



Université Constantine 1 Frères Mentouri
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

جامعة قسنطينة 1
كلية علوم الطبيعة والحياة

Département : Biologie Végétale :

Mémoire présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Biotechnologies

Spécialité : Biotechnologie et Génomique Végétale

N° d'ordre :

N° de série :

Intitulé :

Multiplication végétative de l'arganier (*Argania spinosa* L. Skeels) par culture *in vitro*

Présenté par : DAIKH Charaf Eddine

Le : 25/06/2025

MERNIZ Abdeldjalil

Jury d'évaluation :

Président: Dr. KHENAOUI Amina (MCB., Université Constantine1 frères Mentouri).

Encadrant : Dr. MOUELLEF Adra (MCB., Université Constantine1 frères Mentouri).

Examinateur: Dr. HAMLA Chourouk (MCB., Université Constantine1 frères Mentouri).

**Année universitaire
2024 - 2025**

Remerciements

Nous tenons à remercier en premier, ALLAH le tout puissant de nous avoir donné la force d'achever ce travail, et qui nous a donné la patience, le courage et l'aide durant ces longues années.

On exprime notre profonde gratitude à Mlle. MOUËLLEF Adra qui nous a assuré une disposition sans bornes, étoffée de précieux conseils qui ont été cruciaux pour la réalisation de notre projet. Son soutien, sa patience et ses qualités humaines, nous ne les oublierons jamais.

On rend honneur à

Tous les membres du jury Mme KHENNAOUI A. et Mlle HAMLA Chourouk pour leur acceptation de faire partie de cette commission pour apprécier et évaluer ce travail.

On remercie fortement nos enseignants de la spécialité Biotechnologie et génomique végétale, pour la richesse et la qualité de leur enseignement et leurs grands efforts pour assurer à leurs étudiants une excellente formation.

Et bien sûr on remercie nos parents, nos frères et nos sœurs pour leurs efforts et soutien durant notre chemin universitaire.

Enfin, on adresse un grand merci à toutes personnes qui nous ont aidées de près ou de loin

Dédicace

*Tout d'abord, je tiens à remercier DIEU
De m'Avoir Donné la force et le courage de mener
À bien ce modeste travail.
Je tiens à dédier cet humble travail à :*

À ma tendre mère Nadia et mon très cher père Djamel.

*À mon Frère: Abdou
À mon binôme : Charaf
À mon amis : Mouhaimn*

Spécial dédicace à vous: madame. MOUËLLEF Adra

*À mes amis,
À tous mes professeurs,*

*Et À toute personne qui a contribué de près ou de loin
À la réalisation de ce projet de fin d'étude.*

Abdeljalil MERNIZ

Dédicace

Je tiens à dédier cet humble travail à :

À mon cher Père Djamel et ma chère Maman Amel pour leur amour, leur confiance et leur soutien indéfectible tout au long de mes études,

À mon cher frère Anis,

À mon adorable petite sœur Salsabil,

À mon grand-père ma grand-mère,

À ma Tante et mes oncles pour leur soutien toutes ces longues années,

À tout membre de ma famille,

À mes amis,

À notre encadrant madame MOUELLEF Adra,

À mon binôme Chakib puisse dieu conserver notre amitié,

*À tous ceux et celles qui m'ont soutenu de près ou de loin durant mon
Parcours d'étude.*

Charaf Eddine DAIKH

Multiplication végétative de l'arganier (*Argania spinosa* L. Skeels) par culture *in vitro*

Résumé

L'Arganier (*Argania spinosa* L. Skeels), est une espèce forestière, endémique du sud-ouest algérien, cette espèce est en voie de disparition. Sa régénération par voie naturelle est devenue impossible, et sa multiplication par des méthodes classiques reste difficile aussi. Dans ce contexte, le recours aux techniques de biotechnologie végétale s'avère nécessaire pour assurer la multiplication et la préservation de cette espèce. L'objectif de notre travail est de déterminer les conditions optimales pour la micropropagation de l'arganier par microbouturage. Un essai de multiplication *in vitro* a été réalisé à partir d'explants constitués de microboutures d'environ 1 cm de long. Ces microboutures ont été repiquées sur un milieu de culture Murashige et Skoog (MS) servant de témoin, ainsi que sur le même milieu enrichi avec sept différentes combinaisons hormonales d'auxines et de cytokinines. Les résultats obtenus démontrent l'efficacité du microbouturage dans la régénération de l'arganier, contribuant ainsi à sa multiplication et à la préservation de l'espèce. Les explants ont présenté des réactions variables en fonction des milieux de culture testés. Lors de la phase d'initiation, une activation des explants a été observée dans les traitements M2, M4, M5, M6 et M7, avec des degrés de réponse différents, après 45 jours de culture. En conclusion, les milieux de culture les plus favorables à la reprise de la végétation *in vitro* des explants d'arganier se sont révélés être les milieux MS enrichis en phytohormones ANA, BAP et Kin.

Mots clés :

Argania spinosa L., *in vitro*, micropropagation, hormones de croissance, régénération.

عن طريق الزراعة في المختبر (*Argania spinosa* L. Skeels)

2

شجرة الأركان (*Argania spinosa* L. Skeels) هي نوع غابي مستوطن في الجنوب الغربي من الجزائر، ويعتبر حالياً من الأنواع المهددة بالانقراض. أصبح التجدد الطبيعي شبه مستحيل، بالطرق التقليدية لا يزال صعباً. في هذا السياق، يبدو أن استخدام تقنيات التكنولوجيا الحيوية النباتية ضروري لضمان إكثار هذا النوع والحفاظ عليه. الهدف من هذه الدراسة هو تحديد الظروف المثلية للإكثار الدقيق لشجرة الأركان عن طريق التفرع الدقيق (microbouturage).

لإكثار داخل المختبر باستخدام أجزاء نباتية (explants) مكونة من فروع دقيقة بطول يقارب 1 سم، رُرّعت هذه الفروع على وسط غذائي من نوع MS (Murashige Skoog) كمجموعه شاهد، بالإضافة إلى زراعتها على نفس الوسط المضاف إليه سبعة تركيبات هرمونية مختلفة من الأوكسينات والسيتوكينيات. أظهرت النتائج فعالية تقنية القرع الدقيق في تجديد شجرة الأركان، مما يسهم في إكثارها والحفاظ عليها. وقد أثبتت الأجزاء النباتية سطح استجابات متباينة.

لوحظ تنشيط للأجزاء النباتية .
45 يوماً من الزراعة. وفي الختام، ثبّيَّن أن أنساب M7 M6 M5 الأوسمات الغذائية الملائمة لإعادة تنشيط الأجزاء الخضرية لشجرة الأركان *in vitro* هي MS - هي المدعَّم بـ هورمونات النبات Kin BAP NAA .

كلمات المفتاحية:

Argania spinosa L. التجدد هرمونات النمو الدقيق

Vegetative Propagation of Argan Tree (*Argania spinosa* L.) via *in vitro* Culture

Abstract:

Argan tree (*Argania spinosa* L. Skeels), is a forest species endemic to southwestern Algeria and is currently endangered. Natural regeneration has become nearly impossible, and its propagation through conventional methods remains difficult. In this context, the use of plant biotechnology techniques appears necessary to ensure both the multiplication and conservation of this species. The objective of this study is to determine the optimal conditions for the micropropagation of argan tree through microcutting. An *in vitro* propagation trial was conducted using explants consisting of microcuttings approximately 1 cm in length. These microcuttings were cultured on a Murashige and Skoog (MS) medium used as a control, as well as on the same medium supplemented with seven different hormonal combinations of auxins and cytokinins. The results obtained demonstrate the effectiveness of microcutting in the regeneration of the argan tree, thereby contributing to its multiplication and conservation. The explants exhibited variable responses depending on the culture media tested. During the initiation phase, explant activation was observed in treatments M2, M4, M5, M6, and M7, with varying degrees of response after 45 days of culture. In conclusion, the most favorable culture media for the *in vitro* vegetative growth of argan tree explants were found to be the MS mediums supplemented with phytohormones NAA, BAP, and Kin.

Keywords

Argania spinosa L., *in vitro*, micropropagation, growth hormones, regeneration.

Liste des abréviations

µm : micromètre.

AIA : Acide Indole Acétique.

AIB : Acide indole butyrique.

ANA : Acide -Naphtalène acétique.

BA : 6- Benzyladénine.

°C : degré Celsius.

Cm : Centimètre.

g: grammes

GA3 : Acide Gibbérellique

he : hectare.

KN : Kinétine.

L : Litre

mg/l : milligramme par litre.

mL : millilitre.

MS : Murashig et Skoog.

N : Normalité.

NAA : acide naphtalène acétique

pH : pouvoir Hydrogène.

Liste des figures

Figure 1 : Aire de répartition de l'arganier en Algérie	4
Figure 2: Aire de répartition de l“arganier au Maroc	5
Figure 3 : Morphologie de fruits d’arganier.....	7
Figure 4 : Les différentes parties du fruit de l’arganier (<i>Argania spinosa</i> L.).....	8
Figure 5 : Composition florale et boutons floraux avec styles apparents	9
Figure 6 : Feuilles de jeunes rameaux non épineux	10
Figure 7 : Types du tronc de l’arganier.....	11
Figure 8 : Elevage d'Arganier par semis, nouvelle pépinière de la conservation des forêts de la Wilaya d'Adrar.....	13
Figure 9 : Greffage en fente d“un plant de 8 mois	15
Figure 10 : les étapes de culture in vitro potentiel de culture in vitro de l' <i>Arganier</i> <i>spinosa</i>	18
Figure 11 : Jeunes plants d’arganier (<i>Argania spinosa</i> L.)	21
Figure 12 : Photos représente la mise en place de la expérience de la culture <i>in vitro</i> des explants d’arganier (<i>Argania spinosa</i>).....	22
Figure 13: Taux de contamination des explants.....	28
Figure 14 : Explants contaminés après 45 jours de mise en culture.....	28
Figure 15: Effet de l’équilibre hormonal sur le taux de débourrement.....	29
Figure 16 : Effet de l’équilibre hormonal sur le nombre des feuilles néoformées.....	30

Liste des tableaux

Tableau 1: Taxonomie et classification botanique.....	7
Tableau2: Composition de milieu de culture (Murashige et Skoog)	24
Tableau 3 : Type de régulateurs de croissance et leur solubilité.....	25
Tableau 4: combinaison hormonale du milieu d'initiation à la micropropagation.....	26

Sommaire

Sommaire

Résumé

Abstract

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste des abréviations

Introduction.....	1
-------------------	---

Chapitre 1 : Revues bibliographique

I. Présentation de la plante.....	3
1. Description botanique de l'arganier (<i>Argania spinosa</i> L. Skeels).....	3
2. Origine et Flor de l'arganier.....	3
2.1. Origine géographique.....	3
2.1.1. En Algérie.....	4
2.1.2. Au Maroc.....	4
2.2. Origine génétique et diversité de l'arganier.....	5
2.3. La flore de l'arganeraie de Tindouf.....	6
3. Taxonomie et présentation botanique.....	6
3.1. Taxonomie de l'Arganier.....	6
3.2. Présentation de système aérien de l'arganier.....	7
3.2.1. Fruit.....	7
3.2.2. Fleur.....	8
3.2.3. Feuille.....	9
4. Importance et usage de l'Arganier.....	10
4.1. Bois de l'Arganie.....	10
4.1.1. Utilisation du Bois.....	10
4.2. Utilisation alimentaire.....	11
4.3. Utilisation en médecine traditionnelle.....	11
4.4. Utilisation en cosmétique.....	11
4.5. Produits issus de l'arganier.....	12
4.5.1 Huile d'argan.....	12
5. Importance socio-économique.....	12
II. Multiplication de l'arganier.....	13
1. Multiplication par Semis.....	13
2. Multiplication par Bouturage.....	14
3. Multiplication par greffage.....	14
4. Multiplication par culture in vitro.....	15
4.1Principes de la culture in vitro.....	15
4.2 Définition, historique et fondements biologiques.....	16
4.3 Composition et rôle des milieux de culture.....	16
4.4 Étapes de la micropropagation.....	17
4.5 Micropropagation de l'arganier.....	17
5. Embryogenèse somatique chez l'arganier (<i>Argania spinosa</i> L.).....	18
5.1. Principe de l'embryogenèse somatique.....	19
5.2. Induction embryogénique chez l'arganier.....	19

5.3. Développement des embryons somatiques.....	19
5.4. Conversion des embryons en plantules.....	19
5.5. Facteurs influençant l'embryogenèse.....	19
5.6. Applications de l'embryogenèse chez l'arganier.....	20
6. Contraintes techniques de la culture in vitro chez l'arganier.....	20

Chapitre 2 : Matériel et méthodes

1. Matériel Végétal.....	21
2. Mise en place de l'essai : culture in vitro.....	21
2.1. Préparation des explants et mise en culture.....	22
2.1.1. Mise en culture.....	22
2.1.2. Conditions de culture.....	22
2.1.3. Préparation des explants et stérilisation.....	23
2.2. Choix et préparation des milieux de culture.....	23
2.2.1. Milieu de culture.....	23
2.2.2. Régulateurs de croissance.....	25
2.2.3. Application des traitements hormonaux.....	25
3. Suivi des cultures et paramètres observés.....	26

Chapitre 03 : Résultats et discussion

I-Résultats.....	27
1. Observation morphologique.....	27
2. Variation du taux de Contamination.....	28
3. Variation du taux de débourrement.....	29
4. Variation du taux de nombre moyen de feuilles.....	30
II. Discussion.....	31
Conclusion	34
Liste des références bibliographiques.....	36

Introduction

Introduction

L'arganier (*Argania spinosa* L. Skeels), est une espèce ligneuse de la famille des sapotacées. Il est endémique de l'Algérie et du Maroc (Benkheira, 2009), suscite depuis plusieurs décennies un intérêt croissant tant sur les plans écologique, économique que scientifique. Son importance provient non seulement de ses multiples usages (alimentaires, cosmétiques, médicinaux et énergétiques), mais aussi de sa résilience aux conditions arides et de sa richesse génétique encore peu exploitée (Charrouf & Guillaume, 2007 ; El Mousadik et al., 1996).

Cependant, malgré son fort potentiel socio-économique, la régénération naturelle de l'arganier demeure lente et peu efficace. La pression anthropique, le surpâturage, le faible taux de germination des graines, les changements climatiques, la pollution, la dégradation de son habitat naturel, ainsi que les attaques de ravageurs, contribuent à la raréfaction progressive de cette espèce, posant ainsi un réel problème de conservation (Nouaim et al., 2002). De plus, les méthodes classiques de multiplication végétative, telles que le bouturage ou le greffage, se révèlent souvent peu efficaces, longues et limitées en termes de rendement.

Face à l'inefficacité des méthodes traditionnelles de multiplication, les techniques de biotechnologie végétale, en particulier la culture *in vitro*, représentent une alternative stratégique. Elles permettent une production rapide, contrôlée et à grande échelle de plants sains et homogènes, tout en préservant le patrimoine génétique de l'espèce. Cette approche contribue non seulement à la conservation de l'arganier, mais aussi à son intégration dans des programmes de reforestation, d'agroforesterie et de développement durable.

Parmi les techniques de biotechnologie végétale, la culture *in vitro* et l'embryogenèse somatique se révèlent être des outils prometteurs pour améliorer la multiplication et la conservation de l'arganier (*Argania spinosa*). Elles permettent non seulement une reproduction clonale rapide et efficace, mais offrent également la possibilité d'approfondir la compréhension des mécanismes biologiques impliqués dans la régénération des espèces ligneuses (Nouaim et al., 2002). Cependant, la mise en œuvre de ces techniques chez l'arganier demeure complexe, en raison de plusieurs contraintes majeures : la sensibilité des explants à la contamination microbienne, la variabilité des réponses selon les écotypes, ainsi que les difficultés rencontrées lors des phases de débourrement, d'allongement caulinaire et d'induction racinaire.

Dans le but de répondre à cette problématique, ce travail a pour objectif d'identifier les conditions optimales de micropropagation de l'arganier. Ce mémoire est structuré en trois chapitres principaux, précédés d'une introduction :

-) **Le premier chapitre** propose une synthèse bibliographique sur l'origine de l'arganier, son importance socio-économique et écologique, sa description botanique, ainsi que les principales techniques de biotechnologie végétale.
-) **Le deuxième chapitre**, dédié aux matériel et méthodes, présente le matériel végétal utilisé, les conditions de culture *in vitro*, ainsi que les variables expérimentales prises en compte.
-) **Le troisième chapitre** est consacré à la présentation des résultats obtenus, suivie de leur analyse et de leur discussion.

Le mémoire se termine par une conclusion générale.

Chapitre I : Revues bibliographiques

I. Présentation de la plante

1. Description botanique de l'arganier (*Argania spinosa* L. Skeels)

L'arganier vient du mot arabe «Argan», d'origine berbère «irgen» qui désigne «tachelhait», qui est le noyau en bois dur de fruit de l'arbre, d'où les berbères tirent une huile réputée : huile d'argan (Rouhi, 1991).

L'arganier (*Argania spinosa* L. Skeels) est une espèce dicotylédone appartenant à la famille des Sapotaceae, ordre des Ericales (Morton et Voss, 1987). C'est un arbre endémique des zones arides et semi-arides du sud-ouest marocain, avec une présence localisée dans la région de Tindouf, en Algérie (Nouaim et al., 1996 ; Charrouf et Guillaume, 2007).

Cet arbre à feuillage persistant peut atteindre entre 8 et 10 mètres de hauteur. Il se distingue par son tronc noueux et épineux, ses feuilles simples, alternes et coriaces, adaptées aux environnements arides (Morton et Voss, 1987). L'arganier développe un système racinaire profond, lui conférant une forte résistance à la sécheresse et jouant un rôle essentiel dans la lutte contre l'érosion et la désertification (Charrouf et Guillaume, 2007).

La floraison de l'arganier est constituée de petites fleurs hermaphrodites, généralement groupées en grappes axillaires. Le fruit est une drupe charnue, contenant un noyau très dur appelé « amandon », renfermant une à trois graines riches en huile, largement valorisée pour ses propriétés alimentaires, cosmétiques et médicinales (Charrouf et Guillaume, 2010).

L'arganier présente également une importance écologique et socio-économique considérable, tout en étant une espèce adaptée aux conditions environnementales extrêmes, notamment les sols pauvres et les faibles précipitations (Nouaim et al., 1996). L'Arganier aime les climats chauds et secs et s'avère être un arbre gélif qu'il est impossible de cultiver en pleine terre sous nos latitudes. En climats tempérés, il est ainsi préférable de cultiver le plant d'Arganier en pot et de l'abriter sous serre pour l'hiver. Le système racinaire profond d'*Argania spinosa* nous constraint à employer des pots très profonds pour permettre le développement de l'arbre.

2. Origine et Flor de l'arganier

2.1. Origine géographique

L'arganier (*Argania spinosa* L. Skeels) est une espèce arborescente endémique du sud-ouest marocain, occupant une aire de répartition d'environ 830 000 hectares. Cette aire naturelle s'étend principalement sur les plaines du Souss, les versants des montagnes de l'Anti-Atlas et du Haut Atlas occidental, ainsi que le littoral atlantique entre Agadir et Essaouira (Msanda et

al., 2005). L'arganier prospère dans un climat aride à semi-aride, caractérisé par des températures élevées et une pluviométrie annuelle faible (100 à 400 mm), et s'adapte à des sols pauvres de nature calcaire, schisteuse ou sablo-argileuse (Msanda *et al.*, 2005). Il pousse entre 100 et 1 500 mètres d'altitude, selon les conditions écologiques locales (El Yousfi *et al.*, 2013).

Classée depuis 1998 comme réserve de biosphère par l'UNESCO, l'arganeraie représente non seulement une richesse écologique, mais aussi un patrimoine économique et culturel unique pour les populations rurales locales (UNESCO, 1998). Des introductions expérimentales ont été entreprises en dehors de son aire d'origine, notamment dans le sud-ouest algérien (Tindouf, Béchar), en Andalousie (Espagne), en Israël, Mexique et Tunisie, afin d'évaluer sa résilience au stress hydrique et son potentiel de valorisation agroforestière (Chakhchar *et al.*, 2018). Ces initiatives visent à étendre sa culture dans des zones arides similaires et à préserver cette espèce menacée par la surexploitation, la déforestation et les changements climatiques (Chakhchar *et al.*, 2018 ; Msanda *et al.*, 2005).

2.1.1. En Algérie

En Algérie, l'Arganier *Argania spinosa* (L) Skeels se trouve à l'état sauvage au nord-ouest de la wilaya de Tindouf, sur une superficie d'environ 56.000 ha à Tindouf (Kechairi, 2018). Plus précisément elle se situe entre le djebel Ouarkziz et la Hamada de Draa. Les peuplements d'arganier sont localisés essentiellement sur les lits de certains oueds, notamment à Oued El-Ma, Oued El Gahouene, Oued Bouyadhine, Oued El khebi, Oued Merkala et Oued Targant (Fig. 1) (Kechairi, 2009).

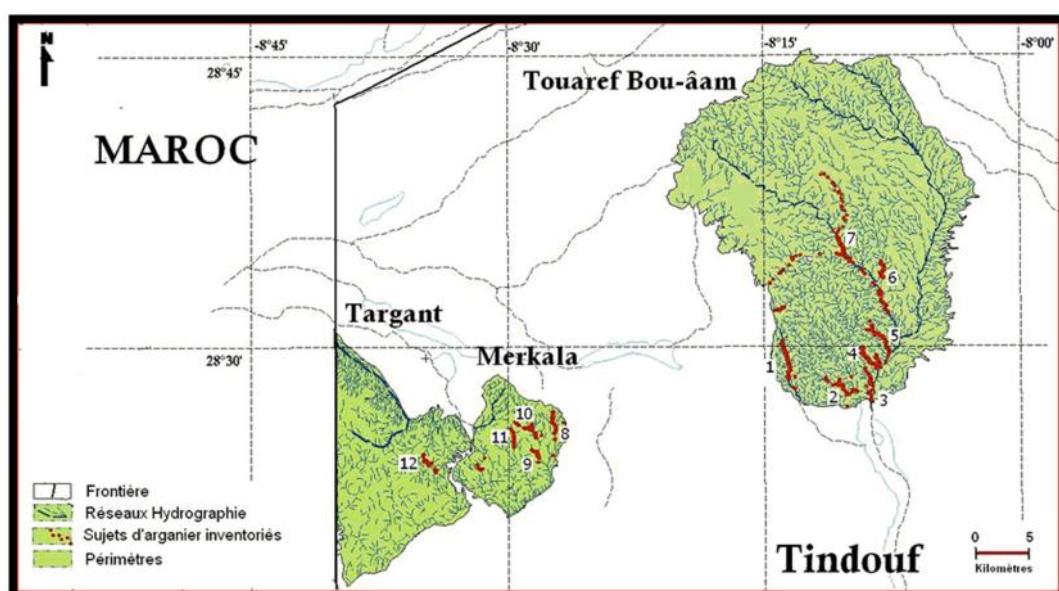


Figure 1 : Aire de répartition de l'arganier en Algérie

2.1.2. Au Maroc

L'arganeraie au Maroc situe au sud-ouest du pays. Il s'étend sur superficie de 871210 ha, soit 18% du domaine forestier marocain. Il se localise sur le long du littoral océanique, depuis l'embouchure de l'oued Tensif au Nord jusqu'à l'embouchure de l'oued Drâa au sud entre les parallèles de la latitude 29° et 32° N (Msanda *et al.*, 2005 ; Tarrier et Benzyane, 1995). Cette essence occupe aussi des îlots isolés au nord du Maroc, à la haute vallée de l'oued Grou, au Sud-est du Rebat, elle encore été constaté au nord de Safi, au Sud de Mazagan et encore sur le versant méditerranéen du massif montagneux des Beni-Snassen, au Nord d'Oujda (Fig. 2) (Emberger, 1925).



Figure 2: Aire de répartition de l'arganier au Maroc (M'HIRIT *et al.*, 1998).

2.2. Origine génétique et diversité de l'arganier

L'arganier (*Argania spinosa* L. Skeels) est une espèce endémique du sud-ouest marocain et de la région de Tindouf en Algérie, appartenant à la famille des Sapotaceae, ordre des Ericales. C'est une espèce relique tertiaire, vestige des forêts subtropicales d'Afrique du Nord, qui a su s'adapter aux conditions arides actuelles (Morton et Voss, 1987 ; Bani-Aameur *et al.*, 1999).

Sur le plan cytogénétique, l'arganier possède un nombre chromosomique de $2n = 20$, soit dix paires de chromosomes, ce qui est cohérent avec d'autres espèces de la famille des Sapotacées (Bellakhdar, 1997 ; El Mousadik et Petit, 1996). L'information sur le caryotype de

l'arganier reste encore limitée, mais les premières études confirment l'absence de polyploidie chez cette espèce, suggérant une stabilité chromosomique au cours de son évolution.

Du point de vue phylogénétique, l'arganier représente le seul représentant du genre *Argania*, ce qui souligne son isolement génétique et sa valeur patrimoniale unique (Bani-Aameur et al., 1999). Il est proche d'autres genres de Sapotacées tropicaux, tels que *Sideroxylon*, ce qui reflète ses anciennes origines subtropicales avant sa spécialisation dans des zones semi-arides (Bellakhdar, 1997).

Sur le plan de la diversité génétique, les travaux utilisant des marqueurs moléculaires, notamment les microsatellites (SSR) et les marqueurs RAPD, ont mis en évidence une forte différenciation interpopulations et une richesse allélique importante, bien que concentrée dans certaines zones du Maroc (El Mousadik et Petit, 1996 ; Msanda et al., 2005). Cette diversité, en partie due à l'isolement géographique et aux pratiques humaines, constitue un atout pour les programmes de conservation et de sélection génétique.

2.3. La flore de l'arganeraie de Tindouf

Plus de 50 espèces et sous espèces vasculaires sont présentes dans le cortège floristique de la formation à base d'Arganier, ce qui explique la diversité botanique de ces milieux aujourd'hui dénudés. La région du Sud-Ouest de l'Algérie, en particulier la région des wilayas de Tindouf et Béchar (Saoura et Draâ), est un lieu de rencontre de plantes d'origines variées qui lui confèrent une particularité phytogéographique unique, une richesse et une spécificité endémique. Même si la flore est principalement saharo-méditerranéenne, on y trouve une grande variété d'espèces de souche tropicale africaine associées à l'Arganier (genres : *Acacia*, *Rhus*, *Gymnospora*, *Cymbopogon*,...). C'est le cas des espèces de souche macronésienne qui apportent une touche particulière à la région (genres : *Euphorbia*, *Senecio*) (Benkheira, 2009).

3. Taxonomie et présentation botanique

3.1.Taxonomie de l'Arganier

L'arganier, scientifiquement nommé *Argania spinosa* (L.) Skeels, est une espèce endémique, il appartient à la famille des Sapotacées, et est la seule espèce du genre *Argania* (Tab. 1).

C'est une angiosperme Algero- Marocaine (Nouim et Chaussod ,1993) et la seule espèce de genre *Argania* appartenant à la famille des Sapotacées qui renferme environ 600 espèces et 40 genres. Dans un premier temps, Linné (1737) dénomme l'arganier *Sideroxylon spinosum*. L

; puis Roemer et Schultes ont dénommé l'arganier *Argania Sideroxylon*, d'après son nom arabe et berbère qui est argan et le nom de sideroxylon se justifie par le bois de l'arbre qui est extrêmement dur (Benaouf, 2017)

Tableau 1: taxonomie et classification botanique

Embranchement	Spermaphyte
Sous-embranchement	Angiospermes
Classe	Dicotylédones
Sous-classe	Gamopétales
Ordre	Ebénales
Famille	Sapotacées
Genre	Argania
Espèce	<i>Argania spinosa</i> L Skeels

3.2. Présentation de système aérien de l'arganier

3.2.1. Fruit

Le fruit de l'arganier est naturellement caractérisé par trois formes principales : fusiforme, ronde et ovale (Belcadi Haloui *et al.*, 2017). Le fruit de l'arganier est une drupe de couleur verte formée de :

- Pulpe charnue amère, mais très riche en glucide solubles ou facilement hydrosoluble, Elle est limitée extérieurement par un épiderme fortement épaissi et cutanées recouvrant une zone des cellules allongées (Fig. 4).
- L'amande qui est au centre du fruit est enveloppé d'une coque extrêmement dure La graine de l'arganier possède habituellement un à trois embryons, elle est albuminée et gorgée d'huile. (Slimani, 1996). Les amandes du noyau représentent environ 3 % du poids du fruit frais et renferment à leurs tours 50 à 60 % d'huile qui reste la principale richesse de l'arganier (Fig. 4) (Charrouf et Guillaume, 2007).



Figure 3 : Morphologie de fruits d'arganier.

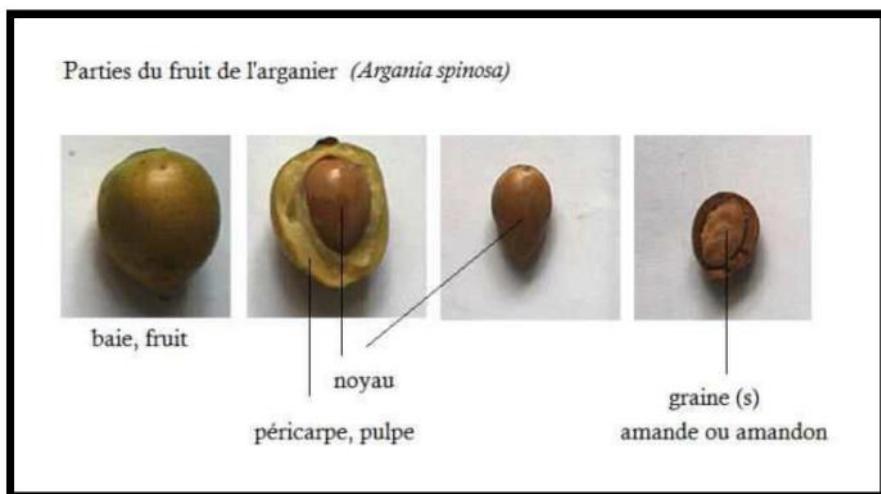


Figure 4 : Les différentes parties du fruit de l'arganier (*Argania spinosa* L.)

3.2.2. Fleur

L'arganier (*Argania spinosa* L.) est une espèce monoïque à fleurs hermaphrodites (Kenny, 2007). Les fleurs, de petite taille (ne dépassant guère 2 mm), sont de couleur jaune et apparaissent en position axillaire, soit sur les rameaux de l'année, soit sur des rameaux plus âgés. Elles peuvent être solitaires ou groupées en glomérules. Les sépales sont arrondis et de couleur blanche. La corolle possède cinq étamines à filet court. L'ovaire est supère. La floraison peut se produire pratiquement toute l'année si les conditions environnementales sont favorables, avec deux saisons principales : l'hiver et le printemps (Kenny, 2007).

Les inflorescences sont constituées de glomérules axillaires, composés chacun de cinq sépales pubescents, précédés de deux bractées. La corolle, en forme de cloche, est formée de cinq pétales arrondis et blancs. Les cinq étamines, à filets courts, portent une grosse anthère à sommet mucroné ou obtus. L'ovaire, pubescent et supère, est surmonté d'un style court et conique, atteignant ou dépassant les étamines (Fig. 5) (M'hirit et al., 1998).

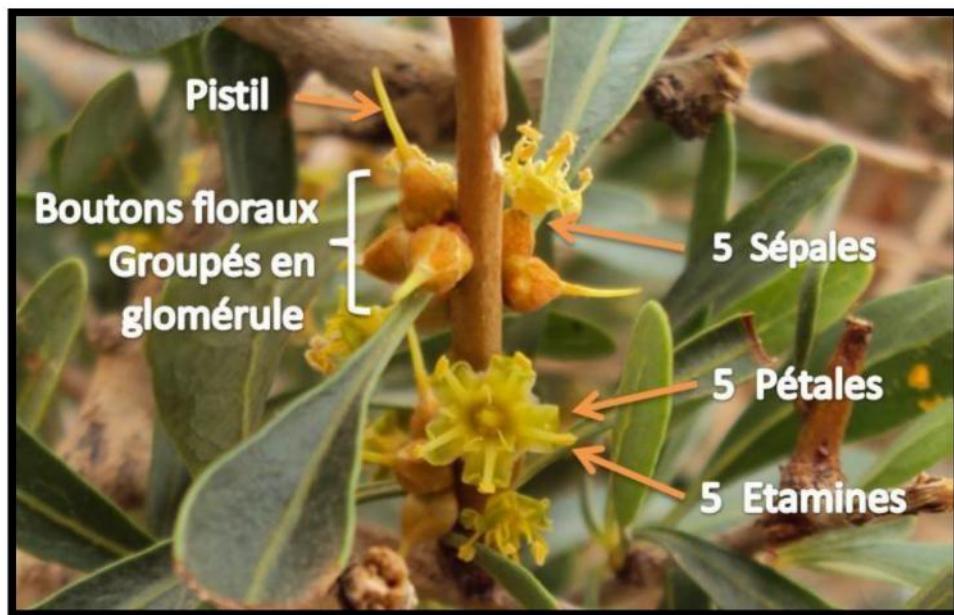


Figure 5 : Composition florale et boutons floraux avec styles apparents (Kechairi, 2018).

3.2.3. Feuille

Les feuilles sont alternes, en forme de spatule ou lancéolées, longues de 2 à 3 cm de contour vert sombre à la face supérieure, plus claire en dessous ; elles sont sub persistantes en période de forte sécheresse, l'arbre perd complètement son feuillage (Nouiam et al., 1991) (Fig. 6).

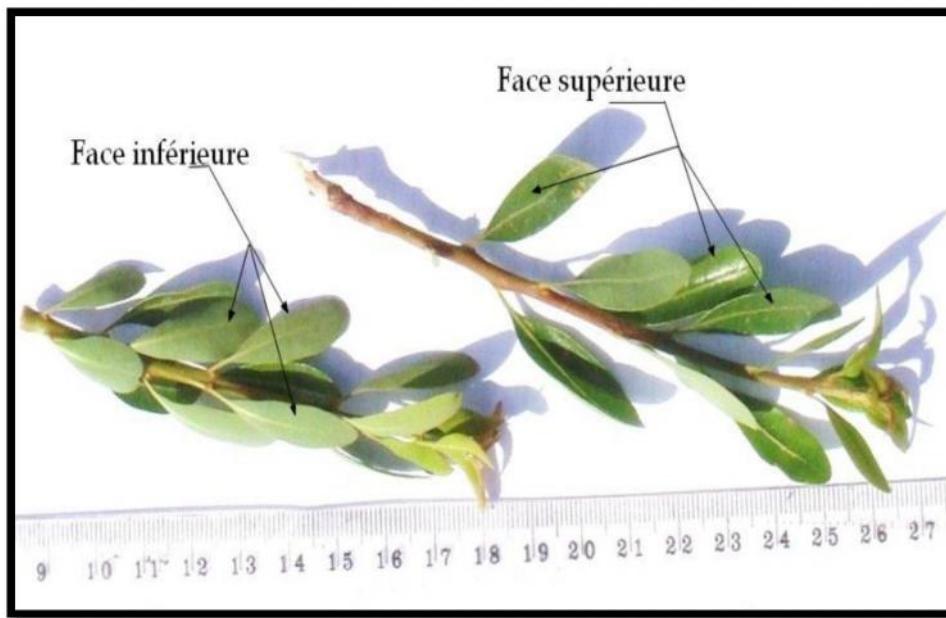


Figure 6 : Feuilles de jeunes rameaux non épineux (Kechairi, 2009).

Elles sont ainsi atténueées à un pétiole plus au moins distinct avec une nervure médiane très nette et des nervures latérales très fines et ramifiées. Il y a deux types de feuilles chez l'arganier : les feuilles simples portées par les rameaux jeunes et les feuilles groupées portées par les rameaux âgés (Zahidi et al., 1994).

5. Importance et usage de l'Arganier

5.1 Bois de l'Arganier

Le bois de l'arganier est un bois dur et résistant, de ce fait, il est appelé bois de fer. Il constitue un très bon bois combustible dont le rendement dépasse un quintal de charbon pour une stèle de bois. Il est aussi utilisé pour les besoins de la petite industrie familiale (porte, perches, perchettes ...), et pour la fabrication d'objets ménagers et d'instruments agricoles (araires, charrues ...). Son étude phytochimique a révélé sa richesse en nombreux saponines tri terpéniques (Charrouf, 2002).

5.1.1 Utilisation du Bois

Etant extrêmement dur, le bois d'arganier est difficile à travailler, son utilisation concerne le bois d'œuvre, la charpente ou la fabrication d'outils agricoles, et les piquets de clôtures à base de branches (Benkhalfoun, 2011). L'utilisation la plus importante du bois d'arganier reste cependant la production de charbon, réputé pour être l'un des meilleurs combustibles, caractérisé par un pouvoir calorifique élevé (Fig. 7) (Nouaim et al., 1991).

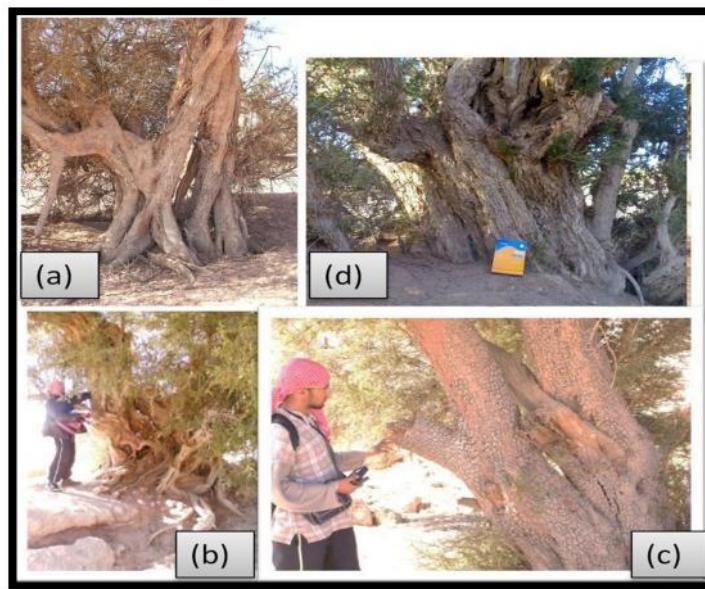


Figure 7 : Types du tronc de l'arganier: Tronc entrelacé d'écorce lisse (a) ; tronc Ardif en dépérissement (b) ; coupe sur tronc d'écorce écaillueux (c) ; gros tronc Ardif enlacé (d). (Kechairi, 2019).

5.2. Utilisation alimentaire

La richesse principale de ce végétal reste avant tout son fruit. Ce fruit va procurer l'amande permettant d'obtenir l'huile qui constitue un complément lipidique pour les populations locales. Cette huile possède des propriétés diététiques très intéressantes. Ses qualités en font une huile très recherchée, vendue nettement plus chère que l'huile d'olive en raison notamment de sa rareté et des nombreuses heures de miel et d'amandes grillés, appelée « Amlou » très consommée au sud du Maroc (Benkhalfoun, 2011).

5.3. Utilisation en médecine traditionnelle

En pharmacopée traditionnelle, l'huile d'argan est indiquée pour ces propriétés aphrodisiaques. Elle permet de lutter contre le vieillissement physiologique. Elle est aussi préconisée dans le traitement de l'acné juvénile et de la varicelle (Terfas, 1997). Les feuilles de l'arganier sont utilisées pour leurs propriétés anti-inflammatoires (Benkhalfoun, 2011).

5.4. Utilisation en cosmétique

Depuis quelques temps, l'huile d'argan figure dans la composition de certaines crèmes utilisées en cosmétique. Cela est dû à ces propriétés pharmacologiques découvertes par la tradition et confirmées par l'expérimentation (Benkhalfoun, 2011). Parmi les laboratoires de cosmétique ayant formulé des produits à base de cette huile, figurent les laboratoires Galenic

commercialisant la gamme argane, les laboratoires Yves Rocher avec la gamme Accaciane, et Colgate Palmolive avec la gamme Aantinea (Terfas, 1997).

5.5 Produits issus de l'arganier

5.5.1 Huile d'argan

Les amandes des fruits sont riches en matière grasse et elles produisent une huile alimentaire diététique utilisée aussi bien en cuisine qu'à des fins cosmétiques ou pharmaceutiques (Rammal et al, 2009). L'extraction des huiles à partir des amandes passe par plusieurs étapes : le dépulpage (séparation de la pulpe de la noix) ; le concassage des noix ; la torréfaction des amandes ; l'écrasement des amandes ; le malaxage et le pressage de la pâte. Les techniques d'extraction peuvent avoir une influence sur le rendement en huile. D'autres facteurs conditionnent le rendement comme l'effet génotypique, l'âge des arbres, la période de récolte, les facteurs pédoclimatiques, etc. La production fruitière (en noix d'argan) varie en fonction de l'âge et de la densité (20 à 100kg/arbre) avec une moyenne de 40 kg/arbre/ an. Sous la base de la densité moyenne des peuplements d'arganier (environ 50 arbres/ha) et du rendement en huile d'argan (3L pour 100 kg de noix d'argan sèches), la production potentielle est estimée à 32 000 tonnes d'huile d'argan/ an (Benhammou, 2007). En moyenne, le broyage puis le malaxage de la pâte obtenue à partir de 6,5 kg d'amandons permet d'obtenir 2 litres à 2,5 litres d'huile d'argan et demande 3 heures de travail (Charrouf et Guillaume, 2007).

Le fruit d'arganier renferme une graine composée, appelée vulgairement noyau. Ce dernier est très dur et contient une à trois amandes. Les amandes du noyau représentent environ 3 % du poids du fruit frais et renferment à leurs tours 50 à 60 % d'huile qui reste la principale richesse de l'arganier (Charrouf et Guillaume, 2007).

La pulpe du fruit de l'arganier est utilisée comme aliment pour les caprins. Elle est riche en glucides et en protéines. L'extrait de la pulpe est constitué de glycérides, d'un latex (caoutchouc et gutta percha) et d'une fraction insaponifiable. La composition chimique de cette dernière fraction est riche en stérols et en alcools triterpéniques tels : l'erythordiol, le lupéol, l' et la -amyrine. Ces alcools pourraient subir des transformations par voie chimique ou par bioconversion pour conduire à d'autres produits à forte valeur ajoutée (Zarrouck et al., 1987).

6. Importance socio-économique

L'arganier joue un rôle socio-économique primordial. L'exemple du Maroc dans ce domaine est édifiant. En effet, l'écosystème « arganier » semble être intimement lié à la vie

quotidienne des populations de la région à travers les produits qu'il procure. Son bois donne un excellent charbon mais son principal intérêt réside dans son fruit qui donne de l'huile d'argan, base de l'alimentation des populations, et dans son feuillage, qui sert à la nourriture des animaux durant une grande partie de l'année (Charrouf, 2002). L'arganier assure ainsi la subsistance d'environ trois millions de personnes (Charrouf et Dubé, 2000).

L'huile d'argan est considérée actuellement comme l'huile alimentaire la plus chère au monde. Son prix est encore exorbitant lorsqu'elle est vendue sous forme de produit cosmétique (Romagny et Guyon, 2010).

II. Multiplication de l'arganier

1. Multiplication par Semis

La multiplication par semis, est une méthode classique de reproduction sexuée, caractérisée par une grande variabilité dans la descendance due au mode de reproduction allogame qui ne permet pas ainsi la conservation des caractères de l'arbre mère (Msanda, 1993) (Fig. 8).

La production de plants en pépinière, à partir de semis de graines, est actuellement pratiquée à grande échelle. Un simple pré trempage des graines dans l'eau pendant trois ou quatre jours assure un pourcentage de germination élevé et l'élevage en pépinière durant quelques mois donne des plantules de bonne qualité (Nouaim et Chaussod, 1993).

Cette méthode de multiplication classique reste donc très limitée par le risque de variabilité au sein de la progéniture, l'absence de variétés standards d'arganier, et aussi par l'extension de la phase juvénile avant d'atteindre la maturité et donc la floraison de l'arbre (Nouaim et al., 2002).



Figure 8: Elevage d'Arganier par semis, nouvelle pépinière de la conservation des forêts de la Wilaya d'Adrar.

2. Multiplication par Bouturage

L'arganier est une plante qui requiert des conditions particulières pour sa multiplication par bouturage, il s'agit tout d'abord de disposer de matériel végétal jeune ou rajeuni et le placer ensuite dans des conditions d'hygrométrie et de température élevées (humidité supérieure à 70 % et température aux alentours de 30 °C). Les conditions d'humidité relative élevée sont nécessaires pour maintenir les boutures vivantes jusqu'à l'émission des racines (Bamouh, 2002). Un pourcentage de boutures enracinées variant entre 4 et 30 % selon l'arbre mère, deux mois après la mise en culture (Nouaïm et *al.*, 2007).

Les résultats acquis sur le bouturage des rameaux d'arbres adultes, montrent que les meilleurs rendements sont obtenus sous serre contrôlée (chauffage de fond, système de réfrigération par évaporation d'eau, système de nébulisation) et un traitement à l'acide -indole butyrique (AIB). Sous ces conditions, les taux de réussite ont dépassé les 60%. Ces travaux ont mis en évidence un effet significatif du génotype sur les taux d'enracinement en plus de la pourriture des explants qui impacte directement le niveau du rendement de la technique (Metougui et *al.*, 2017).

3. Multiplication par greffage

Le greffage est beaucoup mieux adapté à l'arganier que le bouturage et le marcottage car, en plus de sa faisabilité pour conserver les performances des greffons (clones sélectionnés), il permet de garder les avantages du porte-greffe (racines longues permettant à l'arganier de puiser l'eau en profondeur) (Mokhtari et *al.*, 2002) Selon, Bellefontaine *et al.*(2009) les types de greffes qui ont été essayés sur l'arganier sont :

-]/ L'écussonnage,
-]/ Le greffage par approche sur arbre et sur jeunes plant de 6 et 8 mois,
-]/ Le greffage en fente apicale sur arbre et sur jeunes plants d'un mois, 6 mois et 8 mois,

Les travaux de Nassiri, 2007 in Bellefontaine et *al.*, (2009), ont révélé que la réussite du greffage en fente nécessite une humidité saturante (supérieur à 70%) et une température moyenne de 25°C, et qu'une élévation de la température à 29°C induit l'échec total du greffage ou bien à des pourritures des nouveaux individus. Mokhtari et Zakri (1998), ont révélé que le greffe en fente apicale simple et le greffe par perforation apicale ou perforation latérale sont les plus faciles et donnent les meilleurs résultats.

Le greffage de l'arganier a pour raisons de :

- ✓ Conserver les avantages offerts par le plant semis (racine profonds, la non transmission des virus). Ces critères ne peuvent être obtenus par bouturage ou marcottage.
- ✓ Propager des clones qui ne peuvent pas être multiplié par d'autres méthodes végétatives.
- ✓ Changer des plants indésirables déjà établis (greffage sur pied). Ceci peut aider à créer des zones d'organier « fruitier ou ornemental », en fonction des caractères à l'intérêt d'usage.
- ✓ Réunir les performances dans le plant greffé par la combinaison des caractères de résistance aux maladies et au stress, de vigueur et de productivité, à la fois du porte greffe et du greffon.
- ✓ Changer les phases de croissance en vue d'accélérer l'entrée en maturité et d'augmenter son rendement quantitatif et qualitatif.
- ✓ Domestiquer l'organier en reproduisant certaines de ses performances (rendement, qualité des fruits et précocité, qualité esthétique, plants nains, plant sans épines, qualité médicinale).

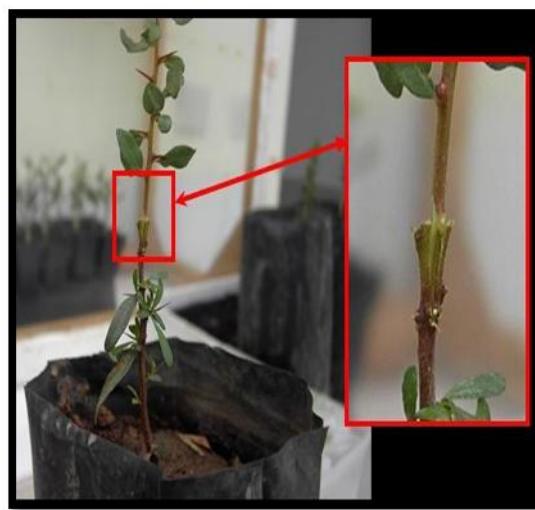


Figure 9 : Greffage en fente d'un plant de 8 mois
(Bellefontaine et al., 2009)

4. Multiplication par culture *in vitro*

4.1 Principes de la culture *in vitro*

La culture *in vitro* regroupe un ensemble de techniques qui permettent la culture de cellules, tissus ou organes végétaux en conditions artificielles, stériles et contrôlées. C'est une méthode largement utilisée pour la multiplication des plantes, la conservation de la

biodiversité, la production de métabolites secondaires et les études physiologiques. Dans le cas des espèces ligneuses comme l'arganier (*Argania spinosa* L.), qui présente une faible capacité de régénération naturelle, la culture *in vitro* constitue une solution alternative efficace pour une multiplication à grande échelle, rapide et homogène.

4.2 Définition, historique et fondements biologiques

La culture *in vitro* repose sur le concept de totipotence cellulaire, qui désigne la capacité d'une cellule végétale différenciée à régénérer une plante entière. Ce principe, formulé dès le début du XXe siècle par le botaniste autrichien Gottlieb Haberlandt, constitue le fondement théorique de cette technologie (Haberlandt, 1902). Toutefois, les premières applications pratiques ne se sont concrétisées que plusieurs décennies plus tard, notamment avec les travaux de Skoog et Miller sur les effets des régulateurs de croissance (Skoog et Miller, 1957), qui ont démontré le rôle déterminant des hormones végétales dans la morphogenèse *in vitro*.

Dans les années 1960, Murashige et Skoog ont mis au point un milieu de culture universel, riche en éléments nutritifs et en vitamines, qui reste encore aujourd'hui l'un des milieux les plus utilisés en culture *in vitro* (Murashige et Skoog, 1962). Ces découvertes ont ouvert la voie à des applications variées, notamment la micropropagation, l'embryogenèse somatique, la culture de cellules en suspension et la cryoconservation.

4.3 Composition et rôle des milieux de culture

Les milieux de culture *in vitro* fournissent tous les éléments nécessaires à la survie et au développement des tissus végétaux. Ils se composent principalement de :

- ✓ Macronutriments (N, P, K, Ca, Mg, S) : essentiels à la croissance cellulaire.
- ✓ Micronutriments (Fe, Mn, Zn, Cu, Mo, B) : nécessaires en faibles quantités.
- ✓ Vitamines : souvent la thiamine (B1), l'acide nicotinique (B3) et la pyridoxine (B6).
- ✓ Source de carbone : le plus souvent du saccharose à 20–30 g/L.
- ✓ Phytohormones : auxines (AIA, ANA, 2,4-D), cytokinines (BAP, Kinetine), parfois gibbérellines.
- ✓ Agent gélifiant : agar ou gélorite pour les milieux solides.

Le milieu de Murashige et Skoog (MS) est l'un des plus utilisés car il est adapté à de nombreuses espèces (Murashige et Skoog, 1962). Le milieu B5 de Gamborg est préférable pour les cultures cellulaires (Gamborg et al., 1968), tandis que le WPM (Woody Plant

Medium) de Lloyd et McCown (1980) est souvent utilisé pour les espèces ligneuses, comme l'arganier.

4.4 Étapes de la micropagation

La micropagation, principale application de la culture *in vitro*, comporte généralement quatre phases :

1. Initiation : mise en culture de l'explant (bourgeon axillaire, nœud, etc.) sur un milieu stérile.
2. Multiplication : prolifération des pousses ou de callus sur un milieu riche en cytokinines.
3. Enracinement : formation de racines sur un milieu contenant des auxines.
4. Acclimatation : transfert des plantules en conditions ex vitro (serre), avec adaptation progressive à l'environnement.

Chez l'arganier, cette méthode a permis la régénération de plantes entières à partir de tissus somatiques, bien que l'efficacité varie selon les génotypes et les conditions de culture (Mokhtari et al., 2020).

La multiplication *in vitro* des plantes peut emprunter des voies très différentes soit en provoquant et en accélérant le débourrement axillaire normal des explants (chaque bourgeon constitue potentiellement une nouvelle plantule : c'est le microbouturage), soit en provoquant l'apparition des bourgeons adventifs en des endroits inhabituels (caulogenèse), soit en favorisant la différenciation d'embryons (embryogenèse somatique) comparables aux embryons zygotiques des graines (Zryd, 1988)

4.5 Micropagation de l'arganier

L'intégration de la micropagation à l'arganier peut contribuer considérablement à sa préservation (conservation) mais aussi à sa valorisation. En effet, la maîtrise de la multiplication de cet arbre endémique (actuellement menacée de disparition) par des techniques modernes, est inéluctablement à sa sauvegarde et aussi à sa valorisation.

L'intégration des techniques de culture *in vitro*, dans des programmes visant la multiplication de l'arganier, est récente et aussi très limitée. À travers la synthèse bibliographique faite sur le sujet, nous avons constaté que l'essentiel des travaux (limités à deux ou trois articles) ont porté sur la régénération de plants via le microbouturage et / ou l'organogenèse.

C'est surtout le microbouturage qui semble réussir le mieux avec l'organier mais pas L'organogenèse, Plusieurs tentatives de culture *in vitro* de l'organier via l'organogenèse ont été entreprises mais en vain, L'ensemble des résultats ont conduit surtout à l'obtention de cals et / ou de racines sans qu'il y ait induction de bourgeons néoformés ou d'embryons somatique (Chakeur et Yousfi, 2007) ; (Djoudi et Djellouli, 2009).

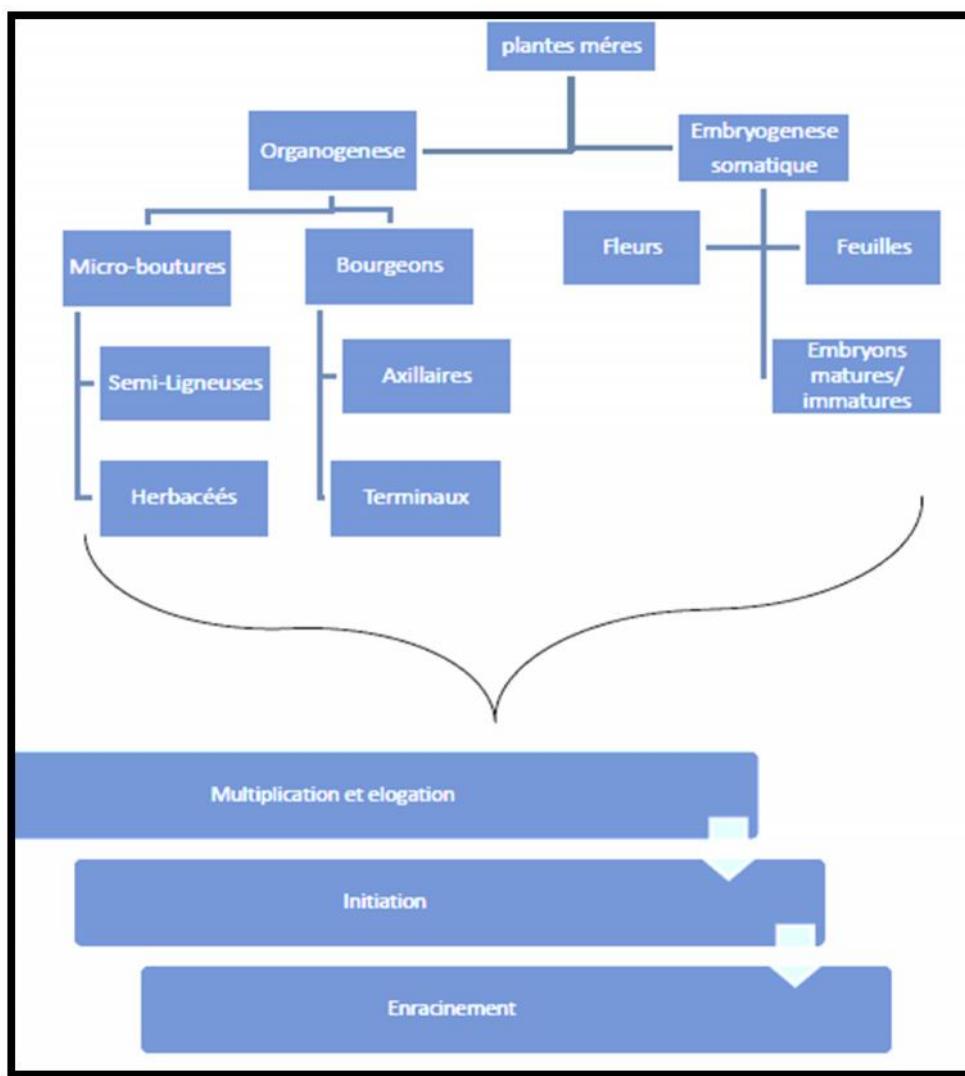


Figure 10 : les étapes de culture *in vitro* potentiel de culture *in vitro* de l'*Arganier spinosa*

5. Embryogenèse somatique chez l'organier (*Argania spinosa* L.)

L'embryogenèse somatique est un processus par lequel des cellules somatiques non reproductrices donnent naissance à des embryons capables de régénérer des plantes entières. Ce processus est particulièrement utile pour la multiplication de masse d'espèces ligneuses comme l'organier, une espèce endémique du Maroc mais également présente dans des zones semi-arides d'Algérie.

5.1. Principe de l'embryogenèse somatique

Contrairement à la micropropagation par bourgeonnement, l'embryogenèse somatique permet la régénération d'embryons structurés directement à partir de tissus somatiques, en absence de fécondation. Ces embryons peuvent passer par les mêmes stades qu'un embryon zygотique : globulaire, cordiforme, torpille, puis cotylédonaire (Dodeman et al., 1997).

5.2. Induction embryogénique chez l'arganier

Chez l'arganier, l'induction embryogénique se fait généralement à partir de :

- ✓ Feuilles jeunes
- ✓ Cotylédons d'embryons immatures
- ✓ Apex caulinaires ou racinaires

Le milieu de culture utilisé est souvent le milieu MS (Murashige et Skoog) enrichi en auxines fortes comme le 2,4-D (2,4-dichlorophénoxyacétique) à 1–3 mg/L, combinées ou non à des cytokinines telles que la BAP (6-benzylaminopurine) (Chérifi et al., 2017).

5.3. Développement des embryons somatiques

Après l'induction, les embryons somatiques se développent en plusieurs étapes :

- ✓ **Stade globulaire** : forme sphérique, peu différenciée.
- ✓ **Stade cordiforme** : forme de cœur, début de différenciation polaire.
- ✓ **Stade torpille** : allongement, apparition de méristèmes.
- ✓ **Stade cotylédonaire** : développement des deux cotylédons, embryon prêt à germer.

Un apport en gibbérellines (GA) à 1–2 mg/L peut stimuler la maturation embryonnaire et prévenir les malformations (Ikrimah et al., 2020).

5.4 .Conversion des embryons en plantules

La conversion des embryons somatiques matures en plantules viables nécessite un transfert sur milieu de germination dépourvu d'auxines, souvent le milieu MS demi-concentré. L'ajout de sucre (3 %) et de charbon actif (0,5–1 g/L) favorise la germination et évite le brunissement des tissus (Ben Abderrahim et al., 2013).

5.5 Facteurs influençant l'embryogenèse

Parmi les facteurs qui affectent le succès de l'embryogenèse somatique chez l'arganier, on peut citer :

-) **Génotype** de la plante mère : certaines lignées sont plus embryogènes que d'autres (El allali et al., 2012).
-) **Âge et type d'explant** : les embryons immatures sont plus compétents.
-) **Concentration et type d'hormones** : excès d'auxine peut induire la callogenèse mais inhiber l'embryogenèse.
-) **Conditions de lumière et température** : obscurité au début, puis lumière diffuse ensuite.

5.6. Applications de l'embryogenèse chez l'arganier

L'embryogenèse somatique offre plusieurs avantages pour l'arganier :

-) **Multiplication rapide** de génotypes d'intérêt (productivité, résistance à la sécheresse).
-) **Cryoconservation** des embryons immatures pour stockage à long terme (El boullani et al., 2021).
-) **Transformation génétique** potentielle via les embryons comme explants cibles.

6. Contraintes techniques de la culture *in vitro* chez l'arganier

Bien que la culture *in vitro* offre des perspectives intéressantes pour la multiplication de l'arganier, plusieurs contraintes techniques limitent encore son application à grande échelle. L'une des principales difficultés réside dans la sensibilité élevée des tissus de l'arganier aux contaminations microbiennes, malgré des protocoles de désinfection rigoureux. Cela est dû en partie à la richesse en composés phénoliques et à la structure dense des tissus ligneux (Benabdellah et al., 2007).

Par ailleurs, la régénération des plantes à partir de tissus somatiques est souvent entravée par la faible aptitude morphogénétique de certaines lignées. La réponse aux hormones de croissance (notamment auxines et cytokinines) varie considérablement selon le génotype et le type d'explant utilisé (feuille, hypocotyle, apex) (Chérifi et al., 2017). Un excès d'auxines peut induire une callogenèse exagérée sans induction embryonnaire, tandis qu'une concentration insuffisante limite la réponse cellulaire (Mokhtari et al., 2020).

D'autres facteurs comme l'oxydation des phénols (entraînant le brunissement des tissus), la vitrification des pousses, ou encore le taux de conversion faible des embryons en plantules, sont aussi des obstacles majeurs à surmonter (Benabdellah et al., 2007).

De plus, les espèces ligneuses comme *Argania spinosa* nécessitent souvent des milieux spécifiques (comme le WPM) et des régimes lumineux et thermiques adaptés, ce qui complique leur culture par rapport aux espèces herbacées (Chérifi et al., 2017).

Chapitre 02 : Matériel et méthodes

1- Matériel Végétal

Le matériel végétal utilisé dans cette étude provient de l'espèce *Argania spinosa* L. Skeels. Il a été collecté dans une arganeraie située à Tindouf, plus précisément dans la localité de Hamada de Draâ, zone de Touaref Bou-àam à Oued El-Ma, ainsi que dans un arboretum de la station de recherche de l'Institut National de la Recherche Forestière (INRF) à Baraki, en Algérie. Les plants d'arganier utilisés, âgés de six mois, ont été fournis par l'INRF d'El Kala, dans la wilaya d'El Tarf (Fig. 11).



Figure 11 : jeunes plants d'arganier (*Argania spinosa* L.)

2- Mise en place de l'essai : culture *in vitro*

L'expérimentation a été réalisé au niveau de laboratoire de Génétique Biochimie et Biotechnologie Végétale, (équipe IV : Physiologie Moléculaire et Biodiversité des Plantes) à Chaabat EL Rasses, Université des frères Mentouri Constantine1.

Cette étude vise à déterminer les conditions optimales de la culture *in vitro* de l'arganier (*Argania spinosa* L. Skeels) par la technique de micropagation. La culture *in vitro* signifie littéralement, « la reproduction artificielle des cellules ou des tissus sur un milieu nutritif, dans un tube de verre et en conditions d'asepsie » (de Fossard, 1981 in Baziz, 2004). C'est un mode

de reproduction artificielle qui comprend l'ensemble des méthodes faisant intervenir des éléments d'asepsie et la mise en place de conditions de culture contrôlées (milieu de culture, température, luminosité), le milieu doit fournir tous les éléments chimiques nécessaires au développement de la plante (Baziz, 2004).

2.1. Préparation des explants et mise en culture

2.1.1. Mise en culture

Les explants utilisés pour initier cette culture sont des microboutures d'environ 1 cm de longueur, chacune portant un nœud contenant des bourgeons axillaires. Ils ont été prélevés à partir de plants issus de semis et âgés de six mois. La micropagation (débourrement) est réalisée dans des tubes en verre contenant 25 mL de milieu de culture MS à raison de une microbouture par tube, et cinq répétitions par traitement (sans et avec phytohormones). En outre, nous avons utilisé 7 combinaisons avec différentes concentrations d'auxines et de cytokinines. L'ensemble des opérations de désinfection et de repiquage est effectué sous des conditions d'asepsie, sous hotte à flux laminaire et devant un bec bunsen.

2.1.2. Conditions de culture

Les cultures ont ensuite été placées dans une chambre de croissance, maintenue à une température de $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$, sous une photopériode de 16 heures de lumière et 8 heures d'obscurité, avec une intensité lumineuse de 3000 lux. Le suivi des cultures a été effectué pendant une période de 45 jours. (Fig. 12).



Figure 12 : Photos représente la mise en place de la expérience de la culture *in vitro* des explants d'arganier (*Argania spinosa* L.)

2.1.3. Préparation des explants et stérilisation

La désinfection des explants est réalisée avant leur introduction en culture *in vitro*, constituant une étape cruciale qui conditionne la viabilité et la réussite de la culture. Cette opération s'effectue sous une hotte à flux laminaire, en conditions stériles. Les jeunes boutures d'arganier, prélevées et destinées à la culture, sont d'abord stérilisées, puis sectionnées en petits segments (microboutures). La désinfection consiste en une immersion dans l'éthanol à 70 % pendant environ 60 secondes, suivie d'un trempage de 10 minutes dans une solution d'hypochlorite de sodium à 5°, additionnée de quelques gouttes de Tween 20, avec agitation continue. Les explants sont ensuite rincés trois fois consécutivement dans de l'eau distillée stérile (5 minutes pour chaque rinçage) afin d'éliminer toute trace résiduelle d'hypochlorite. Après désinfection, les segments sont découpés à l'aide d'une lame et d'une pince stériles (préalablement stérilisées à l'étuve) en microboutures d'environ 1 cm de longueur, chacune portant un bourgeon. Ces microboutures sont ensuite ensemencées dans des tubes en verre contenant les milieux de culture.

2.2. Choix et préparation des milieux de culture

2.2.1. Milieu de culture

Lors de cette étude, le milieu de culture utilisé est basé sur le milieu MS (Murashige et Skoog, 1962). Celui-ci a été préparé à partir de solutions mères conservées au réfrigérateur (voir composition dans le tableau 2). Le milieu est supplémenté en saccharose à raison de 30 g/L. Le pH est ajusté à $5,7 \pm 0,1$ à l'aide de solutions de NaOH (1 N) et/ou de HCl (1 N), avant d'être solidifié avec 7 g/L d'agar-agar, dissous par chauffage jusqu'à ébullition. Une fois le milieu homogène, il est réparti dans des tubes à essai, puis stérilisé à l'autoclave à 120 °C pendant 20 minutes.

Tableau 2: Composition de milieu de culture (Murashige et Skoog) (Anonyme. 1999)

	Solution mère (g/L)	Volum à ajouter (ml par litre)	Concentration finale (g/L)
Macroéléments 20x			
NH NO	33.0	50 ml	1.65
KNO	38.0		1.90
CaCl ·2H O	8.80		0.44
MgSO ·7H O	7.40		0.37
KH PO	3.40		0.17
Microéléments 100x			
MnSO ·H O	2.23	10 ml	22.3 mg
ZnSO ·7H O	0.86		8.60 mg
H BO	0.62		6.20 mg
KI	0.083		0.83 mg
Na MoO ·2H O	0.025		0.25 mg
CuSO ·5H O	0.0025		0.025 mg
CoCl ·6H O	0.0025		0.025 mg
Fer 100x			
Na EDTA	3.73	10 ml	37.3 mg
FeSO ·7H O	2.78		27.8 mg
Acides aminée et vitamines 10x			
Glycine	0.02 g / 100 mL	10 ml	2.0 mg
Ac. Nicotinique	0.005 g / 100 mL		0.5 mg
Pyridoxine HCl	0.005 g / 100 mL		0.5 mg
Thiamine HCl	0.001 g / 100 mL		0.1 mg
Sucres			
Myo-Inositol		0,1 g	
Saccharose		30 g	
Agar		7 g	

2.2.2. Régulateurs de croissance

De manière à augmenter le taux de multiplication, des essais sont réalisés en utilisant des régulateurs de croissance tels que des cytokinines (BAP, Kin), connues pour activer la division cellulaire et favoriser la croissance et la caulogénèse (Sakakibara, 2006), et des auxines (ANA, AIB), connues pour entraîner la formation de racines (Woodward *et al.*, 2005). Dans notre expérimentation, deux classes de régulateurs de croissances (cytokinines et auxines) ont été testés à différentes concentrations et différentes combinaisons.

Une solution-mère de chaque régulateur de croissance a été préparée à une concentration de 0,1 mg/mL. Pour ce faire, 10 mg de chaque hormone ont été pesés puis dissous dans quelques gouttes d'un solvant approprié (NaOH ou HCl). Le volume final a été ajusté à 100 mL avec de l'eau distillée. Toutes les solutions préparées ont été filtrées successivement sur des membranes de 0,45 µm puis de 0,22 µm sous hotte à flux laminaire, avant d'être ajoutées aux milieux MS déjà autoclavés. Les solutions mères ainsi préparées ont été conservées dans des flacons en verre ambré au réfrigérateur à 4 °C jusqu'à leur utilisation (voir tableau 3).

Tableau 3 : Type de régulateurs de croissance et leur solubilité

Régulateurs de croissance utilisés	Solvants
Cytokinines (BA, BAP, Kin)	HCl
Auxines (AIB et ANA)	NaOH

2.2.3. Application des traitements hormonaux

Afin de déterminer la combinaison hormonale la plus favorable au débourrement d'*Argania spinosa* L., différentes concentrations de régulateurs de croissance ont été testées. Les régulateurs utilisés dans cette étude comprennent des auxines et des cytokinines, appliquées seules ou en combinaison dans les milieux de culture. Ces phytohormones exercent une influence notable sur la croissance végétale (Auge, 1984). Le choix des concentrations a été basé sur une recherche bibliographique approfondie. Les différentes combinaisons hormonales testées sont présentées dans le tableau ci-dessous, le milieu M0, dépourvu d'hormones, servant de témoin.

Tableau 4: combinaison hormonale du milieu d’initiation à la micropropagation

Milieux	Kin (mg/L)	BAP (mg/L)	AIB (mg/L)	NAA (mg/L)
M0	-	-	-	-
M1	+			
M2	+			
M3			+	
M4		+		+
M5	+	+		+
M6				+
M7	+			+

3. Suivi des cultures et paramètres observés

L’essai d’initiation de la culture a été évalué après 45 jours de culture à travers des observations qui ont porté sur :

-) Taux de contamination ;
-) Taux de débourrement axillaire ;
-) Nombre moyen de feuilles formées.

Chapitre 03 : Résultats et discussion

I- Résultats

1- Observation morphologique

La micropropagation permet la production massive de plants génétiquement identiques, à partir de matériel végétal limité. Cela est particulièrement précieux pour l'arganier, dont la multiplication traditionnelle par semis ou bouturage est peu efficace et lente.

Le suivi de la culture *in vitro* de microboutures d'arganier (*Argania spinosa*), après 45 jours d'incubation sur un milieu MS, avec ou sans enrichissement en phytohormones (notamment une cytokinine et une auxine), met en évidence des différences dans la réponse des boutures aux milieux testés.

Les résultats obtenus ont montré des réactions très différentes du comportement des explants suivant les régulateurs de croissance utilisés. Les meilleurs vitro-plants vigoureux ayant port dressé avec un appareil végétatif vert et dense ont observés au niveau des milieux M5 et M7.

L'aspect morphologique du témoin montre qu'il n'existe aucun développement dans les explants. Tandis que, les autres lots traités par des phytohormones présentent une initiation lente. La composition hormonale des milieux joue un rôle très important dans la culture *in vitro*. La vitesse de reprise des explants était différente selon le type de balance hormonale utilisée pour le débourrement. Le taux le plus important est enregistré sur le milieu MS additionné des hormones (ANA, BAP et Kin) ainsi que le milieu MS additionné de (Kin et d'ANA).

2- Variation de taux de Contamination

Le suivi hebdomadaire de la culture a permis d'observer une progression des contaminations. Le taux de contamination des microboutures est élevé. Nous avons enregistré un taux de contamination de 73.33% pour les explants mis en culture dans tous les traitements testés (M0, M1, M2, M3, M4, M5 et M6) (figure13).

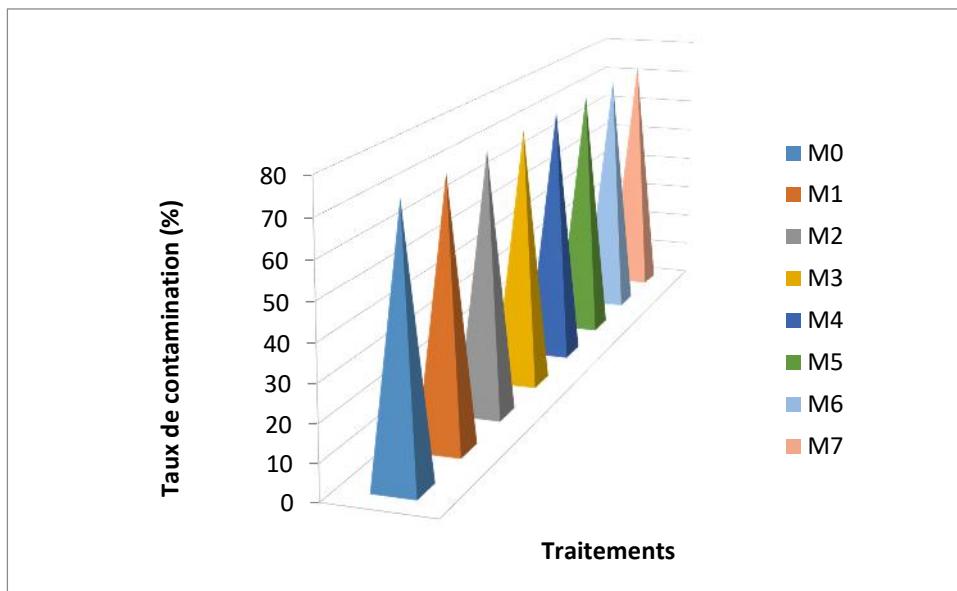


Figure 13: Taux de contamination des explants

L'apparition rapide de contaminations dès la première semaine suggère des sources potentielles; une stérilisation inadéquate des explants ou/ et un environnement de culture potentiellement contaminé (Fig. 13). Ces contaminations sont caractérisées par un développement de champignon et des bactéries (Fig. 14).

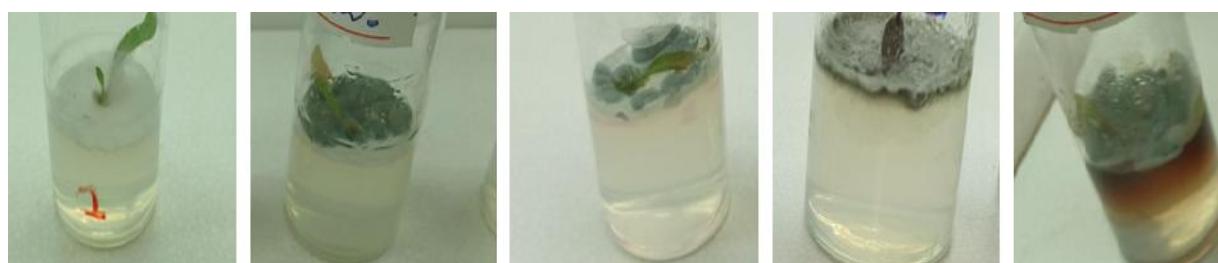


Figure 14 : Explants contaminés après 45 jours de mise en culture

La contamination des explants marquée suggère que plusieurs facteurs ont pu influencer la stérilité et la propreté du système de culture. L'apparition de contaminations dès les premières observations, indique probablement des défaillances dans les étapes de stérilisation des explants, ou encore une contamination du matériel utilisé (pinces, tubes, milieux de culture).

3- Variation de taux de débourrement

Afin de déterminer le milieu de base le plus favorable au débourrement des bourgeons d'arganier. Nous avons testés 7 milieux. Le débourrement désigne le moment où les bourgeons des boutures se développent pour laisser apparaître leur bourre (terme désignant le duvet et les jeunes feuilles et fleurs enfouies dans les bourgeons de nombreux arbres). La réussite de la phase d'établissement se base principalement sur la bonne maîtrise du débourrement des bourgeons.

Le taux de débourrement varie en fonction de traitement hormonal appliqué de 0 à 100%. Après 45 jours de mise en culture, nous avons remarqué que les milieux M2, M5, M6 et M7 donnent les meilleurs taux de débourrement des bourgeons très important avec 100% de reprise (Fig.15).

Le milieu M0, utilisé comme témoin, ne contenait aucun régulateur de croissance. Les explants placés sur ce milieu n'ont présenté aucun développement de pousses, bien que leur coloration soit restée verte, signe d'une certaine viabilité cellulaire. Toutefois, la présence de contaminations microbiennes dans plusieurs tubes témoins a compromis le bon déroulement de l'expérience pour ce lot. Cette contamination a empêché un suivi rigoureux des explants témoins au-delà des premiers jours de culture.

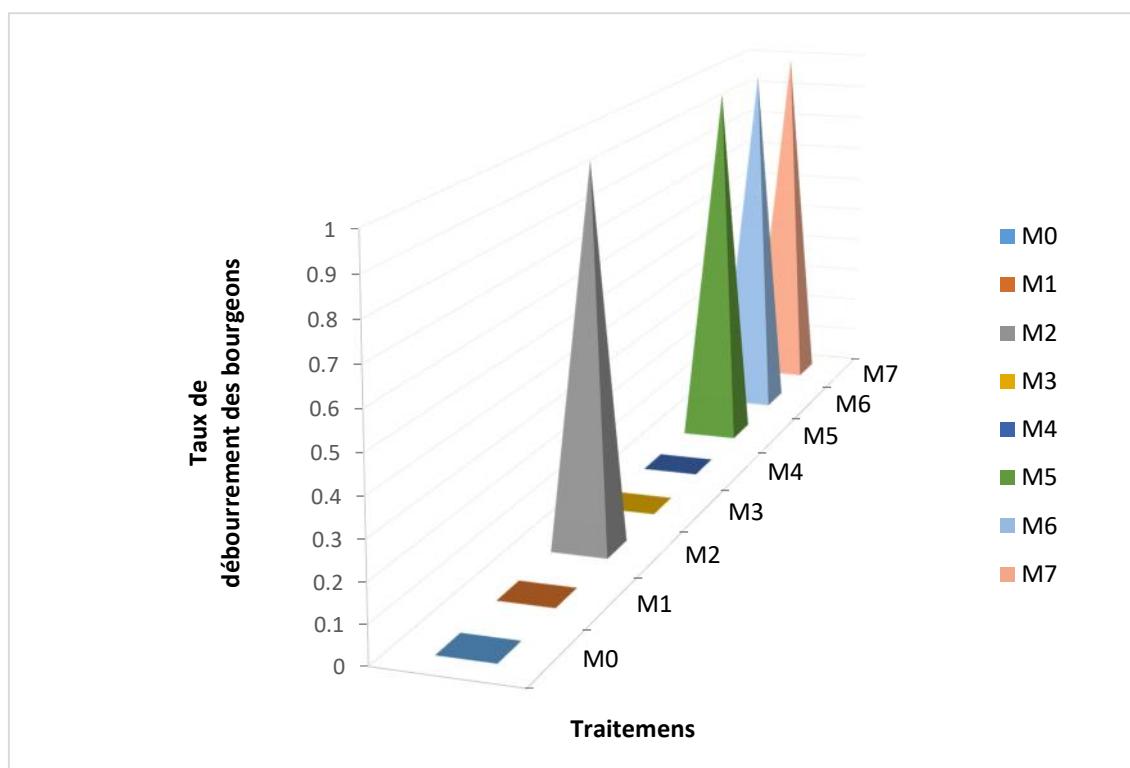


Figure 15: Effet de l'équilibre hormonal sur le taux de débourrement

4- Variation de taux du nombre moyen de feuilles formées

La figure ci-dessous n° 16 montre l'effet du milieu de débourrement sur le nombre feuilles néoformés des microboutures d'arganier.

Les résultats obtenus, après 45 jours de mise en culture, montrent l'apparition des feuilles dans les milieux M2, M5, M6 et M7. Les deux milieux M 5 et 7 sont les plus favorables pour la néoformation des feuilles, un nombre de feuilles néoformées compris entre 3 et 4.

Le milieu M0, utilisé comme témoin, visait à évaluer le développement spontané des explants en l'absence de phytohormones. Cependant, la présence de contaminations microbiennes dans plusieurs tubes témoins a compromis le bon déroulement de l'expérience pour ce lot. Ces contaminations précoces ont empêché un suivi rigoureux des explants au-delà des premiers jours de culture, rendant les résultats non exploitables.

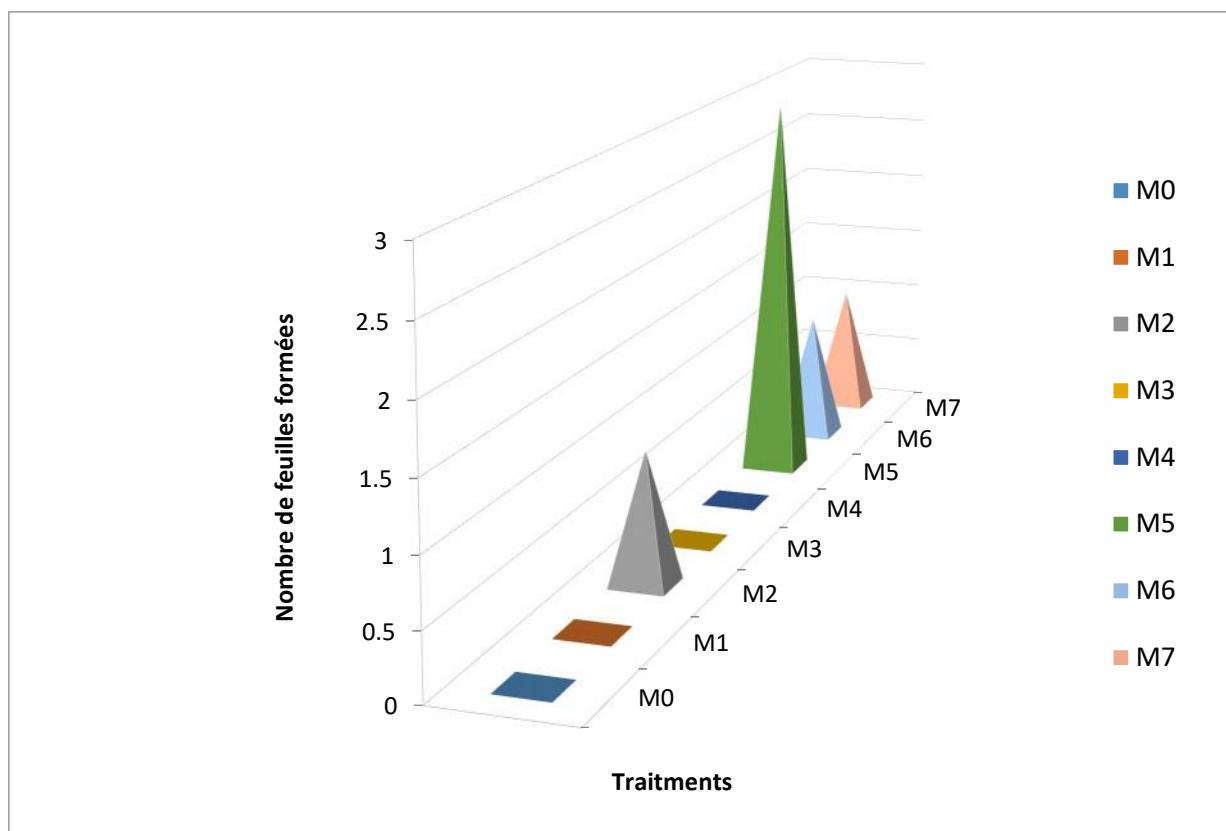


Figure 16 : Effet de l'équilibre hormonal sur le nombre des feuilles néoformées

II- Discussion

L'arganier (*Argania spinosa* L.), arbre endémique constitue une ressource écologique, économique et sociale précieuse. Toutefois, sa régénération naturelle reste très lente, en raison notamment de la faible viabilité des graines, de la dormance embryonnaire, de la prédatation des fruits par les animaux, et d'un taux de germination souvent faible (Zahidi et al., 2013).

La culture *in vitro*, une technique de biotechnologie végétale, consiste à cultiver des cellules, tissus ou organes de plantes dans des conditions stériles et contrôlées, sur un milieu nutritif spécifique. Cette méthode permet de multiplier rapidement les plantes, de régénérer des plantes entières à partir de petits fragments, et de préserver des espèces rares ou menacées. La culture *in vitro* est une technique puissante de la biotechnologie végétale, offrant de nombreux avantages pour la multiplication, la conservation et l'amélioration des plantes. Bien qu'elle présente certains inconvénients, elle reste un outil essentiel pour de nombreuses applications en agriculture et en recherche.

Dans ce contexte, la micropropagation par culture *in vitro* apparaît comme une alternative biotechnologique prometteuse pour assurer la multiplication rapide et contrôlée de génotypes d'intérêt. Cette méthode permet d'obtenir, à partir d'un petit nombre d'explants, un grand nombre de plantes homogènes, exemptes de pathogènes, et capables d'être acclimatées en conditions *ex situ* ou replantées dans leur habitat naturel (El Mousadik et Boulli, 2019).

L'une des principales contraintes rencontrées lors de la culture *in vitro* des plantes est la contamination microbienne, qui peut gravement compromettre la réussite de l'expérience. Cette contamination peut être causée par des champignons, des bactéries ou des levures, souvent introduits via les explants, les instruments, le milieu de culture ou même l'air ambiant. Malgré les protocoles de stérilisation rigoureux, certains microorganismes peuvent rester latents dans les tissus végétaux ou résister aux désinfectants. Chérifi et al., (2017), soulignent l'importance d'une stérilisation rigoureuse et d'un milieu de culture parfaitement aseptique pour réussir la micropropagation de l'arganier. Les taux de contamination plus élevés pourraient aussi être liés à une manipulation prolongée en dehors de la hotte, causant une exposition plus importante aux spores fongiques ou bactériennes ambiantes. Ces résultats montrent qu'une attention rigoureuse doit être portée à l'ensemble du processus aseptique, de la préparation des milieux jusqu'à la manipulation des explants.

Outre les observations sur la contamination, l'expérimentation a été menée pour évaluer l'effet des hormones de croissance sur l'initiation des explants. Le tube 0, utilisé comme témoin, ne contenait aucune hormone ajoutée. Dans le traitement, traité avec une combinaison de Kinétine (Kin) et de Benzylaminopurine (BAP), une réponse positive de l'explant a été observée. Le développement de tissus verts et l'apparition de structures foliaires ou bourgeonnantes traduisent l'induction d'une caulogenèse, c'est-à-dire la formation de tiges ou de bourgeons à partir des cellules différenciées de l'explant. Ces résultats indiquent que le milieu hormonal utilisé est favorable à la régénération de l'arganier, et que la synergie entre les deux cytokinines joue un rôle déterminant dans l'activation des méristèmes. Ce constat est en accord avec plusieurs travaux antérieurs, notamment ceux de Chérifi et al., (2017) et Adib et al. (2015), qui ont montré que l'application combinée de cytokinines favorise une multiplication axillaire plus efficace que lorsqu'elles sont appliquées individuellement. En effet, la BAP est connue pour stimuler l'initiation de bourgeons, tandis que la kinétine peut améliorer la qualité morphologique des pousses induites et stabiliser le développement. Le développement *in vitro* des embryons zygotiques de plusieurs essences, nécessite la présence d'une cytokinine, notamment la BA à des doses généralement faibles de l'ordre de 1mg/l. C'est le cas par exemple du genre *Juglans* (Benmahioul, 2001).

Le taux le plus élevé a été obtenu dans les milieux M5 et M7. L'addition de ces deux cytokinines à de faibles concentrations a permis d'obtenir des explants caulogène après 45 jours de culture.

L'emploi de la BA favorise surtout le démarrage des bourgeons axillaires secondaires de nos boutures initiales en formant des touffes denses de feuilles. Il semble d'après notre recherche bibliographique que cette hormone provoque la levée de dormance des bourgeons axillaires d'où leur développement (Boxus, 1995). C'est une hormone très recommandée pour la micropropagation des ligneux (Auge, 1984 et Zryid, 1988).

Les cytokinines (Kin, BAP et BA) sont l'une des composantes essentielles capables d'influencer le débourrement des bourgeons et leurs développement en tiges feuillées (Zryid, 1988 ; Auge, 1984 ; Margara, 1989). L'incorporation des cytokinines dans le milieu de culture initie le développement des pousses axillaires. Celles-ci prolifèrent d'autant plus qu'elles sont soustraites à l'inhibition corrélative du bourgeon apical. Les pousses ainsi multipliées sont isolées et mises à enracerer *in vitro* ou *in vivo* (Walali loudly, 1993).

Lors de cette étude, la BA, comparativement aux autres cytokinines, s'est révélée elle aussi d'une efficacité moyenne à bonne. La bonne action de cette hormone sur le débourrement des bourgeons s'est exprimée aussi chez le chêne-liège (EL Kbiach, 2002) et l'Acacia (Sane et al., 2001).

Selon la littérature, la BA été la cytokinines la plus communément utilisée en micro bouturage soit seule ou en combinaison avec la Kinétine, mais son usage en concentration élevées peut avoir un effet inhibiteur de développement des bourgeons axillaires et cause des anomalies de formation comme la vitrification (Mendoza de gyves et al., 2007). Compte tenu des résultats obtenus, concernant le débourrement des bourgeons axillaires, nous pouvons dire que la cytokinine (BA) doit être présente dans le milieu de culture pour le développement des explants, cette même constatation a été faite chez *Quercus suber* (Manzanera et al., 1990). La kinétine a favorisé les meilleurs débourrement et le meilleur développement des bourgeons axillaires chez *Irvingia gabonensis* (Dmokolo et al., 2003).

Parlant de l'usage d'auxines seules à différentes concentrations, il a permis le débourrement de bourgeons axillaires, mais à des proportions faibles. Ce sont les milieux à AIB qui semblent stimuler le plus le débourrement des bourgeons. Malgré cela, la mise en place d'un protocole de régénération efficace pour l'organier reste complexe, en raison de réponses variables aux concentrations hormonales utilisées. Plusieurs études ont toutefois permis de progresser dans l'optimisation des milieux de culture, notamment par l'utilisation de cytokinines telles que le BAP pour stimuler le bourgeonnement, ou d'auxines comme l'AIA ou le NAA pour favoriser l'enracinement (Adib et al., 2015 ; Chérifi et al., 2017).

Les cytokinines associées aux auxines, favorisent généralement la prolifération *in vitro* des méristèmes préexistant ce qui explique le meilleur taux de débourrement des bourgeons. Ces résultats obtenus concordent avec ceux de Lamaoui, 2015 qui a utilisé la même combinaison hormonale. En outre, Sané et al., (2001) trouvent que, l'association entre les cytokinines et les auxines est nécessaire pour induire la formation des tissus chez *l'Acacia raddiana*

Conclusion

Conclusion

Cette étude démontre que la micropropagation de l'arganier (*Argania spinosa* L.) par microbouturage représente une approche biotechnologique fiable et efficiente pour sa multiplication et sa conservation, notamment en réponse aux limites de la régénération naturelle et aux faiblesses des méthodes conventionnelles.

Les données obtenues montrent que l'application des techniques de biotechnologie végétale, et en particulier la micropropagation *in vitro*, associée à l'incorporation de régulateurs de croissance dans le milieu de culture de Murashige et Skoog (MS), favorise une régénération efficace des explants ou des microboutures d'arganier.

L'une des principales difficultés rencontrées au cours de cette étude sur la culture *in vitro* des microboutures est la contamination microbienne et fongique, susceptible de compromettre sérieusement le bon déroulement de l'expérimentation. Ce problème entraîne non seulement la perte de matériel végétal, mais également un rallongement considérable des délais expérimentaux. Plusieurs échantillons ont été ainsi éliminés en raison de la contamination du milieu de culture. Malgré les protocoles de stérilisation rigoureux, certains microorganismes peuvent rester latents dans les tissus végétaux ou résister aux désinfectants. Ces contaminations fongique et bactérienne sont probablement dues à une mauvaise manipulation.

Les résultats obtenus montrent que la réponse des explants varie selon les milieux de culture testés, et que certains traitements hormonaux favorisent significativement la reprise de la végétation *in vitro*. Les milieux Murashige et Skoog enrichis en combinaisons spécifiques de phytohormones, notamment ANA, BAP et Kin se sont révélé les plus favorables à la régénération.

Le débourrement des bourgeons axillaires a été évalué en utilisant différentes combinaisons de phytohormones. Lors de la phase d'initiation, ce débourrement a été observé dans les traitements M2, M4, M5, M6 et M7, avec des réponses variables, après 45 jours de culture. Les résultats montrent que les combinaisons hormonales suivantes : (ANA, BAP et Kin) et (Kin et ANA) favorisent un débourrement optimal des bourgeons axillaires, atteignant

un taux de réussite de 100 %, tout en produisant des microboutures vigoureuses. Les phases d'induction racinaire et d'acclimatation sont actuellement en cours d'évaluation expérimentale.

En conclusion, cette étude met en évidence l'importance cruciale de certains paramètres, en particulier la concentration en régulateurs de croissance, dans la réussite de la culture *in vitro* de l'arganier. Les réponses variables des explants selon les conditions appliquées soulignent la nécessité d'ajustements fins des milieux de culture afin d'optimiser les taux de régénération. Ces résultats constituent une base prometteuse pour le développement de protocoles fiables de multiplication et de conservation de cette espèce endémique.

Liste des références bibliographiques

Références bibliographiques

- Anonyme. (1999).** Cahier de références techniques : Micro propagation pour l'entreprise serricole CIDES.
- Bamouh, A. (2002).** *Essais de bouturage de l'arganier*. Revue HCEFLCD.
- Bani-Aameur, F., Zahidi, A., & Ferradous, A. (1999).** L'arganier, un arbre fruitier en voie de domestication. Oléagineux, Corps Gras, Lipides, 6(4), 388-392.
<https://doi.org/10.1051/ocl.1999.0388>
- Baziz K. (2004).** La culture *In vitro* appliquée aux rosiers : Micropropagation de *Ros canina*. L. Thèse de Magistère. Univ. Constantine.
- Belcadi Haloui, R., Choukr-Allah, R., & El Mourid, M. (2017).** Caractérisation morphologique des fruits d'arganier (*Argania spinosa*). Revue Marocaine des Sciences Agronomiques et Vétérinaires, 5(1), 63–70.
- Bellakhdar, J. (1997).** La pharmacopée marocaine traditionnelle : Médecine arabe ancienne et savoirs populaires. Ibis Press.
- Ben Abderrahim, M. A., El Omari, B., Chlyah, A., & Chlyah, H. (2013).** Influence of activated charcoal on somatic embryogenesis and plant regeneration of *Argania spinosa* L. *In Vitro Cellular & Developmental Biology – Plant*, 49(6), 731–739.
<https://doi.org/10.1007/s11627-013-9522-0>
- Benabdellah, F., Kaid-Harche, M., & Djekoun, A. (2007).** Optimization of *in vitro* culture for *Argania spinosa*: problems of callogenesis and regeneration. *Biotechnology*, 6(2), 246–251.
- Benaouf Z., (2017).** Etude Phénologique Et Apport De La Mycorhization Sur La Croissance De L'arganier (*Argania Spinosa* (L.) Skeels) Dans l'Ouest Algérien. Mémoire de doctorat. Université Des Technologie«HouariBoumediene» : 6.
- Benhammou, A. (2007).** *Les huiles d'argan du Maroc : étude comparative des procédés d'extraction*. Mémoire d'ingénieur, Institut Agronomique et Vétérinaire Hassan II.
- Benkhalfoun, S. (2011).** *L'arganier, arbre à usages multiples au Maroc*. Bulletin de la Société Botanique du Maroc.

Benkheira, A. (2009). L'arganeraie algérienne. *Bulletin d'information du Projet ALG/00 G*, 35, 1-15.

Chakeur, S., & Yousfi, S. (2007). *Culture in vitro de l'arganier : essais de régénération par organogenèse*. Revue Biotechnologie et Environnement.

Charrouf, Z. (2002). Valorisation des produits de l'arganier (*Argania spinosa*): cas de l'huile. *Biotechnologies, Agronomie, Société et Environnement*, 6(2), 141–147.

Charrouf, Z., & Guillaume, D. (2007). Argan oil: Occurrence, composition and impact on human health. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 109(7), 632–636. <https://doi.org/10.1002/ejlt.200700040>

Charrouf, Z., & Guillaume, D. (2007). Sustainable development in Northern Africa: The argan forest case. *Agroforestry Systems*, 71(3), 199–206. <https://doi.org/10.1007/s10457-007-9083-6>

Charrouf, Z., & Guillaume, D. (2010). Sustainable development in Northern Africa: The argan forest case. *Sustainability*, 2(2), 354-362. <https://doi.org/10.3390/su2020354>

Chérifi, K., Boulli, A., & El Mousadik, A. (2017). *In vitro* regeneration and somatic embryogenesis of *Argania spinosa* L. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 130(2), 323–332. <https://doi.org/10.1007/s11240-017-1217-y>

Djoudi, E., & Djellouli, N. (2009). *Tentatives de culture in vitro de l'arganier*. Mémoire Master, Université de Tlemcen.

Dodeman, V. L., Ducreux, G., & Kreis, M. (1997). Zygotic embryogenesis versus somatic embryogenesis. *Journal of Experimental Botany*, 48(313), 1493–1509. <https://doi.org/10.1093/jxb/48.313.1493>

El Allali, A., Ater, M., & Boubaker, H. (2012). Genotypic variability and *in vitro* response of *Argania spinosa* L. clones. *African Journal of Biotechnology*, 11(10), 2472–2479. <https://doi.org/10.5897/AJB11.3267>

El Boullani, R., El Maghraoui, T., & Ater, M. (2021). Cryopreservation of *Argania spinosa* embryonic tissues: a tool for germplasm conservation. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 146(3), 611–620. <https://doi.org/10.1007/s11240-021-02092-y>

El Mousadik, A., & Petit, R. J. (1996). High level of genetic differentiation for allelic richness among populations of the argan tree (*Argania spinosa* L. Skeels) endemic to Morocco. *Theoretical and Applied Genetics*, 92(7), 832-839. <https://doi.org/10.1007/BF00221895>

Gamborg, O. L., Miller, R. A., & Ojima, K. (1968). Nutrient requirements of suspension cultures of soybean root cells. *Experimental Cell Research*, 50(1), 151–158. [https://doi.org/10.1016/0014-4827\(68\)90403-5](https://doi.org/10.1016/0014-4827(68)90403-5)

Haberlandt, G. (1902). Culturversuche mit isolierten Pflanzenzellen. *Sitzungsberichte der Kaiserlichen Akademie der Wissenschaften Wien, Mathematisch-Naturwissenschaftliche Klasse*, 111, 69–92.

Ikrimah, N., Ennabili, A., & El Hassan, H. (2020). Optimization of somatic embryogenesis for argan tree (*Argania spinosa*). *African Journal of Biotechnology*, 19(18), 1367–1374. <https://doi.org/10.5897/AJB2020.17147>

Kechairi, O. (2009 & 2018). *Études écologiques et cartographiques des peuplements d'arganier dans la région de Tindouf*. Rapport de recherche, Université de Tlemcen.

Khadari, B., El Mousadik, A., & Petit, R. J. (2003). Chloroplast DNA diversity in *Argania spinosa* (Sapotaceae). *Heredity*, 89, 404–409. <https://doi.org/10.1038/sj.hdy.6800241>

Lloyd, G., & McCown, B. (1980). Commercially-feasible micropropagation of mountain laurel, *Kalmia latifolia*, by shoot tip culture. *Proceedings of the International Plant Propagators' Society*, 30, 421–427.

Metougui, M. N., El Ghachoui, N., & et al. (2017). *Étude du bouturage de l'arganier sous conditions contrôlées*. Revue Marocaine de Biotechnologie.

Mokhtari, R., Chlyah, H., & Chlyah, A. (2020). *Culture in vitro et embryogenèse somatique de l'arganier : potentiel et contraintes*. Biotechnologie, Agronomie, Société et Environnement.

Morton, J. F., & Voss, G. L. (1987). The argan tree (*Argania sideroxylon*, Sapotaceae), a desert source of edible oil. *Economic Botany*, 41(2), 221-233. <https://doi.org/10.1007/BF02858991>

Msanda, F. (1993). *Contribution à l'étude des populations d'arganier au Maroc.* Thèse de doctorat, Université de Rabat.

Msanda, F., El Mousadik, A., & Peltier, J. P. (2005). Biodiversity and genetic variation of argan tree populations in Morocco. *Forest Ecology and Management*, 207(1-2), 327-338.
<https://doi.org/10.1016/j.foreco.2004.10.067>

Murashige, T., & Skoog, F. (1962). A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiologia Plantarum*, 15(3), 473–497.
<https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1962.tb08052.x>

Nouaim R. Et Chaussod R., (1993). L'arganier (*Argania spinosa*(L) Skeels). Le flamboyant bulletin de liaison des membres du réseau arbres tropicaux, 27 :50-64.

Nouaim, R., Chaussod, R., & Fakhri, H. (2002). Travaux sur la multiplication et conservation de l'arganier. *Revue Forestière Marocaine*.

Nouaim, R., Chaussod, R., Dommergues, Y., & Benlahcen, M. (1996). L'arganier au Maroc: Une espèce fruitière à usages multiples menacée par la désertification. *Sécheresse*, 7(4), 273-280.

Romagny, B., & Guyon, A. (2010). L'arganier, entre déforestation et développement durable. *Revue Tiers Monde*, 201(1), 143–161.

Rouhi R., (1991). Anatomie de l'arganier (*Argania spinosa* (L.) Skeels). Actes du colloque international sur l'arganier. Agadir : 100 – 103.

Skoog, F., & Miller, C. O. (1957). Chemical regulation of growth and organ formation in plant tissues cultured *in vitro*. *Symposia of the Society for Experimental Biology*, 11, 118–130.

Terfas, M. (1997). *Plantes médicinales du Maroc.* Publication Universitaire.

Zahidi, A., & al. (1994, 1995). *Diversité morphologique et écologique de l'arganier.* Travaux INRA Maroc.

Zarrrouk, W., et al. (1987). *Étude phytochimique de la pulpe du fruit de l'arganier.* Revue de la Société Chimique du Maroc.

Zryd, J. P. (1988). Somatic embryogenesis: progress and problems. *Advances in Cellular and Molecular Biology of Plants*, 5, 173–187.

Multiplication végétative de l'arganier (*Argania spinosa* L. Skeels) par culture *in vitro*

Mémoire pour l'obtention du diplôme de Master en Biotechnologie et Génomique Végétale

Résumé

L'Arganier (*Argania spinosa* L. Skeels), est une espèce forestière, endémique du sud-ouest algérien, cette espèce est en voie de disparition. Sa régénération par voie naturelle est devenue impossible, et sa multiplication par des méthodes classiques reste difficile aussi. Dans ce contexte, le recours aux techniques de biotechnologie végétale s'avère nécessaire pour assurer la multiplication et la préservation de cette espèce. L'objectif de notre travail est de déterminer les conditions optimales pour la micropropagation de l'arganier par microbouturage. Un essai de multiplication *in vitro* a été réalisé à partir d'explants constitués de microboutures d'environ 1 cm de long. Ces microboutures ont été repiquées sur un milieu de culture Murashige et Skoog (MS) servant de témoin, ainsi que sur le même milieu enrichi avec sept différentes combinaisons hormonales d'auxines et de cytokinines. Les résultats obtenus démontrent l'efficacité du microbouturage dans la régénération de l'arganier, contribuant ainsi à sa multiplication et à la préservation de l'espèce. Les explants ont présenté des réactions variables en fonction des milieux de culture testés. Lors de la phase d'initiation, une activation des explants a été observée dans les traitements M2, M4, M5, M6 et M7, avec des degrés de réponse différents, après 45 jours de culture. En conclusion, les milieux de culture les plus favorables à la reprise de la végétation *in vitro* des explants d'arganier se sont révélés être les milieux MS enrichis en phytohormones ANA, BAP et Kin.

Mots-clefs : *Argania spinosa* L., *in vitro*, micropropagation, hormones de croissance, régénération.

Laboratoires de recherche : Laboratoire de Biochimie Génétique et Biotechnologie Végétale
Université Constantine 1 Frères Mentouri.

Président du jury : Dr. KHENAOUI Amina (MC(B) U Constantine1 Frères Mentouri).

Encadrant : Dr. MOUELLEF Adra (MC(B) U Constantine1 Frères Mentouri).

Examinateur(s) : Dr. HAMLA Chourouk (MC(B) U Constantine1 Frères Mentouri).