

UNIVERSITE ABOU BEKR BELKAID TLEMCCEN

FACULTE SNV/STU



Département d'Agronomie

Laboratoire d'Ecologie et de Gestion des Ecosystèmes naturels

Mémoire présenté en vue de l'obtention du Diplôme de

Master

Filière : Production végétale

Thème

Contribution à l'étude de la germination et de la rhizogénèse
du Maïs (*Zea mays* L.) in vitro

Par :

Melle Hamadi Aicha

Date de soutenance : 24 septembre 2020

Devant le jury :

| | | | |
|------------------------|-----------|------------|-----------------------|
| M. El Haitoum Ahmed | Président | M.C.A. | Université de Tlemcen |
| M. Ghezlaoui B. Eddine | Examineur | Professeur | Université de Tlemcen |
| M. Benabadji Noury | Encadreur | Professeur | Université de Tlemcen |

Année : 2019/2020

Remerciements

J'adresse tout d'abord mes vifs remerciements à **M. Benabadi Noury** Docteur d'Etat Es-Sciences et Professeur à l'Université de Tlemcen pour son encadrement, sa disponibilité, ses précieux conseils,

J'exprime toute ma grande gratitude à **M. Ghezlaoui B. Edine** d'avoir accepté d'être examinateur de mon travail,

J'exprime aussi ma gratitude à **M. El-Haitoum Ahmed** il me fait honneur d'avoir accepté d'être le président de mon jury,

Un grand remerciement à **Melle Benabdelmoumène Fatna** pour son aide au niveau du laboratoire,

Mes remerciements les plus sincères et les plus chaleureux à mes parents pour leurs encouragements durant toutes ces années,

Et enfin tous mes remerciements aux enseignants de la faculté SNV/STU.

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail

A mes **parents** que Dieu les protège et les garde pour moi

A mes chères cousines :

- **Awali**
- **Bouchra**
- **Naima**

A ma chère amie : **Chikhaoui Nouha**

Au reste de ma famille et mes amis qui m'ont soutenu

Hamadi Aicha

Liste des abréviations

® : Moyenne

C1-1 : concentration 1g/l de NaCl ; 1^{ère} répétition

C1-2 : concentration 1g/l de NaCl ; 2^{ème} répétition

C1-3 : concentration 1g/l de NaCl ; 3^{ème} répétition

C1-4 : concentration 1g/l de NaCl ; 4^{ème} répétition

G1 : Milieu Gélose nutritive ; 1^{ère} répétition

G2 : Milieu Gélose nutritive ; 2^{ème} répétition

G3 : Milieu Gélose nutritive ; 3^{ème} répétition

M1 : Milieu Muller Hinton ; 1^{ère} répétition

M2 : Milieu Muller Hinton ; 2^{ème} répétition

M3 : Milieu Muller Hinton ; 3^{ème} répétition

Liste des figures

| | |
|--|----|
| Figure 1 : Différentes parties de la plante de maïs..... | 6 |
| Figure 2 : différentes parties d'un grain de maïs..... | 7 |
| Figure 3 : Dispositif expérimental de la germination des grains du maïs (<i>Zea mays</i>) in vitro..... | 15 |
| Figure 4 : Pourcentage de graines germées milieu Gélose nutritive , T° : 20°C, 5°C, 40°C..... | 19 |
| Figure 5 : Pourcentage de graines germées milieu Muller Hinton , T° : 20°C, 5°C, 40°C..... | 19 |
| Figure 6 : Pourcentage de graines germées dans l'eau distillée, T° : 20°C, 5°C, 40°C..... | 20 |
| Figure 7 : pourcentage de graines germées sous concentrations NaCl : 0g/l, 1g/l, 2g/l, 3g/l, 4g/..... | 21 |
| Figure 8 : Résultats de la germination in vitro des graines de maïs (<i>Zea mays</i>) dans le milieu Muller Hinton dans différentes températures..... | 22 |
| Figure 9 : Résultats de la germination in vitro des graines de maïs (<i>Zea mays</i>) dans le milieu Gélose nutritive dans différentes températures..... | 23 |
| Figure 10 : Résultats de la germination in vitro des graines de maïs (<i>Zea mays</i>) arrosées par l'eau distillé dans des températures Différentes..... | 24 |
| Figure 11 : Résultats de la germination in vitro des graines de maïs (<i>Zea mays</i>) arrosées par différentes concentrations de NaCl : 0g/l, 1g/l, 2g/l, 3g/l, 4g/l..... | 26 |

| | |
|---|----|
| Figure 12 : dispositif expérimental de la rhizogénèse à 20°C.... | 35 |
| Figure 13 : Mesure de la taille des racines mises en culture in vitro dans deux milieux différents..... | 39 |
| Figure 14 : Mesure de la taille des racines mises en culture in vitro sous concentrations de NaCl : 0g/l, 1g/l, 2g/l, 3g/l, 4g/l..... | 39 |
| Figure 15 : Culture des fragments racinaires du maïs (<i>Zea mays</i>) in vitro dans deux milieux différents..... | 40 |
| Figure 16 : Culture des fragments racinaires du maïs (<i>Zea mays</i>) in vitro dans des concentrations différentes de NaCl | 42 |
| Figure 17 : Corrélations entre les concentrations NaCl et les pourcentages de germination (4 ^{ème} semaine) des graines de maïs (<i>Zea mays</i>) à une température de 20°C..... | 47 |
| Figure 18 : Corrélations entre les concentrations NaCl et les pourcentages de rhizogénèse (3 ^{ème} semaine) des graines de maïs (<i>Zea mays</i>) à une température de 20°C..... | 49 |

Liste des tableaux

| | |
|---|----|
| Tableau 1 : Composition biochimique des deux milieux..... | 11 |
| Tableau 2 : Germination des graines de maïs (<i>Zea mays</i>) dans différents milieux et à températures différentes..... | 18 |
| Tableau 3 : Germination des graines de maïs (<i>Zea mays</i>) dans différentes concentrations de NaCl à températures 20°C..... | 20 |
| Tableau 4 : Mesure de la taille des racines mises en culture in vitro dans deux milieux différents..... | 37 |
| Tableau 5 : Mesure de la taille des racines mises sous différentes concentrations de sels NaCl | 38 |
| Tableau 6 : Corrélations entre les concentrations de NaCl et les pourcentages de germinations (4 ^{ème} semaine) des graines de maïs (<i>Zea mays</i>) à une température de 20°C..... | 46 |
| Tableau 7 : Corrélations entre les concentrations de NaCl et les pourcentages de rhizogénèse (3 ^{ème} semaine) des fragments racinaires de maïs (<i>Zea mays</i>) à une température de 20°C..... | 48 |

Sommaire

Remerciements

Dédicaces

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction générale..... 1

Chapitre I : Aperçu botanique de l'espèce

I.1. Appareil végétatif.....5

I.2. Pièces de reproduction.....8

I.3. Systématique de l'espèce.....8

Chapitre II : Germination du maïs (*Zea mays* L.)

II. 1. Introduction.....10

II.2. Matériels et méthodes.....11

II. 2. 1. Culture du maïs en Algérie.....13

II. 2. 2. Dispositif expérimental..... 14

II.3. Résultats et interprétations..... 16

II.4. Conclusion..... 27

Chapitre III : Culture in vitro de la rhizogénèse du maïs (*Zea mays* L.)

| | |
|--|----|
| III.1. Introduction..... | 29 |
| III.2. Matériels et méthodes..... | 31 |
| III. 2. 1. Culture fragments racinaires..... | 33 |
| III. 2. 2. Dispositif expérimental..... | 33 |
| III.3. Résultats et interprétations..... | 36 |
| III.4. Conclusion..... | 43 |

Chapitre IV : Etude statistique de la germination et de la rhizogénèse

| | |
|---|----|
| IV.1. Méthodologie..... | 45 |
| IV.2. Résultats et interprétations..... | 46 |
| IV.3. Conclusion..... | 50 |

Conclusion générale 51

Bibliographie..... 54

Résumé

Introduction générale

Introduction générale

Le maïs *Zea mays* constitue l'un des piliers de la sécurité alimentaire dans le monde, cultivé pour l'alimentation humaine et animale, ainsi pour l'utilisation dans l'industrie textile, pharmaceutique, la production de plastique biodégradable et de biocarburant. Il représente l'unique espèce cultivée du genre *Zea*, sa zone de culture s'est vite élargie, surtout après la deuxième guerre mondiale, dans les pays tempérés grâce au progrès de la sélection variétale (Anonyme, 2018).

Les deux principaux producteurs sont les Etats-Unis et la Chine, qui assurent près de 60% du total mondial.

En Afrique, c'est l'aliment de base de plusieurs pays, les deux plus grands producteurs du continent, l'Afrique du Sud et la Zambie. En Algérie les superficies emblavées et les rendements n'ont cessé d'augmenter au fil des années.

Le maïs *Zea mays* est incroyablement riche en biodiversité génétique, il provient d'une recombinaison ou plus précisément d'une sélection naturelle entre les génomes de *téosintes* et *tripsacum*, dont les téosintes sont endémiques au Mexique et en Amérique centrale et le *tripsacum subsp.* ou gamagrass est une plante vivace rhizomateuse qui s'étend de l'Est de l'Amérique du Nord à l'Amérique du Sud (Anonyme, 2001).

Zea mays, est cultivé sur un large éventail de sols et de conditions climatiques, et le Sahara Algérien fait partie de son aire de répartition, mais il n'ya pas de rapports publiés concernant la diversité génétique du germoplasme du maïs dans le désert du Sahara ou même dans la plupart des pays d'Afrique du Nord. Le maïs saharien a évolué à partir d'introductions tropicales faites par des pèlerins musulmans espagnols au cours du XVI siècle, ou de réintroductions ultérieures par des conquérants turcs ou français (Anonyme, 2011).

Devenu récemment l'une des céréales les plus cultivées, elle se place juste derrière le riz et le blé à travers le monde. Selon Lapie (2019), cette espèce cultivée est utilisée comme organisme modèle (OGM) dans la recherche fondamentale et cela depuis plus d'un siècle.

Introduction générale

Le maïs a fait l'objet de plusieurs études à caractères biologiques (génétique surtout), agronomiques (fertilisation, adaptations diverses au sol, au bioclimat, etc...). Dans notre cas nous avons jugé utile d'aborder ou carrément réaliser une étude sur cette espèce qui consiste à suivre sa germination dans des milieux (à T°C différentes, à concentrations croissantes de sels **NaCl**), on a été également voir où existe un intérêt certain qui semble attirer les chercheurs physiologistes agronomes, il s'agit bien entendu de la rhizogénèse (suivi de la croissance des racelles) en milieu in-vitro et en présence de milieux de cultures synthétiques (**Muller Hinton** et **Gélose nutritive**). Une expérience peu évidente car ce genre de manipulation au laboratoire exigent beaucoup de verrerie appropriée nécessite ou demande non seulement beaucoup de minuties mais aussi beaucoup d'asepsie (milieux stériles) afin d'éviter le dépôt et la prolifération d'agents pathogènes. Peu de travaux ont été effectués sur les racines même si d'autres se sont déroulé sur les parties aériennes de la plante. Cette étude se propose d'étudier l'effet de la température (étuve à 40°C, T°C ambiante et T°C du frigidaire), de voir les effets des différents niveaux de salinité sur les grains de maïs *Zea mays* L. in vitro dont les paramètres morphométriques végétaux mesurés sont : la germination des graines, l'élongation des fragments racinaires.

Cette tentative ambitieuse pourrait-elle nous fournir le caractère où l'originalité souhaitée serait présente ? Les milieux de cultures cités plus hauts agiront-ils sur les racines ? Pourront-ils entraîner des allongements (lents ou rapides) sur les fragments racinaires du maïs ? La composition de ces milieux synthétiques va-t-elle influencer cette dite croissance ? Pour pouvoir apporter les éléments de réponses nous aborderons dans ce mémoire les chapitres:

- Chapitre I : Aperçu botanique de l'espèce ;
- Chapitre II : Germination du maïs (*Zea mays* L.) ;
- Chapitre III : Culture in vitro de la rhizogénèse du maïs (*Zea mays* L.).

Chapitre I

Aperçu botanique de l'espèce

I.1. Appareil végétatif

Le maïs est une herbacée annuelle, la plante possède un système racinaire, caractérisé par des racines traçantes.

La taille de la tige de maïs pour les variétés cultivées, varie de 1 à 3m. C'est un empilement de nœuds et d'entre-nœuds. Au niveau de chaque nœud, on trouve une feuille et chaque feuille est composée d'une gaine foliaire et de limbes allongés à nervures parallèles. La gaine foliaire est peu chlorophyllienne, alors que le limbe est photosynthétique et le lieu principal des échanges atmosphériques.

Les bourgeons de la base de la tige peuvent donner des talles, ceux du milieu un ou plusieurs épis et le bourgeon terminal la panicule.

Le maïs est une plante C4, qui possède des stomates sur les deux faces des limbes des feuilles.

Le maïs est donc une plante mosaïque à inflorescences séparées. L'épi est une tige en miniature, avec des spathes et une inflorescence terminale formée d'un axe central, la rafle, qui porte les grains (Figure 01).

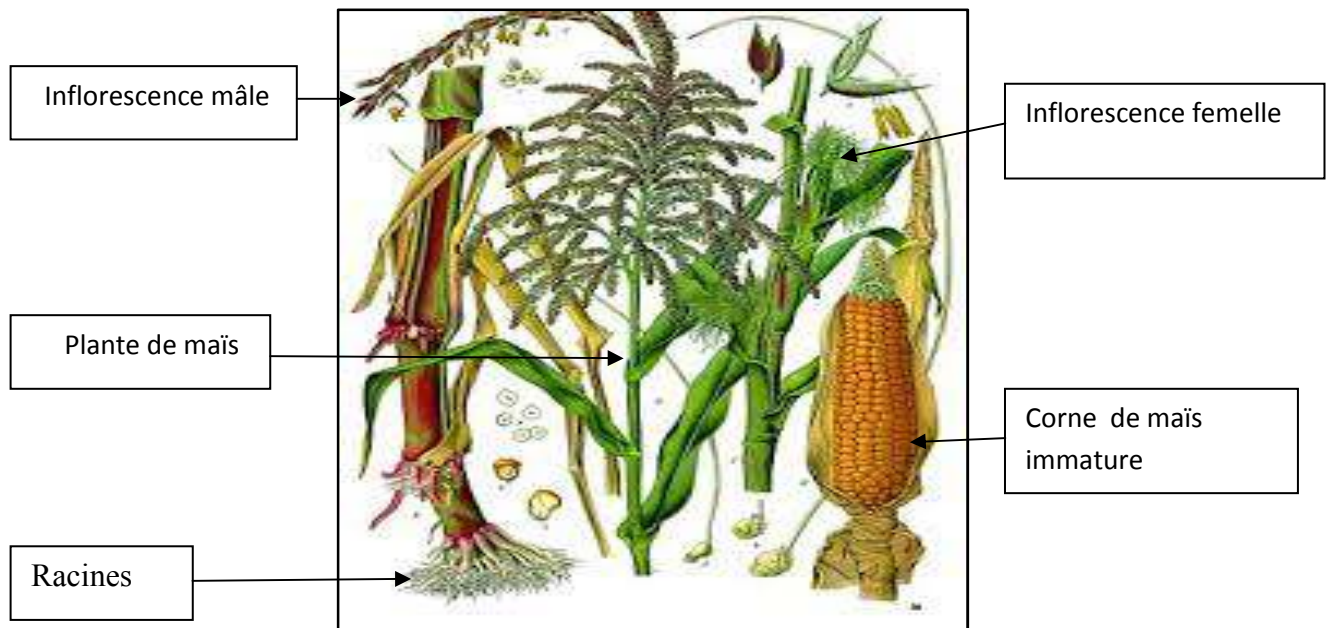


Figure 01 : Différentes parties de la plante de maïs (*Zea mays*)

Le grain de maïs est un caryopse, formé d'un embryon, le péricarpe (enveloppe), d'albumen riche en amidon, c'est l'amidon qui donnera couleur au grain de maïs, généralement jaune, mais aussi blanc, rouge ou noir (Anzala, 2006), dont :

- _ Les téguments représentent 5% de matière sèche du grain ;
- _ L'embryon ou le germe constitue 10% de la MS et est riche en lipides ;
- _ L'albumen 85% de la MS, constitué des cellules de l'endosperme qui accumule l'amidon et les protéines (Longchamp, 2012) (Figure 02).

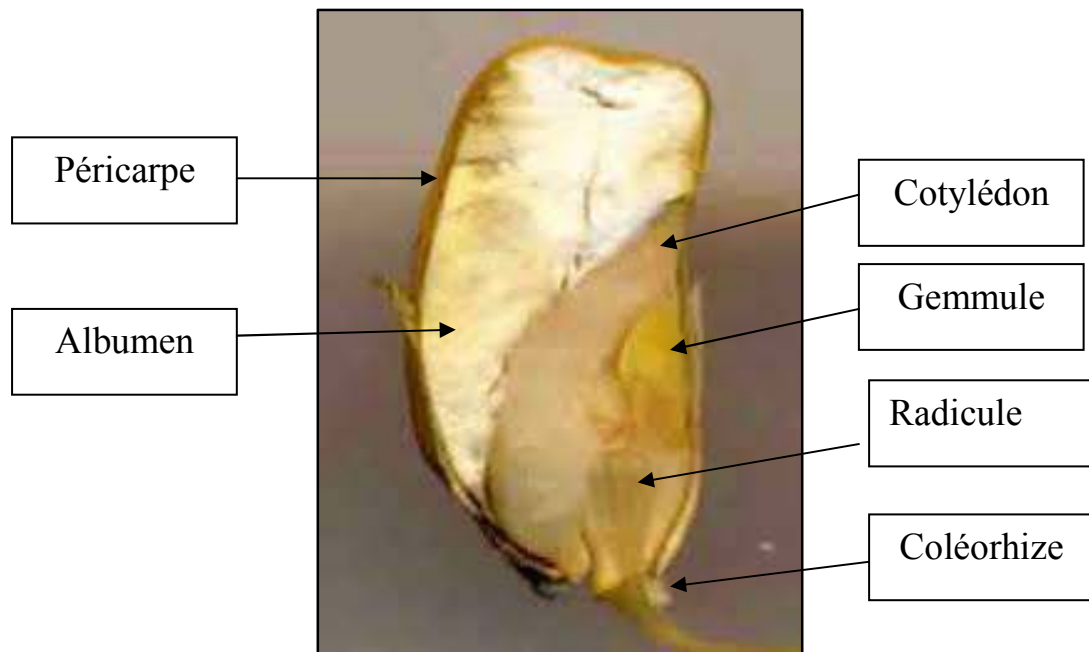


Figure 02 : Différentes parties d'un grain de maïs
(Vue en coupe longitudinale)

I.2. Pièces de reproduction

Le maïs est une plante monoïque, à pollinisation croisée, dont, les inflorescences femelles (épi) et les inflorescences mâles (panicules) sont disposées à des endroits distincts sur la plante ;

- Les épillets mâles en grappes spiciformes réunis sur une panicule terminale étalée ;
- Des inflorescences femelles insérées à l'aisselle des feuilles, dans lesquelles les épillets sont alignés en rangées de 8 à 16.

La pollinisation est une période très critique, le *Zea mays* est pollinisé par croisement et 95% ou plus des grains d'un épi reçoivent leur pollen de plantes de maïs voisines. Tout le pollen provient de l'inflorescence mâle et les ovules entièrement de l'inflorescence femelle.

I.3. Systématique de l'espèce

Selon **Doebley et Iltis(1980)** le maïs présente la classification suivante ;

Règne : végétal ;

Sous règne : Tracheobionta ;

Division : Magnolio ;

Classe : Liliopsidées ;

Sous classe : Commeliniadae ;

Ordre : Cypéales ;

Famille : Poacées ou Graminées) ;

Sous famille : Panicoidées ;

Tribu : Maydeae ;

Genre : *Zea* ;

Espèce : *Zea mays*

Chapitre II

Germination du maïs (*Zea mays*)

II.1.Introduction

La culture in vitro présente de nombreuses techniques pour l'investigation à la recherche biologique et physiologique végétale (Diallo, 1996). C'est l'une des méthodes les plus employées dans le domaine animal et végétal. Elle est définie comme étant la méthode de culture des plantes à l'aide d'un milieu nutritif dans des conditions aseptiques (sans champignons ni bactéries) indispensables à la réalisation de cette méthode.

Cette technique permet de cultiver des fragments d'organes isolés et même régénérer une plante entière (Beddi, 2017).

La graine est la structure dans laquelle un embryon de plante est généralement complètement développé, et qui a un embryon de survivre à la période entre la maturation des graines et l'établissement des semis.

La dormance des graines est définie comme l'échec d'une graine viable à terminer la germination, qui est contrôlée par plusieurs facteurs environnementaux (Koornneef, 2002). La plupart des graines ont la capacité à se déshydrater, à survivre à de longues périodes dans des environnements défavorables. Il s'agit d'une clé d'adaptation permettant la propagation des plantes dans des climats de plus en plus hostiles (Bradford, 1995).

La germination est la transition de la phase de vie latente de la graine sèche à la phase de développement de la plantule, elle se caractérise par trois phases: (i) phase d'imbibition; (ii) phase de germination; (iii) phase de croissance post-germinative (Anzala, 2006). Le signe visible étant que la germination ne peut être complet qu'avec la percée de la radicule.

La germination in vitro, assure la germination d'un maximum de graines dans le minimum de temps, et selon (Rees, 1959) cité par Rabechault et Cas (1974), il existe trois facteurs essentiels pour assurer une bonne germination, chacun agissant pour assurer une réaction déterminée au sein de la graine notamment la température, l'humidité et l'arrosage des grains.

II.2. Matériels et méthodes :

- **Matériels :**

- Boîtes de pétri ;
- Etuve réglée à 40°C ;
- Agitateur à barreau magnétique ;
- Balance à précision ;
- Pipettes, fioles jaugés 1000ml ;
- Pince stérilisée ;
- Eau de javel (hypochlorite de sodium) dilué (10ml de javel/1Litre d'eau distillée) ;
- Alcool éthylique à 96% dilué à 70% ;
- Eau distillée ;
- Solution **NaCl** (100g **NaCl**/1 d'eau) ;
- Acide lactique 10ml ;
- Antibiotic disc (amphotericin B) ;
- Milieu nutritive **Muller Hinton** (38g) ;
- Milieu **Gélose nutritive** (28g).

Tableau 01 : Compositions biochimique des deux milieux

| Gélose nutritive | | Muller Hinton | |
|-------------------------|--------|----------------------------|--------|
| Extrait de viande | 1g | Infusion de viande de bœuf | 300ml |
| Extrait de levure | 2,5g | Peptone de caséine | 17,5g |
| Peptone | 5g | Amidon de maïs | 1,5g |
| Chlorure de sodium | 5g | Agar- Agar | 17g |
| Agar- Agar | 15g | Eau distillée | 1000ml |
| Eau distillée | 1000ml | pH 7,4 | |
| pH 7 | | | |

- **Préparation de la solution mère NaCl :**

Elle consiste à :

- Peser 100g de chlorure de sodium et dissoudre dans l'eau distillée dans un bécher ;
- Transférer la solution dans une fiole jaugée et compléter à 1 litre avec l'eau distillée ;

Identifier la solution avec un marqueur.

- **Préparation du milieu de culture Miller Hinton :**

Elle consiste à :

- Peser et dissoudre 38g dans 1 litre d'eau ;
- Chauffer en agitant jusqu'à ébullition ;
- Identifier puis ranger au réfrigérateur après utilisation.

- **Préparation du milieu de culture la gélose nutritive :**

- Peser 28g et dissoudre dans 1 litre d'eau, et terminer l'opération selon la méthode citée précédemment.

- **Stérilisation des graines**

340 graines de maïs (provenant d'un échantillon aléatoire acheté d'une épicerie) ont été désinfectées par immersion dans différentes solutions selon la méthode la plus répandue :

- Lavage à l'eau courante ;
- Trempage des grains dans l'alcool éthylique (70%) pendant 25 secondes ;
- Un bain de solution d'eau de javel dilué pendant 15 minutes ;
- Trois lavage à l'eau distillée à raison de 10 minutes chacun ;

Les graines sont ensuite desséchées avec un papier filtre, et ensemencées dans des boîtes pétri à l'aide d'une pince stérilisée.

II.2.1. Culture de maïs en Algérie

Objet d'une spéculation agricole, le maïs semble s'intensifié aujourd'hui. En Algérie sa culture présente un faible niveau de production surtout celui qui destiné à l'alimentation humaine.

Le maïs fait partie des cultures fourragères les plus répandues dans les exploitations et les oasis Algériennes, dont il présente un grand intérêt dans les systèmes agricoles oasiens, mais occupent une superficie moyennement faible par rapport aux autres cultures telles que la phœniciculture, et la céréaliculture (Benhamid et Kaoua, 2018).

La première expérience de maïsiculture selon les services du ministère de l'agriculture en Algérie avait été menée dans la commune de Hassi Benabdellah avant d'être reprise dans d'autres régions, notamment celle de N'gousou et Remtha (Ouargla) et Gassi-Touil (Hassi-Messaoud). Selon les mêmes sources 1663 hectares sont consacrés à la filière de maïsiculture en 2018, dont 173 ha à la culture du maïs en grain avec une production de 6.920 quintaux en 2018 et 1490 ha ont été réservés au maïs d'ensilage et une production de 596.000 quintaux. La culture du maïs est réalisée essentiellement dans les oasis et arrosés par des dispositifs en pivot. La majorité de la production est assurée par les petites exploitations.

Ainsi, l'une des principales contraintes pour augmenter la production du maïs en Algérie est le rendement, celui-ci est généralement faible, et pour contribuer à leur amélioration, il est nécessaire de mettre à la disposition des producteurs plus d'accompagnements et d'encouragements de la part des instances 'tutelles' et utiliser des variétés améliorées comme par exemple les espèces ayant été hybridés (Hugues et al., 2014).

II.2.2. Dispositif expérimental

Après préparation des milieux de culture, on les verse dans les boîtes pétri (25ml/boîte). Les boîtes sont maintenues ouvertes pour éviter la formation des gouttelettes d'eau sur le couvercle. Après désinfection, dix graines sont placées par boîte à l'aide d'une pince stérilisée. La fermeture des boîtes se fait immédiatement pour éviter la contamination.

Pour les boîtes destinées à l'étude de l'effet sel, les graines sont disposées sur papier buvard comme base et seront arrosées régulièrement par des concentrations différentes de 1g/l de **NaCl**, 2g/l de **NaCl**, 3g/l de **NaCl** jusqu'à 4g/l de **NaCl** préparés à partir de la solution mère.

Pour les témoins, on a ensemencé les graines sur du papier buvard imbibé avec l'eau distillée.

Le nombre de répétition est de trois pour chaque milieu. Les boîtes ont été placées à trois températures différentes (sauf pour les boîtes **NaCl** qui ont été placées uniquement à une température ambiante) : 5°C (réfrigérateur), température ambiante et 40°C (étuve) afin de tester l'effet de la température sur la germination. Les boîtes ont été placées selon le dispositif suivant (Figure 3).

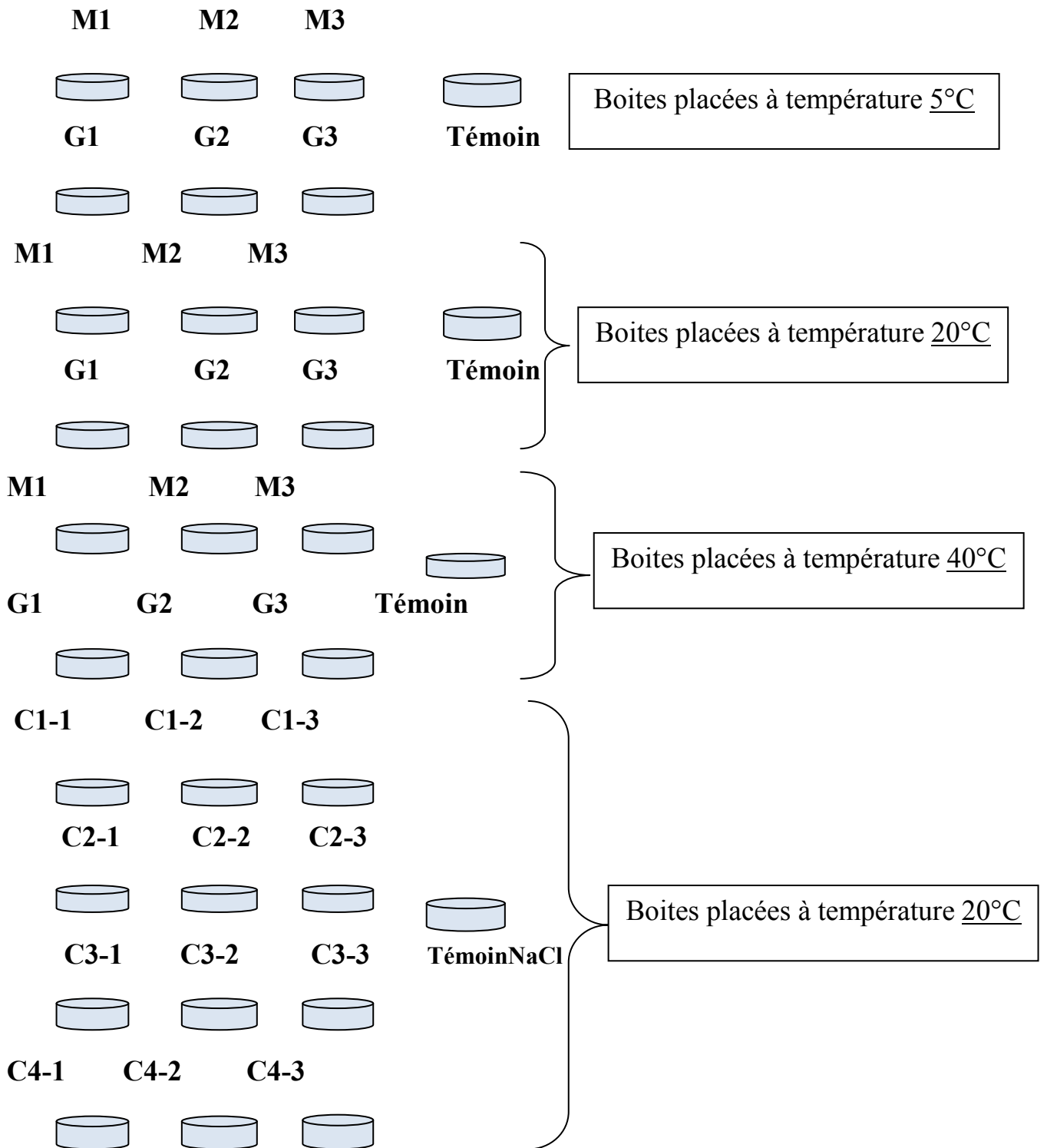


Figure 03 : Dispositif expérimental de la germination des grains du maïs (*Zea mays*) in-vitro

II.3. Résultats et interprétations (Tableaux 02, 03 et figures 04, 05, 06, 07, 08, 09, 10, 11)

Les graines germées sont dénombrées chaque semaine, le critère de germination est le gonflement de la graine et l'apparition de la radicule.

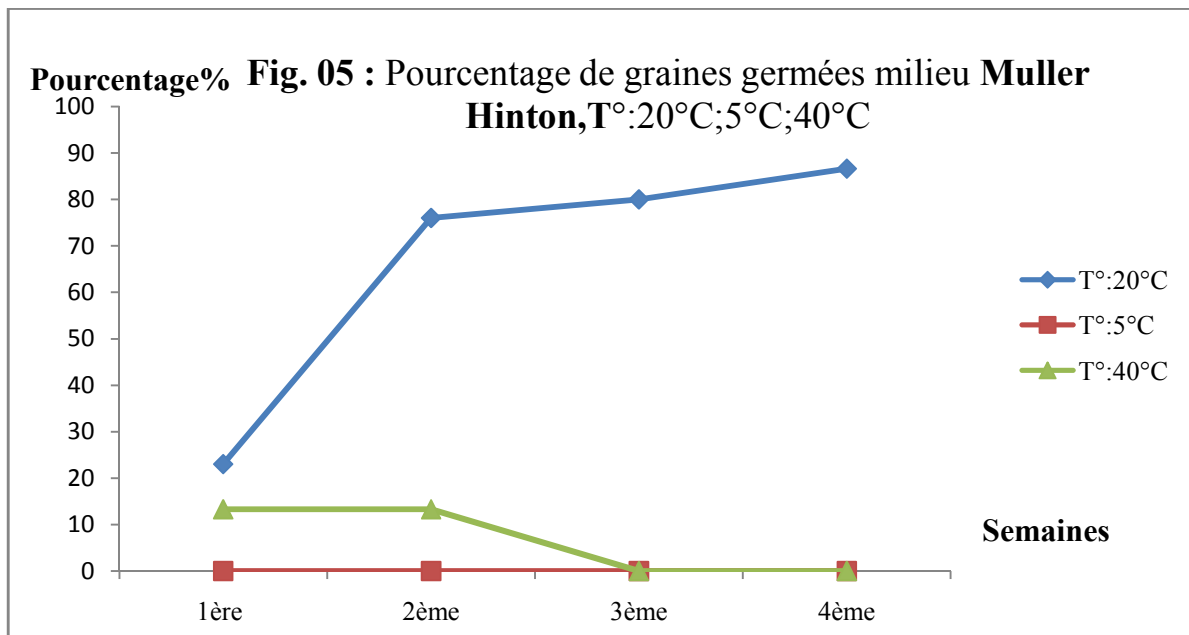
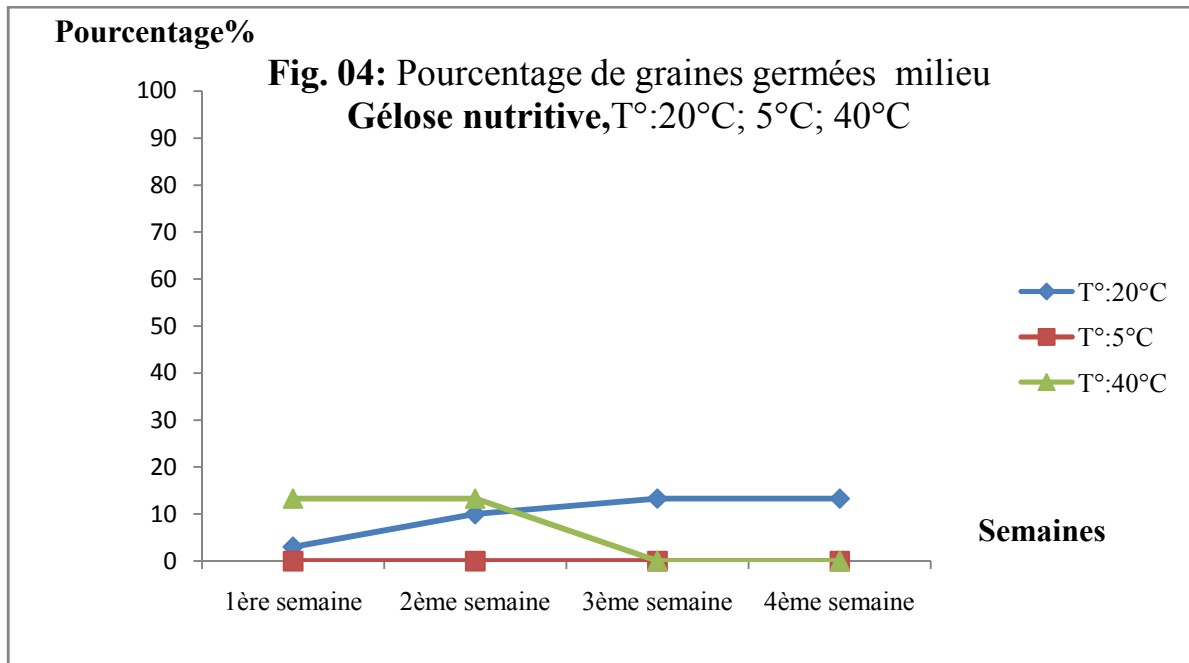
- **Eau distillée (voir tableau 02) :**
 - **A 5C° :** Le taux de germination est de 0%, on remarque après la 3^{ème} semaine un gonflement de quelques graines (Figures 06, 10).
 - **Température ambiante (20 à 25°C) :** les graines ont montré un pourcentage très élevé de la germination (100%) (Figures 06, 10).
 - **A 40C° :** Le taux de germination est important 90%, mais à partir de la 3^{ème} semaine on ne remarque aucun changement à cause de l'assèchement des graines du à notre avis à la haute température (Figures 06, 10).
- **Milieu Muller Hinton (voir tableau 02) :**
 - **A 5C° :** Le taux de germination est de 0% dans les trois répétitions. (Figures 05, 08)
 - **A 20-25°C :** le taux de germination est important 86,6%. (Figures 05, 08).
 - **A 40°C :** le taux de germination est très faible 13,3%, et à partir de la 3^{ème} semaine les graines ne montrent aucun changement en raison de l'excès d'eau ou encore carrément à cause de l'absence de maturité (Figures 05, 08).
- **Milieu Gélose nutritive (voir tableau 02)**
 - **A 5C° :** Le taux de germination est toujours nul durant les quatre semaines d'expérience 0% (Figures 4, 09).
 - **A 20-25°C :** Le taux de germination est très faible environ 13,3%, la forte contamination du milieu par les agents pathogènes en a été la cause (Figures 04, 09).
 - **A 40° C:** Très faible 13,3% ce pourcentage de germination est obtenu dès la première semaine qui va demeurer constant jusqu'à la 4^{ème} semaine (Figures 04, 09).

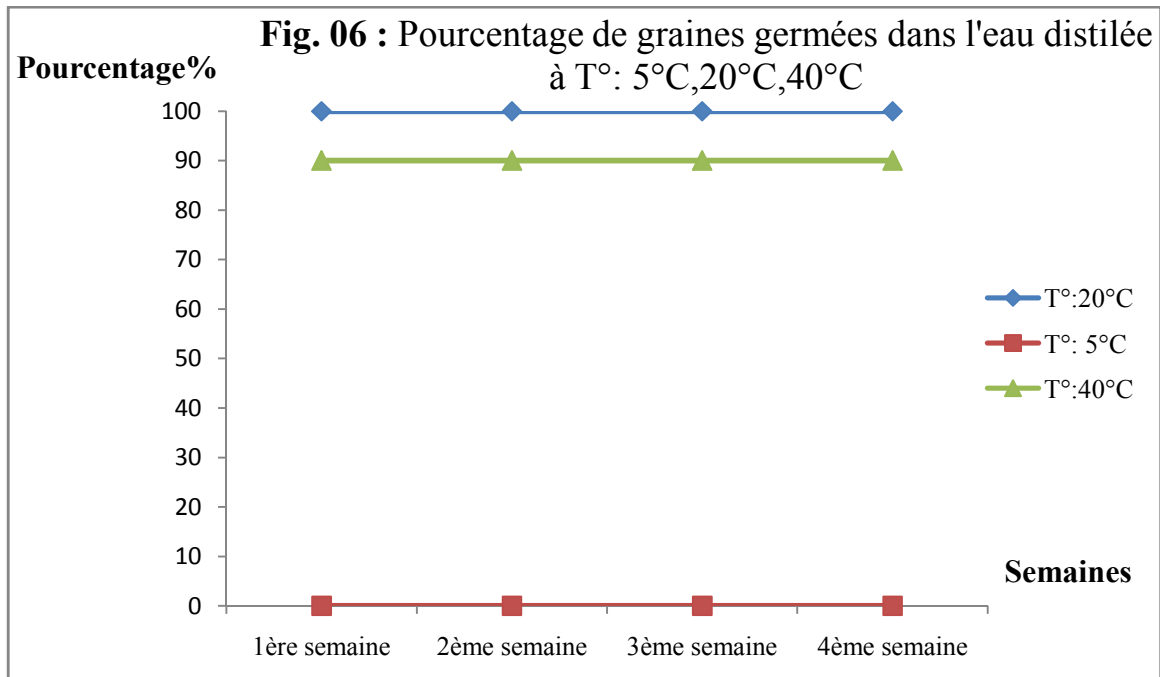
- **Effet de sel (NaCl) (voir tableaux 03) :**
 - **Concentration 1g/l :** La germination est importante 90% (Figures 07, 11).
 - **Concentration 2g/l :** le taux de germination est très élevé 96,6% (Figures 07, 11).
 - **Concentration 3g/l :** le taux de germination est de 86,6% (Figures 07, 11).

 - **Concentration 4g/l :** les graines ont montré un taux de germination appréciable environ 76,6% (Figures 07, 11).

| Germination à <u>5°C</u> | | | | | | | | | | | | | | | | |
|---------------------------|---|----------------|----------------|------|--------------------------|----------------|----------------|------|--------------------------|----------------|----------------|------|--------------------------|----------------|----------------|------|
| | Semaines et pourcentages de germination | | | | | | | | | | | | | | | |
| | 1 ^{ère} semaine | | | | 2 ^{ème} semaine | | | | 3 ^{ème} semaine | | | | 4 ^{ème} semaine | | | |
| Milieux | R ₁ | R ₂ | R ₃ | % | R ₁ | R ₂ | R ₃ | % | R ₁ | R ₂ | R ₃ | % | R ₁ | R ₂ | R ₃ | % |
| Eau distillée | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Muller Hinton | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Gélose nutritive | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Germination à <u>20°C</u> | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Eau distillée | 10 | 10 | 10 | 100 | 10 | 10 | 10 | 100 | 10 | 10 | 10 | 100 | 10 | 10 | 10 | 100 |
| Muller Hinton | 3 | 3 | 1 | 23 | 9 | 9 | 5 | 76 | 9 | 9 | 6 | 80 | 9 | 9 | 8 | 86,6 |
| Gélose nutritive | 0 | 1 | 0 | 3 | 2 | 1 | 0 | 10 | 2 | 1 | 1 | 13,3 | 2 | 1 | 1 | 13,3 |
| Germination à <u>40°C</u> | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Eau distillée | 8 | 9 | 10 | 90 | 8 | 9 | 10 | 90 | / | / | / | 90 | / | / | / | 90 |
| Muller Hinton | 1 | 2 | 1 | 13,3 | 1 | 2 | 1 | 13,3 | / | / | / | 13,3 | / | / | / | 13,3 |
| Gélose nutritive | 2 | 1 | 1 | 13,3 | 2 | 1 | 1 | 13,3 | / | / | / | 13,3 | / | / | / | 13,3 |

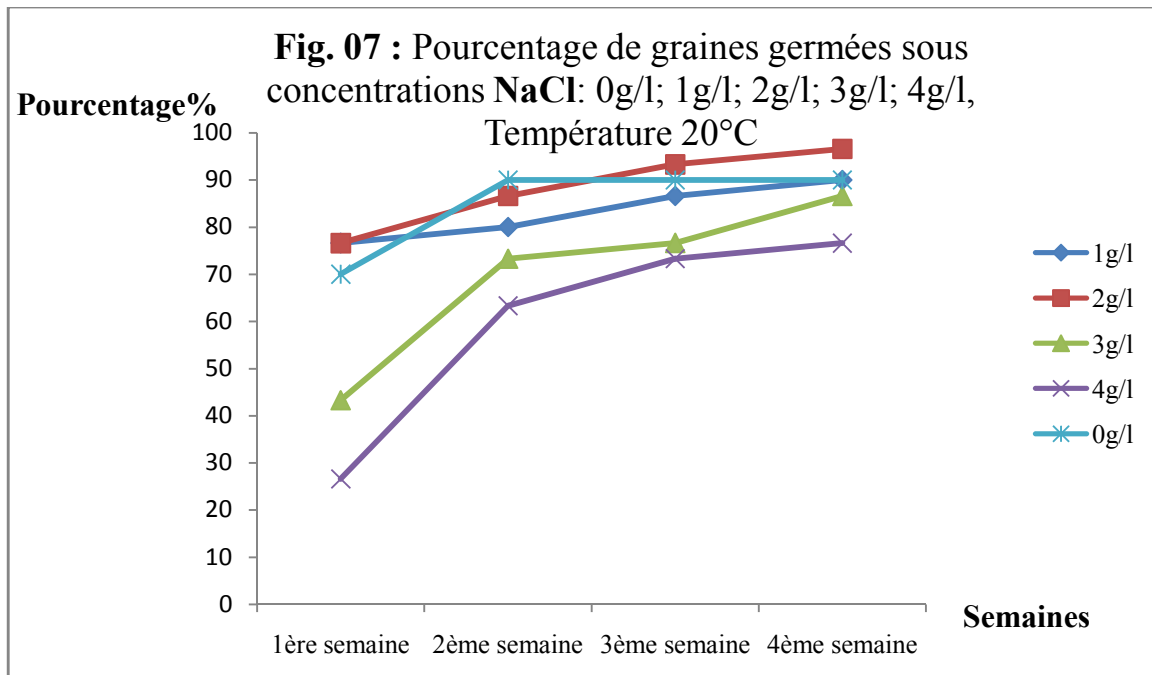
Tableau 02 : Germination des graines de maïs (*Zea mays*) dans différents milieux et à températures différentes





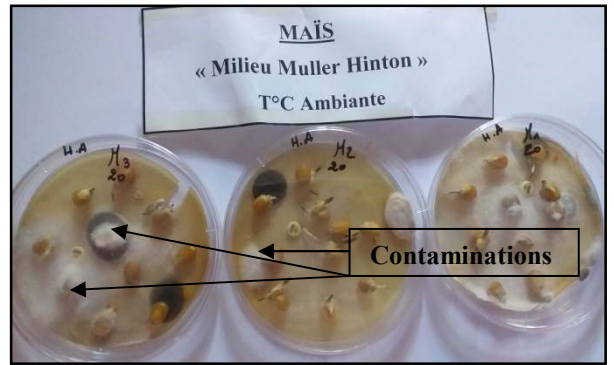
| Germination à 20°C (Effet de sels NaCl) | | | | | | | | | | | | | | | | |
|---|---|----------------|----------------|------|--------------------------|----------------|----------------|------|--------------------------|----------------|----------------|------|--------------------------|----------------|----------------|------|
| | Semaines et pourcentages de germination | | | | | | | | | | | | | | | |
| | 1 ^{ère} semaine | | | | 2 ^{ème} semaine | | | | 3 ^{ème} semaine | | | | 4 ^{ème} semaine | | | |
| Concentrations | R ₁ | R ₂ | R ₃ | % | R ₁ | R ₂ | R ₃ | % | R ₁ | R ₂ | R ₃ | % | R ₁ | R ₂ | R ₃ | % |
| [0g/l] | 7 | / | / | 70 | 9 | / | / | 90 | 9 | / | / | 90 | 9 | / | / | 90 |
| [1g/l] | 8 | 8 | 7 | 76,6 | 8 | 8 | 8 | 80 | 8 | 9 | 9 | 86,6 | 8 | 9 | 10 | 90 |
| [2g/l] | 7 | 8 | 8 | 76,6 | 8 | 9 | 9 | 86,6 | 9 | 10 | 9 | 93,3 | 10 | 10 | 9 | 96,6 |
| [3g/l] | 2 | 6 | 5 | 43,3 | 7 | 8 | 7 | 73,3 | 7 | 8 | 8 | 76,6 | 8 | 9 | 9 | 86,6 |
| [4g/l] | 5 | 3 | / | 26,6 | 6 | 7 | 6 | 63,3 | 9 | 7 | 6 | 73,3 | 9 | 7 | 7 | 76,6 |

Tableau 03: Germination des graines de maïs (*Zea mays*) dans différentes concentrations de NaCl à température 20°C

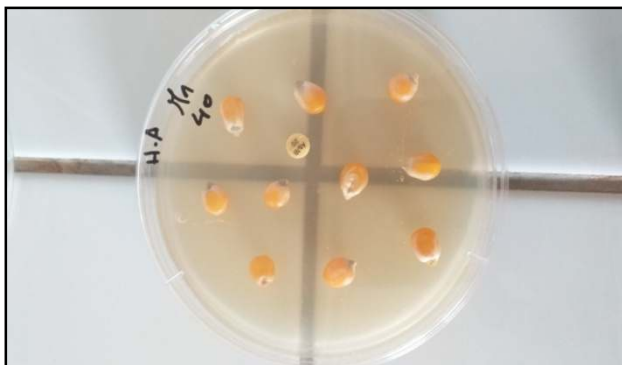
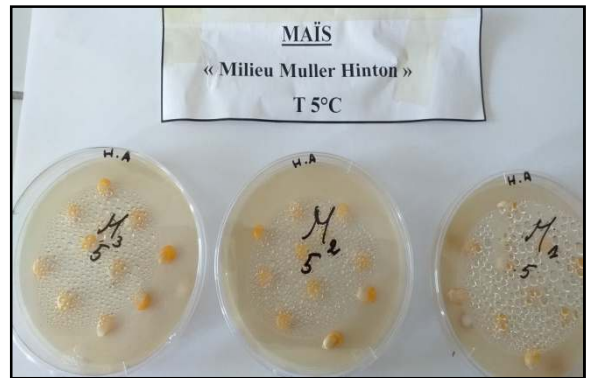




M1 : Milieu Muller Hinton à T°: 20°C



M2 : Milieu Muller Hinton à T°: 5°C



M1 : Milieu Muller Hinton à T°: 40°C



La 1^{ère} semaine

La 4^{ème} semaine

Figure 8 : Résultats de la germination in-vitro des graines de maïs (*Zea mays*) dans le milieu **Muller Hinton** dans différentes températures



G1 : Milieu Gélose nutritive à T°: 20°C



G1 : Milieu Gélose nutritive à T°: 5°C



G1 : Milieu Gélose nutritive à T°: 40°C

La 1^{ère} semaine

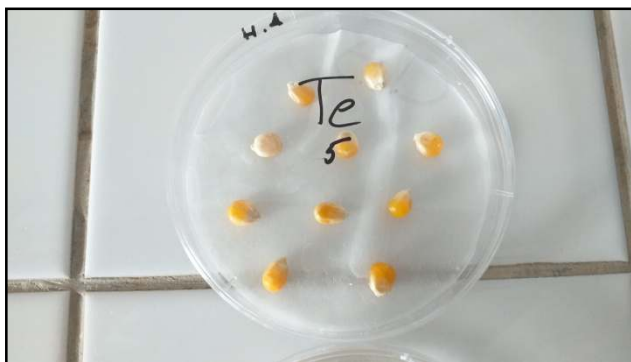
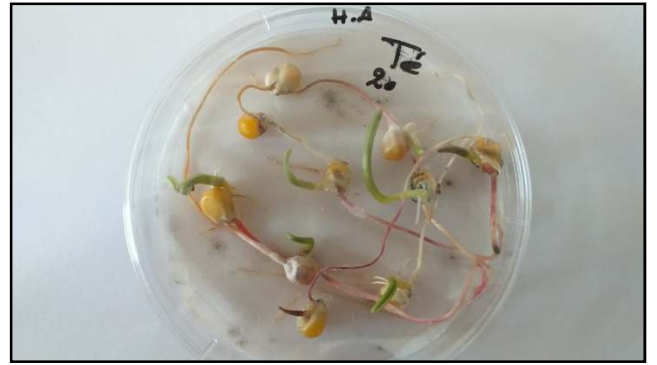


La 4^{ème} semaine

Figure 9 : Résultats de la germination in-vitro des graines de maïs (*Zea mays*) dans le milieu gélose nutritive dans différentes températures



Témoin à T°: 20°C



Témoin à T°: 5°C



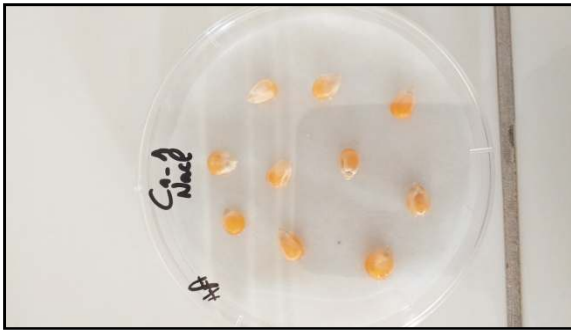
Témoin à T°: 40°C



La 1^{ère} semaine

La 4^{ème} semaine

Figure10 : Résultats de la germination in-vitro des graines de maïs (*Zea mays*) arrosées par l'eau distillée dans des températures différentes



C1-1 : [1g/l] de NaCl

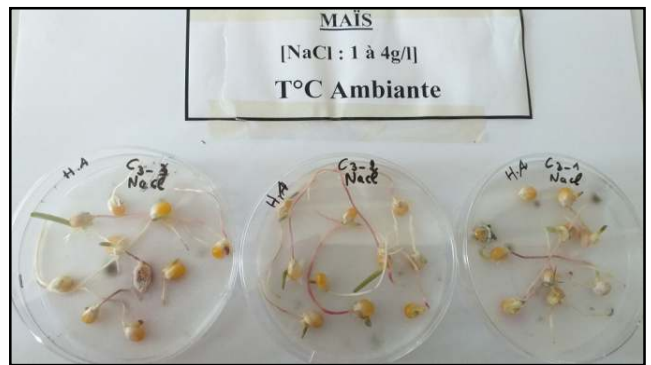
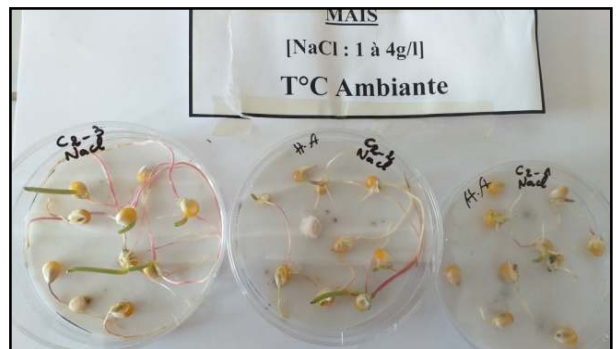
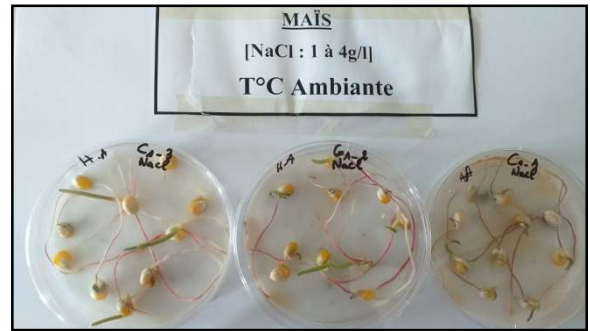


C2-1 : [2g/l] de NaCl



C3-1: [3g/l] de NaCl

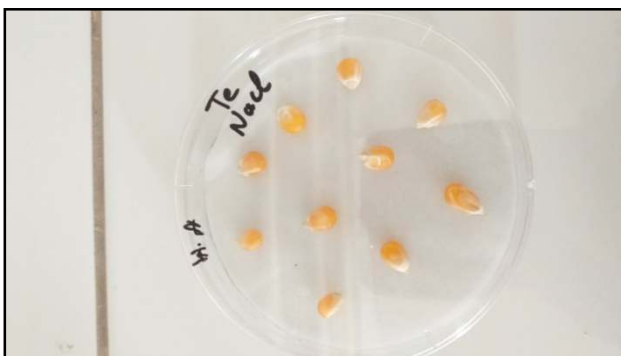
La 1^{ère} semaine



La 4^{ème} semaine

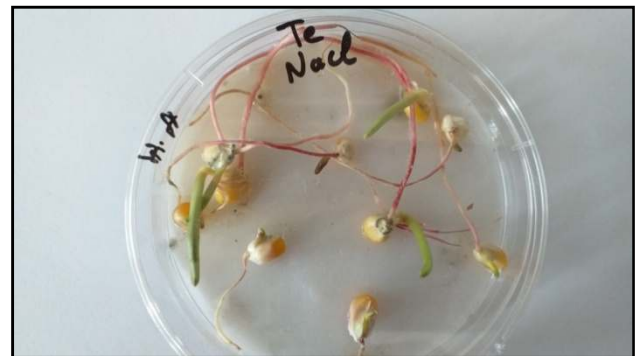
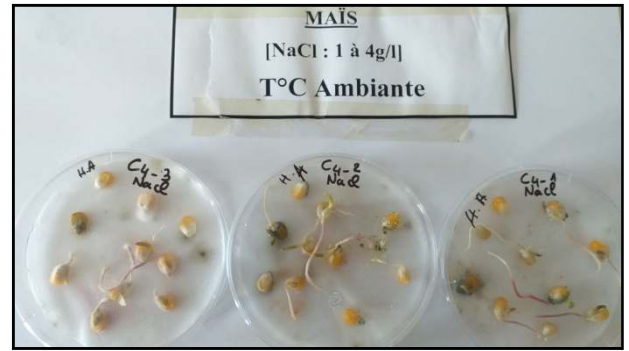


C4-1: [4g/l] de NaCl



Témoin : [0g/l] de NaCl

La 1^{ère} semaine



La 4^{ème} semaine

Figure 11 : Résultats de la germination in-vitro des graines de maïs (*Zea mays*) arrosées par différentes concentrations de NaCl : 0g/l, 1g/l, 2g/l, 3g/l, 4g/l

II.4. Conclusion

Enfin en conclusion on peut dire que les germinations d'une manière générale se sont exprimées hétérogènement ou encore on peut le signaler d'une façon différente d'un traitement à un autre et d'un milieu à l'autre. Les faibles germinations relevées au cours de notre expérimentation trouvent à notre avis leurs explications dans la contamination un peu rapide parfois par les agents pathogènes omniprésents d'une part et le manque de maturité chez les graines d'autre part.

Chapitre III

**Culture in vitro de la
rhizogénèse du maïs**

(Zea mays L.)

III.1. Introduction

La biotechnologie est définie comme étant la science du 21^{ème} siècle, dans ses multiples facettes elle s'impose comme un outil incontournable pour le développement dans différentes spéculations : céréales, tubercules, fruits et légumes, viandes et produits laitiers, légumineuses, produits apicoles et produits textiles. En apportant des réponses aux problèmes comme la faim, le maintien d'un équilibre environnemental et écologique durable. Les biotechnologies permettent de créer de nouvelles espèces de plantes grâce à l'introduction des gènes nouveaux dans leur génome, la sélection et la multiplication des variétés plus performantes en termes de rendement et cela grâce au croisement inter espèces (Alfred, 2005).

Les biotechnologies reposent essentiellement sur la culture in vitro ou appelée aussi propagation in vitro, ou micropropagation, qui est le terme le plus utilisé pour la propagation clonale des plantes par une variété de méthodes de coupes des tissus des cellules et des organes.

La micropropagation est utilisée dans le processus de sélection qui offre une opportunité unique de produire des cultivars qui ne peuvent tout simplement pas être produits commercialement en utilisant une autre méthode (Redenbaugh, 1991). C'est la biotechnologie végétale la plus efficace commercialement, elle implique la culture aseptique de petites sections de tissus (ex : les explants) et d'organes dans des récipients fermés avec des milieux de culture définis et dans des conditions environnementales contrôlées. Certaines des pertes économiques dans la micropropagation les plus importantes, directes et indirectes dans le commerce, sont causées par les contaminations endogènes et écologiques des cultures végétales (Loberant et Arie, 2009).

Chapitre III culture in vitro de la rhizogénèse du maïs (*Zea mays*)

Plusieurs travaux ont été entrepris concernant les aspects nutritifs liés au métabolisme racinaire. Les physiologistes tout comme les biotechnologues se sont penchés en partie sur la rhizogénèse des plantes cultivées. En d'autre terme l'élongation racinaire en milieu synthétiques. Il se trouve que celle-ci en effet n'a pas entraîné beaucoup de chercheurs, quelques uns ont tenté de l'effectuer. Dans le cadre de ce travail consacré au master nous avons été conduit à effectuer ou essayer de voir les réponses de germination et d'élongation racinaire sur une céréale largement connue, le maïs. Que peuvent afficher comme résultats ces essais ? Les milieux de culture vont-ils activer ou inhiber cette élongation des racines ? Pour essayer de répondre à ces attentes nous développerons successivement :

- Matériels et méthodes ;
- Culture des fragments racinaires ;
- Dispositif expérimental ;
- Résultats et interprétations ;
- Conclusion.

III.2.1. Matériel et méthodes

III. 2.1.1. Matériels

- **Produits chimiques et matériels**
 - Boîtes de pétri ;
 - Bec benzène ;
 - Pince stérilisée ;
 - Lames stérilisées ;
 - Eau de javel ;
 - Alcool (75%) ;
 - Solution **NaCl**(1g/l, 2g/l,3g/l,4g/l) ;
 - Flacon de Muller Hinton ;
 - Flacon de gélose nutritive ;
 - Antifongique Acide lactique (**1ml**) ;
 - Antibiotic disc (Amphotericin B) ;
 - Racines du *Zea mays* ;
 - Plaque chauffante ;
- **Stérilisation des instruments**

Le respect des conditions aseptiques est indispensable pour la réalisation de la culture in-Vitro. Elle est connue pour être très délicate chez les organes en contact avec le sol (Racines, rhizomes) (**Abdeldjalil, 2014 ; Beddi, 2017**).

Au cours des manipulations la pince et les lames sont plongées dans l'alcool éthylique à 70% pour les aseptiser.

- **Stérilisation des fragments racinaires**

C'est la partie la plus délicate car la culture de tissus végétaux se heurte à des contaminations. Ce qui a exigé la stérilisation des fragments dans l'hypochlorite de sodium. La stérilisation s'est effectuée selon le protocole suivant :

- Lavage à l'eau courante ;
- Mise des fragments racinaires dans l'hypochlorite de sodium pendant 15minutes ;
- Rinçage dans 3 baignoires d'eau distillée 10minutes chacun ;
- Séchage sur du papier filtre.

- **Préparation des milieux de cultures**

Afin de déterminer les conditions nutritives favorables à l'élongation des fragments nous avons utilisé les milieux : **Muller Hinton** et **Gélose nutritive**.

Les deux milieux : **Muller Hinton** et **Gélose nutritive** ont été liquéfiés sur une plaque chauffante, puis versés dans les boîtes pétri. Celles-ci sont maintenues ouvertes pour le séchage et pour empêcher la formation des gouttelettes d'eau. Enfin pour éviter la contamination des milieux on a été amené à fermer les boîtes.

- **Préparation des concentrations de NaCl**

Le même protocole que le précédent est suivi. On utilise la même solution et les mêmes concentrations : 1 g/l, 2 g/l, 3 g/l et 4 g/l.

II.2.1. 2. Culture des fragments racinaires

La rhizogénèse est un phénomène d'organogénèse, impliqué dans la multiplication végétale. Il s'agit de l'augmentation de la taille des racines et donc de la taille de la cellule (Lachachi, 2015).

Une activité de rhizogénèse peut être enregistrée au niveau de l'appareil racinaire comme au niveau de l'appareil caulinaire d'un végétal.

L'étude de la rhizogénèse tient de plus en plus compte des interactions complexes de facteurs, mais elle reste dominée par le problème de la régulation hormonale et en particulier le rôle des auxines dans l'organogénèse (Atrouz, 2014).

III.2.2. Dispositif expérimental

Avant de commencer il nous a semblé judicieux de s'assurer un minimum d'asepsie, c'est ainsi que nos mains stérilisation avec de l'alcool. Le matériel végétal a été lavé à l'eau de javel avant le repiquage des fragments sur les milieux de culture qui s'est effectué à l'aide d'une pince stérilisée.

Les explants utilisés sont des fragments racinaires issus de la première expérience de germination, ont été découpés pour avoir une longueur de 1,5cm.

Pour les milieux de culture, le nombre de fragments était 10 dans chaque boîte et de trois répétitions pour chaque milieu. Les boîtes ont été placées dans une température ambiante (varie entre $25^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$).

Chapitre III culture in vitro de la rhizogénèse du maïs (*Zea mays*)

D'autre part, pour l'étude de l'effet de sel sur les fragments racinaires cinq traitements consistant en différentes concentrations de salinité à savoir 0g /l, 1g /l, 2g /l, 3g /l, 4g /l de **NaCl** ; l'expérience a été menée dans des boites pétri garnies de papier filtre. Pour chacune concentration trois répétitions ont été retenues, dont 10 fragments/boîte. Les boites ont été placées ensuite dans une température ambiante 20°C après avoir été arrosées régulièrement avec les concentrations du **NaCl**. La disposition des boites correspond au dispositif suivant (**Figure 12**).

Le suivi de l'élongation des fragments racinaires s'est étalé sur 3 semaines, les observations et la prise des mesures de la taille des fragments racinaires ont été effectués chaque semaine.

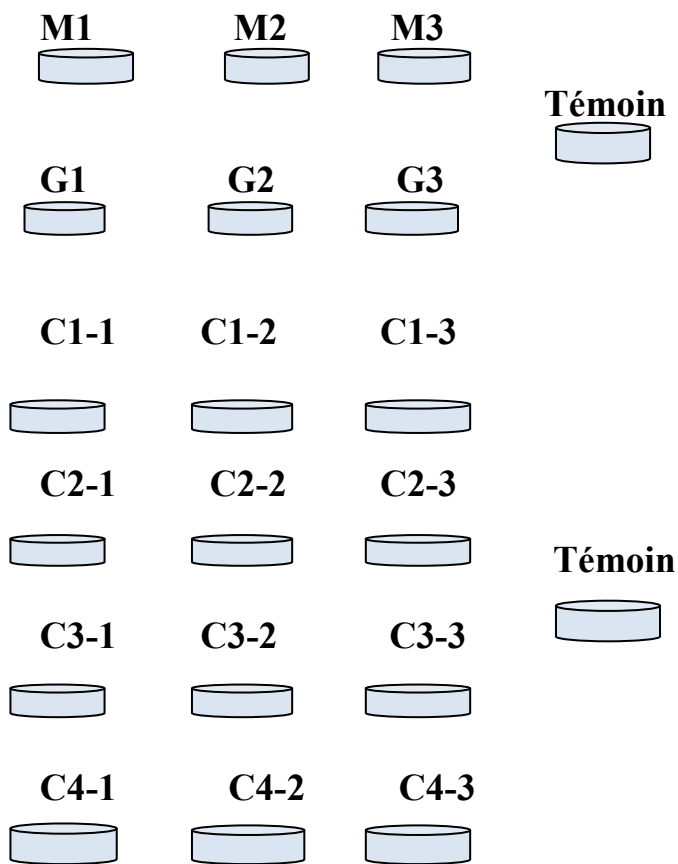


Figure12 : Dispositif expérimental de la rhizogénèse à 20°C

III.3.Résultats et interprétations (Tableaux 04, 05 et figures 13, 14, 15, 16)

Selon nos résultats l'augmentation de la taille des racines varie d'un milieu à un autre.

- **Eau distillée (voir tableau 04) :**

La rhizogénèse est très faible 7% d'élongation, l'évolution de la taille des racines est très lente ou presque nulle et cela dès la 1^{ère} semaine (Figures 13,15).

- **Milieu gélose nutritive (voir tableau 04) :**

Le taux de la rhizogénèse est assez faible dont le pourcentage est d'environ 27%, c'est que durant la 3^{ème} semaine que l'on remarque une augmentation importante dans la taille des racines (Figures 13, 15).

- **Milieu Muller Hinton (voir tableau 04) :**

Le taux de rhizogénèse est faible 18%, la croissance de la taille des racines est lente (Figures 13, 15).

- **Effet de sels NaCl (voir tableau 05) :**

- **Concentration 1g/l :** le taux de rhizogénèse est faible 11%, contrairement au traitement sous une concentration 0g/l de NaCl (Figures 14, 16) où on remarque un taux moyen qui s'élève à 21% (Figures 14,16).
- **Concentrations 2g/l, 3g/l, 4g/l :** le taux de rhizogénèse pour ces traitements est très faible à partir de la 1^{ère} semaine, et atteint à la fin de l'expérience 3% (Figures 14,16).

Chapitre III culture in vitro de la rhizogénèse du maïs (*Zea mays*)

| | Semaines et pourcentages | | | | | | | | | | | | | | |
|------------------|--------------------------|----------------|----------------|-----|---|--------------------------|----------------|----------------|------|----|--------------------------|----------------|----------------|-----|----|
| | 1 ^{ère} semaine | | | | | 2 ^{ème} semaine | | | | | 3 ^{ème} semaine | | | | |
| Milieus | R ₁ | R ₂ | R ₃ | ® | % | R ₁ | R ₂ | R ₃ | ® | % | R ₁ | R ₂ | R ₃ | ® | % |
| Eau distillée | 0 | / | / | 0 | 0 | 0,01 | / | / | 0,01 | 1 | 0,7 | / | / | 0,7 | 7 |
| Muller Hinton | 0 | 0,5 | 0 | 0,1 | 1 | 0,8 | 1,2 | 0,3 | 0,7 | 7 | 2 | 2 | 1,4 | 1,8 | 18 |
| Gélose nutritive | 0,7 | 0,7 | 0 | 0,4 | 4 | 1,7 | 1,7 | 0,6 | 1,3 | 13 | 2,9 | 2,2 | 3,5 | 2,7 | 27 |

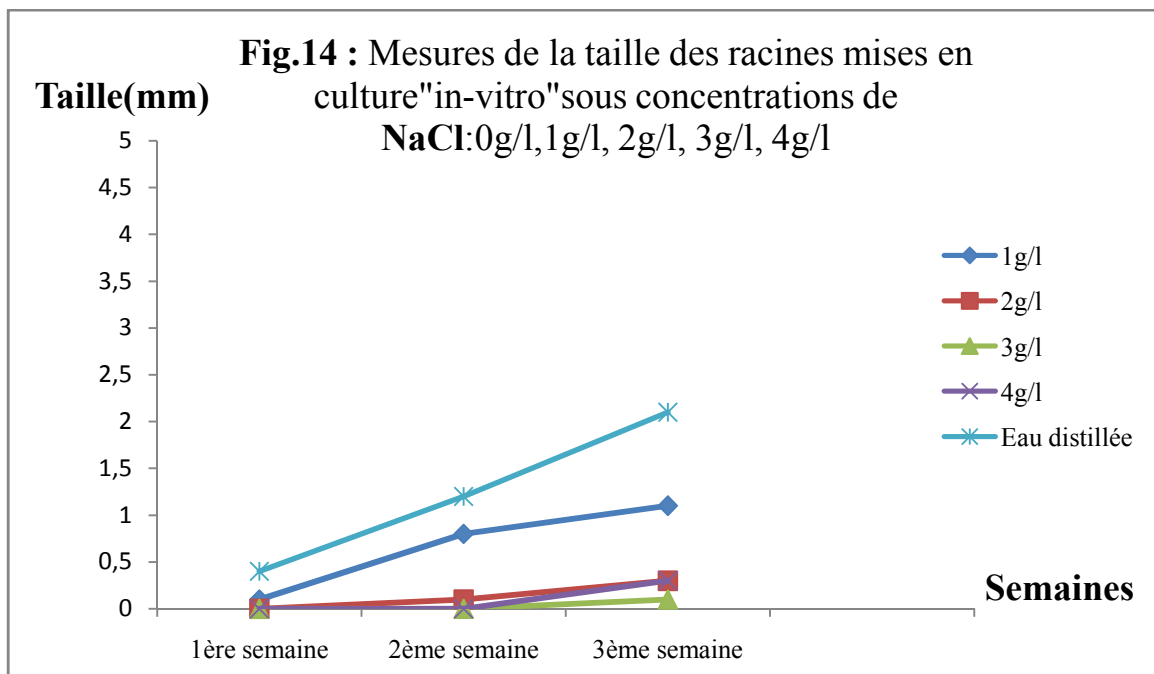
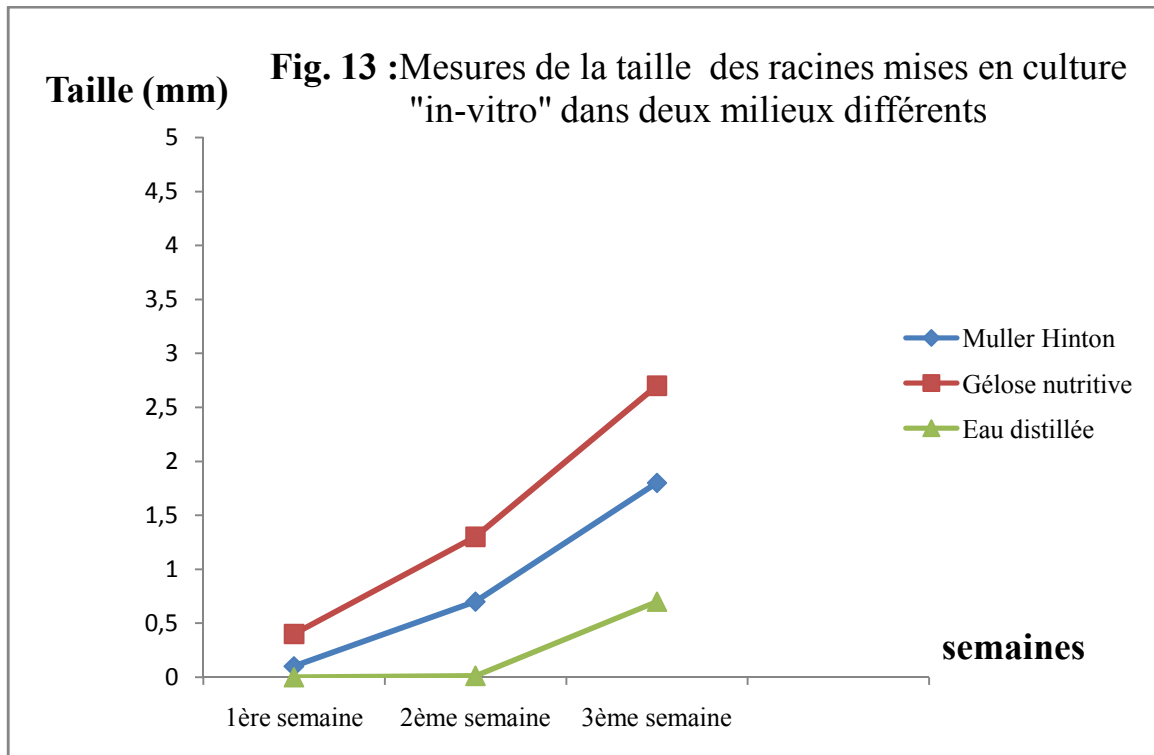
® : Moyenne

Tableau 04 : Mesures de la taille des racines mises en culture « in-vitro » dans deux milieux différents

| Semaines et pourcentages | | | | | | | | | | | | | | | |
|--------------------------|--------------------------|----------------|----------------|-----|---|--------------------------|----------------|----------------|-----|----|--------------------------|----------------|----------------|-----|----|
| | 1 ^{ère} semaine | | | | | 2 ^{ème} semaine | | | | | 3 ^{ème} semaine | | | | |
| Concentrations | R ₁ | R ₂ | R ₃ | ® | % | R ₁ | R ₂ | R ₃ | ® | % | R ₁ | R ₂ | R ₃ | ® | % |
| Eau distillée | 0,4 | / | / | 0,4 | 4 | 1,2 | / | / | 1,2 | 12 | 2,1 | / | / | 2,1 | 21 |
| [1g/l] | 0,1 | 0,3 | 0 | 0,1 | 1 | 0,8 | 1,2 | 0,6 | 0,8 | 8 | 1,1 | 1,4 | 0,8 | 1,1 | 11 |
| [2g/l] | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0,3 | 0 | 0,1 | 0,1 | 1 | 0,3 | 0,4 | 0,2 | 0,3 | 3 |
| [3g/l] | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0,1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0,5 | 0,1 | 1 |
| [4g/l] | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0,1 | 0,1 | 0 | 0 | 0 | 0,1 | 0,4 | 0,4 | 0,3 | 3 |

® : Moyenne

Tableau 05: Mesures de la taille des racines mises en culture « in-vitro » sous différentes concentrations de sels NaCl



Chapitre III culture in vitro de la rhizogénèse du maïs (*Zea mays*)



M1 : Milieu Muller Hinton

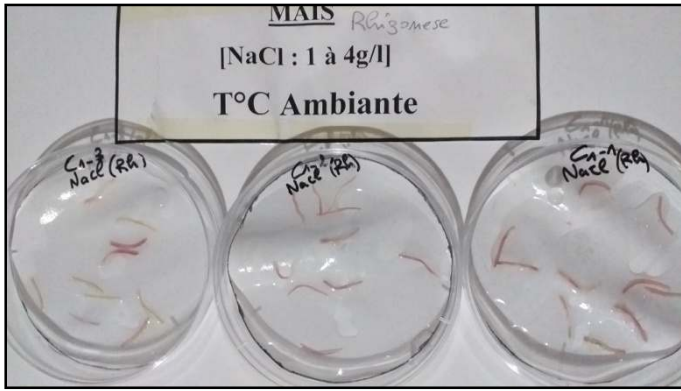


G1 : Milieu Gélose nutritive

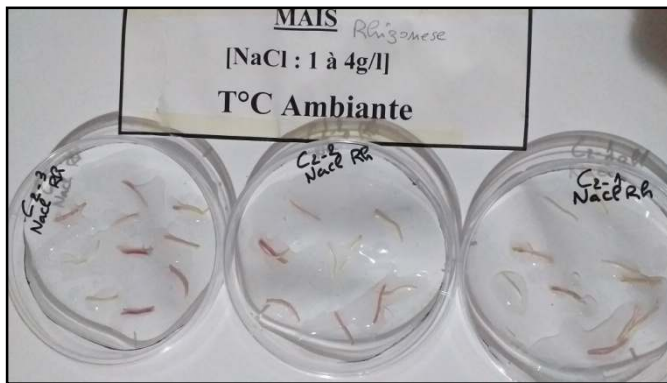
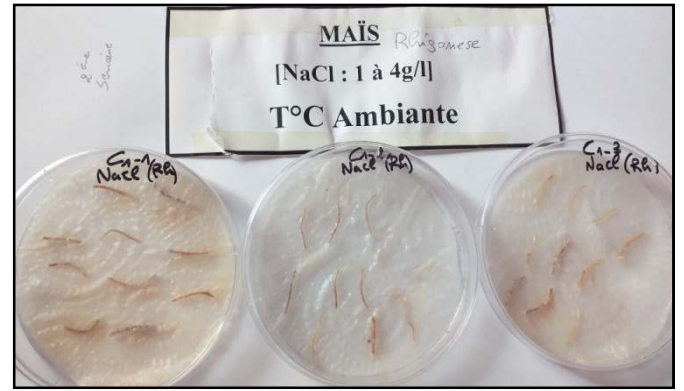


Figure 15 : Culture des fragments racinaires du maïs (*Zea mays*) in-vitro dans des milieux différents

Chapitre III culture in vitro de la rhizogénèse du maïs (*Zea mays*)



C1 : [1g/l] de NaCl



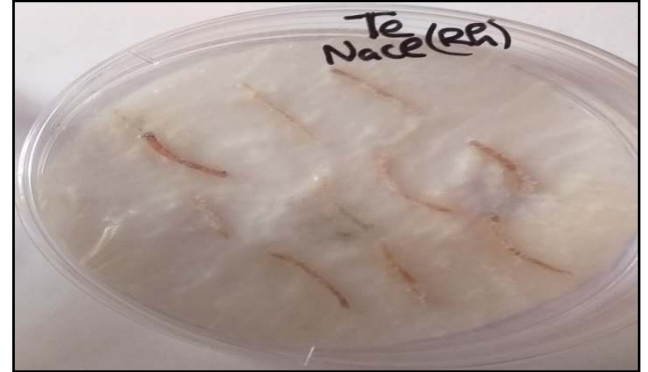
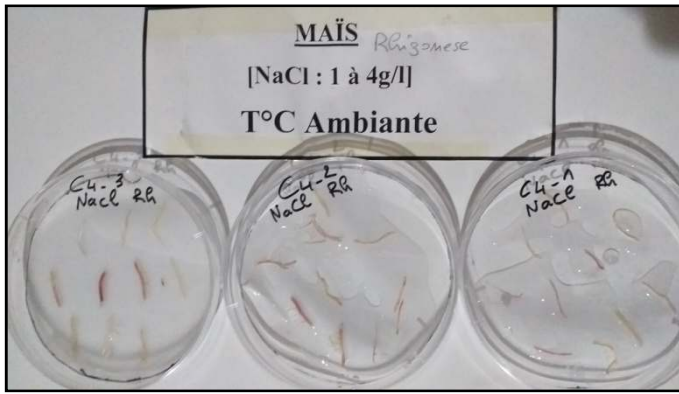
C2 : [2g/l] de NaCl



La 1^{ère} semaine

La 4^{ème} semaine

Chapitre III culture in vitro de la rhizogénèse du maïs (*Zea mays*)



Témoin : [0g/l] de NaCl

La 1^{ère} semaine

La 4^{ème} semaine

Figure 16 : Culture des fragments racinaires du maïs (*Zea mays*) in-vitro dans des concentrations différentes de NaCl

III.4. Conclusion

Ces résultats obtenu en principe devaient montrer le rôle des milieux nutritifs synthétiques dans l'organogénèse des fragments racinaires mais malheureusement nous avons été on peut dire désagréablement surpris, les pourcentages recueillis varient entre 11% et 27%.

La différence du taux de rhizogénèse dans les milieux de culture (**Muller Hinton, Gélose nutritive**) et celles arrosées par les différentes concentrations de **NaCl**) ont affiché des élancements considérées comme faibles ou presque. Le faible niveau d'élancement de rhizogénèse dans notre expérience peut être expliqué à notre avis par le pourcentage important de contaminations par des bactéries et champignons (qui envahissent le matériel végétal) auquel nous avons été exposés au cours de l'expérience en question. Signalés par un certain nombre de chercheurs ce phénomène (contamination) demeure toujours omniprésent, il inhibe en partie les processus de germinations de montaison aussi chez les plantes.

Comme recommandation est-il nécessaire dans ce genre d'étude notamment de rappeler que les essais de germination doivent être réalisés dans des conditions bien définis car la présence d'une seule bactérie ou champignon microscopique suffit à envahir un milieu de culture, faut-il le rappeler souvent ? C'est la raison pour laquelle il vaut mieux respecter les conditions strictes d'asepsie, action indispensable.

Chapitre IV

**Etude statistique de la
germination et de la
rhizogénèse**

IV.1. Méthodologie

A travers cette approche statistique nous avons été amenés à voir l'analyse le degré de corrélation (relation) qui peut exister entre les différents paramètres mesurés (Y_i et X_i). A ce propos, on a déterminé des corrélations entre les couples de données des pourcentages de germination du maïs en fonction des différentes concentrations croissantes de **NaCl**, et entre les concentrations et l'élongation des racines (rhizogénèse). Le **coefficient de corrélation (R)** est calculé, puis nous avons fait ressortir **la droite de régression d'équation**:

$$Y = aX + b$$

Où:

- **a** = la pente de la droite de régression
- **b** = l'ordonnée à l'origine déterminée arithmétiquement par $Y - aX$

On peut tracer graphiquement les droites correspondantes (**droites de régression**) pour chacune des traitements, car le coefficient de corrélation (R) indique dans quelle mesure la relation, si elle existe, peut être représentée par une droite (**Demolon, 1968**).

En effet, **Demolon (1968)** précise que la représentation graphique avec le nuage de points mentionnant les coordonnées obtenues des résultats, met en évidence le degré de liaison (corrélation) qui peut exister entre deux caractères.

$$R = \frac{\sum \alpha X \cdot \alpha Y}{\sqrt{\sum (\alpha X)^2 \sum (\alpha Y)^2}}$$

Plus **R** (formule ci-dessus) s'approche de + ou - 1, plus le degré de corrélation est élevé.

IV. 2. Résultats et interprétations

- **Corrélations [NaCl] et % germination du maïs à 20°C**

| | Concentrations [g/l] | | | | |
|----------------------------------|----------------------|--------|--------|--------|--------|
| | [0g/l] | [1g/l] | [2g/l] | [3g/l] | [4g/l] |
| Pourcentages% germination | 90 | 90 | 96.6 | 86.6 | 76,6 |

Tableau 06 : Corrélations entre les concentrations de **NaCl** et les pourcentages de germination (4^{ème} semaine) des graines de maïs (*Zea mays*) à une température de 20°C

$$R = -0.65 ; Y = -3,020X + 94,00$$

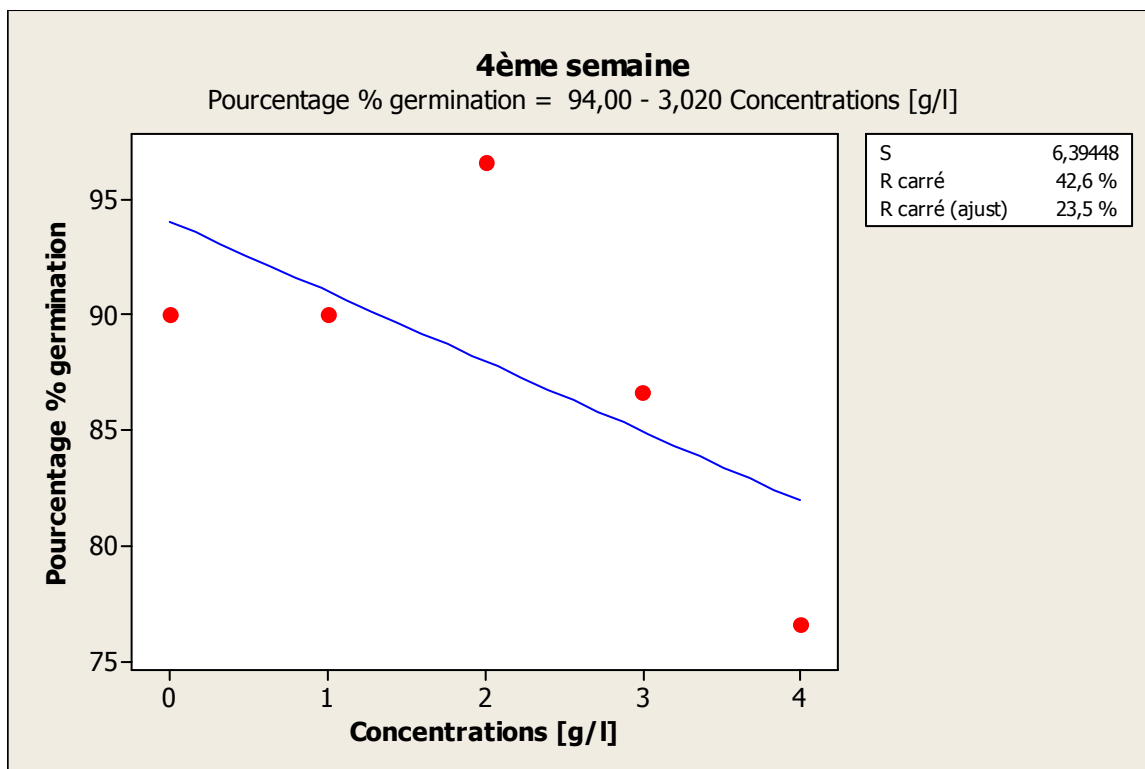


Figure 17 : Corrélations entre les concentrations de **NaCl** et les pourcentages de germination (4^{ème} semaine) des graines de maïs (*Zea mays*) à une température de 20°C

Nous avons ici une corrélation négative peu élevée (- **0.65**) entre les concentrations salées [**NaCl**] et les pourcentages de germination (4^{ème} semaine) des graines de maïs (*Zea mays*) sous une température ambiante 20°C

- **Corrélations [NaCl] et % de l'élongation des fragments racinaires du maïs à 20°C**

| | Concentrations [g/l] | | | | |
|---------------------------------------|----------------------|--------|--------|--------|--------|
| | [0g/l] | [1g/l] | [2g/l] | [3g/l] | [4g/l] |
| • Pourcentages % de rhizogénèse | 21 | 11 | 3 | 1 | 3 |

Tableau 07 : Corrélations entre les concentrations de **NaCl** et les pourcentages de rhizogénèse (3^{ème} semaine) des fragments racinaires de maïs (*Zea mays*) à une température de 20°C

$$R = - 0.87; Y = - 4,600X + 17,00$$

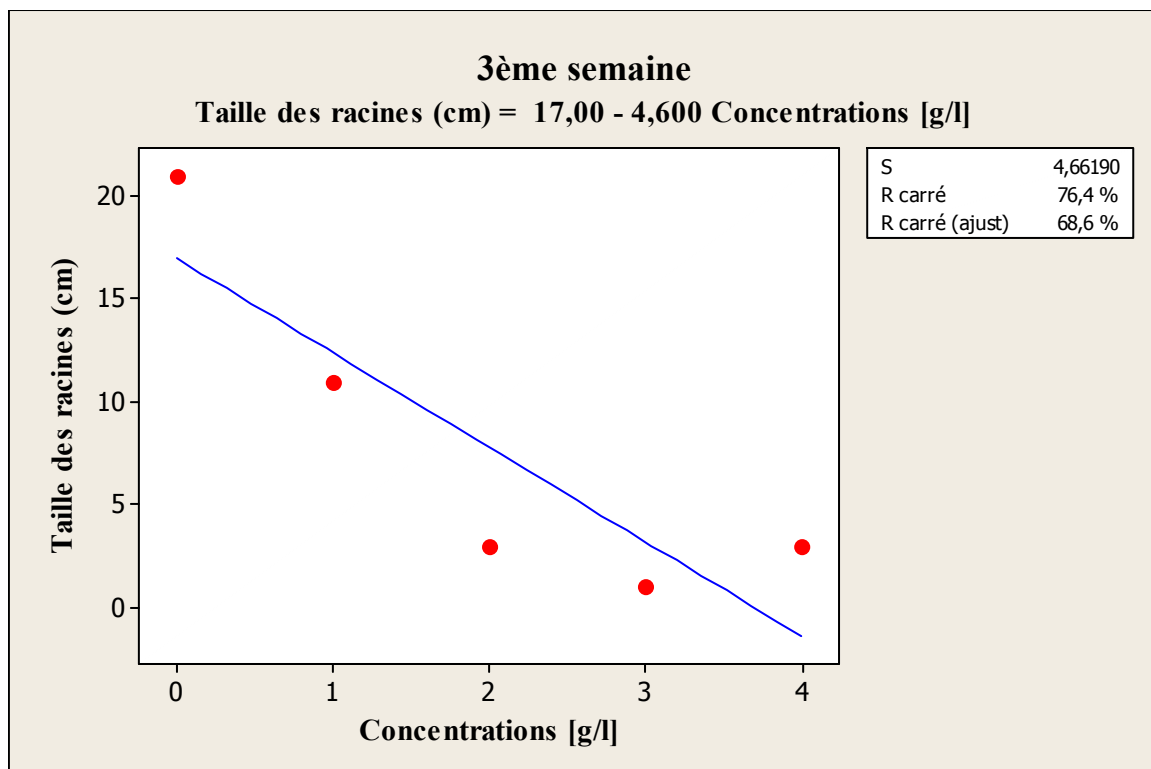


Figure 18: Corrélations entre les concentrations **NaCl** et les pourcentages de rhizogénèse (3^{ème} semaine) des fragments racinaires de maïs (*Zea mays*) à une température de 20°C

Sur cette figure nous avons obtenus une forte corrélation négative (- **0.87**) entre les concentrations salées [**NaCl**] et les pourcentages de rhizogénèse (troisième semaine) des fragments racinaires de maïs (*Zea mays*) sous une température ambiante 20°C.

IV. 3. Conclusion

Cette étude statistique limitée dans l'ensemble nous a éclairées sur le degré de relation que peuvent avoir les traitements (concentrations de **NaCl**) sur les facteurs biologiques à observer notamment la germination et l'élongation des racines en milieu synthétique. Les relations sont assez étroites entre les concentrations salées et les caractères étudiées (**R**= - **0.65** et **R** = - **0.87**), les valeurs de **R** se rapprochent de **1**.

Conclusion générale

Conclusion générale

Cette étude a montré la grande aptitude des graines de *Zea mays* à germer dans les deux milieux nutritifs utilisés (**Muller Hinton** et **Gélose nutritive**), dont le taux de germination a été plus important dans le milieu **Muller Hinton** que dans la **Gélose nutritive** (86,6% contre 13,3%) et cela est dû aux fortes contaminations dans le milieu gélose nutritive, malgré la stérilisation du matériel végétal ce qui confirme que les conditions aseptiques dans une culture in-vitro sont difficiles à maintenir ou presque la plupart du temps.

La température est connue comme étant le facteur le plus important de la germination, les résultats trouvés confirment celles de **Havaux et Lannoye (1985)** que le maïs *Zea mays* est très sensible aux basses températures, et que la température limite en dessous de laquelle la croissance des variétés de maïs est nulle se situe aux environs de 10-15°C.

La germination entre autres des graines est un facteur majeur limitant l'implantation des plantes en conditions salines, le maïs est classé comme modérément sensible à la salinité.

Rahman et al. (2000) cité par **Carpici et al. (2009)** ont rapporté que les cultivars de maïs étaient significativement plus tolérants au stress salin à la germination, qu'aux stades ultérieurs de germination, et cela est confirmé dans les résultats de cette étude, dont le taux de germination dans les différentes concentrations a été important notamment aux environs de 90% pour 1g/l de **NaCl**, et de 76,6% pour une concentration de 4g/l de **NaCl**.

La rhizogénèse est la partie la plus délicate de la culture in-vitro, dans notre expérience on a obtenue un taux faible de rhizogénèse dans les deux milieux, dont 27% dans le milieu gélose nutritive et 17% dans **Muller Hinton**, qui est dû probablement d'une part à des problèmes de brunissement à cause des contaminations par des bactéries et champignons microscopiques, et d'autre part à la composition chimique du milieu synthétique, ainsi que le respect des conditions aseptiques qui sont la plus part du temps difficile à maintenir.

Cette étude nous a révélé sans surprise aussi l'augmentation du taux de sels diminue l'élongation des fragments racinaires, dont on a eu que 11% pour une concentration de 1g/l de **NaCl**, et 3% pour une concentration de 4g/l de **NaCl**. Même à faibles concentrations le **NaCl** semble agir négativement sur ce stade de végétation juvénile.

Conclusion générale

Il demeure cependant nécessaire de multiplier à la lumière de ces résultats recueillis :

- Le nombre de concentrations salées,
- Le nombre de sels en plus du **NaCl**,
- Le nombre de graines plus de dix par boîte,
- Le nombre de variétés de l'espèce en question,
- D'allonger la durée, plus de trois semaines dans les expériences.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

- 1. Aci M-M., Revilla P., Morsli A., Djemel A., Belalia N., Kadri Y., Khelifi-Saloui M., Ordas B. et Khelifi L.**(2013) : Genetic diversity in Algerian maize (*Zeamays L.*) landraces using SSR markers. *Maydica electronic publication* 58 :304-310.
- 2. Ahmed R., Howlader M.H.K., Saliha A. et Haque M.A.** (2017) : Effet de la salinité sur la germination et la croissance précoce des semis de maïs. Université Patukhali8602, Bangladesh. *Agriculture progressive* 28(1) : 18-25.
- 3. Alfred S.T.** (2005) : La biotechnologie, un outil efficace dans la lutte contre la faim et la pauvreté en Afrique Sub Saharienne : cas du Burkina Faso. Séminaire régional scientifique et pédagogique, Ouagadougou vol.8, n°11.
- 4. Annicet H., Aknavou L. et Kouakou C.K.** (2014) : Diversité morphologique des variétés locales de maïs (*Zea mays L.*) collectées au centre et centre ouest de la cote d'Ivoire. *European scientific journal*. Edition vol.10, N°.12 : 1857-7431.
- 5. Anzala F.B.** (2006) : Contrôle de la vitesse de germination chez le maïs (*Zea mays*) : étude de la voie de biosynthèse des acides aminés issus de l'aspartate et recherche de QTLs. thèse doctorat. Ecole doctorale d'Angers : 18-19.
- 6. Atrouz K.** (2014) : Aptitude à la rhizogénèse de quelques variétés porte-greffes de vigne (*Vitis vinifera L.*) en condition de laboratoire (semi-contrôlées). Mém. Magistère en biologie et physiologie végétale. Université de Constantine. 11 p.
- 7. Augé R., Beauchesne G., Boccon-Gibod J., Decourtye L., Digat B., Jalouzot R. , Minier R. ,Morand J-Cl. , Reynoird J.P. et Strullu D.G.** (1989) : La culture in vitro et ses applications horticoles. 3^{ème} édition revue, corrigé et augmenté. Ed. Tec et Doc. Lavoisier. 225p.
- 8. Beckert M.** (1982) : Rôle du scutellum dans l'obtention de plantes néoformées in vitro chez le maïs. *Agronomie, EDP Sciences* 2 (7) :611-615.

Références bibliographiques

9. **Beddi M.** (2017) : Comparaison germinative de deux espèces de la famille des fabacées (In vitro). Mém. Master Amélioration végétale. Université Tlemcen 80p.
10. **Benhamid O. et Kaoua A.** (2018) : Cultures des plantes fourragères dans la région de Reggane. Mém. Master académique. Système de production agroécologique. Université d'Adrar. 47p.
11. **Brink M. et Belay G.** (2006) : Ressources végétales de l'Afrique tropicales 1. Céréales et légumes secs. Fondation PROTA.328p.
12. **Bewley J.D.** (1997) : Seed germination and dormancy.the plant cell.vol.9, N°07. 1055p.
13. **Binet Pp. et Brunel W.P.** (1968) : Physiologie végétale. Tome III, Ed. Doin, Paris: 796-1156.
14. **Bradford K.J.** (1995) : Water relations in seed germination. Seed developpement and germination vol.1, N°013. 352p.
15. **Boulay J.** (1993): La culture in vitro et ses applications à des plantes carnivores. Club Drosera de Metz. Université Nancy 1.
16. **Boukar I.** (2017) : Comportement de quelques variétés importées du maïs vis-à-vis des conditions du milieu de la région d'Adrar. Mém. Master en agronomie. Université Abdelhamid Ibn Badis-Mostaganem.48p.
17. **Boxus P.** (1995) : Multiplication végétative : micro-propagation et embryogénèse somatique in biotechnologies végétales.BV 93, Ed Cnep. Aupelf-Uref.191p.
18. **Caripci E.B., Celik N. et Bayram G.** (2009): Effect of salt stress on germination of somemaize (*Zea mays* L.) cultivars. Université d'Uludag. African journal of biotechnology Vol.8 (19): 4918-4922.
19. **Champagnat R., Ozenda P.et Baillaud L.** (1969): Biologie végétale III. Croissance, morphogénèse et reproduction. Ed. Masson et Cie. Paris.510p.
20. **Come D.** (1970) : Les obstacles à la germination .Ed. Masson et Cie. Paris, 162p.
21. **Cousin R. et Bannerot H.** (1992) : Amélioration des espèces végétales cultivées. INRA editions. Paris, France: 173-188.

Références bibliographiques

- 22. Djamel A. Revilla P., Hanifi-Mekliche L., Malvar R.A., Alvarez A. et Khelifi L.** (2011): Maize (*Zea mays* L.) from the Saharan oasis: adaptation to temperate areas and agronomic performance. Genetic resources and crop evolution 59 : 1493-1504.
- 23. Diallo A.** (1996) : Micropropagation et régénération in vitro de quelques variétés de patate douce (*Ipomea batatas(L) convolvulacee*) cultivées au Sénégal. Mém. Diplôme d'études approfondies. Département de Biologie végétale. Université Cheikh Anta Diop de Dakar. 42p.
- 24. Doebley J.F. and Iltis H.** (1980): Taxonomy of *Zea* (GRAMINEAE).A SUBRENERIC. American journal of botany.vol.67, N°6: 982-993.
- 25. Eubanks M.W.** (2001): The mysterious origin of maize. Economic botany 55(4) : 492-514.
- 26. Farooq M., Hussain M. et Wakeel A.** (2015) : Stress salin du maïs : effets, mécanismes de résistance et gestion. Une critique. Agronomie soutenir. Développement .35 :461-481.
- 27. Hajlaoui H., Maatallah S. et Denden M.** (2015) : Effet du stress salin sur l'efficacité d'utilisation d'Azote et les bilans ioniques chez deux variétés de maïs (*Zea mays* L.) fourragères. Journal of animal & plant sciences. Vol. 24. Issue 3 : 3787-3801.
- 28. Hamza N.** (2014) : Application des mycorhizes arbusculaires en culture maraichère cas de la pastèque (*Citrullus lanatus*). Mém. Magister en Biologie et physiologie végétale. Université Ferhat Abba-Sétif1.83p.
- 29. Himour S.** (2015) : Etude comparative de régénération de plants par voie végétative en culture in-vitro. Mém. Magister en biologie et physiologie végétale. Université Mentouri-Constantine.92p.
- 30. Havaux M. et Lannoy R.** (1985) : Effets des basses températures positives sur les réactions photochimiques primaires de la photosynthèse du maïs (*Zea mays* L., cv''LG9'''). Agronomie, EDP sciences, 5 (4): 331-337.
- 31. Khodarahnpour Z., Ifar M. et Motamedi M.** (2011): Effects of NaCl salinity on maize (*Zea mays* L.) at germination and early seedling stage. African journal of Biotechnology N°11(2) : 298-304.

Références bibliographiques

- 32. Khemies F. et Djelad K.** (2007) : Etude comparative sur le plan biomorphologique, germinatif et rhizogénétique de deux espèces végétales (*Hordeum vulgare* L. et *Atriplex xhalimus* L.). Mem. Ingénieur d'état en Agronomie. Université –Tlemcen.79p.
- 33. Koornneef M. Bnestsink L. Hilhorst H.** (2002) : Seed dormancy and germination. Current opinion in plant biology.vol.5, n01 :33-36.
- 34. Lachachi S.** (2015) : Aspects Floristiques et biomorphologiques des populations à *Lygeum spartum* L. dans la région Sud et Nord de l'Ouest Algérien. Thèse doctorat en Ecologie des populations. Université- Tlemcen. 306p.
- 35. Lapie C.** (2019) : Caractérisation de la rhizodisposition du maïs (*Zea mays* L.) en réponse à la présence d'hydrocarbures aromatiques polycycliques et d'éléments traces métalliques. Thèse doctorat. Université de Lorraine.233p.
- 36. Lepengue A-N.,Mouaragadja I., Cherif M., Ake S. et M'Batchi B.** (2012) : Amélioration de la croissance du maïs par des traitements à la colchicine. Journal of Applied Biosciences. No 52: 3660-3668.
- 37. Loberant B. et Arie A.** (2009): Micropropagation of plants. Encyclopedia of industrial biotechnology: bioprocess, bioseparation, and cell technology. 1-17.
- 38. Longchamp M.** (2012) : Etude biogéochimique du transfert du sélénium dans un système eau-plante-atmosphère : conséquences sur la physiologie du *Zea mays* subsp. *mays* (L.). Thèse doctorat. Ecole doctorale sciences et environnement Ed. D'Ile de France. 129p.
- 39. Margara F.** (1989) : Bases de multiplication végétative : les méristèmes et l'organogénèse. Ed. INRA, Paris.262p.
- 40. Miedema P., Post J. et Groot P.J.** (1987) : The effects of low temperatures on seedling growth of maize genotypes. Fondation for agricultural plant breeding, wageningen : 124p.
- 41. Rabechault H. et Cas S.** (1974) : Recherche sur la culture in vitro des embryons de palmier à huile. *Elaeis guineensis*. 73p.

Références bibliographiques

- 42. Redenbaugh K.** (1991): Application of micropropagation for agronomic crops, micropropagation. spinger, dordrecht : 285-310.
- 43. Roubelakis K.A. et Zivanovite S.B.** (1991): A new culture medium for in vitro rhizogenesis of grapevine (*Vitis* spp.) genotypes. Hort. science 26(12):1551-1553.
- 44. Sibi M.L.** (1996) : Vitro variation, potentialités nouvelles et sélection in vitro. In. AUPEL-UREF (Eds.)- biotechnologies végétales. Rennes. CNED : 7-54.
- 45. Sokhna C.A.B.** (2018) : Evaluation des variétés hybrides de maïs dans les conditions de culture du sud du bassin Arachidier du Sénégal. Mém. Ingénieur des travaux. Université de Thiès. 40p.

Résumé

Cette étude a pour objectifs dans sa première partie (i) d'étudier l'effet de différentes températures (5°C, 20°C, 40°C) sur la germination in-vitro des graines de maïs *Zea mays* L. dans deux milieux synthétiques (**Muller Hinton**, **Gélose nutritive**), (ii) ainsi que sa réponse face à des concentrations croissantes de sels NaCl (**1g/l**, **2g/l**, **3g/l**, **4g/l**), dans sa deuxième partie on a suivi la croissance des fragments racinaires (rhizogénèse) dans les deux milieux nutritifs (Miller Hinton, gélose nutritive), et également l'effet de sels NaCl produits sur leur croissance. Les résultats montrent une hétérogénéité pour l'ensemble des traitements. Le taux de germination a été plus important dans le milieu **Muller Hinton** que dans la **Gélose nutritive** (86,6% contre 13,3%), ainsi que pour l'effet de sel le taux de germination dans les différentes concentrations a été important notamment aux environs de 90% pour 1g/l de NaCl, et de 76,6% pour une concentration de 4g/l de NaCl.

Mots clés : *Zea mays* L., Germination in vitro, graines, rhizogénèse, températures.

ملخص

أهداف هذه الدراسة في الجزء الأول (1) هي دراسة تأثير درجات الحرارة المختلفة (5 درجة مئوية, 20 درجة مئوية, 40 درجة مئوية) على الإنبات المختبري لبذور الذرة في الوسائط الاصطناعية (مولر هينتون, أجار المغذيات), (2) بالإضافة إلى استجابتها لزيادة تركيزات أملاح (1 جم/ لتر, 2 جم/ لتر, 3 جم/ لتر, 4 جم/ لتر), في الجزء الثاني تابعنا نمو شظايا الجذور (تكوين الجذور) في الوسطين المغذيين (مولر هينتون, أجار المغذيات), و كذلك تأثير أملاح كلوريد الصوديوم المنتجة على نموها أظهرت النتائج عدم التجانس بالنسبة لجميع العلاجات. أظهرت نتائج إنبات بذور الذرة (*Zea mays* L.) في الوسطين أن معدل الإنبات كان أعلى في الوسط مولر هينتون منه في أجار المغذيات (86,6% مقابل 13,3%) كان معدل الإنبات تحت تأثير الملح في التركيزات المختلفة مهماً خاصة حوالي 90% ل 1 جم/ لتر من الصوديوم.

الكلمات المفتاحية: *Zea mays* L., الإنبات في المختبر, البذور, تكوين الجذور, درجة الحرارة.

Summary

The objectives of this study in its first part (i) are to study the effect of different temperatures (5°C, 20°C, 40°C) on the in vitro germination of maize seeds *zea mays* L. in two synthetic media (**Muller Hinton** and **Nutrient agar**), (ii) and also the effect of NaCl (**1g/l**, **2g/l**, **3g/l**, **4g/l**), as well as its response to increasing concentrations of NaCl salts (1g/), in its second part we followed the growth of root fragments (rhizogenesis) in the two nutrient media (**Muller Hinton** and **Nutrient agar**), and also the effect of NaCl salts on their growth. The results show heterogeneity for all the treatments.

The results of germination of maize seeds (*Zea mays*) in the two media show that the germination rate was higher in the **Muller Hinton** medium than in the **Nutrient Agar** (86,6% against 13,3%), and for the effect of salt, the germination rate in the different concentrations was significant, in particular around 90% for 1g/l of NaCl, and 76,6% for a concentration of 4g/l of NaCl.

Key words: *Zea mays* L., in vitro Germination, Seeds, Rhizogenesis, Temperature.

