le substrat S₂ composé de 2/3 du fumier et 1/3 de sol a enregistré un maximum de 9 et un minimum de 3 boutures desséchées par traitement, alors que le substrat S₁ composé de 100 % de sable, enregistre un maximum de 06 boutures desséchées et un minimum d'une bouture desséchée par traitement.

Cela peut être dû au fait que: le substrat S₂ est mal drainé, vu sa forte capacité de rétention en eau, entraînant ainsi la pourriture de la partie souterraine de la bouture.

Tableau 3.1 : Nombre de boutures ligneuses desséchées sans débourrement

Traitements	S ₁ D ₀	S ₁ D ₁	S ₁ D ₂	S ₁ D ₃	S ₂ D ₀	S ₂ D ₁	S ₂ D ₂	S ₂ D ₃
Nombre de	1.67	5.33	6.00	2.67	7.33	9.67	8.67	3.33

boutures	±1.23 b	±2.38 b	±1.01 b	±0.72 b	±1.09 a	±1.66 a	±2.50 a	±1.09 a
Pourcentage	11.11 ±8.23 b	35.55 ±15.90 b	40.00 ±6.73 b	17.78 ±4.81 b	48.89 ±7.26 a	64.44 ±11.10 a	57.78 ±16.69 a	22.22 ±7.26 a

Il faut signaler que le dessèchement prend naissance au niveau de la partie apicale aérienne de la bouture pour atteindre le collet, alors que la partie souterraine présente un signe de pourrissement (Figure 3.1).

3.1.1.2- Nombre de boutures ligneuses desséchées après débourrement

En considérant que la taille de la bouture est un facteur important dans le succès du bouturage, les résultats obtenus (Tableau 3.2) montrent qu'il n'existe pas de différence significative entre les différents traitements.

Tableau 3.2 : Nombre de boutures ligneuses desséchées après débourrement

Traitements	S ₁ D ₀	S ₁ D ₁	S ₁ D ₂	S ₁ D ₃	S ₂ D ₀	S ₂ D ₁	S ₂ D ₂	S ₂ D ₃
Nombre de boutures	5.67 ±2.99 a	2.33 ±1.06 a	4.33 ±1.80 a	1.67 ±1.19 a	4.67 ±1.19 a	2.33 ±1.70 a	3.33 ±1.00 a	1.20 ±1.12 a
Pourcentage	37.78 ±19.91 a	15.55 ±7.09 a	28.89 ±12.03 a	11.11 ±7.95 a	31.11 ±7.95 a	15.55 ±11.31 a	22.22 ±6.68 a	8.00 ±7.47 a

Concernant le nombre de boutures desséchées après débourrement, l'observation portée sur ce type de bouture montre qu'il y a eu débourrement, ouverture des bourgeons, et formation de feuilles. Cependant, un dessèchement s'en est suivi, cela peut s'expliquer par le fait que les réserves accumulées au niveau de la bouture engendrant le processus de débourrement, ne suffisent plus, pour engendrer une rhizogénèse (Figure 3.2). Les boutures desséchées après arrachage ne présentent pas de racines, ou présentent un système racinaire très chétif. Il faut signaler que l'application de la solution nutritive de COIC et LESAIN [85] est appliquée dès le stade débourrement jusqu'à la fin de l'essai (Figure 3.1).

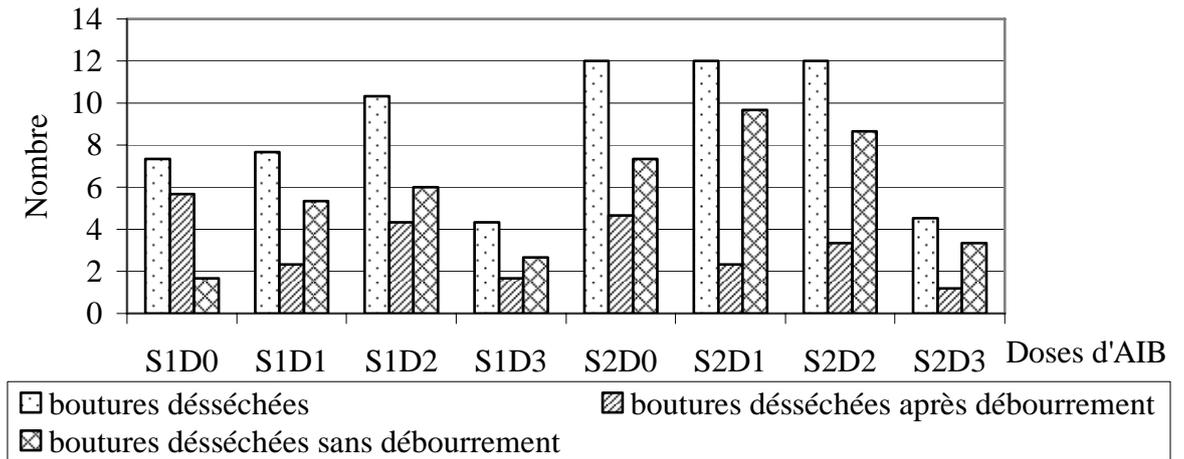


Figure 3.1 : Nombre de boutures ligneuses desséchées, boutures desséchées sans débourrement et boutures desséchées après débourrement



Figure 3.2 : Dessèchement des boutures ligneuses après débourrement

3.1.1.3- Nombre total de boutures ligneuses racinées et boutures desséchées

Tableau 3.3 : Nombre total de boutures ligneuses racinées et boutures desséchées

Traitements	S ₁ D ₀	S ₁ D ₁	S ₁ D ₂	S ₁ D ₃	S ₂ D ₀	S ₂ D ₁	S ₂ D ₂	S ₂ D ₃
Nombre de boutures desséchées	7.33 ±3.32 ab	7.67 ±2.13 ab	10.33 ±1.19 a	4.33 ±1.08 b	12.00 ±1.31 a	12.00 ±2.66 a	12.00 ±2.20 a	4.53 ±1.81 b
Pourcentage	48.89 ±23.09 ab	51.11 ±12.47 ab	68.88 ±8.98 ab	28.88 ±6.01 b	66.66 ±25.64 ab	80.00 ±20.12 a	76.66 ±7.94 a	30.02 ±11.79 b
Nombre de boutures racinées	7.67 ±3.36 ab	7.33 ±2.20 ab	4.67 ±1.13 b	10.67 ±1.07 a	3.00 ±1.26 b	3.00 ±2.59 b	3.00 ±2.17 b	10.47 ±1.40 a

Pourcentage	51.11 ±22.15 ab	48.89 ±14.20 ab	31.11 ±7.92 ab	71.11 ±7.19 a	20.00 ±8.70 b	20.00 ±17.74 b	20.00 ±14.65 b	69.11 ±12.08 a
-------------	-----------------------	-----------------------	----------------------	---------------------	---------------------	----------------------	----------------------	----------------------

Les résultats obtenus au niveau du tableau 3.3 montrent que les deux facteurs étudiés (substrat et dose d'hormone) ont une action significative sur le nombre de boutures desséchées ainsi que sur le nombre de boutures racinées. Il en ressort donc trois groupes homogènes a, ab et b. En effet, les traitements S₁D₃ et S₂D₃ enregistrent le nombre moyen le plus important de boutures racinées avec respectivement 10.67 et 10.47. Par conséquent, ils enregistrent un minimum de boutures desséchées avec respectivement 4.33 et 4.53. Cependant les traitements S₁D₀, S₁D₁, S₁D₂, S₂D₀, S₂D₁ et S₂D₂ enregistrent un nombre moins important de boutures racinées. En outre il faut signaler l'effet du substrat où on observe que le nombre de boutures racinées des traitements S₁D₀, S₁D₁, S₁D₂ est nettement supérieur par rapport aux traitements S₂D₀, S₂D₁, S₂D₂, (Figure 3.3). Le substrat composé de 100 % de sable semble être le plus favorable à l'initiation racinaire, par sa capacité de rétention en eau et de la disponibilité de l'air, alors que le substrat S₂ semble avoir une texture fine engendrant une forte capacité de rétention en eau d'où la pourriture de la partie souterraine de la bouture.

La température du substrat varie selon la nature du substrat et même selon sa granulométrie, donc en fonction des quantités d'eau retenues, les substrats à forte rétention en eau sont les plus frais. Cette dernière abaisse considérablement les températures du substrat S₂ au fond des pots et ceci, surtout pendant la nuit. Les températures ambiantes journalières de la serre étaient favorables au débourrement et à l'initiation racinaire.

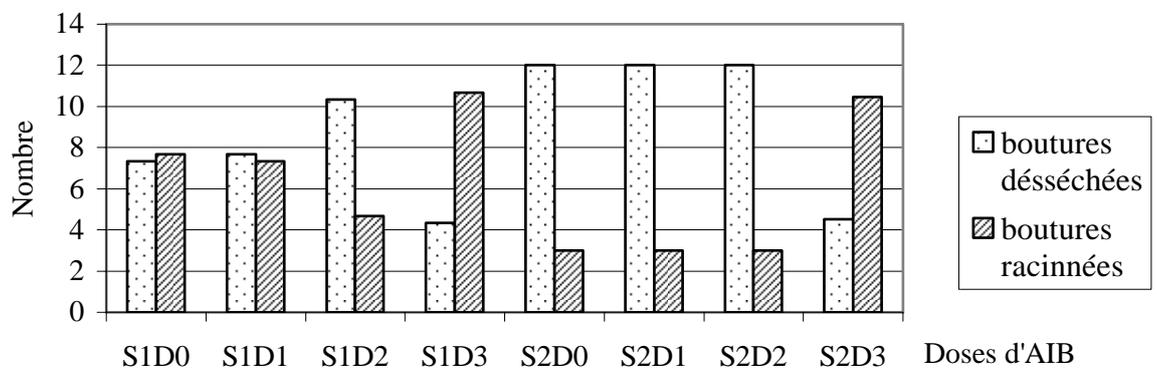


Figure 3.3 : Nombre total de boutures ligneuses racinées et boutures desséchées

Des 360 boutures ligneuses mises en culture seulement 148 présentent des racines. Le taux est de 41.11 % de boutures racinées. Ces résultats semblent être plus prometteurs que les résultats obtenus par AOUDJIT et MOUISSA [19] dont le taux de débourrement variait entre 6.66 et 13.33 %.

3.1.1.4- Nombre de ramifications des boutures ligneuses

Sachant que le nombre moyen de bourgeons initial par bouture est de 5 bourgeons, l'analyse de la variance montre que le facteur substrat a une influence significative sur le paramètre étudié où on enregistre une moyenne de 2.8 ramifications par plant pour le substrat S₁ et une moyenne de 1.88 pour le substrat S₂, alors que le facteur dose d'hormone n'exerce pas d'effet significatif sur les différents traitements du même substrat au risque d'erreur 5 %. Cependant, on enregistre un nombre de ramifications plus important au niveau de la dose hormonale D₃ (Tableau 3.4).

Tableau 3.4 : Nombre de ramifications des boutures ligneuses

Traitements	S ₁ D ₀	S ₁ D ₁	S ₁ D ₂	S ₁ D ₃	S ₂ D ₀	S ₂ D ₁	S ₂ D ₂	S ₂ D ₃
Moyennes	2.83	2.67	2.33	3.67	1.33	1.33	1.33	1.67
Ecarts- types	±0.72 a	±0.32 a	±0.60 a	±1.06 a	±0.38 b	±0.38 b	±0.38 b	±0.20 b

3.1.1.5- Diamètre des ramifications des boutures ligneuses

Le diamètre des ramifications est estimé à la fin de l'essai c'est à dire 9 mois après la mise en culture. L'analyse statistique montre qu'il existe une différence significative entre les traitements des 2 substrats. Cependant, le substrat S₁ enregistre une moyenne de 10.28 mm, nettement supérieure à celle enregistrée par le substrat S₂ dont la moyenne est de 4.86 mm (Tableau 3.5).

Tableau 3.5 : Diamètre des ramifications des boutures ligneuses (mm)

Traitements	S ₁ D ₀	S ₁ D ₁	S ₁ D ₂	S ₁ D ₃	S ₂ D ₀	S ₂ D ₁	S ₂ D ₂	S ₂ D ₃
Moyennes	4.04	5.02	5.91	4.47	10.13	10.03	10.90	10.08
Ecarts- types	±0.60 b	±0.92 b	±0.65 b	±0.80 b	±1.74 a	±2.14 a	±1.27 a	±1.28 a

3.1.1.6- Diamètre de la tige principale des boutures ligneuses

Le diamètre des boutures ligneuses lors de leur mise en culture était estimé avec une moyenne de 10 mm. Les relevés effectués à la fin de notre essai au niveau du collet à 1 cm au dessus de la surface du substrat présentent une différence significative due à l'effet du substrat (Tableau 3.6).

Tableau 3.6 : Diamètre de la tige principale des boutures ligneuses (mm)

Traitements	S ₁ D ₀	S ₁ D ₁	S ₁ D ₂	S ₁ D ₃	S ₂ D ₀	S ₂ D ₁	S ₂ D ₂	S ₂ D ₃
Moyennes	8.97	10.50	11.82	11.95	14.07	14.30	15.47	15.77
Ecarts- types	±0.41 b	±1.39 b	±1.09 b	±1.12 b	±1.01 a	±2.19 a	±1.75 a	±0.83 a

Les boutures du substrat S₂ présentent les diamètres les plus importants. Cependant, il faut signaler qu'au niveau du même substrat l'accroissement du diamètre des boutures d'un traitement à l'autre va de pair avec l'accroissement de la dose de l'AIB.

Les boutures du substrat S₁ ont subi un accroissement moyen de leur diamètre de 0.81 mm alors que les boutures de S₂, elles ont eu un accroissement de 4.90 mm.

La différence observée entre le substrat S₁ et S₂ est due probablement au fait que le substrat S₂ est caractérisé par la présence en plus des éléments minéraux apportés par la solution nutritive d'arrosage et d'un complexe argilo-humique qui grâce à son pouvoir absorbant, met en réserve les éléments qui sans lui, seraient perdus par lessivage. Ce substrat S₂ qui régularise la composition de la solution du sol, milieu de vie des racines, fournit à la plante ses besoins en éléments minéraux nécessaires à son développement.

Au contraire, le substrat S₁, considéré comme un substrat inerte, dont la seule ressource en éléments minéraux est la solution nutritive d'arrosage, où la grande partie est perdue par drainage.

3.1.1.7- Longueur des ramifications des boutures ligneuses

Nous constatons que la longueur des ramifications des boutures ligneuses du pistachier de l'Atlas varie significativement sous l'effet du substrat (Tableau 3.7). Les plus faibles valeurs sont obtenues avec le substrat S₁, par contre les plus importantes, elles sont observées au niveau du substrat S₂. En outre, on remarque en général une homogénéité du paramètre mesuré au niveau du même substrat. Néanmoins on enregistre au niveau du traitement S₁D₃ une régression de la longueur des ramifications due probablement à l'effet de surdose hormonale D₃ qui inhibe la croissance des ramifications, ou à la présence de plusieurs ramifications par bouture.

Tableau 3.7 : Longueur des ramifications des boutures ligneuses (cm)

Traitements	S ₁ D ₀	S ₁ D ₁	S ₁ D ₂	S ₁ D ₃	S ₂ D ₀	S ₂ D ₁	S ₂ D ₂	S ₂ D ₃
Moyennes	12.20	18.03	20.04	14.66	58.00	66.50	65.17	66.83
Ecarts- types	±2.52 b	±3.28 b	±2.69 b	±5.44 b	±9.64 a	±8.53 a	±5.87 a	±10.48 a

3.1.1.8- Nombre de feuilles des boutures ligneuses

Tableau 3.8 : Nombre de feuilles par bouture ligneuse

Traitements	S ₁ D ₀	S ₁ D ₁	S ₁ D ₂	S ₁ D ₃	S ₂ D ₀	S ₂ D ₁	S ₂ D ₂	S ₂ D ₃
Moyennes	41.17	45.83	61.83	58.83	94.33	94.67	106.67	112.67
Ecarts- types	±15.26 b	±16.59 b	±13.17 b	±11.57 b	±9.40 a	±15.51 a	±13.14 a	±18.14 a

Le nombre de feuilles est influencé significativement par l'effet du substrat quelque soit la dose d'hormone. On constate (Tableau 3.8) que le nombre de feuille le plus faible est observé au niveau du traitement S₁D₀, alors qu'une bonne alimentation en éléments minéraux assure le bon développement de la plante donc un nombre important de feuilles avec une moyenne de 112.67 feuilles au niveau du traitement S₂D₃.

3.1.1.9- Poids des feuilles des boutures ligneuses

Nous constatons une différence de l'effet du substrat sur le poids frais et le poids sec des feuilles (Tableau 3.9). Les poids frais et secs des feuilles du substrat S₂ sont nettement supérieurs à ceux du substrat S₁. Ils s'accroissent avec l'augmentation des doses de l'AIB mais sans avoir d'effet significatifs sur le paramètre étudié au risque d'erreur 5 % (Figure 3.10 et 3.11).

Tableau 3.9 : Poids des feuilles des boutures ligneuses (g)

Traitements	S ₁ D ₀	S ₁ D ₁	S ₁ D ₂	S ₁ D ₃	S ₂ D ₀	S ₂ D ₁	S ₂ D ₂	S ₂ D ₃
Poids frais	19.87 ±4.8 b	21.53 ±5.19 b	28.65 ±2.47 b	27.13 ±7.05 b	81.71 ±25.76 a	83.33 ±12.36 a	90.35 ±16.86 a	85.36 ±16.25 a
Poids sec	8.11 ±1.9 b	9.64 ±2.99 b	11.98 ±0.60 b	11.33 ±7.05 b	31.24 ±2.60 a	32.22 ±10.34 a	34.49 ±6.59 a	33.78 ±5.87 a
Pourcentage de matière sèche	40.81 ±0.60 a	44.35 ±5.25 a	41.86 ±1.90 a	41.87 ±3.59 a	38.02 ±1.01 b	38.66 ±0.77 b	38.15 ±2.27 b	39.71 ±1.34 b

Cependant, le taux de matière sèche enregistré au niveau des traitements du substrat S₁ composé de 100 % de sable est plus important que celui obtenu au niveau des traitements du substrat S₂. Il apparaît que le facteur substrat a un effet inverse sur le taux de matière sèche par rapport au poids frais et au poids secs des feuilles. Cela est dû probablement à la capacité de rétention en eau importante du substrat S₂. Celui-ci met à la disposition des boutures les quantités en eau perdue par évapo-transpiration, alors que le substrat S₁ dont la capacité de rétention en eau est de moindre importance met à la disponibilité de la bouture une certaine quantité d'eau perdue par évapo-transpiration. La majeure partie est perdue par drainage, d'où une quantité moindre dans les tissus des feuilles il en ressort un taux de matière sèche important.

3.1.1.10- Poids des tiges des boutures ligneuses

Le substrat exerce une influence significative sur le poids frais et le poids sec des tiges. Les valeurs de ces deux paramètres au niveau du substrat S₂ sont plus élevées qu'au niveau du substrat S₁, avec un taux de matière sèche des tiges du substrat S₁ légèrement supérieur à celui du substrat S₂ (Tableau 3.10 et Figure 3.10 et 3.11).

Tableau 3.10 : Poids des tiges des boutures ligneuses (g)

Traitements	S ₁ D ₀	S ₁ D ₁	S ₁ D ₂	S ₁ D ₃	S ₂ D ₀	S ₂ D ₁	S ₂ D ₂	S ₂ D ₃
Poids frais	11.52 ±5.96 b	17.77 ±2.18 b	24.73 ±1.20 b	25.45 ±7.51 b	56.82 ±26.02 a	60.55 ±22.85 a	58.58 ±18.60 a	67.42 ±18.40 a
Poids sec	5.63 ±4.00 b	8.82 ±1.11 b	11.76 ±1.08 b	12.60 ±2.84 b	24.34 ±12.03 a	27.74 ±11.42 a	26.39 ±9.92 a	32.72 ±9.64 a
Pourcentage de matière sèche	48.90 ±2.22 a	49.57 ±2.43 a	47.51 ±1.86 a	49.62 ±1.41 a	42.78 ±3.82 a	45.24 ±0.89 a	44.39 ±2.28 a	48.46 ±2.15 a

3.1.1.11- Poids de la partie aérienne des boutures ligneuses

L'effet substrat exerce une influence significative sur la biomasse fraîche totale et la biomasse sèche totale produites. En effet, les traitements du substrat S₂ présentent les biomasses fraîche et sèche totale les plus importantes avec une moyenne respective de 145.85 et de 60.71 g. Cependant, au niveau du substrat S₁, les moyennes en biomasses fraîche et sèche respectives ne sont que de 43.30 et de 19.99 g (Tableau 3.11).



Figure 3.4 : Aspect de la partie aérienne des boutures ligneuses

Tableau 3.11 : Poids de la partie aérienne des boutures ligneuses (g)

Traitements	S ₁ D ₀	S ₁ D ₁	S ₁ D ₂	S ₁ D ₃	S ₂ D ₀	S ₂ D ₁	S ₂ D ₂	S ₂ D ₃
Poids frais	27.39 ±13.17 b	39.30 ±6.89 b	53.38 ±2.98 b	52.58 ±14.55 b	138.53 ±15.64 a	143.88 ±14.87 a	148.26 ±14.48 a	152.76 ±13.63 a
Poids sec	13.74 ±5.94 b	18.45 ±3.96 b	23.74 ±1.20 b	23.92 ±5.66 b	55.58 ±12.55 a	59.89 ±16.41 a	60.87 ±16.19 a	66.51 ±15.30 a
Pourcentage de matière sèche	43.78 ±0.87 a	46.84 ±3.89 a	44.48 ±1.96 a	45.63 ±2.65 a	39.88 ±1.79 b	41.42 ±1.26 b	40.62 ±2.05 b	43.54 ±1.91 b

Il apparaît au niveau du substrat S₁ que la biomasse fraîche produite par les feuilles est proche de celle produite par les tiges, alors qu'au niveau du substrat S₂ la biomasse fraîche produite par les feuilles est nettement supérieure à celle par les tiges.

Alors que la biomasse sèche produite par les feuilles des différents traitements est équivalente à celle produite par les tiges pour les deux substrats S₁ et S₂ (Figure 3.8 et 3.9).

3.1.1.12- Poids des racines des boutures ligneuses

L'analyse de la variance montre que le facteur substrat exerce un effet significatif sur le poids frais des racines. En effet, le substrat S₁ enregistre une moyenne de 40.94g alors que le substrat S₂ enregistre une moyenne de 60.66g. Le facteur hormonal (dose d'AIB) exerce à son tour un effet significatif sur la production racinaire. En effet les résultats obtenus montrent que l'application des hormones rhizogènes semble favoriser la production racinaire où on enregistre des moyennes de 64.64g, 53.26g, 45.51g et 39.81g respectivement pour les doses d'hormones D₃, D₂, D₁ et D₀ (Tableau 3.12 et Figure 3.5, 3.6, 3.10 et 3.11).

Tableau 3.12 : Poids des racines des boutures ligneuses (g)

Traitements	S ₁ D ₀	S ₁ D ₁	S ₁ D ₂	S ₁ D ₃	S ₂ D ₀	S ₂ D ₁	S ₂ D ₂	S ₂ D ₃
-------------	-------------------------------	-------------------------------	-------------------------------	-------------------------------	-------------------------------	-------------------------------	-------------------------------	-------------------------------

Poids frais	23.39 ±1.62 e	32.55 ±1.44 d	48.47 ±1.50 c	59.36 ±3.78 b	56.23 ±3.60 b	58.48 ±3.37 b	58.05 ±5.11 b	69.91 ±7.16 a
Poids sec	8.78 ±1.02 e	14.15 ±0.80 d	19.65 ±0.57 c	26.04 ±0.57 b	24.12 ±1.14 b	28.24 ±2.28 b	28.04 ±2.14 b	34.49 ±3.49 a
Pourcentage de matière sèche	37.55 ±0.89 b	43.83 ±3.63 a	40.47 ±1.82 a	43.93 ±2.36 a	43.16 ±0.95 b	48.29 ±1.70 a	48.25 ±1.46 a	49.26 ±0.50 a

L'effet combiné des deux facteurs substrat et dose d'AIB fait apparaître 5 groupes représentés par les lettres a, b, c, d et e avec 69.91g pour le traitement S₂D₃. Les traitements S₁D₃, S₂D₁, S₂D₂, S₂D₀ enregistrent des valeurs variant de 56.23g à 59.36g. Les traitements S₁D₂, S₁D₁ et S₁D₀ caractérisent 3 groupes homogènes enregistrant des poids décroissants allant de 23.93g à 48.47g.

Quant au poids sec des racines, le facteur substrat ainsi que le facteur dose d'AIB, exercent des effets significatifs similaires que sur le poids frais des racines. L'interaction des deux facteurs, montre que le poids sec le plus important (34.49g) est observé au niveau du traitement S₂D₃, alors que la plus faible valeur est observée au niveau du traitement S₁D₀ avec 8.78g. Ainsi le traitement S₁D₃ enregistre un poids sec supérieur à celui du traitement S₂D₀ cela montre l'effet de la dose d'hormone sur la production racinaire.

On peut noter aussi que le substrat S₂ a des taux de matière sèche plus importants par rapport à ceux du substrat S₁. Les traitements sans hormones présentent quant à eux, des taux de matière sèche les moins importants.



Figure 3.5 : Aspect des boutures ligneuses du substrat S₁



Figure 3.6 : Aspect des boutures ligneuses du substrat S₂

3.1.1.13- Poids total des boutures ligneuses

L'analyse de la variance au risque d'erreur 5 % montre qu'il existe une différence significative entre les traitements du substrat S₂ et les traitements du substrat S₁. Les résultats observés sur le poids frais et poids sec total des boutures présentent une nette supériorité du substrat S₂ par rapport au substrat S₁ (Tableau 3.13). En revanche, les taux de matière sèche obtenus après traitement hormonal à l'AIB (D₃, D₂ et D₁) sont nettement supérieurs à ceux du traitement D₀. Ce dernier combiné avec le substrat S₁ c'est à dire S₁D₀ présente la plus faible valeur (Figure 3.7)

Tableau 3.13 : Poids total des boutures ligneuses (g)

Traitements	S ₁ D ₀	S ₁ D ₁	S ₁ D ₂	S ₁ D ₃	S ₂ D ₀	S ₂ D ₁	S ₂ D ₂	S ₂ D ₃
Poids frais total	54.78 ±14.14 b	71.85 ±7.82 b	101.85 ±3.37 b	111.95 ±15.49 b	194.76 ±14.17 a	202.36 ±16.90 a	206.98 ±13.43 a	222.69 ±19.91 a
Poids sec total	22.52 ±5.89 b	32.60 ±4.57 b	43.39 ±1.17 b	49.96 ±5.87 b	79.70 ±12.85 a	88.13 ±7.40 a	88.92 ±7.08 a	101 ±13.00 a
Pourcentage de matière sèche	41.10 ±0.41 a	45.41 ±3.56 a	42.58 ±1.28 a	44.74 ±2.30 a	40.88 ±0.39 a	43.55 ±1.04 a	42.90 ±0.89 a	45.37 ±1.17 a



Figure 3.7 : Aspect des boutures ligneuses

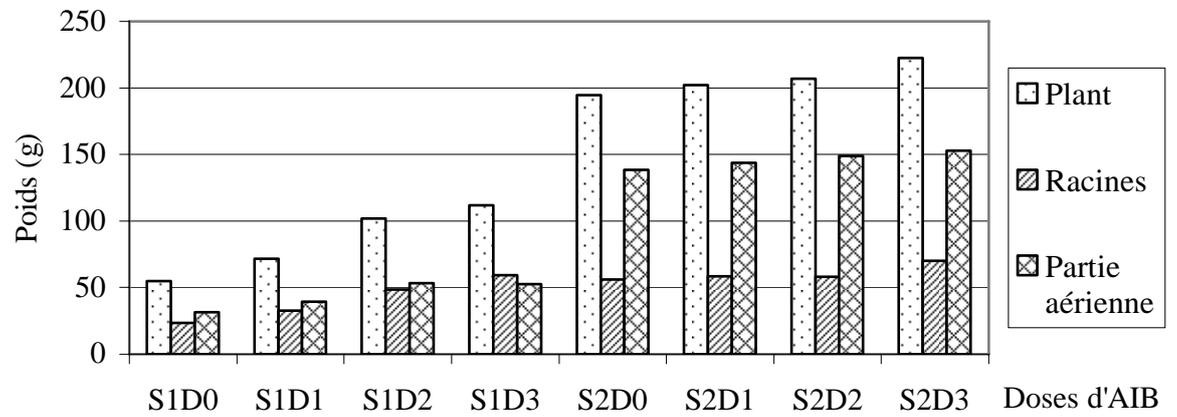


Figure 3.8 : Poids frais des boutures ligneuses (plant, racines et partie aérienne)

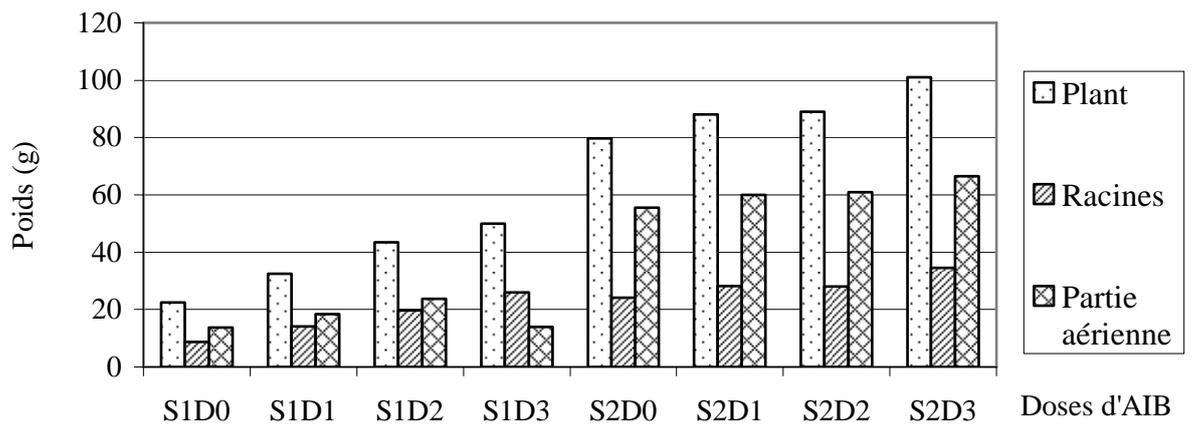


Figure 3.9 : Poids sec des boutures ligneuses (plant, racines et partie aérienne)

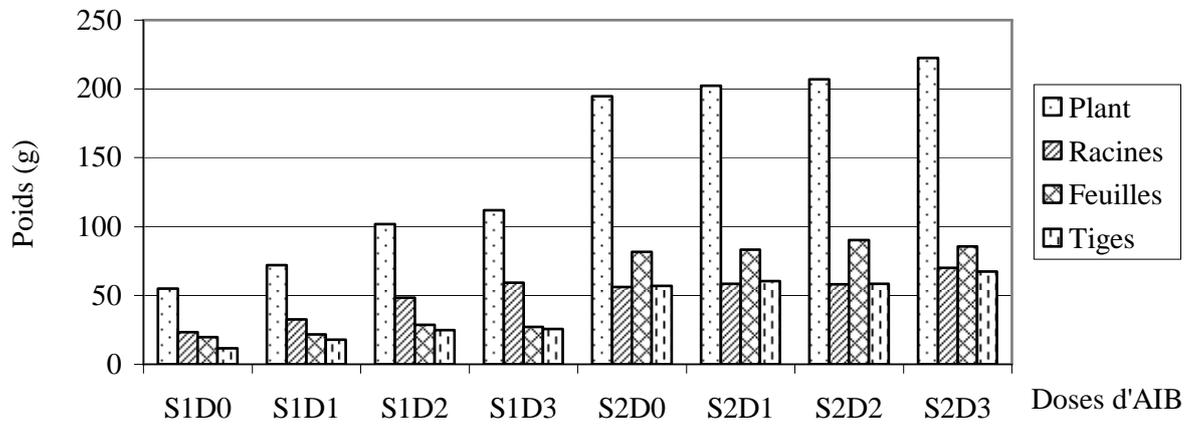


Figure 3.10 : Poids frais des boutures ligneuses (plant, racines, feuilles et tiges)

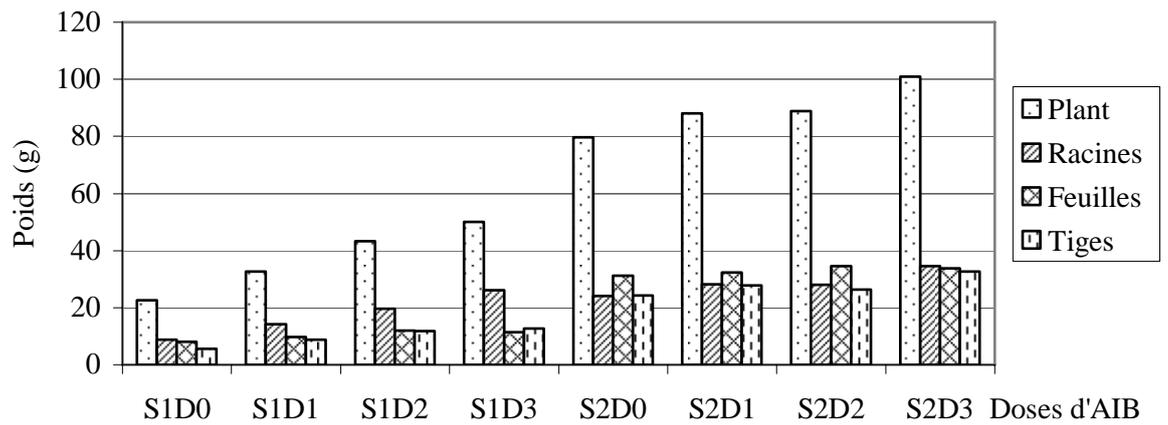


Figure 3.11 : Poids sec des boutures ligneuses (plant, racines, feuilles et tiges)

3.1.1.14- Aspect et longueur des racines des boutures ligneuses

L'analyse de la variance montre que le facteur substrat n'a pas d'effet significatif sur la longueur des racines, mais l'interaction entre le facteur substrat et la dose d'hormone exerce un effet significatif sur le paramètre étudié. Les traitements S₂D₃ et S₂D₂ donnent les racines les plus importantes du point de vue longueur (78 cm et 75.33 cm). Les concentrations hormonales de ces deux traitements sont de 4000 ppm et 6000 ppm (Figure 3.12 et Tableau 3.14).

Tableau 3.14 : Longueur des racines des boutures ligneuses (cm)

Traitements	S ₁ D ₀	S ₁ D ₁	S ₁ D ₂	S ₁ D ₃	S ₂ D ₀	S ₂ D ₁	S ₂ D ₂	S ₂ D ₃
Moyennes	42.50	49.50	55.25	61.50	63.00	58.00	78.00	75.33
Ecart-types	±3.25	±3.81	±3.83	±2.84	±11.65	±1.30	±8.49	±4.89
	b	b	b	b	b	b	a	a

La densité du chevelu racinaire est proportionnelle à la dose hormonale. Il apparaît aussi que le chevelu racinaire est concentré (ou repartie) et bien marqué au pôle basale de la bouture pour les traitements sans hormone D₀, alors qu'au fur et à mesure que la concentration d'AIB augmente la densité du chevelu racinaire atteint les parties les plus éloignées du pôle basale, tout en s'atténuant à l'approche du collet.

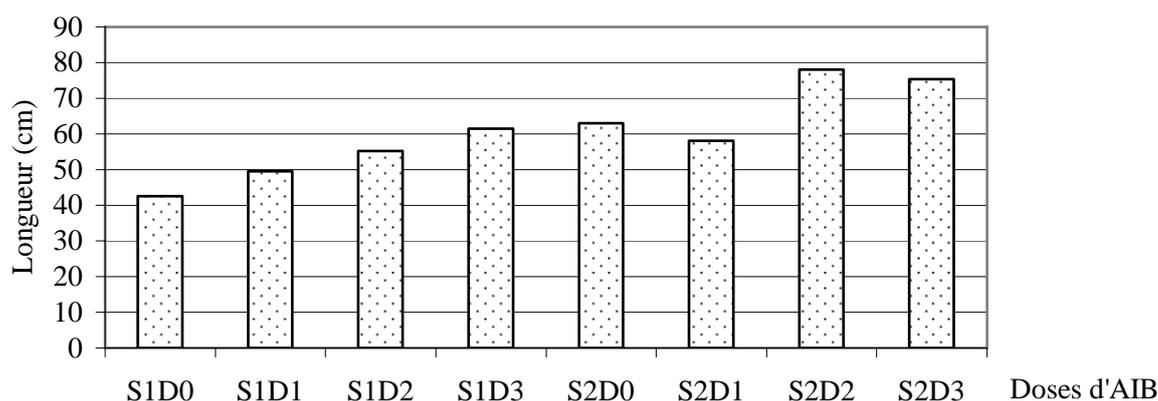


Figure 3.12 : Longueur des racines des boutures ligneuses

Concernant l'initiation racinaire, la densité des racines formées et le développement ultérieur de ces racines, nous avons observé, une liaison étroite, entre la nature physico-chimique du substrat et l'effet des concentrations

hormonales en AIB. Il semble que l'effet combiné des deux facteurs est positif sur la rhizogenèse si on choisit le bon substrat et la bonne dose d'AIB, pour les boutures ligneuses du pistachier de l'Atlas.

3.1.1.15- Conclusion partielle

Au terme de notre expérimentation, nous pouvons conclure; que le nombre de bouture racinée est influencé à la fois par la dose d'AIB et le type de substrat employés. Quelque soit le substrat, les boutures traitées à 6000 ppm d'AIB présentent un taux de reprise plus important par rapport aux autres traitements. Cependant, les traitements du substrat S₁ manifestent une bonne reprise par rapport aux boutures du substrat S₂ vu le nombre important de boutures racinées.

Il semble que le nombre de ramifications par bouture est influencé par le type de substrat, où S₁ enregistre un nombre de ramifications supérieur à celui du substrat S₂.

Malgré le nombre limité de boutures racinées du substrat S₂, le diamètre du collet ainsi que celui des ramifications et la longueur de ses ramifications sont supérieurs à ceux du substrat S₁. Cela pourrait être un facteur favorable à un éventuel greffage par œil dormant.

La biomasse fraîche et sèche produite par les feuilles et les tiges est influencée par le facteur substrat, où on enregistré une nette supériorité au niveau du substrat S₂. Même si le facteur dose d'hormone n'a pas eu d'effet au risque d'erreur 5 % sur la biomasse fraîche et sèche produite par les feuilles et les tiges. Cette dernière augmente avec l'augmentation de la dose d'AIB. Cependant, la biomasse fraîche et sèche produite par les racines est influencée par la combinaison des deux facteurs substrat et dose d'AIB.

3.1.2- Macro-bouturage semi-ligneux

Les paramètres étudiés au cours de notre essai sont :

- Nombre de boutures racinées et boutures desséchés par traitement
- Nombre de ramifications par bouture
- Longueur des ramifications
- Nombre de feuilles par bouture
- Diamètre des ramifications
- Diamètre de la tige principale
- Poids des feuilles
- Poids des tiges
- Poids des racines
- Poids de la partie aérienne
- Poids total des boutures
- Aspect et longueur des racines

3.1.2.1- Nombre de boutures semi-ligneuses racinées et boutures desséchées

L'analyse de la variance montre que l'application des différentes doses d'hormones pour l'initiation racinaire et le débourrement n'a pas eu d'action significative sur le nombre de boutures racinées et débourees, pas plus, d'ailleurs que sur le nombre de boutures desséchées. On signale un nombre légèrement plus important de boutures racinées au niveau des traitements D₂ et D₃ (Tableau 3.15).

Tableau 3.15 : Nombre de boutures semi-ligneuses racinées et boutures desséchées

Traitements	D ₀	D ₁	D ₂	D ₃
Nombre de boutures racinées	7.00 ±2.59 a	6.25 ±2.13 a	8.25 ±1.80 a	8.25 ±1.49 a
Pourcentage	70.00 ±12.85 a	62.50 ±11.35 a	82.50 ±13.96 a	82.50 ±14.91 a
Nombre de boutures desséchées	3.00 ±2.58 a	3.75 ±2.13 a	1.74 ±1.80 a	1.75 ±1.49 a
Pourcentage	30.00 ±15.85 a	37.50 ±13.35 a	17.50 ±11.96 a	17.50 ±14.91 a

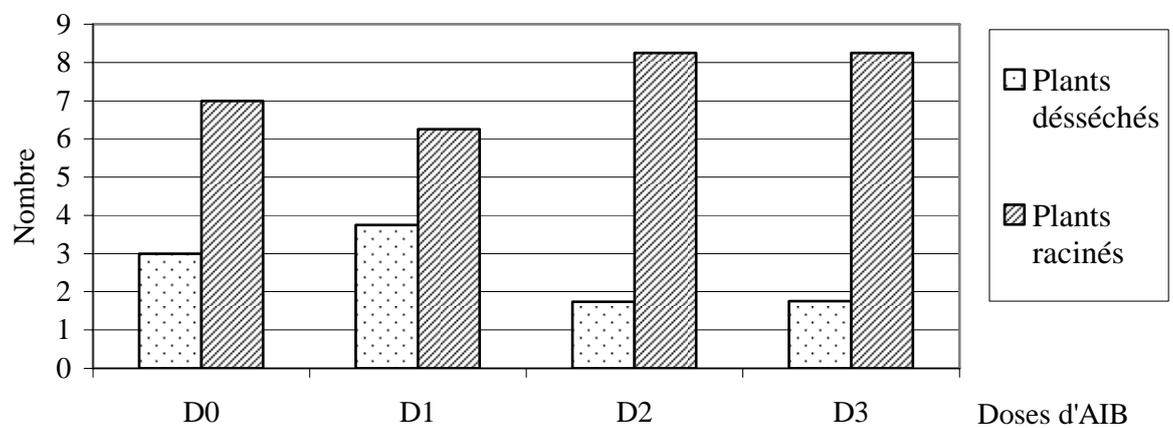


Figure 3.13 : Nombre de boutures semi-ligneuses racinées et boutures desséchées

3.1.2.2- Nombre de ramifications par bouture semi-ligneuse

Sachant que chaque bouture mise en culture possédait deux bourgeons. L'analyse statistique au risque 5 % n'a révélé aucune différence significative sur le nombre de ramification émise par bouture des différents traitements.

Tableau 3.16 : Nombre de ramifications par bouture semi-ligneuse

Traitements	D ₀	D ₁	D ₂	D ₃
Moyennes	1.18	1.45	1.65	1.26
Ecart-types	±0.26	±0.10	±0.28	±0.05
	a	a	a	a

Cependant, on note qu'à travers les différents traitements le nombre moyen de bourgeons débouffés est de 1 sur 2.

3.1.2.3- Longueur des ramifications des boutures semi-ligneuses

En ce qui concerne la longueur des ramifications aucune différence significative n'est observé sous l'effet des doses de l'hormone. Cependant, on observe le développement d'un rameau avec ou sans apport d'hormone, dont la longueur moyenne est estimée à 8.78 cm (Tableau 3.17).

Tableau 3.17 : Longueur des ramifications des boutures semi-ligneuses(cm)

Traitements	D ₀	D ₁	D ₂	D ₃
Moyennes	8.40	9.25	8.74	8.74
Ecart-types	±2.97	±2.20	±1.81	±2.85
	a	a	a	a

3.1.2.4- Diamètre de la tige principale des boutures semi-ligneuses

L'étude statistique n'a montré aucune différence significative entre le diamètre des boutures issues des différents traitements. On a enregistré une moyenne de 5.74 mm avec un accroissement de 0.74 à 1.74 mm dans le diamètre de la bouture.

Tableau 3.18 : Diamètre de la tige principale des boutures semi-ligneuses (mm)

Traitements	D ₀	D ₁	D ₂	D ₃
Moyennes	5.38	5.84	6.01	5.73
Ecart-types	±0.51	±0.35	±0.38	±0.44
	a	a	a	a

3.1.2.5- Diamètre des ramifications des boutures semi-ligneuses

Les diamètres des ramifications (Tableau 3.19) n'ont montré aucune différence entre les différentes doses d'hormone sur le paramètre étudié. Le diamètre moyen des différents rameaux est estimé à 2.8 mm.

Tableau 3.19 : Diamètre des ramifications des boutures semi-ligneuses(mm)

Traitements	D ₀	D ₁	D ₂	D ₃
Moyennes	2.80	2.96	2.80	2.80
Ecart-types	±0.59	±0.34	±0.52	±0.27
	a	a	a	a

3.1.2.6- Nombre de feuilles des boutures semi-ligneuses

Les résultats observés montrent que la dose d'AIB a un effet significatif sur le nombre de feuilles par bouture semi-ligneuses. La dose d'hormone de 4000 ppm a manifesté le nombre le plus important avec une moyenne 13.37 feuilles, alors que les doses d'AIB de 2000 ppm et 6000 ppm ont manifesté respectivement une moyenne de 11.51 et de 11.03 feuilles (Tableau 3.20).

Quant au traitement sans hormone D₀, sa moyenne de 9.47 feuilles par bouture, il semblerait qu'au fur et à mesure que la dose d'AIB augmente, le développement foliaire devient important. En effet, au delà de 4000 ppm, les concentrations en AIB deviennent des surdoses, inhibitrices pour le développement foliaire.

Tableau 3.20 : Nombre de feuilles des boutures semi-ligneuses

Traitements	D ₀	D ₁	D ₂	D ₃
Moyennes	9.47	11.51	13.37	11.03
Ecart-types	±0.74	±1.04	±1.60	±1.58
	b	ab	a	ab

3.1.2.7- Poids des feuilles des boutures semi-ligneuses

De l'analyse des données statistiques (Tableau 3.21), il en ressort que les traitements avec hormone ont permis d'avoir un poids frais ainsi qu'un poids sec plus important comparativement au traitement sans hormones, où on note une régression de ces paramètres. En ce qui concerne la relation dose d'AIB sur le

pourcentage de matière sèche, les résultats ne font pas apparaître une différence significative entre les différents traitements (Figure 3.18, 3.19 et 3.14).

Tableau 3.21 : Poids des feuilles des boutures semi-ligneuses (g)

Traitements	D ₀	D ₁	D ₂	D ₃
Poids frais	2.45 ±0.38 b	3.19 ±0.03 a	3.45 ±0.16 a	3.47 ±0.50 a
Poids sec	0.90 ±0.11 b	1.25 ±0.05 a	1.29 ±0.05 a	1.39 ±0.11 a
Pourcentage de matière sèche	37.04 ±2.22 a	39.08 ±1.31 a	37.51 ±0.50 a	39.97 ±2.91 a



Figure 3.14 : Aspect de la partie aérienne des boutures semi-ligneuses

3.1.2.8- Poids des tiges des boutures semi-ligneuses

Les résultats obtenus nous permettant de dire que le poids des tiges n'est pas influencé par les apports auxiniques, ainsi, les tiges des boutures non traitées, et celles traitées aux concentrations 2000 ppm, 4000 ppm et 6000 ppm ont un poids sensiblement égal (Tableau 3.22 et Figures 3.16 et 3.17).

Tableau 3.22 : Poids des tiges des boutures semi-ligneuses (g)

Traitements	D ₀	D ₁	D ₂	D ₃
-------------	----------------	----------------	----------------	----------------

Poids frais	3.32 ±0.25 a	3.49 ±0.21 a	3.35 ±0.09 a	3.41 ±0.11 a
Poids sec	1.42 ±0.10 a	1.52 ±0.10 a	1.45 ±0.08 a	1.52 ±0.03 a
Pourcentage de matière sèche	42.80 ±1.26 a	43.55 ±0.85 a	43.54 ±1.85 a	44.84 ±1.87 a

3.1.2.9- Poids de la partie aérienne des boutures semi-ligneuses

Il apparaît des résultats observés (Tableau 3.23) qu'il existe une différence significative entre les traitements, les poids frais et secs de la partie aérienne des traitements D₁, D₂ et D₃ enregistrent des valeurs les plus importantes formant un groupe homogène et il est représenté par la lettre a. Cependant, le traitement D₀ enregistre la valeur la plus faible et il est représenté par la lettre b. Il faut noter que le taux de matière sèche n'enregistre aucune différence significative (Figure 3.16 et 3.17).

Tableau 3.23 : Poids de la partie aérienne des boutures semi-ligneuses (g)

Traitements	D ₀	D ₁	D ₂	D ₃
Poids frais	5.77 ±0.50 b	6.68 ±0.25 a	6.80 ±0.17 a	6.88 ±0.42 a
Poids sec	2.33 ±0.21 b	2.77 ±0.14 a	2.74 ±0.09 a	2.91 ±0.08 a
Pourcentage de matière sèche	40.32 ±1.54 a	41.46 ±1.01 a	40.29 ±1.19 a	42.29 ±2.50 a

3.1.2.10- Poids des racines des boutures semi-ligneuses

L'examen des résultats enregistrés, nous permet de constater que le poids des racines le plus important est celui des boutures traitées aux concentrations 6000 ppm. Par ailleurs, nous constatons que les boutures traitées aux

concentrations 2000 ppm et 4000 ppm ont manifesté un poids similaire, alors que les boutures non traitées à l'AIB ont enregistré les plus faibles résultats du paramètre étudié (Figure 3.18 et 3.19).

Tableau 3.24 : Poids des racines des boutures semi-ligneuses (g)

Traitements	D ₀	D ₁	D ₂	D ₃
Poids frais	4.06 ±0.99 c	7.05 ±1.13 b	7.08 ±0.49 b	11.28 ±1.81 a
Poids sec	1.20 ±0.29 c	2.17 ±0.34 b	2.19 ±0.05 b	3.07 ±0.26 a
Pourcentage de matière sèche	29.59 ±3.58 a	30.54 ±2.88 a	30.82 ±1.92 a	27.90 ±2.41 a

3.1.2.11- Poids total des boutures semi-ligneuses

L'exploitation des résultats obtenus montre qu'il existe 3 groupes homogènes concernant le poids total des boutures. Ces groupes sont représentés par les lettres a, b et c dû à l'existence d'une différence significative entre les boutures sous l'effet des doses de l'hormone. Le poids frais et sec les plus importants sont ceux engendrés par la dose d'hormone 6000 ppm représentant la lettre a, alors que ceux représentés par la lettre b sont engendrés par la doses d'hormone 2000 et 4000 ppm dont les poids sont moins importants que le traitement précédent, et qui semblent avoir des effets similaires sur le poids frais et sec total des boutures. Cependant, les poids les plus faibles, sont représentés par la lettre c et sont relatives aux boutures n'ayant pas subit de traitement hormonal (Figures 3.15, 3.18 et 3.19).

Tableau 3.25 : Poids total des boutures semi-ligneuses (g)

Traitements	D ₀	D ₁	D ₂	D ₃
Poids frais total	9.83 ±1.40 c	13.73 ±1.03 b	13.88 ±0.65 b	18.16 ±1.91 a
Poids sec total	3.53 ±0.47 c	4.94 ±0.44 b	4.93 ±0.11 b	5.98 ±0.27 a
Pourcentage	35.86	35.97	35.51	32.92

de matière sèche	± 2.01 a	± 2.12 b	± 1.33 a	± 2.53 a
------------------	-----------------	-----------------	-----------------	-----------------

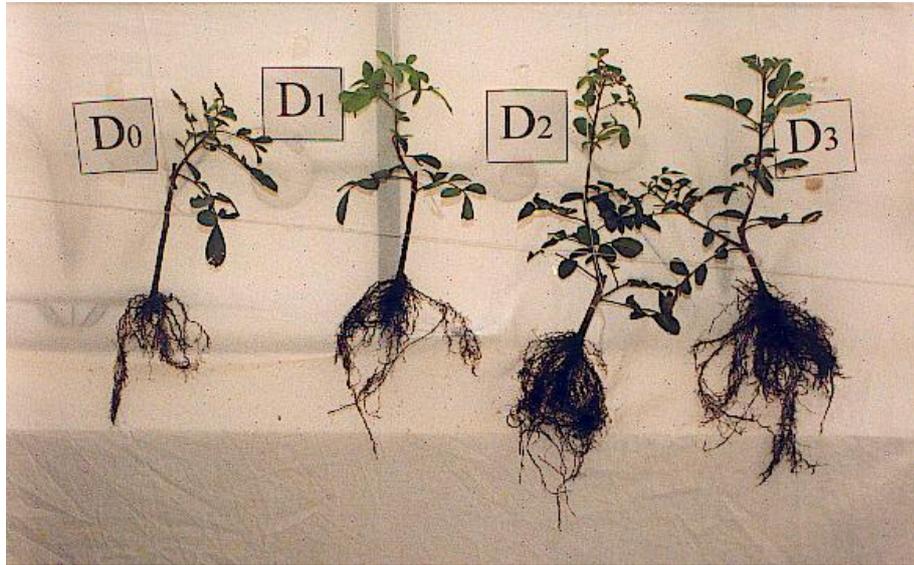


Figure 3.15 : Aspect des boutures semi-ligneuses

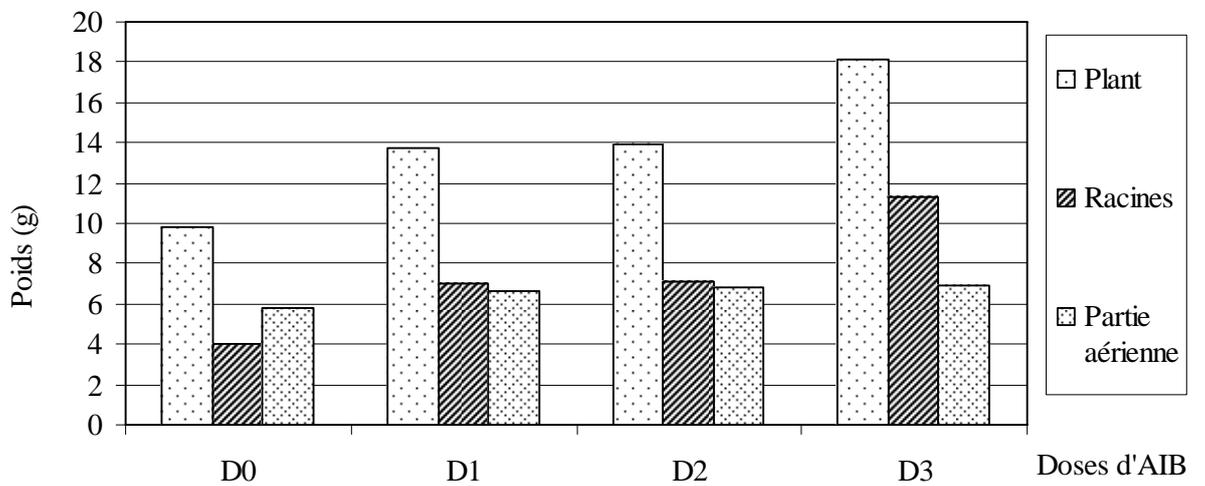


Figure 3.16 : Poids frais des boutures semi-ligneuses (plant, racines et partie aérienne)

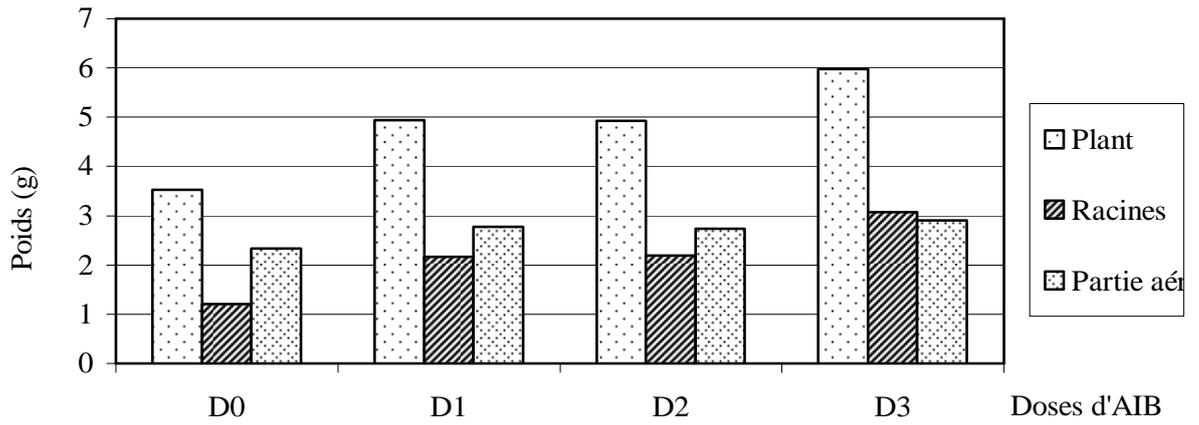


Figure 3.17 : Poids sec des boutures semi-ligneuses (plant, racines et partie aérienne)

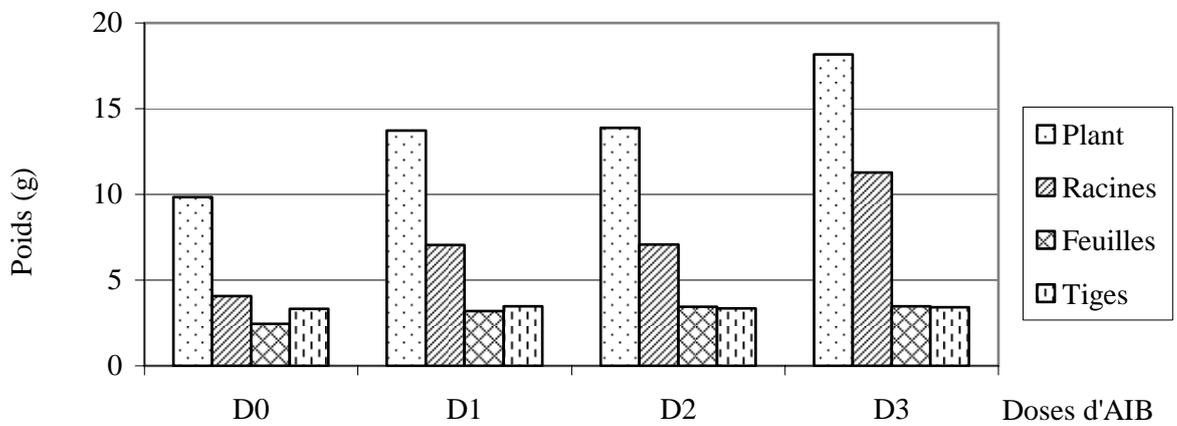


Figure 3.18 : Poids frais des boutures semi-ligneuses (plant, racines, feuilles et tiges)

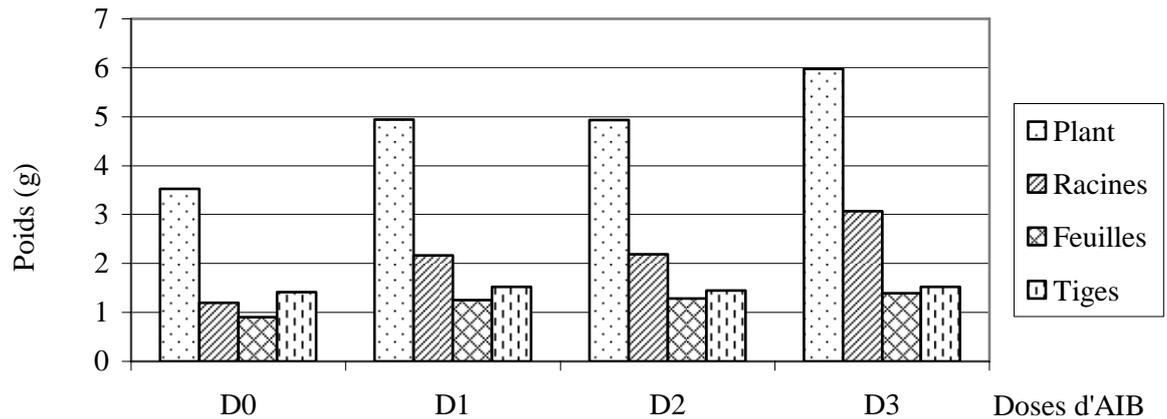


Figure 3.19 : Poids sec des boutures semi-ligneuses (plant, racines, feuilles et tiges)

3.1.2.12- Aspect et longueur des racines des boutures semi-ligneuses

L'analyse statistique montre qu'il n'existe pas de différence significative entre les différentes doses de l'hormone sur la longueur des racines (Tableau 3.26). Il est à noter que la différence apparaît au niveau de la densité du chevelu racinaire et de sa répartition sur la bouture. Les boutures du traitement sans hormone possèdent un chevelu racinaire clair, concentré au niveau de la section basale de la bouture sur le cal de cicatrisation, alors que les boutures du traitement D₁ et D₂, présentent un chevelu racinaire plus dense, concentré au niveau du cal de cicatrisation avec une répartition moins dense sur quelques centimètres de la base des boutures. Cependant, le chevelu racinaire des boutures traitées avec une concentration d'AIB de 6000 ppm, paraît avoir une répartition uniforme sur la totalité de la partie enfoncée dans le substrat (Figure 3.20).

Tableau 3.26 : Longueur des racines des boutures semi-ligneuses (cm)

Traitements	D ₀	D ₁	D ₂	D ₃
Moyennes	21.13	24.25	24.91	26.61
Ecart-types	±2.34	±3.51	±1.20	±1.36
	a	a	a	a



Figure 3.20 : Aspect des racines des boutures semi-ligneuses

3.1.2.13- Conclusion partielle

Les résultats obtenus à la fin de notre essai sur le matériel végétal semi-ligneux ont montré que le nombre de boutures desséchées et racinées n'est pas influencé par le facteur dose d'hormone. Cependant, les meilleurs taux d'enracinement sont enregistrés au niveau des doses d'AIB D₂ et D₃.

Les différentes doses hormonales d'AIB n'ont pas d'effet sur le débourrement et l'établissement des ramifications, du fait que le nombre de bourgeons débourrés est de 1 sur 2. Ces doses d'AIB restent de même sans effet sur la longueur des ramifications et le diamètre du collet.

En ce qui concerne le nombre de feuilles, le facteur dose d'hormone a un effet significatif. Cependant, au delà de 4000 ppm d'AIB le développement des feuilles subit une régression.

La biomasse fraîche et sèche produite par les différents organes (tiges, feuilles et racines) des boutures semi-ligneuses sont influencées par la dose d'hormone. Les plus importantes valeurs sont relevées sur les

traitements D₁, D₂ et D₃ alors que les plus faibles, elles sont enregistrées chez le traitement D₀.

L'apport exogène de l'AIB à différentes concentrations fait apparaître une influence des doses d'auxines sur la biomasse fraîche et sèche produite par les racines ainsi que sur leur aspect.

3.2- Micro-bouturage

3.2.1- Matériel végétal âgé

3.2.1.1- Contaminations

Les contaminations figurent parmi les contraintes les plus importantes à éliminer au cours de la mise en culture des différents explants du pistachier de l'Atlas "in vitro". Pour cela, plusieurs modes de désinfections ont été utilisés dans ce sens (Tableau 3.27).

Tableau 3.27 : Taux de contamination du matériel végétal âgé

Type de boutures	Mode de désinfection	Traitements anti-oxydants	Nombre initial d'explants	Nombre d'explants contaminés	Pourcentage de contaminations
	M ₁	T ₁	48	36	75.00
	M ₂	T ₁	48	37	77.08
	M ₃	T ₁	48	36	75.00
	M ₄	T ₁	48	24	50.00

Boutures herbacées	M ₅	T ₁	48	26	54.16
	M ₆	T ₁	48	24	50.00
	M ₇	T ₁	48	25	52.08
	M ₈	T ₁	48	20	41.66
	M ₁₀	T ₁	48	22	45.83
	M ₁₁	T ₁	48	26	54.16
	M ₁₂	T ₁	48	16	33.33
	M ₁₃	T ₁	48	10	20.83
	M ₁₄	T ₁	48	15	31.25
	M ₁₅	T ₁	48	20	41.66
Boutures semi-ligneuses	M ₁₃	T ₂	48	18	37.50
	M ₁	T ₁	48	27	56.25
	M ₂	T ₁	48	48	100.00
	M ₉	T ₂	48	21	43.75
	M ₁₂	T ₃	48	20	41.66
Bourgeons isolés	M ₁₃	T ₃	48	32	66.66
Total			960	503	52.39

Malgré le caractère drastique de la désinfection, nous avons obtenu des taux de contaminations bactériennes et fongiques élevés. Qu'ils s'agissent de contaminations cryptogamiques ou de contamination bactériennes, ils constituent ensemble un obstacle à surmonter lors de la mise en culture des différents explants du matériel âgé.

S'agissant de contaminations cryptogamiques, il apparaît à la surface du milieu et aux alentours des explants un développement mycélien à texture feutrée, souvent vert ou noir. Il s'agit de *Penicillium sp* ou de *Aspergillus niger* (Figure 3.21).

Cependant, quand il s'agit de contaminations bactériennes, c'est un voile d'aspect laiteux qui apparaît à la surface du milieu de culture. Ce voile est quelques fois coloré en rose ou en jaune. Il s'agit de *Streptococcus groupe D* (Figure 3.22).

La plupart des infections prennent naissance sur le milieu de culture au contact du matériel végétal, puis finissent par envahir toute la surface du milieu de culture, ce qui nous permet de dire que les tissus végétaux eux mêmes sont la source de l'infection. Selon [67], certains tissus peuvent héberger des pathogènes internes, que les méthodes de désinfections classiques ne peuvent pas éliminer, d'ou l'utilisation d'antibiotiques dans le milieu de culture. L'incorporation d'antibiotiques (pénicilline, terramycine, streptomycine de 0.1 à 10

ppm) au milieu de culture est en vue de leur action bactéricide. Ces antibiotiques ont parfois manifesté un effet stimulateur de la croissance [44].

D'autres infections partent d'un point quelconques du milieu de culture, ce qui nous permet d'attribuer l'infection à une erreur de manipulations survenue durant le parcours de la mise en culture.

Cependant on a pu noter des observations différentes en utilisant soit l'hypochlorite de sodium, soit l'hypochlorite de calcium comme désinfectants.

* Premier cas : Utilisation de l'hypochlorite de sodium

- Les fortes concentrations d'hypochlorite de sodium, représenté par les modes de désinfection M₁, M₂, M₃, M₄, M₅, M₆, M₇ et M₈ présentent des taux de contaminations les plus élevés ce qui paraît être un fait contradictoire; le taux maximum de contamination obtenu est de 77.08 % pour M₂, et le taux minimum de contamination est de 41.66 % pour le M₈.

Les explants ne présentant pas de contamination, prennent une coloration noirâtre et ne présentent pas de cals à la base sectionnée, même après deux mois de culture (Figure 3.23).

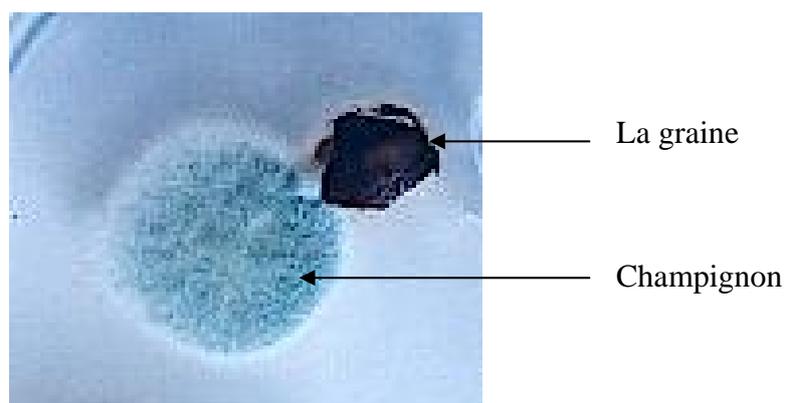
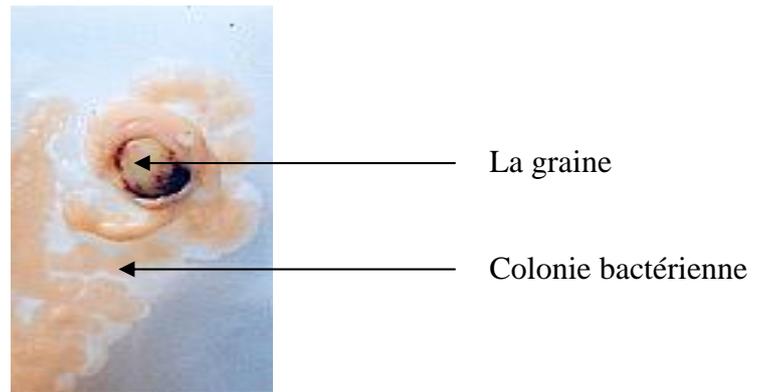


Figure 3.21 : Contamination cryptogamique sur le semis "in vitro"
Penicillium sp ou de *Aspergillus niger*



Streptococcus groupe D

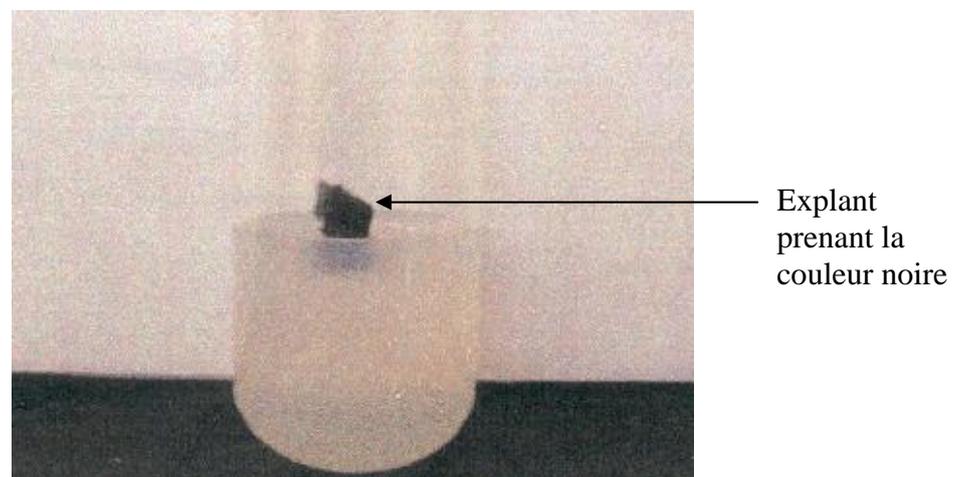


Figure 3.23 : Aspect des explants du matériel végétal âgé non débouffés et non contaminés

* Deuxième cas : Utilisation de l'hypochlorite de calcium, c'est à dire M₉, M₁₀, M₁₁, M₁₂, M₁₃, M₁₄ et M₁₅.

Les taux de contaminations paraissent plus ou moins diminués par rapport à celles observées avec l'hypochlorite de sodium. Ainsi on a pu obtenir le taux de contamination le moins élevé (20.83 %) avec le désinfectant M₁₃ pour les boutures herbacées, et un taux de contamination de 41.66 % avec le désinfectant M₁₂ pour les boutures semi-ligneuses.

Les explants qui restent sains gardent toujours leur intégrité avec la formation d'un cal cicatriciel à la base de l'explant, au contact avec le milieu de culture.

D'après ces observations, on peut dire que l'hypochlorite de calcium paraît moins agressif que l'hypochlorite de sodium.

Selon AUGÉ et al [29], l'hypochlorite de calcium est le plus utilisé dans la désinfection, car il ne pénètre pratiquement pas dans les tissus, c'est un produit peu stable en solution aqueuse. Par contre, l'hypochlorite de sodium pénètre dans les tissus et provoque l'altération de ces derniers, qui finissent par se nécroser.

La détérioration des tissus est d'autant plus accentuée que la dose du désinfectant est élevée. Ce ci provoque la libération continue et l'oxydation des phénols dans les tissus.

L'explant nécrosé sera plus exposé aux contaminations. De même, l'absence de cals cicatriciels ainsi que la coloration noirâtre de l'explant sont dus à la détérioration des tissus externes et même internes par l'hypochlorite de sodium.

Pour toutes ces raisons la désinfection avec l'hypochlorite de sodium fut abandonnée. Nous avons alors adopté le mode de désinfection M₁₃ pour les boutures herbacées, dont la concentration de l'hypochlorite de calcium est de 6 % avec un temps de trempage de 5 mn, et M₁₂ pour les boutures semi-ligneuses dont la concentration est de 6 % avec un temps de trempage de 10 mn.

3.2.1.2- Sécrétions phénoliques

Selon le type de traitement anti-oxydant, le mode de désinfection et le type d'explant utilisé, la sécrétion des phénols s'est avérée différente d'un traitement à un autre (Tableau 3.28).

Tableau 3.28 : Sécrétion des phénols du matériel végétal âgé

Type de boutures	Mode de désinfection	Traitements anti-oxydants	Sécrétion des phénols
	M ₁	T ₁	
	M ₂	T ₁	
	M ₃	T ₁	

Boutures herbacées	M4	T1	(++)
	M5	T1	
	M6	T1	
	M7	T1	
	M8	T1	
	M10	T1	(0)
M11	T1		
M12	T1		
M13	T1		
M14	T1		
M15	T1	(0)	
M13	T2		
Boutures semi-ligneuses	M1	T1	(++)
	M2	T1	
	M9	T2	(+)
	M12	T3	
Bourgeons isolés	M13	T3	(+++)

(0) Absence de phénols dans le milieu de culture

(+) Présence de phénols, seulement autour de l'explant et disparition après un seul repiquage dans un milieu frais

(+ +) Brunissement de la moitié du milieu de culture et disparition après 2 à 3 repiquage dans un milieu frais

(+ + +) Brunissement total du milieu de culture, et qui persiste même après trois repiquages dans un milieu frais.

Après la préparation et la mise en culture de l'explant, on assiste souvent à un brunissement des cellules lésées. Ce phénomène est dû à l'oxydation des substances phénoliques qui ont un effet toxique, entraînant la mort des cellules. Ces dernières peuvent diminuer ou annuler les échanges entre l'explant et le milieu de culture

A l'instar des résultats observés du tableau ci-dessus, nous pouvons dire que la sécrétion des phénols est influencée à la fois par le type d'explant, le mode de désinfection et le traitement anti-oxydant.

Selon le type d'explant mis en culture, on constate que les bourgeons isolés en voie de débourrement libèrent une quantité importante de phénols, et de façon continue en utilisant le traitement anti-oxydant T3. Celui-ci est considéré comme le traitement le plus fort du point de vue concentration en acide ascorbique. On

signale que l'explant est trempé dans une solution d'acide ascorbique à 0.5 g.l^{-1} pendant 20 mn avant la mise en culture et que le milieu de culture en contient 0.2 g.l^{-1} .

Ceci peut s'expliquer par le fait que ces explants possèdent des méristèmes apicaux très développées (actifs) qui selon MARGARA [44] sont les tissus les plus sécréteurs des composés phénoliques. Pour toutes ces raisons et d'autres que nos manipulations avec ce type d'explants ont été limitées.

Cependant, pour ce qui est des boutures herbacées et semi-ligneuses, la libération des phénols est nettement limitée, seulement il faut noter que pour les boutures herbacées le brunissement du milieu de culture a été totalement éliminé, en appliquant le traitement T₂.

Or le même traitement T₂ et T₃ provoquent chez les boutures semi-ligneuses une libération d'une faible quantité de phénols. Nous y avons remédié par un repiquage fréquent dans le même milieu de culture frais, et cela afin d'éviter tout risque de nécroses phénoliques.

Cette différence de libération des phénols entre les deux types de boutures (herbacées et semi-ligneuses), peut être due selon AIT CHITT [87] à l'âge des tissus, car les tissus jeunes brunissent moins que les tissus lignifiés.

Suite à ces résultats, nous avons orienté notre travail vers la mise en culture des boutures herbacées plus que des boutures semi-ligneuses.

3.2.1.3- Débourrement

Le débourrement qui constitue le premier but à atteindre après la mise en culture des bourgeons axillaires, n'a pas été important. Cependant, quelques bourgeons ont débourré mais leur nombre reste très limité (Tableau 3.29).

Tableau 3.29 : Débourrements obtenus sur le matériel végétal âgé

Type de boutures	Mode de désinfection	Traitements anti-oxydants	Nombre d'explants sains débourrés	Pourcentage	Nombre d'explants sains non débourrés	Pourcentage
Boutures herbacées	M ₁	T ₁	0	0	12	25.00
	M ₂	T ₁	0	0	11	22.91
	M ₃	T ₁	0	0	12	25.00
	M ₄	T ₁	0	0	24	50.00
	M ₅	T ₁	0	0	22	45.83
	M ₆	T ₁	0	0	24	50.00
	M ₇	T ₁	0	0	23	47.91
	M ₈	T ₁	0	0	28	58.33
	M ₁₀	T ₁	0	0	26	54.16
	M ₁₁	T ₁	0	0	22	45.83
	M ₁₂	T ₁	0	0	32	66.66
	M ₁₃	T ₁	3	6.25	35	79.16
	M ₁₄	T ₁	0	0	33	68.75
	M ₁₅	T ₁	0	0	28	58.33
		M ₁₃	T ₂	3	6.25	27
Boutures semi-ligneuses	M ₁	T ₁	6	12.50	15	43.75
	M ₂	T ₁	0	0	0	0
	M ₉	T ₂	0	0	27	56.25
	M ₁₂	T ₃	2	2	26	58.33
Bourgeons isolés	M ₁₃	T ₃	0	0	16	33.33
Total			14	1.45	443	46.14

Trois semaines après la mise en culture, quelques explants parmi la totalité des explants sains ont présenté une réaction positive, qui se manifeste par le débourement de leurs bourgeons axillaires, mais ce nombre reste encore une fois très limité, d'où un taux de débourement "in vitro" faible, ceci pourrait être dû :

* Aux fortes concentrations des désinfectants qui peuvent altérer totalement l'explant, ce qui rend impossible son débourement. Ce cas est constaté surtout chez les boutures herbacées désinfectées à l'hypochlorite de sodium.

* A l'inaptitude à débourrer qui semble être dû à la présence de cal cicatriciel important qui se forme à la base de la bouture, et limite ainsi, les échanges entre le milieu de culture et l'explant (le méristème caulinaire). Il est à noter que la formation de cals est d'autant plus accentuée que le milieu de culture est riche en hormones de croissance.

* A d'autres facteurs qui déterminent la réussite ou l'échec de cette étape initiale, qui est le débourrement, ainsi :

- D'après BOXUS et QUOIRIN [86], AUGÉ et al [29] et RENE et al [88], en culture "in vitro", il se peut que même si les conditions sont favorables, les bourgeons ne débourrent pas, parce qu'ils sont soumis à un état dit de dormance.

- l'âge du pied mère

La réaction des explants peut varier dans une très large mesure selon l'âge des pieds-mères. En règle générale, ce sont les plantes jeunes qui fournissent les explants les plus réactifs, les potentialités diminuent avec l'âge [44] et [29].

Rappelons que notre matériel végétal utilisé en culture "in vitro" est prélevé à partir de pied mère âgés (adultes).

- Le milieu de culture

La composition minérale et la présence ou l'absence des hormones de croissance peuvent influencer positivement ou négativement sur la réactivité de l'explant mis en culture.

La présence d'un gros cal à la base des micro-boutures indique que le milieu de culture ne présente pas un équilibre optimum soit en sels minéraux soit en régulateurs de croissance.

3.2.1.4- Allongement des bourgeons débourrés

Pour atteindre notre 2^{ème} but qui est l'élongation des bourgeons débourrés, et afin de stimuler la croissance des vitro-plants obtenus après débourrement, nous avons d'abord éliminé le cal cicatriciel formé à la base des micro-boutures et nous les avons transféré sur le même milieu de culture MS/2 contenant 0.1 mg.l⁻¹ d'AIA et 0.2 mg.l⁻¹ de BAP pendant une durée de 1 mois, suivie d'une subculture sur un milieu d'allongement contenant seulement 3 mg.l⁻¹ d'AG₃ (sans AIA et sans BAP) et cela dans l'espoir de voir les explants se développer et surtout de s'allonger.

Plusieurs auteurs signalent l'effet favorable des gibbérellines surtout l'AG₃ sur la stimulation de l'allongement des entre-nœuds [32], [44], [89], [29] et [88].

A travers ce traitement à l'AG₃, nos observations ont porté sur la longueur de la tigelle et le nombre de feuilles produites. Ces observations sont effectuées

au début du transfert sur le milieu contenant l'AG₃ et un mois après le transfert (Tableau 3.30).

Tableau 3.30 : Longueur de la tige et nombre de feuilles avant et à la fin de la mise en culture sur milieu contenant l'AG₃

N° du plant		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	Moyenne
Milieu sans AG ₃ (1)	Longueur (mm)	8	4	6	4	5	3	3	3	9	1	3	6	5	2	4.42
	Nombre de feuilles	8	2	2	4	2	1	1	3	4	2	1	2	1	1	2.42
Milieu avec AG ₃ (2)	Longueur (mm)	8	5	(*)	4	6	4	3	(*)	9	2	3	6	5	3	4.83
	Nombre de feuilles	7	1	(*)	5	3	3	3	(*)	2	2	2	1	2	3	2.83

(*) Plants contaminés

(1) Avant la mise en culture des explants sur milieu contenant l'AG₃.

(2) A la fin de la mise en culture sur le milieu contenant l'AG₃.

Quoique l'allongement obtenu après un mois de culture (sur le milieu de culture contenant de l'AG₃) reste faible, il y a eu quand même une réaction positive à l'AG₃. L'allongement moyen a augmenté de 0.41 mm, de même que le développement foliaire reste insuffisant du fait du dessèchement des feuilles en cours de culture, ainsi que la contamination des explants.

Devant ces résultats, on admet l'explication de RENE et al [88], qui note que les gibbérellines n'agissent que peu ou pas sur les fragments de tige, si on ne leur fournit pas de l'auxine, ce qui fait penser à l'existence d'une certaine synergie entre l'auxine et les gibbérellines.

Néanmoins, GUILLOT [90] note que les gibbérellines étant détruites à 90 % par autoclavage, il est nécessaire d'augmenter fortement la dose ou faire une préparation d'AG₃ à part, puis la stériliser par filtration sur filtre "millipore" et l'incorporer au milieu de culture déjà autoclavé sous une hotte stérile.

Il semblerait que la dose d'AG₃ utilisée est insuffisante. Il aurait été souhaitable de tester une autre gamme de concentration de l'AG₃ combinée à

l'AIB, si ce n'est le débourrement très faible et la détérioration des micro-boutures par les contaminations, qui apparaissent au fur et à mesure des transferts.

3.2.1.5- Conclusion partielle

La micro-propagation du pistachier de l'Atlas par bourgeonnement axillaire du matériel végétal âgé se heurte aux problèmes de sécrétion de phénols et des contaminations cryptogamiques et bactériennes.

La sécrétion de phénols, qui a constitué le problème majeur pour MAROK [77], s'est nettement limitée, voir supprimée, ceci grâce à l'utilisation des anti-oxydants dont l'acide ascorbique.

Les résultats obtenus montrent que l'oxydation phénolique est influencée à la fois par le type d'explant et le mode de désinfection. Ce sont les bourgeons isolés qui sécrètent le plus de phénols par rapport aux boutures herbacées et semi-ligneuses. Pour cela, les bourgeons isolés ont été abandonnés pour s'orienter vers l'utilisation des boutures herbacées et semi-ligneuses.

Concernant les contaminations, l'ampleur des contaminations dans nos essais nous ont poussé à tester plusieurs modes de désinfection dont il ressort que :

- * l'hypochlorite de calcium est moins agressif que l'hypochlorite de sodium, qui provoque l'altération des tissus.

- * La désinfection avec l'hypochlorite de calcium à une concentration de 6 % pendant 5 mn (M₁₃) pour les boutures herbacées et 10 mn (M₁₂) pour les boutures semi-ligneuses a donné les taux de contamination les moins élevés.

- * Pour les débournements, les résultats obtenus sont très faibles mais encourageants, car on a pu avoir un taux de débourrement de 0.83 % pour les boutures herbacées et 4.16 % pour les boutures semi-ligneuses.

Cependant, pour la croissance des bourgeons débourrés, et après leur mise en culture dans un milieu contenant 3 mg.l⁻¹ d'AG₃, nous n'avons pas obtenu une amélioration de leur croissance.

3.2.2- Matériel végétal âgé d'un an

3.2.2.1- Contaminations

L'utilisation d'un matériel végétal juvénile âgé d'un an "in vitro" n'exclut pas la présence de contamination du végétal d'où la nécessité de procéder à sa désinfection en premier lieu par une opération préliminaire qui consiste, en un lavage à l'eau et au mercuryl laurylé suivi d'un trempage dans une solution fongique. La désinfection proprement dite, est inspirée des modes de désinfection qui ont donné les meilleurs résultats sur le matériel végétal âgé (Tableau 3.31); c'est à dire le mode de désinfection M₁₂ avec 41.66 % de contamination pour les boutures semi-ligneuses et le M₁₃ avec un taux de contamination ayant atteint 20.83 % pour les boutures herbacées.

Il est à noter que le taux de contamination est fonction du nombre initial d'explant mis en culture. Ce nombre est lui même fonction de la disponibilité du matériel végétal à mettre en culture.

Les contaminations observées sur le matériel âgé d'un an sont de types bactériennes et fongiques. Il faut noter que l'ampleur des infections cryptogamiques rencontrée est supérieure aux infections bactériennes.

L'essai de désinfection avec l'hypochlorite de calcium à 6 % pendant 10 mn (M₁₂) nous a donné un taux maximum de contamination de 50 % pour les deux milieux de culture MS/2 et LEPOIVRE. Le taux de contamination le moins élevé est de 8.33 %.

En utilisant le mode de désinfection M₁₃, avec l'hypochlorite de calcium à 6 % pendant 5 mn pour le milieu de culture MS/2, les taux de contamination sont plus élevés, ils atteignent un maximum de 79.16 % et un minimum de 37.50 %.

En comparant les résultats obtenus sur le matériel végétal âgé d'un an et ceux obtenus sur le matériel végétal âgé, nous pouvons dire que le mode de désinfection M₁₂ paraît avoir apporté une nette amélioration.

On peut déduire que le temps de trempage dans le désinfectant, ainsi que la concentration de celui-ci sont à prendre en considération afin d'éliminer toutes les infections.

Toutefois les explants restant sains, gardent toujours leurs intégrité avec la formation dans certains cas d'un cal cicatriciel à la base au contact du milieu de culture.

Tableau 3.31 : Taux de contamination du matériel végétal âgé d'un an

Milieu de culture	Anti-oxydant	Mode de désinfection	Balance hormonale	Nombre initial d'explants	Nombre d'explants contaminés	Taux de contamination	Nombre d'explants sains
MS/2	T ₂	M ₁₂	R ₀	48	21	43.75	27
	T ₂	M ₁₂	R ₁	29	3	10.34	26
	T ₂	M ₁₂	R ₂	24	12	50.00	12
	T ₂	M ₁₂	R ₃	24	2	8.33	22
	T ₂	M ₁₂	R ₄	23	4	17.39	19
	T ₄	M ₁₃	R ₀	48	29	60.41	19
	T ₄	M ₁₃	R ₁	24	9	37.50	15
	T ₄	M ₁₃	R ₂	24	16	66.66	8
	T ₄	M ₁₃	R ₃	24	19	79.16	5
	T ₄	M ₁₃	R ₄	24	16	66.66	8
LE POIVRE	T ₂	M ₁₂	R ₀	24	12	50.00	12
	T ₂	M ₁₂	R ₁	28	10	35.71	18
	T ₂	M ₁₂	R ₂	28	5	17.85	23
	T ₂	M ₁₂	R ₃	28	10	35.71	18
	T ₂	M ₁₂	R ₄	30	8	26.66	22
Total				430	176	40.93	254

3.2.2.2- Sécrétions phénoliques

On a remarqué une absence totale de phénols dans les milieux de culture MS/2 et LEPOIVRE en utilisant le traitement antioxydant T₂.

Ce résultat confirme le résultat obtenu par le traitement anti-oxydant T₂ sur les boutures herbacées du matériel végétal âgé.

A l'inverse du traitement T₂, le traitement T₄ a manifesté la présence de phénols, seulement autour de l'explant et leur disparition se fait juste après le transfert des micro-boutures sur le même milieu frais.

A l'instar de ces résultats, nous avons constaté que la présence de l'acide ascorbique à faible concentration dans le milieu de culture limite la libération des phénols (qui sont des inhibiteurs du métabolisme intervenant dans de nombreux processus, soit comme antagonistes de substances de croissances soit comme inhibiteurs de réactions métaboliques) [29].

3.2.2.3- Débourrement

Selon le mode de désinfection, le traitement anti-oxydant et le rapport hormonal utilisé, le taux de débourrement s'est avéré différent d'un traitement à un autre (Tableau 3.32).

Tableau 3.32 : Nombre et taux de débourrement des micro-boutures issues d'un matériel végétal âgé d'un an

Milieu de culture	Anti-oxydant	Mode de désinfection	Balance hormonale	Nombre initial d'explants	Nombre d'explants débourrés	Taux de débourrement
MS/2	T ₂	M ₁₂	R ₀	48	8	16.66
	T ₂	M ₁₂	R ₁	29	8	27.58
	T ₂	M ₁₂	R ₂	24	5	20.83
	T ₂	M ₁₂	R ₃	24	12	50.00
	T ₂	M ₁₂	R ₄	23	7	30.43
	T ₄	M ₁₃	R ₀	48	7	14.58
	T ₄	M ₁₃	R ₁	24	7	29.16
	T ₄	M ₁₃	R ₂	24	3	12.50
	T ₄	M ₁₃	R ₃	24	1	4.16
	T ₄	M ₁₃	R ₄	24	2	8.33
LE POIVRE	T ₂	M ₁₂	R ₀	24	3	12.50
	T ₂	M ₁₂	R ₁	28	10	35.71
	T ₂	M ₁₂	R ₂	28	9	32.14
	T ₂	M ₁₂	R ₃	28	0	0
	T ₂	M ₁₂	R ₄	30	3	10.00
Total				430	85	19.76

Le taux de débourrement est calculé par rapport au nombre initial d'explant mis en culture de chaque traitement.

C'est au cours de la première semaine, après la mise en culture que nous avons observé un gonflement des bourgeons, suivi de leur débourrement. Le taux de débourrement le plus élevé est de 50 % ; il est enregistré avec le milieu de culture MS/2 dont le rapport hormonal est R₃ (AG₃ = 0.8 mg.l⁻¹ / AIB = 0.6 mg.l⁻¹), le mode des désinfection M₁₂ et le traitement anti-oxydant T₂, alors qu'un taux de

débourrement nul est obtenu avec le milieu de culture LEPOIVRE pour le même rapport hormonal, le même mode de désinfection et le traitement anti-oxydant.

Dans l'ensemble, les taux de débournements sont compris entre les valeurs extrêmes 4.16 % et 50 % (Tableau 3.32).

L'inaptitude à déboutrer semble être due selon nos observations à la présence d'un cal cicatriciel important qui se forme à la base des micro-boutures limitant ainsi les échanges entre le milieu de culture et le méristème caulinaire. Le cal formé peut entourer l'explant et empêcher ainsi son développement (débourrement).

Cependant, le taux de débourrement "in vitro" du pistachier de l'Atlas -en utilisant un matériel végétal herbacé âgé d'un an- s'est vu amélioré. En effet, on enregistre un total de 19.76 % sur 430 explants mis en culture contre 1.4 % sur 960 explants provenant d'un matériel âgé (adulte).

Donc, l'amélioration du taux de débourrement ne peut être due qu'à l'effet juvénile du végétal combiné au :

- Choix d'un mode de désinfection, permettant la désinfection du matériel végétal sans pour autant l'altérer
- Un anti-oxydant limitant la libération des phénols dans le milieu de culture
- Et enfin un choix d'un rapport hormonal exogène adéquat permettant la levée de dormance des bourgeons.

Selon AUGÉ et al [29], l'acide gibbérelline a une action sur le phénomène de levée de dormance des bourgeons cultivés en "in vitro".

Pour la plupart des rapports hormonaux étudiés, le débourrement des explants est satisfaisant.

3.2.2.4- Allongement des bourgeons déboutrés

Afin de stimuler l'élongation des bourgeons déboutrés provenant des micro-boutures de l'introduction primaire, nous avons procédé à l'élimination des cals cicatriciels formés à la base des micro-boutures, puis à les transférer sur le même milieu de culture contenant le même rapport hormonal (AG₃ / AIB).

Nous avons remarqué que l'allongement est plus important sur le milieu MS/2 avec le mode de désinfection M₁₂, le traitement anti-oxydant T₂ et le rapport hormonal R₃. L'application du rapport hormonal R₄ montre un taux d'allongement très faible (4.34 %).

L'utilisation du mode de désinfection M₁₃, et l'anti-oxydant T₄ en gardant le même milieu de culture (MS/2) et les mêmes rapports hormonaux, les explants débouffés n'ont enregistré aucun allongement.

De même, les explants cultivés sur le milieu LE POIVRE ne manifestent aucune réaction, l'allongement est nul en présence de régulateurs de croissance, seulement, il faut noter que sur ce même milieu, nous avons pu observer un allongement des tiges en l'absence de régulateurs de croissance.

Tableau 3.33 : Allongement des vitro-plants du matériel végétal âgé d'un an (mm)

Milieu de culture	Anti-oxydant	Mode de désinfection	Balance hormonale	Nombre initial d'explants	Nombre d'explants allongés	Taux d'explants allongés	Longueur des explants allongés
MS/2	T ₂	M ₁₂	R ₀	48	3	6.25	3.33
	T ₂	M ₁₂	R ₁	29	5	17.27	2.5
	T ₂	M ₁₂	R ₂	24	0	0	-
	T ₂	M ₁₂	R ₃	24	5	20.83	9.33
	T ₂	M ₁₂	R ₄	23	1	4.34	5
	T ₄	M ₁₃	R ₀	48	0	0	-
	T ₄	M ₁₃	R ₁	24	0	0	-
	T ₄	M ₁₃	R ₂	24	0	0	-
	T ₄	M ₁₃	R ₃	24	0	0	-
	T ₄	M ₁₃	R ₄	24	0	0	-
LE POIVRE	T ₂	M ₁₂	R ₀	24	3	12.50	3.60
	T ₂	M ₁₂	R ₁	28	0	0	-
	T ₂	M ₁₂	R ₂	28	0	0	-
	T ₂	M ₁₂	R ₃	28	0	0	-
	T ₂	M ₁₂	R ₄	30	0	0	-
Total				430	17	3.95	4.99

Il en ressort de nos observations que le milieu MS/2 semble être le plus favorable à stimuler l'allongement des bourgeons.

La croissance en longueur des vitro-plants après un mois de mise en culture est faible pour l'ensemble des rapports hormonaux sauf pour le traitement R₃, où on a obtenu un allongement plus ou moins élevé avec une moyenne de 9.33 mm.

Quoique l'allongement obtenu semble être similaire et faible pour l'ensemble des bourgeons débouffés, on note une réaction positive à l'AG₃ surtout au niveau du traitement R₃ du milieu MS/2 (Figure 3.24).

Les micro-boutures mises en culture ne présentent aucun enracinement quelque soit le milieu de culture utilisé et les concentrations d'AIB.

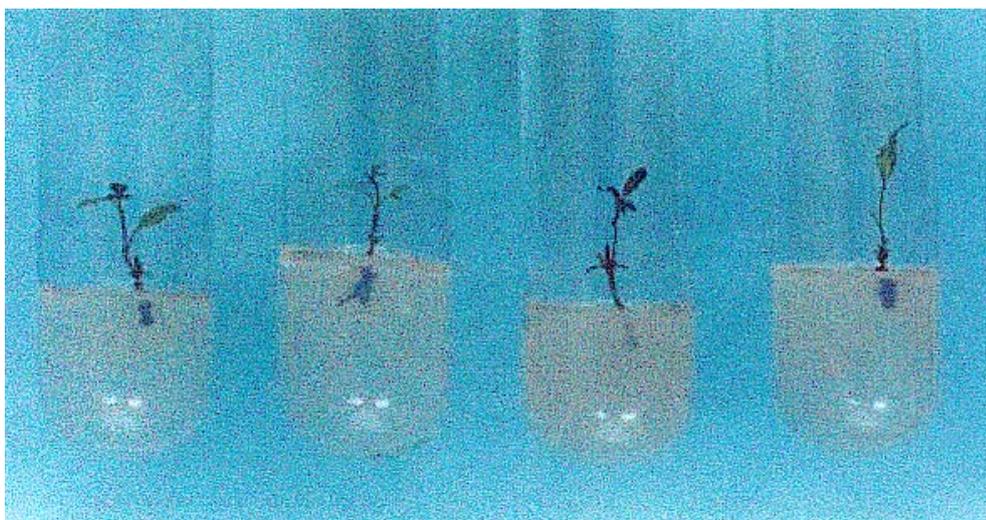


Figure 3.24 : Allongement des bourgeons débouffés des micro-boutures issus du matériel végétal âgé d'un an

3.2.2.5- Conclusion partielle

Afin de déterminer les possibilités de multiplication végétatives du pistachier de l'Atlas par bourgeonnement axillaire "in vitro", nous avons utilisé des micro-boutures issues de plants âgés d'un an, comme nous avons testé deux milieux de culture MS/2 et LE POIVRE. Différents modes de désinfection, traitements anti-oxydant et rapport hormonaux ont été utilisés.

Les résultats que nous avons obtenu montrent que le mode de désinfection M₁₂ apparaît le plus adéquat car il a beaucoup limité les contaminations.

Les essais menés ont montré que la présence de 0.1 g.l⁻¹ d'acide ascorbique dans le milieu de culture, ainsi qu'un trempage du matériel végétal dans une solution d'acide ascorbique 0.2 g.l⁻¹ pendant 60 mn (T₂) éviterait la libération des phénols.

L'utilisation des différents rapports hormonaux semble avoir des effets similaires sur la levée de dormance des bourgeons et de leur allongement. Cependant, le milieu MS/2 présente les meilleurs résultats par rapport au milieu LE POIVRE.

3.2.3- Matériel végétal issu de vitro-semis

3.2.3.1- Obtention de vitro-plants à partir d'un semis "in vitro"

3.2.3.1.1- Désinfection de la semence

La désinfection des graines par trempage à l'alcool 70° pendant 10 secondes suivit d'un trempage dans l'hypochlorite de calcium à 6 % pendant 10 min suivit d'un rinçage à l'eau distillée (M12), ne les a pas mis à l'abri des contaminations. En effet, les résultats observés sur les 720 graines mises en culture "in vitro" montre que 450 graines sont contaminées avec un taux de contamination de 62.5 %. Cela est dû selon ZRYD [67], à certains tissus qui peuvent héberger des pathogènes internes que les méthodes de désinfection classiques ne peuvent pas l'éliminer.

Parmi le 450 graines contaminées, 107 graines sont attaquées par des champignons c'est à dire 14.86 % et 343 graines c'est à dire 47.63 % présentent une contamination bactériennes.

3.2.3.1.2- Germination

Les graines du pistachier de l'Atlas, comme toutes les graines du genre *Pistacia* germent difficilement. Les taux de germination sont généralement faibles et dépassent rarement les 70 %.

Au cours de notre expérimentation nous avons enregistré un taux de germination très faible ; il est de l'ordre de 25.13 % (Tableau 3.34). La vitesse de germination été plus ou moins rapide, l'amplitude du temps moyen de germination se situe entre 6 à 12 jours. Nous avons pu distinguer 3 sortes de comportement des graines durant la germination.

- Des graines après un temps de latence de cinq jours, présentent un rythme de germination plus accéléré.
- Des graines après un temps de latence de 8 à 10 jours, qui ont des taux de germination très variable.
- Le reste des graines est caractérisé par un taux de germination faible ; le maximum de la germination est atteint au delà de 12 jours.

Ces variations de comportement de la germination peuvent s'expliquer par le fait que les graines présentent un état physiologique propre à chacune d'elles qui se traduit par des réserves cotylédonaire et une dormance embryonnaire très variables (Figure 3.25).





Figure 3.25 : Hétérogénéité des vitro-semis du pistachier de l'Atlas sur milieu LEPOIVRE (AG3/AIB) 0.6/0.4 après 4 semaines de culture

Des graines qui n'ont subi aucun changement peuvent ne pas présenter d'embryons, phénomène très connue chez le pistachier. L'écart temporel dans la période de pollinisation, l'incompatibilité des parents, ainsi que la distribution spatiale des arbres producteurs de pollen, sont les causes de l'existence de fruits parthénocarpiques.

Tableau 3.34 : Germination des graines "in vitro"

Milieu de culture	Balance hormonale (AG ₃ / AIB)	Nombre de graines mises à germer	Nombre de graines germées	Taux de germination
LE POIVRE	R ₀	72	18	25.00
	R ₁	72	15	20.83
	R ₂	72	18	25.00
	R ₃	72	20	27.77
	R ₄	72	27	37.50
MS/2	R ₀	72	15	20.83
	R ₁	72	22	30.55
	R ₂	72	15	20.83
	R ₃	72	16	22.22
	R ₄	72	15	20.83
Total		720	181	25.13

Cependant, le taux de germination le plus important est de 37.50 % pour le R₄ sur milieu LEPOIVRE, alors que le milieu MS/2 enregistre 30.55 % de germination pour le rapport hormonal R₁.

3.2.3.1.3- Longueur des vitro-semis

L'analyse de la variance a montré qu'il existe une différence significative au risque d'erreur 5 % pour la longueur des vitro-plants. Le test de NEWMAN et KEULS a révélé la présence de 5 groupes homogènes (Tableau 3.35).

Tableau 3.35 : Longueur moyenne des vitro-semis (cm)

Milieu de culture	Balance hormonale (AG ₃ / AIB)	Longueur des vitro-semis	
LE POIVRE	R ₀	3.37 ± 0.33	b
	R ₁	4.80 ± 0.81	a
	R ₂	3.27 ± 0.10	bc
	R ₃	3.57 ± 0.31	b
	R ₄	2.59 ± 0.25	cd
MS/2	R ₀	3.35 ± 0.20	bc
	R ₁	3.02 ± 0.33	bc
	R ₂	2.57 ± 0.15	cd
	R ₃	2.21 ± 0.19	d
	R ₄	2.25 ± 0.15	d

Le facteur milieu a montré une influence significative sur la croissance des vitro-semis. Ainsi, les meilleurs allongements sont enregistrés sur le milieu LEPOIVRE (Figure 3.26) avec 4.8 cm pour le rapport hormonal R₁. Les plus faibles moyennes sont enregistrées sur le milieu MS/2 avec le rapport hormonale R₃ et R₄.

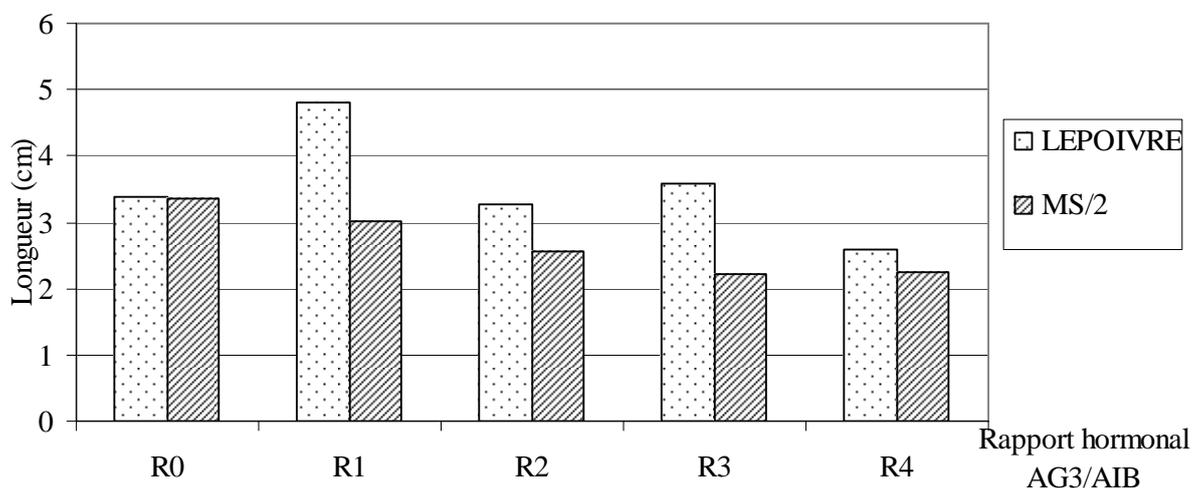


Figure 3.26 : Longueur des vitro-semis en fonction du milieu de culture et du rapport hormonal (AG₃ / AIB)

Les traitements témoins sans hormones présentent une bonne croissance.

La croissance en longueur des vitro-semis semble diminuer au fur et à mesure que la concentration (dose) des deux hormones du rapport (AG₃ / AIB) augmente. Cela peut être attribué au phénomène d'antagonisme qui résulte des doses supplémentaires d'hormones. Celles-ci provoquent un déséquilibre dans le métabolisme de la plante qui s'exprime par un blocage de la croissance. La plante dans les conditions naturelles synthétise de faibles doses d'hormones endogènes. L'addition des hormones exogènes (synthétiques) surtout les hormones rhizogènes peut compromettre l'allongement ultérieur de la tige. Selon MENYIER [91], il faudrait substituer les hormones de synthèse par d'autres hormones dégradantes par la plante comme l'AIA afin d'éviter les risques de surdoses.

3.2.3.1.4- Nombre de nœuds

L'analyse de la variance pour le nombre de nœud par vitro-semis montre que le facteur milieu n'a pas d'influence sur le nombre de nœuds. En revanche son interaction avec le facteur concentration hormonal (AG₃ / AIB) a montré une différence significative (Tableau 3.36).

Tableau 3.36 : Nombre de nœuds des vitro-semis

Milieu de culture	Balance hormonale (AG ₃ / AIB)	Nombre de noeuds par vitro-semis	
LE POIVRE	R ₀	2.40 ± 0.10	b
	R ₁	2.47 ± 0.11	b
	R ₂	1.67 ± 0.75	bc
	R ₃	1.87 ± 0.51	bc
	R ₄	1.33 ± 0.11	c
MS/2	R ₀	2.67 ± 0.15	a
	R ₁	2.40 ± 0.11	b
	R ₂	1.93 ± 0.61	bc
	R ₃	1.73 ± 0.70	bc
	R ₄	1.40 ± 0.12	c

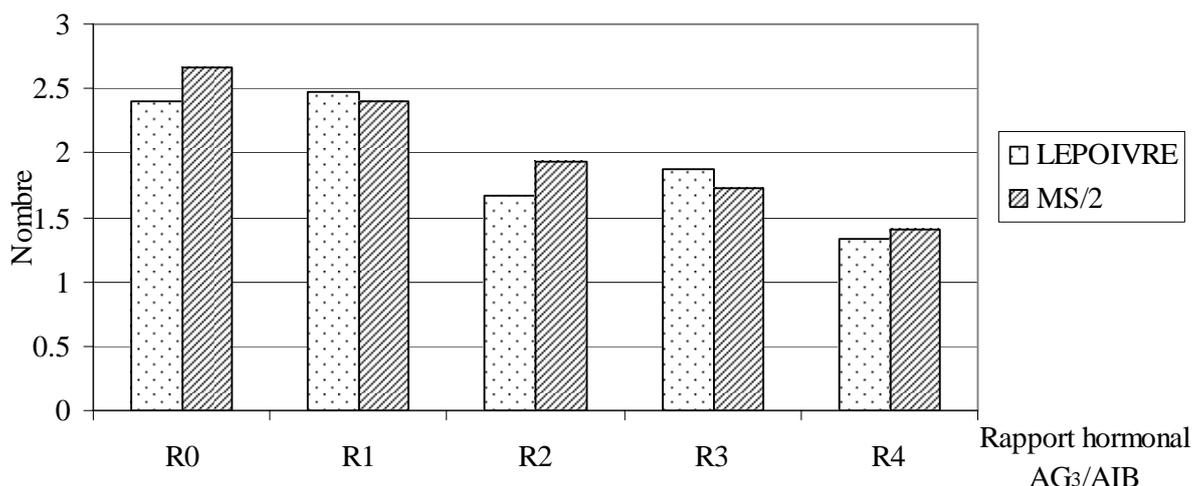


Figure 3.27 : Nombre moyen de nœuds des vitro-semis en fonction du milieu de culture et du rapport hormonal (AG_3 / AIB)

D'après les résultats obtenus, on remarque qu'après quatre semaines de la mise en culture, le nombre moyen de nœuds est compris entre 1 à 2 nœuds. Ce résultat est évidemment faible, si on doit multiplier en "in vitro".

3.2.3.2- Micro-propagation par micro-bouturage

3.2.3.2.1- Secrétions phénoliques

Après fragmentation des vitro-semis en micro-boutures, nous avons constaté une absence totale des phénols dans les deux milieux de culture MS/2 et LEPOIVRE. Ceci confirme les résultats obtenus sur le matériel végétal juvénile âgé (adulte) et âgé d'un an. En effet, l'addition de 0.1 g.l^{-1} d'acide ascorbique dans les milieux de culture empêche toute libération et oxydation des phénols. En plus, la juvénilité du matériel végétal participe aussi de sa part à la diminution de la sécrétion phénolique.

3.2.3.2.2- Débourrement

Les micro-boutures issues de vitro-semis dont la longueur est d'environ 1.5 cm sont repiquées sur les mêmes milieux de culture de départ.

Les taux de débourrement des micro-boutures ont été très élevés (Tableau 3.37). Ils atteignent les 92.85 % pour le milieu MS/2 avec un rapport hormonal R₂ (0.6/0.4). Les taux se rapprochent plus ou moins entre eux. Cependant, le plus

faible taux de débourrement est obtenu avec le milieu LEPOIVRE avec 68.18 % de réussite. L'utilisation de plantules aseptique permet d'éviter des pertes d'individus causées par le traumatisme éventuel des tissus des micro-boutures et en particulier celui des bourgeons par la stérilisation à l'hypochlorite de calcium.

Tableau 3.37 : Taux de débourrement des micro-boutures issues des vitro-semis

Milieu de culture	Balance hormonale	Nombre de micro-boutures de départ	Nombre de micro-boutures débourrées	Taux de réussite	Nombre de micro-boutures non débourrées
LE POIVRE	R ₀	26	18	69.23	8
	R ₁	20	15	75.00	5
	R ₂	13	11	84.61	2
	R ₃	15	11	73.22	4
	R ₄	22	15	68.18	7
MS/2	R ₀	21	18	85.71	3
	R ₁	17	14	82.35	3
	R ₂	14	13	92.85	1
	R ₃	23	16	69.56	7
	R ₄	20	16	80.00	4
Total		191	147	76.96	44

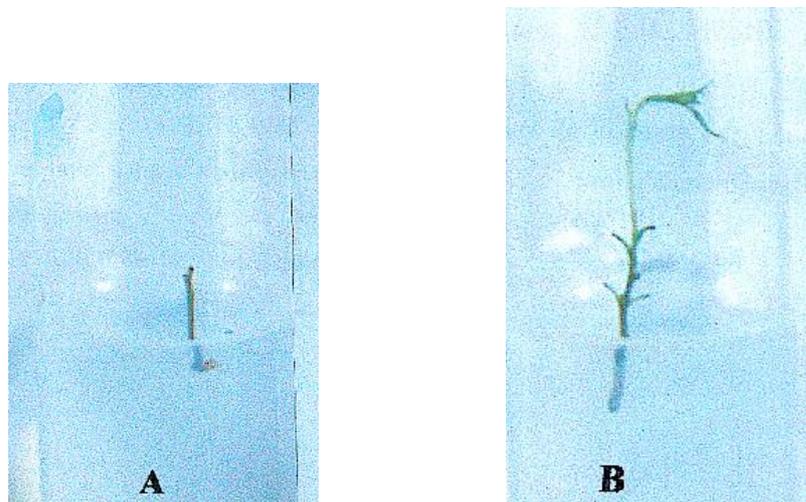
Une semaine après la mise en culture des micro-boutures, presque la totalité des bourgeons axillaires ont débourrés, cela se manifeste par un gonflement du bourgeon, suivi d'un écartement des écailles et enfin l'apparition des ébauches foliaires.

Les explants non débourrés présentent des cals à leur base, ce qui ne va pas sans empêcher une bonne alimentation.

La majorité des bourgeons manifestent un faible allongement après un mois de culture. Ils n'ont atteint en moyenne que 3 cm de longueur (Figure 3.28).

Durant les deux premières semaines, les micro-boutures ont eu un développement très rapide. Au delà de cette période, nous avons observé un arrêt brusque de la croissance dans les deux milieux de culture, avec la formation de cals à la base des micro-boutures. Ces cals gênent l'initiation racinaire et limite les échanges entre le milieu de culture et les méristèmes caulinaires. La formation du cal indique que le milieu de culture présente un déséquilibre, soit en sels minéraux soit en régulateurs de croissance.

Au bout de la 5^{ème} semaine de mise en culture, on observe des abscissions des feuilles et le brunissement des apex. Ceci est dû probablement à l'épuisement du milieu en éléments minéraux.



(A) au moment de la mise en culture (B) Deux semaines après la mise en culture

Figure 3.28 : Evolution d'une micro-bouture issue d'un vitro-semis sur milieu LEPOIVRE sans hormones

3.2.3.2.3- Conclusion partielle

L'utilisation des vitro-semis dans le but de multiplier le pistachier de l'Atlas, semble être une voie prometteuse. En effet, le taux de débourrement des micro-boutures issues des vitro-semis est amélioré. Ainsi sur les 191 micro-boutures mises en culture, 147 ont débourrés, ce qui correspond à 76.96 %. Le matériel végétal âgé (adulte) et âgé d'un an, présentent quant à eux, respectivement un taux de débourrement de 1.45 % et 19.76 %. La jeunesse du matériel végétal (vitro-semis) et l'élimination des effets néfastes des produits de stérilisation, font que la réactivité de ce matériel soit meilleure.

CONCLUSION

Les résultats obtenus au cours de notre expérimentation nous permettent de dégager quelques éléments qui peuvent conduire à l'amélioration de la multiplication du pistachier de l'Atlas ; par macro-bouturage en utilisant un matériel végétal âgé ligneux et semi-ligneux, et par micro-bouturage en utilisant un matériel végétal âgé (adulte), âgé d'un an et un matériel végétal issu de vitro-semis.

En ce qui concerne le macro-bouturage, l'emploi d'un substrat composé de 100 % de sable semble être plus favorable à l'initiation racinaire des boutures ligneuses vu les qualités qu'il présente (aération, chaleur, drainage). Après l'initiation des racines, un apport en éléments minéraux est nécessaire vu l'inertie du substrat, alors que le substrat composé de 2/3 de fumier et 1/3 de sol, semble être défavorable à l'initiation racinaire (asphyxiant, basses températures). Mais au delà de cette phase; ce dernier semble être favorable au développements ultérieur des boutures.

L'amélioration de la technique repose aussi sur la maîtrise d'un traitement hormonal à l'AIB, nous avons constaté que la concentration de 4000 ppm donnait les meilleurs résultats.

Malgré l'absence d'une étude histologique, il est probable que le développement racinaire consécutif à un apport d'hormone sur le matériel végétal semi-ligneux semble être plus favorable à une bonne activité cambiale que sur un matériel végétal ligneux, et a de ce fait un effet sur le développement harmonieux entre la partie aérienne et la partie racinaire.

L'activité cambiale chez les boutures ligneuses et semi-ligneuses est limitée et concentrée au niveau du cal de cicatrisation, pour les boutures témoins sans AIB. Alors que les boutures traitées à l'AIB, leur activité cambiale est plus prononcée, avec l'augmentation de la dose d'AIB. Elle aboutit à la formation de racines adventives non seulement au niveau du cal de cicatrisation mais aussi tout au long de la partie enfoncée dans le substrat.

En vue de l'obtention a disposition rapide d'un nombre élevé de plants, la méthode de multiplication "in vitro" peut constituer, une alternative à la technique du bouturage ligneux et semi-ligneux, dans la mesure où tous les problèmes (de contaminations, de sécrétions phénoliques) seront résolus à ce niveau pour le pistachier de l'Atlas.

L'importance étendue des contaminations, dans notre essai nous a poussé à tester plusieurs modes de désinfection. La désinfection à l'hypochlorite de sodium, semble être plus agressive que l'hypochlorite de calcium quelque soit le matériel végétal utilisé.

Cependant la concentration de l'hypochlorite de calcium qui a donné le taux de contamination le moins élevé est de 6 % pendant 5 mn (M₁₃) pour les micro-boutures herbacées, et de 10 mn (M₁₂) pour les micro-boutures semi-ligneuses du matériel végétal âgé, ainsi que pour le matériel végétal âgé d'un an. Les résultats obtenus montrent que ces modes de désinfection se sont révélés être les plus adéquats pour limiter les contaminations.

L'utilisation d'un matériel végétal issu de vitro-semis élimine les effets néfastes des produits désinfectants.

La sécrétion des phénols s'est vue nettement limitée grâce à l'utilisation des anti-oxydants en particulier l'acide ascorbique. L'oxydation phénolique est directement influencée par le type d'explant, ce sont les bourgeons isolés qui sécrètent le plus souvent des phénols que les micro-boutures semi-ligneuses et les micro-boutures herbacées.

La présence de l'acide ascorbique à la dose de 0.1 g.l⁻¹ dans le milieu de culture et un trempage du matériel végétal dans une solution d'acide ascorbique de 0.2 g.l⁻¹ empêchent la libération des phénols.

Les résultats obtenus sur les différents milieux testés confirment l'importance à accorder à la nutrition minérale du matériel végétal produit "in vitro". Cependant le milieu MS/2 présente les meilleurs résultats de débourrement et d'allongement par rapport au milieu LE POIVRE

Le taux de débourrement des micro-boutures issues de vitro-semis s'est vu nettement amélioré avec 76.96 % contre 1.45 % pour le matériel végétal âgé (adulte) et 19.76 % pour le matériel végétal âgé d'un an. RANCILLAC [92] souligne que les formes juvéniles des gymnospermes se sont toujours avérées plus réactives. Ainsi WALKER [93] signale qu'avec l'âge les plantes ligneuses acquièrent certains caractères tels que la floraison et perdent d'autres comme la capacité d'enracinement des boutures.

L'apport des différentes balances hormonales d'AG₃/AIB aux différents milieux de culture semble avoir des effets similaires sur le débourrement et l'allongement des bourgeons.

Quoi qu'il ait eu débourrement des bourgeons, l'allongement de leur axe reste faible (court), cela serait dû à la présence d'un cal cicatriciel à la base des

boutures. Ce dernier semble perturber les connexions vasculaires et être source de dérangement nutritionnel et de ce fait sur l'émission racinaire. Quelques soient l'origine des micro-boutures, celles-ci ne manifestent aucune capacité à émettre des racines.

Généralement, les racines se développent directement sur l'axe de la tige, ou indirectement à partir d'un cal cicatriciel. L'enracinement direct s'avère plus rapide que l'enracinement sur le cal cicatriciel [94].

Plusieurs auteurs incriminent les conditions inadéquates d'allongement des pousses feuillées, les conditions d'environnement "in vitro", la nature asphyxiante du milieu gélosé, la température et l'éclairage sur l'initiation racinaire.

De ce fait l'objectif visé par notre travail est partiellement atteint, la technique de multiplication traditionnelle par bouturage ligneux et semi-ligneux nous a permis d'obtenir des plants entiers, aptes à être plantés. Cependant, le taux de réussite reste faible. Dans ce sens, il faudrait employé d'autres substrats ou faudrait-il utilisé le sable pour l'initiation racinaire, ensuite transplanter les boutures sur le substrat S₂ pour leur développement ultérieur, ou faudrait-il employé les deux substrat en strates, l'un en surface composé de sable ou se fera l'initiation racinaire, le deuxième en dessous composé de fumier et de sol, où se fera l'allongement des racines et le développement ultérieur des plants racinés.

Pour le micro-bouturage, l'objectif tracé n'est pas atteint ou du moins atteint partiellement, nous avons mis en place des méthodes de désinfection du matériel végétal, ainsi que l'élimination des problèmes causés par les sécrétions phénoliques en utilisant des traitements anti-oxydants. Cependant l'élongation des bourgeons débouffés et l'initiation racinaire "in vitro" ne sont pas encore maîtrisées. Ceci nécessite une étude plus approfondie et plus longue. Des essais de trempage instantané, de la base des vitro-plants dans une hormone rhizogène, pourraient améliorer et initier la croissance et l'émission racinaire.

LISTE DES ABREVIATIONS

ABA	: Acide abscissique
AG ₃	: Acide gibbérellique
AIA	: Acide Indol Acétique
AIB	: Acide Indol Butyrique
AIP	: Acide B indolylpropionique
ANA	: Acide Naphtylcétique
BAP	: Benzyl amino-purine
cm	: Centimètre
g	: Gramme
g.l ⁻¹	: Gramme par litre
h	: Heure
M	: Mode de désinfection
m	: Mètre
mg.l ⁻¹	: Milligramme par litre
ml	: Millilitre
mm	: Millimètre
mn	: Minute
MS	: MURASHINGE et SKOOG
N	: Normalité
pH	: Potentiel hydrogène
p.p.m	: Partie par million
T	: Traitement anti-oxydant
UF	: Unité fourragère
2IP	: Isopentylaminopurine
2.4D	: Acide dichlorophénoxyacétique
°C	: Degré Celsius
%	: Pour cent

REFERENCES

1- ZOHARY M., "A monographical study of the genus *Pistacia palestina*", Journal Bot. J., Série 5, (1952), 187 - 228.

2- JOLEY E., "Pistachio", in JAYENS R.A. (ED) Nut tree culture in North America Hamden Conn., Northm Nut Grower Association Ed., (1979), 174 p.

3- WHITEHOUSE W.E., "The pistachio nut, a new crop for the Western United States", Econ. Bot., (1957), 281 - 231.

4- MONJAUZE A., "Note sur la régénération du bétoum par semis naturel dans la place d'essai de Kef. Lefaa", Bulletin de la société d'histoire naturelle de l'Afrique du Nord, Tome 57, (1968), 59 - 65.

5- MONJAUZE A., "Connaissance du bétoum *Pistacia atlantica Desf.*", Revue forestière française (4), (1980), 357 - 383.

6- MONJAUZE A., "Répartition et écologie de *Pistacia atlantica Desf.* en Algérie", bulletin de la société d'histoire naturelle de l'Afrique du Nord, tome 56, (1965), 128 p.

7- EMBERGER L., "Traité de botanique systématique", Ed. Masson & Cie. Paris, (1960), 1539 p.

8- MORSLI A., "Analyse de la floraison et la structure sexuelle d'un peuplement de *Pistacia atlantica Desf.* dans une daya de la région de Messaad", thèse Ing. INA. El Harrach, (1992), 57 p.

9- SALHI F., "Note sur deux espèces sahariennes le cyprès du Tassili et le pistachier de l'Atlas", in "Journées d'étude sur les zones arides et saharienne du 08 au 10 Avril 1997. Wilaya Ghadaya", Publication de l'institut national de recherches forestière (INRF), (1997), 34 - 39.

10- CHAIB DRAA M., "Contribution à l'étude d'un substrat en vue de la production de plants forestiers, cas de *Pistacia atlantica Desf.*", Thèse. Ing. INA El Harrach. Alger, (1994), 50 p.

11- KHICHANE M., "Etude de la morphogénèse et des rythmes de croissance du système racinaire du Jojoba *Simmondsia chinensis* Link et du pistachier de l'Atlas *Pistacia atlantica* Desf. Essai de production de plants en pépinière", Thèse Ing. INA El Harrach, (1988), 68 p.

12- AIT RADI A., "Multiplication par voie végétative et par semis de *Pistacia atlantica* Desf. et de *Atlantus altissima*", Thèse. Ing. INA. El Harrach, Alger, (1979), 40 p.

13- CRANE J.C. et IWAKIRI B.T., "The unique reponse of pistachio tree to inadequate winter chilling", Hort. Science, 14, (1981), 135 - 137.

14- EVERNOFF A.V., "Notes sur le pistachier", Pomologie française, 1, (1964), 115 - 123.

15- WOODROOF J.G., "The nuts, production processing products", Vol III. 2nd Ed., The AVI Publishing Comp, Inc. Westport Connecticut : (1979), file//A:/le%20pistachier%20au%20maroc.htm.

16- ALYAFI J., "Approche systématique et écologiques du genre *Pistacia* dans la région méditerranéenne", Thèse de 3^{ème} cycle. Faculté des sciences et techniques de ST-JEROME, Marseille, (1979), 180 p.

17- VARGAS F.J., "El pistachero : Algunos aspectos importantes del cultivo", Dans jornadas agràries de les guarrigues, maials (Lleida), Espagne. Publicaciones del CAMB, n° 33, Tarragona, (1985), 71-101.

18- HADJ HASSAN A. et KARDOUCH M., "Status of pistachio nut cultivation in syria", Dans : first international symposium on pistachio nut ISHS, Adna, Turquie, 1994, Eds. ACTA Horticulturae, 419, (1995), 221 - 227.

19- AOUDJIT H. et MOUISSA H., "Contribution à l'étude de la propagation végétative du pistachier de l'Atlas (*Pistacia atlantica* Desf)", Thèse ing. INA, EL-Harrach, Alger, (1997), 96 p.

20- ANONYME., "Le pistachier au Maroc". (1997), File://A:/le%20pistachier%20au%20maroc.htm.

21- OUADAH Y., "Contribution à l'étude des principales essences d'intérêt fourrager des régions semi-arides et arides d'Algérie. Application à quelques espèces", Thès. Ing. INA. El-Harrach, (1982), 96 p.

- 22- OZENDA P., "Flore de Sahara", Ed. CNRS, Paris, (1977), 622 p.
- 23- ALETA N., NINOT A., ROUSKS D., ZAKINTHINOS G., AVANZATO D. et MENDES GASPAR A., "La multiplication du pistachier in option méditerranéenne", série "B" étude et recherche n° 16. Amélioration d'espèce à fruit à coque: noyer amandier, pistachier. Ed.: E. GERMEN, (1997), 147 p.
- 24- KHELIL A., et KELLAL A., "Possibilité de culture et délimitation des zones à vocation pistachier en Algérie", Fruits, 35, (1980), 177 - 185.
- 25- MULLER C., "Conservation des graines et les problèmes de dormance chez les feuillus précieux. Frêne, merisier et grand érable", Revue forestière française. n° Spécial, (1992), 39 - 54.
- 26- MULLER C., "Point sur la conservation des semences forestières et la levée de dormance", Revue forestière française, n° 3, (1986), 65 - 71.
- 27- BROUSSE G., "Etude bibliographique sur la culture du Pistachier", Polycopié. I.N.A. El harrach, (1974), 40 p.
- 28- CHAUSSAT R. et DEUNFF Y., "Germination des semences", Ed BORDAS, (1975), 17 - 18.
- 29- AUGÉ R., BEAUCHESNE G., BOCCON G., DECOURTYL L., DIGAT B., JALOUZOT R., MINIER R. et MORAN J. CL., "La culture "in vitro" et ses applications horticoles", Technologie et documentation Ed. Lavoisier, Paris, (1989), 225 p.
- 30- MAZLIAK P., "Physiologie végétale", Tome 2. Croissance et développement. Ed. Hermann, (1982), 465 p.
- 31- CRANE J.C. et FORDE H.I., "Improved pistacia seed germination", California agriculture, 28 (9), (1974), 8 - 9.
- 32- CHAUSSAT R. et BIGOT C., "La multiplication végétative des plantes", Ed. Gauthier et Villars, Paris, (1980), 277 p.
- 33- MARTIN B., "Le bouturage des arbres forestiers. Progrès récents, perspectives de développement", Revue forestière française n° 4, (1977), 245 - 262.

- 34- LIARD O., "Un atout pour l'amélioration forestière : la reproduction asexuée ou végétative", Bull. Soc. Roy. For. De Belgique, 91 (5), (1984), 191 - 203.
- 35- CORNU D. et BOULAY M., "La multiplication végétative : Techniques horticoles et culture "in vitro", Revue forestière française n° spécial, (1986), 68 p.
- 36- PAQUES M., "Les biotechnologies appliquées aux conifères, état et perspectives", Information-forêt n° 1, fiche n° 525, (1996), 1 - 10.
- 37- CORNU D., "Amélioration des arbres forestiers", Revue forestière française n° spécial, (1986), 60 - 68.
- 38- CORNU D., GARBAYE J., LAPLACE Y., LETACON F. et PICARD J.F., "Le bouturage de feuillus divers", Revue Forestière Française n° 4, (1977), 279 - 284.
- 39- L'HELGOUALCH M., "Premières observations sur les capacités de rhizogénèse adventive du chêne vert (*Quercus ilex L.*)", Ann. Sci. For., 44 (3), (1987), 325 - 334.
- 40- BOUDRU M., "Boisement et reboisement artificiels", Ed. Les presses agronomiques de Gembloux Belgique, (1992), 343 p.
- 41- DJERAH A., "Contribution à l'étude de la multiplication végétative du pistachier vraie (*Pistacia vera L.*) dans la pépinière de Timgad", Th. Ing. Agro. Batna, (1991), 33 - 43.
- 42- HADJ BRAHIM I., "The pistachio tree", ACSAD. PS, (1993), 48 p.
- 43- WALALI L. et LOUSSERT R., "Bouturage semi-ligneux de l'olivier *Al awamia*", n° 70, (1990), 1 - 17.
- 44- MARGARA J., "Base de la multiplication végétative. Les méristèmes et l'organogénèse", Ed. INRA. Paris, (1984), 262 p.
- 45- JOURDAN J., GAGNAIRE-MICHARD J., PLEBIN P. et NEAU D., "Variations saisonnières des teneurs en amidon et en sucres solubles dans de jeunes peupliers en relation avec la rhizogénèse", AFOCEL-ARMEF, (1979), 201 - 218.

- 46- BESSAFA B., "Recherche sur l'amélioration des techniques de multiplication végétative du peuplier blanc. *Populus alba L.*", Thèse de magis I.N.A. El harrach, Alger, (1991), 179 p.
- 47- WIESMAN Z. et LAVEE S., "Relationship of carbohydrate source and indole-3-butyrique acid in olive cutting", Aust. J Plant physiol. n° 22, (1995), 811 - 816.
- 48- BERTHELLOT A., "Qualité des boutures de peuplier", AFOCEL. ARMEF. Information – Forêt. Fasc. 395. n° 3, (1990), 233 - 248.
- 49- FAVRE J.M., "Rhizogénèse : Aspects divers d'un processus d'organogénèse végétale", Annales de l'université d'Abidjan, série C. Sciences, (1977), 60 - 65.
- 50- ANONYME; "Peupliers et saules dans la production du bois et l'utilisation des terres", F.A.O. Rome, (1980), 346 p.
- 51- MARTIN B. et GUILLOT J., "Quelques essais de bouturage de l'aulne", Revue forestière française, n° 6, (1982), 381 - 391.
- 52- BOUTHERIN D. et BRON G., "Multiplication des plantes horticoles", Ed. Lavoisier Paris, (1989), 212 p.
- 53- BUVAT R., "Recherches sur la différenciation des cellules végétales", II. Cultures des tissus et tumeurs. Annu. Sci. Nat., 11^{ème} série Bot et Biol. Vég., 6, (1945), 1-119.
- 54- LOACH K., "Environmental condition for rooting cutting importance, measurement and control", Acta.Horticulture, n° 314, (1992), 233 - 242.
- 55- GAUTRY J.Y., "Pied-mères et bouturage de jeunes douglas", Ann. Rech. Sylvicoles. AFOCEL, (1983), 191 - 223.
- 56- MONCOUSIN C.H., "Etude de la rhizogénèse adventive", Revue horticole suisse. n° 61, (1988), 286 - 292.
- 57- SAFIR B., "Etude comparative de bouturage entre trois espèces de peuplier: *P. Albal.* *P. nigra*, *P. euphratica oliv.* et influence des sucres sur la rhizogénèse", Th. Ing. Agr. ITA. Mostaganem, (1995), 115 p.

58- MARTIN B. et QUILLET G., "Bouturage des arbres forestiers au Congo", Résultats des essais effectués à Pointe Noire de 1969 à 1973. Bois et forêts tropiques, (1974), 154 - 157.

59- WALLEY D.N. et LOACH K., "Influence des facteurs de l'environnement sur la formation de racines chez les boutures de plantes ornementales ligneuses", Compte rendu des séminaires du groupe d'étude des racines, Ed. Angers T5, (1977), 68 - 86.

60- GRANGE R. et LOACH K., "The effect of light on the rooting of leafy cutting", Journal of horticultural science, n° 27, (1985), 105 - 111.

61- POISSONNIER K.M., FRANCLLET A., DMANT M.J., et GAUTRY J.Y., "Enracinement des tiges "in vitro" de *Sequoia sempervirens*", AFOCEL, (1980), 231 - 251.

62- HELLER R., ESNAULT R. et LANCE C., "Physiologie végétale" (développement), Ed n° 6, Dunod, Paris, (2000), 366 p.

63- DETRICHE-ANGERS M., "Le développement de la bouture enracinée", Compte rendu des séminaires du groupe d'étude des racines, Ed. Angers T5, (1977), 87 - 92.

64- BOXUS PH., "La multiplication "in vitro", une biotechnologie intéressante pour le développement, ses perspectives industrielles", Annales de Gembloux 1985, (1989), 181-195.

65- FRANCOIS J.M., "La multiplication végétative des arbres forestiers", Forêt. Entreprise, n° 12, (1983), 10 - 15.

66- RAJNCHARPEL-MESSAI J. et GUERCHE P., "Méthodes "in vitro" et productions végétales", Biofuture, n° 19, (1985), 40 - 45.

67- ZRYD J.P., "Culture de cellules, tissus et organes végétaux. Fondement théorique et utilisations pratiques", Ed. Presses Polytechniques Romandes, Suisse, (1988), 308 p.

68- CORNU D. et VERGER M., "La multiplication végétative des feuillus précieux et de clones fournissant des bois figurés", Revue Forestière Française, n° spécial, (1992), 55- 60.

69- BOULAY M., "La culture "in vitro" ou micropropagation. Paysage – Actualités", (Août-Septembre 1981), 62 - 70.

70- GOACOULOU J., "Multiplication végétative et culture des plants "in vitro"", Ed. INRA, Paris, (1991), 17 - 38.

71- HAINES R.J., "La biotechnologie et l'amélioration des essences forestières", Orientations et priorités de la recherche. Unasyva, 177 (45), (1994), 46 - 52.

72- SAMAH M., "Opération culture "in vitro" - programme Pins -" in rapport annuel de la recherche forestière (1994-995), Ann. Beeh. For. Au Maroc, (1995), 8 - 13.

73- BOURGIN J.P., CHUPEAU Y., DORE C., PELETIER G. et DENARIER J.I., "La culture "in vitro" des tissus végétaux permettra-t-elle de créer de nouvelles plantes?", Extrait de la revue Sciences et Techniques, n° 31, (1979), 50 - 53.

74- RAHN M.J. et CHOLLET P., "Utilisation des cultures "in vitro" de fragments de tissus végétaux en horticulture", Horticulture. ENSA. Rennes, (1979), 178 - 184.

75- CHANTRE G., "Sélection clonale et qualité des bois", AFOCEL - ARMEF. Information – Foret. Fasci. 509 n° 2, (1995), 153 - 164.

76- GASPAR T., "Multiplication végétative des plantes supérieures par culture "in vitro"", (1988), 31 - 50.

77- MAROK A., "Introduction du pistachier de l'Atlas *Pistacia atlantica* Desf. à la culture "in vitro"", Thèse. Ing. Institut agronomique, Blida, (2000), 50 p.

78- CHATIBI A., KCHOUK M.L., ZEMNI H., et GHORBEI A., "Organogénèse "in vitro" du pistachier (*Pistacia vera* L.) cv. Mateur à partir de feuilles d'embryons zygotiques", In cahiers option méditerranéennes: Xème colloque du GREMPA volume 33, Apdo. 202.50080 Zaragoza (Espagne), (1998), 131 - 138.

79- MEDROS-MOLINA S. et TRUJILLO I., "Micropropagation of pistachio *Pistacia vera*", cv Mateur, Plant tissu cult 4 (2), (1994), 111 - 116.

80- ANSTETT A., et BIGOT C., "Le bon jardinier encyclopédie horticole", JEAN-NOEL BURTE, 153 Ed. la maison rustique, (1992), 604 p.

81- RENE S., "Biotechnologie", 4^{ème} édition. Paris, (1993), 904 p.

82- ROCHEFRETTE M., "Généralités sur les produits alimentaires", Eyrolles. Ed. Paris, (1974), 275 p.

83- LOSSERT R. et BROUSSE G., "L'olivier", Ed. G.P. Maisonneuve Larose, (1978), 447 p.

84- CHAARI R. et TRIGUI A., "Le bouturage semi-ligneux de la Chemlali de Sfax : contraintes et possibilités d'amélioration", *Olivae*, n° 61, (1996), 46 - 52.

85- COIC Y. et LESAIN T., "La nutrition minérale en eau des plantes horticoles avancées", Document technique S.F.P.A n° 23 CNRA, Versæ (1975), 21 p.

86- BOXUS PH. et QUOIRIN M., "La culture de méristèmes apicaux de quelques espèces de prunus", *Bull. Roy. Bot. Belgique*, (1974), 91 - 101.

87- AIT CHITT M., "Problèmes rencontrés en culture "in vitro" du palmier dattier *Phoenix dactylifera L.* par la technique d'organogenèse", in compte rendu du 2^{ème} séminaire Maghrébin sur la multiplication rapide du palmier dattier par les techniques de culture "in vitro", Marrakech (Octobre 1989), 27 - 36.

88- RENE H., ROBERT E., et CLAUDE L., "Physiologie végétale", 6^{ème} Ed. de l'abrégé, (2000), 366 p.

89- KHELIFI L., "Contribution à la mise au point d'une méthode de vitro propagation de Mélèze hybride (*Larix eurolepis Henry.*) à partir de graines", Thèse d'études approfondies de biologie végétale et forestière; Nancy, (1986), 61 p.

90- GUILLOT L., "La culture "in vitro", Rapport de stage laboratoire de physiologie des arbres", AFOCEL, NANGIS, centre de Nancy, (1980), 15 p.

91- MEYNIER V., "Application de quelques techniques de multiplication "in vitro" à la propagation végétative du Noyer", DEA biologie et physiologie végétal, Université Nancy France, (1982), 48 p.

92- RANCILLAC M., "Mise au point d'une méthode de multiplication végétative "in vitro" du pin maritime *Pinus pinaster Sol* pour la constitution de

clones à partir de semences", AFOCEL. Etude et recherche, 12, (1979), 41 - 48.

93- WALKER N., "*Sequois sempervirens*. Réjuvenilisation et culture de méristème en cascade", AFOCEL. Ann. Rech. Sylv., (1985), 585 - 600.

94- GRONROSS R. et VAN ARNOLD S., "Initiation of roots on hypocotyl cutting of *Pinus contorta* "in vitro"", physio. Plant, 69 (2), (1987), 227 - 236.