

THESE

En vue de l'obtention du : **DOCTORAT**

Centre de recherche : Biotechnologies Végétale et Microbienne, Biodiversité et Environnement.

Structure de Recherche : Laboratoire de Physiologie et Biotechnologie Végétales.

Discipline : Biologie.

Spécialité : Physiologie et Biotechnologie Végétales.

Présentée et soutenue le 09/10/2021 par :

Abdellah BENBYA

***Contribution à la domestication de l'arganier (Argania spinosa (L.) Skeels) :
Analyse par spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier, multiplication
végétative par bouturage semi-ligneux et identification in silico de gènes
impliqués dans l'homéostasie de l'auxine.***

JURY

Ahmed EL ABOUDI	PES, Faculté des Sciences, Université Mohammed V de Rabat.	Président
Salwa BENNANI	PES, Faculté des Sciences, Université Mohammed V de Rabat.	Rapporteur/Examineur
Bouabid BADAoui	PH, Faculté des Sciences, Université Mohammed V de Rabat.	Rapporteur/Examineur
Driss HMOUNI	PH, Faculté des Sciences, Université Ibn Tofaïl de Kénitra.	Rapporteur/Examineur
Bouchra BELKADI	PES, Faculté des Sciences, Université Mohammed V de Rabat.	Examineur
Fatima GABOUN	Directeur de recherche, Institut National de la Recherche Agronomique de Rabat.	Examineur
Meriem MDARHRI ALAoui	Directeur de recherche, Institut National de la Recherche Agronomique de Rabat.	Co-Directrice de Thèse
Souad CHERKAoui	PES, Faculté des Sciences, Université Mohammed V de Rabat.	Directrice de Thèse

Année Universitaire : 2020-2021

Remerciements

Les travaux présentés dans cette thèse ont été effectués au Laboratoire de Physiologie et Biotechnologie Végétales de la Faculté des Sciences de l'Université Mohammed V de Rabat (FSR), sous la direction de Madame **Souad CHERKAOUI**, Professeur de l'Enseignement Supérieur à la Faculté des Sciences de Rabat (FSR) en étroite collaboration avec le Laboratoire de culture *in vitro* de l'unité de biotechnologie végétale du Centre Régional de la Recherche Agronomique de Rabat (CRRRA-Rabat), sous le co-encadrement de Madame **Meriem MDARHRI ALAOUI**, chercheur à l'Institut National de la Recherche Agronomique (INRA-Rabat).

Ce projet de thèse ne peut s'achever sans que je puisse rendre hommage aux personnes qui m'ont encadré, aidé et qui ont créé un climat propice pour la réalisation et l'aboutissement de ce travail.

Mes remerciements et ma profonde reconnaissance s'adressent tout d'abord à ma Directrice de thèse, Madame **Souad CHERKAOUI**, Professeur de l'Enseignement Supérieur à la Faculté des Sciences de Rabat (FSR), pour sa rigueur scientifique, sa disponibilité, ses discussions enrichissantes, ses conseils précieux et avisés à la hauteur de ses compétences et de ses réelles qualités humaines.

Cette thèse n'aurait certainement pas pu aboutir sans la confiance et la bienveillance de mon encadrante, Docteur **Meriem MDARHRI ALAOUI**, chercheur à l'Institut National de la Recherche Agronomique (INRA-Rabat), qui a accompli avec abnégation et détermination mon encadrement. Ses compétences scientifiques, son implication, son aide précieuse, ses remarques pertinentes et ses grandes qualités morales tout au long de ces années m'ont permis de mener à bien ce travail scientifique.

J'exprime notamment mes vifs remerciements à Monsieur **Ahmed EL ABOUDI**, Professeur de l'Enseignement Supérieur à la Faculté des Sciences de Rabat (FSR), pour l'honneur qu'il me fait en acceptant de présider le jury chargé d'évaluer la présente thèse.

Ma reconnaissance est adressée également à Madame **Salwa BENNANI**, Professeur de l'Enseignement Supérieur à la Faculté des Sciences de Rabat (FSR), pour avoir accepté d'évaluer ce travail et d'en être le rapporteur. C'est un honneur pour moi de la voir siéger parmi les membres de jury de cette thèse.

Je remercie chaleureusement Monsieur **Bouabid BADAOU**, Professeur Habilité à la Faculté des Sciences de Rabat (FSR), d'avoir accepté d'examiner cette thèse et d'en être le rapporteur. Je le prie de croire à ma profonde reconnaissance.

Un grand merci à Monsieur **Driss HMOUNI**, Professeur Habilité à la Faculté des Sciences de de Kénitra (FSK), pour avoir aimablement accepté d'évaluer cette thèse et d'en être le rapporteur. Qu'il soit assuré de ma gratitude et de mon profond respect.

Je souhaite adresser mes remerciements à Madame **Bouchra BELKADI**, Professeur de l'Enseignement Supérieur à la Faculté des Sciences de Rabat (FSR), pour avoir accepté d'examiner ce travail. C'est un honneur pour moi de vous compter parmi les membres de jury de cette thèse.

Je tiens également à témoigner toute ma reconnaissance et ma gratitude à Madame Docteur **Fatima GABOUN**, chercheur à l'Institut National de la Recherche Agronomique (INRA-Rabat) pour avoir accepté d'examiner ce travail. C'est un honneur pour moi de la voir siéger parmi les membres de jury de cette thèse.

Durant cette thèse, j'ai effectué deux séjours scientifiques en Belgique au Centre Wallon de Recherches agronomiques (CRA-W) de Gembloux dans le cadre d'un stage en biologie moléculaire et en spectroscopie infrarouge de l'arganier. Je remercie ainsi Madame **Fabienne DELPORTE** et Madame **Ouissam ABBAS** de m'avoir encadré durant ces deux séjours.

Je ne peux passer sous silence tous les professeurs, chercheurs et le personnel des différents Laboratoires de l'Unité de Biotechnologie au Centre Régional de la Recherche Agronomique de Rabat, le laboratoire de Physiologie et Biotechnologie Végétales de la Faculté des Sciences de Rabat et les départements de la valorisation des produits et des sciences du vivant du Centre Wallon de Recherches agronomiques pour leur contribution et leurs encouragements incessants.

Enfin, je renouvelle toute mon amitié et ma sympathie à tous les doctorants, les étudiants de Master et de Licence, ainsi, que tous les stagiaires de l'INRA, avec qui j'ai partagé mon stress mais aussi des moments plus agréables : missions, sorties, congrès...

Je ne saurais terminer ces remerciements sans exprimer le témoignage de ma profonde reconnaissance à Mes parents **Abdeslam BENBYA** et **Zahra CHAME**, pour tout l'amour qu'ils m'ont donné et pour tout ce qu'ils ont fait pour moi. Je suis très fier de les avoir à mes côtés et je ferais de mon mieux pour rester une fierté à leurs yeux avec l'espoir de ne jamais les décevoir.

Je tiens à remercier également mes frères (**Ismail, Zaïd et Ahmed**), mes sœurs (**Fatima et Assiya**), leurs enfants (**Anass, Romaissae, Younes, Salman, Adam, Sara, Aya et Sami**) et toute ma famille pour leur soutien inconditionnel tout au long de mes études et pour la confiance qu'ils m'ont toujours témoignée. À ces personnes, je leur dédie mon travail, « sans vous je ne serai pas ce que je suis aujourd'hui ».

Abdellah BENBYA

Publications et Communications

Ce travail de recherche m'a permis de rédiger trois publications, et de participer à des conférences, symposium et congrès nationaux et internationaux :

a) Publications dans des revues internationales à comité de lecture

Publication 1:

Benbya, A., Mdarhri Alaoui M., Gaboun, F., Delporte, F., and Cherkaoui, S. (2018). Vegetative Propagation of *Argania spinosa* (L.) Skeels Cuttings: Effects of Nutrient Solution. *International Journal of Environment, Agriculture and Biotechnology*, 3(4). 1369-1381. doi: 10.22161/ijeab/3.4.31.

Publication 2:

Benbya, A., Mdarhri Alaoui M., Gaboun, F., Delporte, F., Chlyah, O., and Cherkaoui, S. (2019). Vegetative propagation of *Argania spinosa* (L.) Skeels cuttings: Effects of auxins and genotype. *Advances in Horticultural Science*, 33(4), 519-527. doi: 10.13128/ahsc-8131.

Publication 3:

Benbya, A., Cherkaoui, S., Gaboun, F., Chlyah, O., Delporte, F., and Mdarhri Alaoui M. (2021). Clonal propagation of *Argania spinosa* (L.) skeels: effects of leaf retention, substrate and cutting diameter. *Advances in Horticultural Science*, 35(1). 61-72. doi: 10.36253/ahsc9212.

b) Communications orales et affichées aux conférences, symposium et congrès nationaux et internationaux

Benbya, A., Mdarhri Alaoui, M., Gaboun, F., Delporte, F., Cherkaoui, S. (2019). Vegetative propagation of *Argania spinosa* (L.) Skeels cuttings: effects of nutrient solution, cutting types and cutting position. *Proceedings of the International Congress on the Argan Tree*, Agadir, Morocco, 5th edition, 108-114.

Benbya, A., Mdarhri Alaoui, M., Gaboun, F., Delporte, F., Cherkaoui, S. (2019). Mid-infrared spectroscopy (MIRS) analysis of milled powder and intact seeds of the argan tree (*Argania spinosa* (L.) Skeels). *Proceedings of International Congress on the Argan Tree*, 5th edition, Agadir, Morocco, 466-471.

Benbya, A., MdarhriAlaoui, M., Gaboun, F., Abbas, O., Delporte, F., Cherkaoui, S. (2014). Spectroscopy Analysis and infrared imaging of argan tree (*Argania spinosa* (L.) Skeels) seeds. *Proceedings of International Conference of Plant Biodiversity*, 2nd edition, Marrakech, Morocco.

Benbya, A., Mdarhri Alaoui, M., Gaboun, F., Abbas, O., Delporte, F., Cherkaoui, S. (2014). Spectroscopy Analysis and infrared imaging of argan tree (*Argania spinosa* (L.) Skeels) seeds. *AGROSTAT Symposium on Statistical Methods for the Food Industry*, 13th edition, Rabat, Morocco.

Mdarhri Alaoui, M., Gaboun, F., **Benbya, A.**, Farhoune, H., Chlyah, O., Delporte, F., and Cherkaoui, S. (2018). Induction of rhizogenesis of *in vitro* culture of cuttings of *Argania spinosa* (L.) Skeels. *International Association for Plant Biotechnology (IAPB) Congress*, 14th edition, Dublin, Ireland.

Mdarhri Alaoui, M., Gaboun, F., Delporte, F., Lahlimi, Q., Farhoun, H., Tahiri, M., **Benbya, A.**, Cherkaoui, S. (2017). Effet de la composition hormonale et de source de carbone sur la micropropagation de l'arganier (*Argania spinosa* (L.) Skeels). *International Scientific Congress on the Argan Tree*, 4th edition, Agadir, Morocco.

Mdarhri Alaoui, M., Gaboun, F., Triqui, Z., Boukmou, J., **Benbya, A.**, Farhoune, H., Cherkaoui, S. (2015). Micropropagation tools for preservation of an endemic tree of Morocco: *Argania spinosa* (L.) Skeels. *International Symposium on Production and Establishment of Micropropagated Plants*, 6th edition, San Remo, Italy.

Résumé

Le travail de cette thèse consiste à optimiser les techniques de la multiplication végétative de l'arganier (*Argania spinosa* (L.) Skeels) afin de contribuer à sa domestication et favoriser la création de vergers modernes « Arganiculture », ainsi que la restauration de l'arganeraie. A cet effet, nous nous sommes intéressés à l'analyse de la composition chimique des graines et des feuilles, des mécanismes de croissance, de la physiologie des boutures semi-ligneuses ainsi qu'à l'identification *in silico* des principaux gènes contrôlant l'homéostasie de l'auxine. Dans un premier temps, nous avons démontré que l'analyse moyen infrarouge à transformée de Fourier couplée à la chimiométrie a permis une caractérisation rapide de la composition chimique des graines et des feuilles d'arganier. L'étude physiologique de différents facteurs endogènes et exogènes a montré que les boutures semi-ligneuses plantées dans un substrat de sable fin, traitées avec 3000 mg.l⁻¹ d'AIB et irriguées avec la solution nutritive Hoagland ont présenté une amélioration qualitative et quantitative du système racinaire des plants d'arganier : le nombre de racines, la longueur des racines et le pourcentage d'enracinement ont été respectivement de 45,06, 33,63 cm et 65%. Enfin, dans le but d'améliorer l'efficacité du bouturage et pour mieux comprendre les mécanismes de la rhizogenèse, nous avons réalisé une étude bio-informatique qui a permis initialement l'identification de six principaux gènes intervenant dans l'influx (AUX1), l'efflux (PIN1, PIN4 et PIN7), la perception (ABP1 et TIR1) de l'auxine et par la suite la conception *in silico* d'amorces oligonucléotidiques efficaces favorisant une meilleure spécificité de la PCR quantitative (qPCR).

Mots-clés : *Argania spinosa*, domestication, multiplication végétative, bouturage, rhizogenèse adventive, spectroscopie, amorces oligonucléotides.

Abstract

This study consists in optimizing the vegetative propagation techniques of the argan tree (*Argania spinosa* (L.) Skeels) in order to contribute to its domestication and promote the creation of modern orchards « Arganiculture », as well as the restoration of the argan grove. We are indeed interested in the analysis of the chemical composition of seeds and leaves, growth mechanisms, the physiology of semi-woody cuttings as well as the *in silico* identification of the main genes controlling auxin homeostasis. First, we demonstrated that the analysis of the Fourier-Transform Mid-Infrared spectroscopy coupled with chemometrics enables a fast characterization of the composition of argan tree seeds and leaves. The physiological study of various endogenous and exogenous factors has shown that the semi-woody cuttings planted in a fine sand substrate, treated with 3000 mg.l⁻¹ of IBA and irrigated with Hoagland nutrient solution reveal a qualitative as well as quantitative improvement of argan plants' rooting system. Hence, the number of roots, root length and rooting rate of the cuttings were respectively 45,06, 33,63 cm and 65%. Finally, in order to improve the efficiency of the stem cutting technique and to better understand the mechanism of adventitious root formation, we carried out a bioinformatics study which initially allowed the identification of six main genes involved in the influx (AUX1), the efflux (PIN1, PIN4 and PIN7) and the perception (ABP1 and TIR1) of auxin and subsequently the *in silico* design of efficient oligonucleotide primers promoting a better specificity of the Real-Time PCR (qPCR).

Keywords : *Argania spinosa*, domestication, vegetative propagation, cuttings, adventitious rooting, spectroscopy, oligonucleotide primers.

Liste des sigles et abréviations

2,4,5-T : Acide 2,4,5-Trichlorophénoxyacétique ;

2,4-D : Acide 2,4-Dichlorophénoxyacétique ;

AAM : Accroissement Annuel Moyen ;

ABC : ATP Binding Cassette ;

ABCB : ATP Binding Cassette class B ;

ABP : Auxin Binding Protein ;

ACP : Analyse en Composantes Principales ;

ADA : Agence de Développement Agricole ;

ADN : Acide Désoxyribo Nucléique ;

AIA : Acide Indole-3-Acétique ;

AIB : Acide Indole-3-Butyrique ;

ALPIN4 : PIN4 of *Arabidopsis lyrata* ;

ALPIN7 : PIN7 of *Arabidopsis lyrata* ;

ANA : Acide 1-Naphtalène-Acétique ;

ANDZOA : Agence de Développement des Zones Oasiennes et de l'Arganier ;

ANOVA : Analyse de la Variance ;

ANT : Anthranilate ;

APA : Acide-2-Phényl-Acétique ;

ARF : Auxin Response Factor ;

ASFA : *Argania spinosa* de la Forêt d'Admine ;

ASOC : *Argania spinosa* de l'Arboretum d'Oued Cherrat ;

ATPIN4 : PIN4 of *Arabidopsis thaliana* ;

ATPIN7 : PIN7 of *Arabidopsis thaliana* ;

ATR : Attenuated Total Reflectance ;

AUX1 : Auxin Resistant 1;

BLAST : Basic Local Alignment Search Tool ;

C.E : Conductivité Electrique ;

CAM : Calmodulin ;

CBPIN7 : PIN7 of *Capsella bursa-pastoris* ;

CCM : Chromatographie sur Couches Minces ;

CPG : Chromatographie en Phase Gazeuse ;

CRRA : Centre Régional de Recherche Agronomique ;

DARED : Développement de l'Arganiculture en Environnement Dégradé ;

DBAC : Dispositif en Bloc Aléatoire Complet ;

DCAUX1 : AUX1 of *Dianthus caryophyllus* ;

DDBJ : DNA Data Bank of Japan ;

DDL : Degré De Liberté ;

DLTIR1 : TIR1 of *Dimocarpus longan* ;

DPA : Directions Régionales de l'Agriculture ;

EBI : European Bioinformatics Institut ;

E_{elec} : Energie électronique ;

EM : Electromagnétiques ;

EMBL : European Molecular Biology Laboratory ;

E_{rot} : Energie rotationnelle ;

E_{vib} : Energie vibrationnelle ;

FAO : Organisation des Nations Unies pour l'Alimentation et l'Agriculture ;

FATIR1 : TIR1 of *Fragaria ananassa* ;

FDA : Fond de Développement Agricole ;

FIFARGANE : Fédération Interprofessionnelle de la Filière d'Argane ;

FIMARGANE : Fédération Interprofessionnelle Marocaine de la Filière d'Argane ;

FMTEC : Fédération Marocaine des Transformateurs, Exportateurs et Commerçants d'huile d'argane ;

FNADUA : Fédération Nationale des Ayant-Droits Usagers de l'Arganeraie ;

F-value : Loi de Fisher-Snedecor ;

GCF : Green Climate Fund ;

GH3 : Gretchen Hagen 3 ;

GHABP1 : ABP1 of *Gossypium hirsutum* ;

GIE : Groupements d'Intérêt Economique ;

GmPIN4 : PIN4 of *Glycine max* ;

GPS : Global Positioning System ;

HA : Solution nutritive Hoagland et Arnon ;

HCEFLCD : Haut-Commissariat aux Eaux et Forêts et à la Lutte Contre la Désertification ;

HPLC : High Performance Liquid Chromatography ;

IAM : Indole-3-Acetamide ;

IAOX : Indole-3-Acetaldoxime ;

IG : Indole Glucosinolate ;

INRA : Institut National de la Recherche Agronomique ;

IPyA : Indole-3-Pyruvic Acid ;

IR : Infrarouge ;

IRTF : Spectroscopie Infrarouge à Transformée de Fourier ;

LAAUX1 : AUX1 of *Lupinus albus* ;

LAX1 : Auxin transporter-Like protein 1 ;

MAB : Programme sur l'Homme et la Biosphère ;

MAPMDREF : Ministère de l'Agriculture de la Pêche Maritime du Développement Rural et des Eaux et Forêts ;

MATIR1 : TIR1 of *Morus alba* ;

MDPIN1 : PIN1 of *Malus domestica* ;

MDPIN7 : PIN7 of *Malus domestica* ;

MIAUX1 : AUX1 of *Mangifera indica* ;

MIR : Moyen Infrarouge ;

MS : Solution nutritive Murashige et Skoog ;

NCBI : National Center for Biotechnology Information ;

NIG : National Institute of Genetics ;

NRT1 : Nitrate Transporter 1 ;

ODECO : Office du Développement de Coopération ;

ONSSA : Office National de Sécurité Sanitaire des produits Alimentaires ;

ONU : Organisation des Nations Unies ;

PCR : Polymerase Chain Reaction ;

PILS : PIN-LIKES ;

PIN : PIN-FORMED ;

PIR : Proche Infrarouge ;

PMV : Plan Maroc Vert ;

PPM : Partie par million (g/kg) ;

PSABP1 : ABP1 of *Prunus salicina* ;

PSAUX1 : AUX1 of *Pisum sativum* ;

PSTIR1 : TIR1 of *Prunus salicina* ;

PTPIN1 : PIN1 of *Populus tremula* ;

P-value : Probability value ou seuil de signification ;

QL : Solution nutritive Quoirin et Lepoivre ;

QPCR : PCR quantitative ou PCR en temps réel ;

RBA : Réserve de Biosphère d'Arganeraie ou Argan Biosphere Reserve (ABR) ;

RCPIN1 : PIN1 of *Rosa canina* ;

RHPIN1 : PIN1 of *Rosa hybrida* ;

RMN : Résonance Magnétique Nucléaire ;

RRD1 : Root Redifferentiation 1 ;

SCR : Scarecrow-like ;

SEM : Standard Error of the Mean ;

SIG : Système d'Information Géographique ;

SIPAM : Système Ingénieux du Patrimoine Agricole Mondial ;

SLPIN4 : PIN4 of *Solanum lycopersicum* ;

SNV : Déviation Normale Standardisée ;

SUR1 : Superroot 1 ;

Ta : Annealing Temperature ou Température d'Hybridation ;

TAM : Tryptamine ;

TIR : Transport Inhibitor Response ;

Tm : Melting Temperature (Température de Fusion) ;

TRA : Tryptamine ;

UCFA : Unions des Coopératives des Femmes pour la production et la commercialisation de l'huile d'Argane ;

UF : Unités Fourragères ;

VVABP1 : ABP1 of *Vitis vinifera* ;

WAT : Walls Are Thin 1 ;

WPM : Solution nutritive Woody Plant Medium ;

YUC1 : Yucca 1 ;

ZMABP1 : ABP1 of *Zea mays*.

Liste des tableaux

Tableau 1. Classification botanique de l'arganier	7
Tableau 2. Valeurs en nombre d'ondes, fréquences et intensités observées pour divers modes de vibration en spectroscopie infrarouge.....	37
Tableau 3. Calcul de la température de fusion des amorces avec l'équation de Wallace	99
Tableau 4. Coordonnées géographiques de quatre clones étudiés.	112
Tableau 5. Composition granulométrique du substrat étudié.	114
Tableau 6. Teneur du substrat en éléments majeurs.	115
Tableau 7. Acidité, conductivité électrique, teneur en calcaire actif et teneur en matière organiques du sable étudié.....	117
Tableau 8. Acidité, rétention en eau, conductivité électrique, matière sèche et matière organique de la tourbe utilisée.....	117
Tableau 9. Concentrations en macroéléments et microéléments des quatre solutions nutritives étudiées.....	123
Tableau 10. Analyse de la variance des effets du clone, du type d'auxine, de la concentration d'auxine et de leurs interactions sur le nombre de pousses et de la longueur des pousses des boutures semi-ligneuses de l'arganier	141
Tableau 11. Analyse de la variance des effets du clone, du type d'auxine, de la concentration d'auxine et de leurs interactions sur le nombre de racines et la longueur des racines des boutures semi-ligneuses d'arganier	145
Tableau 12. Analyse de la variance des effets du clone, du type d'auxine, de la concentration d'auxine et de leurs interactions sur le taux de débourrement, taux d'enracinement et le taux de réussite des boutures semi-ligneuses de l'arganier	148
Tableau 13. Analyse de la variance des effets de la solution nutritive, du type de bouture, de la position de prélèvement de boutures et de leurs interactions sur le nombre de nombre et la longueur des pousses des boutures de l'arganier	154
Tableau 14. Analyse de la variance des effets de la solution nutritive, du type de bouture, de la position de prélèvement de boutures et de leurs interactions sur le nombre de racines et de la longueur des racines des boutures de l'arganier	158
Tableau 15. Analyse de la variance des effets de la solution nutritive, du type de bouture, de la position de prélèvement de boutures et de leurs interactions sur le taux de débourrement, taux d'enracinement et le taux de réussite des boutures de l'arganier	162
Tableau 16. Régression linéaire simple entre le diamètre des boutures et le nombre de pousses ou de la longueur de pousses des boutures semi-ligneuses de l'arganier	167

Tableau 17. Analyse de la variance des effets du type de substrat, du diamètre des boutures et du nombre de feuilles et de leurs interactions sur le nombre de pousses et de la longueur des pousses des boutures semi-ligneuses de l'arganier	170
Tableau 18. Analyse de la variance des effets du type de substrat, du diamètre des boutures et du nombre de feuilles et de leurs interactions sur le nombre de racines et la longueur des racines des boutures de l'arganier.....	174
Tableau 19. Analyse de la variance des effets du type de substrat, du diamètre des boutures et du nombre de feuilles et de leurs interactions sur le taux de débourrement, taux d'enracinement et le taux de réussite des boutures de l'arganier	177
Tableau 20. Liste des gènes sélectionnés en fonction des espèces et du numéro d'accession pour la conception des amorces sens et antisens PIN1.	181
Tableau 21. Amorces sens et antisens du gène PIN4 choisies à partir de l'alignement multiple des séquences nucléotidiques sur les programmes Vector NTI et Primer 3.	183
Tableau 22. Critères de sélection des amorces sens et antisens du gène PIN1 sur les programmes Vector NTI et Primer 3.....	183
Tableau 23. Couple d'amorces sens et antisens oligonucléotides du gène PIN1.....	184
Tableau 24. Liste des gènes sélectionnés en fonction des espèces et du numéro d'accession pour la conception des amorces sens et antisens PIN4.	184
Tableau 25. Amorces sens et antisens du gène PIN4 choisies à partir de l'alignement multiple des séquences nucléotidiques sur les programmes Vector NTI et Primer 3.	187
Tableau 26. Critères de sélection des amorces sens et antisens du gène PIN4 sur les programmes Vector NTI et Primer 3.....	187
Tableau 27. Couple d'amorces sens et antisens oligonucléotides du gène PIN4.....	188
Tableau 28. Liste des gènes sélectionnés en fonction des espèces et du numéro d'accession pour la conception des amorces sens et antisens PIN7.	189
Tableau 29. Amorces sens et antisens du gène PIN7 choisies à partir de l'alignement multiple des séquences nucléotidiques sur les programmes Vector NTI et Primer 3.	190
Tableau 30. Critères de sélection des amorces sens et antisens du gène PIN7 sur les programmes Vector NTI et Primer 3.....	191
Tableau 31. Couple d'amorces sens et antisens oligonucléotides du gène PIN7.....	191
Tableau 32. Liste des gènes sélectionnés en fonction des espèces et du numéro d'accession pour la conception des amorces sens et antisens AUX1.	192
Tableau 33. Amorces sens et antisens du gène AUX1 choisies à partir de l'alignement multiple des séquences nucléotidiques sur les programmes Vector NTI et Primer 3.	194

Tableau 34. Critères de sélection des amorces sens et antisens du gène <i>AUX1</i> sur les programmes Vector NTI et Primer 3.....	195
Tableau 35. Couple d'amorces sens et antisens oligonucléotides du gène <i>AUX1</i>	196
Tableau 36. Liste des gènes sélectionnés en fonction des espèces et du numéro d'accession pour la conception des amorces sens et antisens <i>TIR1</i>	196
Tableau 37. Amorces sens et antisens du gène <i>TIR1</i> choisies à partir de l'alignement multiple des séquences nucléotidiques sur les programmes Vector NTI et Primer 3.	198
Tableau 38. Critères de sélection des amorces sens et antisens du gène <i>TIR1</i> sur les programmes Vector NTI et Primer 3.....	198
Tableau 39. Couple d'amorces sens et antisens oligonucléotides du gène <i>TIR1</i>	199
Tableau 40. Liste des gènes sélectionnés en fonction des espèces et du numéro d'accession pour la conception des amorces sens et antisens <i>ABP1</i>	200
Tableau 41. Amorces sens et antisens du gène <i>ABP1</i> choisies à partir de l'alignement multiple des séquences nucléotidiques sur les programmes Vector NTI et Primer 3.	202
Tableau 42. Critères de sélection des amorces sens et antisens du gène <i>ABP1</i> sur les programmes Vector NTI et Primer 3.....	203
Tableau 43. Couple d'amorces sens et antisens oligonucléotides du gène <i>ABP1</i>	203

Liste des figures

Figure 1. Répartition géographique des peuplements de l'arganier au Maroc	8
Figure 2. Différentes aires bioclimatiques de l'arganier	10
Figure 3. Différenciation morphologique des rameaux d'arganier	12
Figure 4. Caractères botaniques de l'arganier	15
Figure 5. Cycle phénologique de l'arganier	16
Figure 6. Portion du spectre électromagnétique présentant un intérêt pour les applications analytiques	29
Figure 7. Domaines spectraux du rayonnement électromagnétique	30
Figure 8. Nature et propagation d'une onde électromagnétique	31
Figure 9. Spectres électromagnétiques et les différentes transitions électroniques.....	32
Figure 10. Modèle d'oscillateur harmonique d'une molécule diatomique.....	34
Figure 11. Modes de vibration d'élongation et de déformation du groupement CH ₂ des molécules polyatomiques.....	35
Figure 12. Principe de la spectroscopie IRTF selon le diagramme schématique de l'interféromètre de Michelson	38
Figure 13. Mode de la réflexion totale atténuée (ATR) de la spectroscopie IRTF.....	39
Figure 14. Techniques de multiplication végétative à faible coût	48
Figure 15. Types de boutures de rameaux feuillés	51
Figure 16. Structure de la racine et différentes zones du système racinaire.....	59
Figure 17. Structure primaire d'une racine	60
Figure 18. Structure secondaire d'une racine	61
Figure 19. Etapes de la formation de la racine latérale ou secondaire	62
Figure 20. Transport latéral dans les racines	64
Figure 21. Transport axial de la sève brute dans la plante.....	65
Figure 22. Structure chimique des principales auxines naturelles	78
Figure 23. Structure chimique des principales auxines	79
Figure 24. Mécanisme de l'augmentation de la pression de turgescence et la plasticité de la paroi cytoplasmique sous l'effet de l'auxine	80
Figure 25. Action de l'auxine sur la croissance cellulaire.....	81
Figure 26. Homéostasie de l'auxine avec diverses voies métaboliques : la biosynthèse, la conjugaison, le transport, la compartimentation et la dégradation	84
Figure 27. Diverses voies d'homéostasie de l'auxine dans les boutures.	85
Figure 28. Biosynthèse d'AIA par voie dépendante et indépendante du tryptophane.....	86

Figure 29. Voies de conjugaisons et de dégradations de l'AIA.....	87
Figure 30. Modèle du transport polaire de l'AIA	89
Figure 31. Transport et stockage de l'auxine entre les différents compartiments cellulaires assurés par PIN5, PIN8 ou les PILS	90
Figure 32. Voies de signalisation de l'AIA régulées par TIR1 et ABP1 dans la cellule	91
Figure 33. Localisation des transporteurs d'influx d'auxine AUX1 dans les cellules	93
Figure 34. Localisation subcellulaire et niveau d'expression des protéines de transport de l'auxine PINs au niveau de la racine	94
Figure 35. Processus de croissance cellulaire par ABP1	95
Figure 36. Effet de l'auxine sur l'expression des gènes et l'activation du cycle cellulaire à travers la destruction des protéines Aux / IAA par le complexe SCF contenant les protéines du gène TIR1	96
Figure 37. Homologie intra-amorce (épingles à cheveux).....	100
Figure 38. Extrémité 5' de l'amorce sens et antisens fixée à l'extrémité 3' du brin d'ADN cible au niveau de la fourche de réplication.....	101
Figure 39. Origines géographiques des échantillons de feuilles et graines d'arganier	103
Figure 40. Localisation géographique de la forêt d'Admine	104
Figure 41. Localisation géographique de l'Arboretum forestier d'Oued Cherrat.....	104
Figure 42. Différents aspects des feuilles de quelques clones d'arganier de la forêt d'Admine	105
Figure 43. Différentes formes de graines d'arganier de quelques clones.....	106
Figure 44. Différents aspects des fruits (baies ou fausses drupes) d'arganier	106
Figure 45. Préparation des échantillons de feuilles pour l'analyse par spectroscopie moyen infrarouge par transformée de Fourier	109
Figure 46. Préparation des échantillons de graines pour l'analyse par spectroscopie moyen infrarouge par transformée de Fourier.....	110
Figure 47. Caractéristiques morphologiques (feuilles et fruits) des quatre clones d'arganier étudiés de l'Arboretum forestier d'Oued Cherrat.....	111
Figure 48. Serre expérimentale de l'unité de biotechnologie du Centre Régional de Recherche Agronomique (CRRRA) de Rabat, INRA-Maroc	112
Figure 49. Analyse des caractéristiques physiques et chimiques du substrat étudié	118
Figure 50. Pots de polystyrène de 1000 cm ³ préalablement désinfectés et étiquetés	119
Figure 51. Boutures semi-ligneuses d'arganier	120
Figure 52. Dispositif en Bloc Aléatoire Complet (DBAC)	121

Figure 53. Dispositif en Bloc Aléatoire Complet (DBAC) des boutures semi-ligneuses d'arganier installées dans un substrat de tourbe à une température de 32 ± 2 °C	125
Figure 54. Coefficient de variation des spectres moyen infrarouge par transformée de Fourier (IRTF) de type réflexion totale atténuée (ATR) des graines de l'arganier de la forêt d'Admine et de l'arboretum d'Oued Cherrat	129
Figure 55. Variance expliquée par les spectres moyen infrarouge par transformée de Fourier (IRTF) de type réflexion totale atténuée (ATR) des graines d'arganier en fonction des composantes principales	130
Figure 56. Carte factorielle de l'ACP des données spectrales moyen infrarouge par transformée de Fourier (IRTF) de type réflexion totale atténuée (ATR) obtenus sur des graines de l'arganier de la forêt d'Admine et de l'arboretum d'Oued Cherrat	131
Figure 57. Vecteurs propres des spectres moyen infrarouge par transformée de Fourier (IRTF) de type réflexion totale atténuée (ATR) de l'axe 1 de l'ACP des graines de l'arganier de la forêt d'Admine et de l'arboretum d'Oued Cherrat	131
Figure 58. Coefficient de variation des spectres moyen infrarouge par transformée de Fourier (IRTF) de type réflexion totale atténuée (ATR) des feuilles d'arganier de la forêt d'Admine et de l'arboretum d'Oued Cherrat	133
Figure 59. Variance expliquée des spectres moyen infrarouge par transformée de Fourier (IRTF) de type réflexion totale atténuée (ATR) des feuilles en fonction des composantes principales	133
Figure 60. Carte factorielle de l'ACP des données spectrales moyen infrarouge par transformée de Fourier (IRTF) de type réflexion totale atténuée (ATR) obtenues sur des feuilles de l'arganier de la forêt d'Admine et de l'Arboretum d'Oued Cherrat	134
Figure 61. Vecteurs propres des spectres moyen infrarouge par transformée de Fourier (IRTF) de type réflexion totale atténuée (ATR) de l'axe 1 de l'ACP des feuilles de l'arganier de la forêt d'Admine et de l'arboretum d'Oued Cherrat	135
Figure 62. Effets du génotype (ASOC1, ASOC2, ASOC3 et ASOC4), du type d'auxine (AIA, ANA et AIB) et de la concentration d'auxine (0, 1000, 3000, 5000 mg.l ⁻¹) sur le nombre de pousses et la longueur de pousses des boutures de l'arganier	140
Figure 63. Effets du type d'auxine et de la concentration d'auxine sur la multiplication par bouturage de l'arganier	143
Figure 64. Effets du génotype (ASOC1, ASOC2, ASOC3 et ASOC4), du type d'auxine (AIA, ANA et AIB) et de la concentration d'auxine (0, 1000, 3000, 5000 mg.l ⁻¹) sur le nombre de racines et la longueur de racines des boutures d'arganier	144

Figure 65. Effets du génotype (<i>ASOC1</i> , <i>ASOC2</i> , <i>ASOC3</i> et <i>ASOC4</i>), du type d'auxine (<i>AIA</i> , <i>ANA</i> et <i>AIB</i>), de la concentration d'auxine (0, 1000, 3000, 5000 mg.l ⁻¹) sur le taux de débourrement, taux d'enracinement et le taux de réussite des boutures d'arganier	147
Figure 66. Effets de la solution nutritive (Hoagland et Arnon (HA), Quoirin et Lepoivre (QL), Murashige et Skoog (MS), et Woody Plant Medium (WPM)), du type de bouture (herbacées, semi-ligneuses et ligneuses) et de la position de prélèvement de boutures (apicale, médiane et basale) sur le nombre de pousses et la longueur de pousses des boutures de l'arganier	153
Figure 67. Effets de la solution nutritive sur la multiplication par bouturage de l'arganier (<i>Argania spinosa</i> (L.) Skeels)	156
Figure 68. Effets de la solution nutritive (Hoagland et Arnon (HA), Quoirin et Lepoivre (QL), Murashige et Skoog (MS), et Woody Plant Medium (WPM)), du type de bouture (herbacées, semi-ligneuses et ligneuses) et de la position de prélèvement de boutures (apicale, médiane et basale) sur le nombre de racines et de la longueur de racines des boutures de l'arganier ..	157
Figure 69. Effets de la solution nutritive (Hoagland et Arnon (HA), Quoirin et Lepoivre (QL), Murashige et Skoog (MS), et Woody Plant Medium (WPM)), du type de bouture (herbacées, semi-ligneuses et ligneuses) et de la position de prélèvement de boutures (apicale, médiane et basale) sur le taux de débourrement, le taux d'enracinement et le taux de réussite des boutures d'arganier	161
Figure 70. Effets du type de substrat (sable fin, tourbe et sable fin / tourbe), du diamètre des boutures (0,1-0,3 cm ; 0,3-0,6 cm et 0,6-0,9 cm) et du nombre de feuilles (sans feuilles ; 2 ; 4 et 8 feuilles) sur le nombre de pousses et de la longueur des pousses des boutures semi-ligneuses de l'arganier	169
Figure 71. Effets du type de substrat sur la multiplication par bouturage de l'arganier	172
Figure 72. Effets du type de substrat (sable fin, tourbe et sable fin/tourbe), du diamètre des boutures (0,1-0,3 cm ; 0,3-0,6 cm et 0,6-0,9 cm) et du nombre de feuilles (sans feuilles, 2, 4 et 8 feuilles) sur le nombre de racines et la longueur des racines des boutures d'arganier	173
Figure 73. Effets du type de substrat (sable fin, tourbe et sable fin/tourbe), du diamètre des boutures (0,1-0,3 cm ; 0,3-0,6 cm et 0,6-0,9 cm) et du nombre de feuilles (sans feuilles, 2, 4 et 8 feuilles) sur le taux de débourrement, le taux d'enracinement et le taux de réussite des boutures de l'arganier	176
Figure 74. Amorces oligonucléotidiques des principaux gènes étudiés intervenants dans l'homéostasie de l'auxine (<i>PIN1</i> , <i>PIN4</i> , <i>PIN7</i> , <i>AUX1</i> , <i>ABP1</i> et <i>TIR1</i>)	204

Table des matières

Introduction	1
Première partie : Revue bibliographique.....	5
I. Généralités sur l'arganier	6
I.1. Historique.....	6
I.2. Systématique	6
I.3. Aires biogéographiques.....	7
I.4. Ecologie.....	9
I.4.1. Exigences climatiques.....	9
I.4.2. Exigences édaphiques	10
I.5. Morphologie et phénologie de l'arganier	11
I.5.1. Aspect et hauteur.....	11
I.5.2. Tronc	11
I.5.3. Branches et rameaux	12
I.5.4. Feuilles et foliation	12
I.5.5. Racines et mycorhization	13
I.5.6. Fleurs et floraison	14
I.5.7. Fruits et fructification	15
I.6. Importance et rôles de l'arganier.....	16
I.6.1. Rôles environnementaux.....	16
I.6.2. Rôles organisationnels	18
I.6.3. Rôles économiques	19
I.6.4. Rôles socio-culturels	22
I.7. Dégradation de l'arganeraie.....	23
I.8. Conservation des ressources génétiques et restauration de l'arganeraie.....	24
I.9. Domestication, amélioration variétale et multiplication végétative de l'arganier	25
I.10. Promotion et valorisation de la filière d'arganier	26
II. Détermination et caractérisation des feuilles et graines d'arganier selon l'origine géographique.....	27
II.1. Spectroscopie.....	28
II.1.1. Principe et techniques de la spectroscopie.....	29
II.1.2. Applications de la spectroscopie	33

II.2. Spectroscopie infrarouge	33
II.2.1. Principe et techniques de la spectroscopie infrarouge	33
II.2.2. Types de spectroscopie infrarouge	36
II.2.3. Spectroscopie moyen infrarouge	36
II.2.4. Spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier	38
II.2.5. Réflectance totale atténuée	39
II.3. Chimiométrie	40
II.3.1. Prétraitements appliqués aux spectres	40
II.3.2. Méthodes exploratoires : Analyse en Composantes Principales	41
II.4. Avantages et inconvénients de la spectroscopie infrarouge	42
II.4.1. Avantages de la spectroscopie IRTF	42
II.4.2. Inconvénients de la spectroscopie IRTF	43
III. Techniques de restauration de l'arganier	43
III.1. Multiplication de l'arganier par voie sexuée et asexuée	44
III.1.1. Multiplication par voie sexuée ou semis	44
III.1.2. Multiplication végétative ou asexuée	46
III.2. Mécanisme d'enracinement des boutures chez les ligneux	57
III.2.1. Aspect morphologique	57
III.2.2. Aspect anatomique des racines	59
III.2.3. Aspect physiologique des racines	61
III.3. Facteurs influençant la rhizogenèse et la réussite du bouturage	66
III.3.1. Facteurs endogènes ou intrinsèques	67
III.3.2. Facteurs exogènes ou extrinsèques	73
IV. Identification des principaux gènes impliqués dans la formation des racines et conception <i>in silico</i> d'amorces oligonucléotidiques	84
VI.1. Homéostasie et métabolisme de l'auxine dans la plante	84
IV.1.1. Biosynthèse de l'auxine	85
IV.1.2. Conjugaison de l'auxine.....	86
IV.1.3. Transport de l'auxine	87
IV.1.4. Compartimentation et stockage de l'auxine.....	90
IV.1.5. Perception et signalisation de l'auxine.....	90
IV.2. Familles de gènes intervenant dans l'homéostasie de l'auxine et la rhizogenèse adventive	92
IV.2.1. Familles intervenant dans le transport d'auxine	92
IV.2.2. Famille intervenant dans la perception et la signalisation de l'auxine.....	95

IV.3. Conception des amorces oligonucléotidiques	97
IV.3.1. Choix des amorces	97
IV.3.2. Conception des amorces.....	97
IV.3.3. Sélection des amorces	98
Deuxième partie : Matériel et méthodes	102
I. Détermination et caractérisation par spectroscopie moyen infrarouge à transformée de fourier couplée à la chimiométrie de la composition biochimique des feuilles et graines d'arganier selon l'origine géographique	103
I.1. Choix du matériel végétal et préparation des échantillons.....	103
I.1.1. Choix du matériel végétal	103
I.1.2. Préparation des échantillons.....	107
I.2. Méthodes d'analyse	108
I.2.1. Acquisition des spectres.....	108
I.2.2. Analyses des données	108
II. Multiplication végétative de l'arganier par bouturage semi-ligneux	111
II.1. Choix du matériel végétal.....	111
II.2. Prélèvement et conditionnement des boutures.....	112
II.3. Sites d'expérimentation et conditions d'essai.....	112
II.3.1. Substrat	113
II.3.2. Conteneurs	119
II.3.3. Irrigation et fertilisation.....	119
II.3.4. Désinfection, suivi et protection phytosanitaire	119
II.4. Préparation des boutures, traitements et dispositif expérimental	120
II.4.1. Mise en place d'un dispositif expérimental pour l'étude de l'effet des différents types d'auxines et du clone sur le débourrement et l'enracinement des boutures de l'arganier	120
II.4.2. Mise en place d'un dispositif expérimental pour l'étude de l'effet de la solution nutritive, du type de bouture et de la position de prélèvement de boutures le long de tiges de pieds mères sur l'enracinement des boutures de l'arganier	122
II.4.3. Mise en place d'un dispositif expérimental pour l'étude de l'effet du type de substrat, du diamètre des boutures et du nombre de feuilles sur la multiplication par bouturage de l'arganier.....	124
II.5. Observations et réalisation des mesures	125
II.6. Analyses des données	125
III. Identification des principaux gènes impliqués dans la formation des racines et conception <i>in silico</i> d'amorces oligonucléotidiques	126

III.1. Recherche <i>in silico</i> des gènes sur les banques de séquences nucléiques	126
III.2. Alignement de séquences	126
III.3. Sélection et analyse des amorces oligonucléotidiques	126
III.3.1. Outils bio-informatiques utilisés	126
III.3.2. Paramètres de sélection des amorces oligonucléotidiques	126
III.3.3. Synthèse des oligo-nucléotides dégénérés	127
Troisième partie : Résultats et discussion	128
I. Détermination et caractérisation par spectroscopie moyen infrarouge à transformée de Fourier couplée à la chimiométrie de la composition biochimique des feuilles et graines d'arganier selon l'origine géographique	129
I.1. Résultats	129
I.1.1. Analyse des spectres MIR-ATR par transformée de Fourier (IRTF) des graines de l'arganier	129
I.1.2. Analyse des spectres MIR-ATR par transformée de Fourier (IRTF) des feuilles de l'arganier	132
I.2. Discussion	132
II. Effets du type d'auxine, de la concentration d'auxine et du clone sur la multiplication par bouturage de l'arganier.....	139
II.1. Résultats.....	139
II.1.1. Effets du type d'auxine, de la concentration d'auxine et du clone sur le nombre et la longueur des pousses	139
II.1.2. Effets du type d'auxine, de la concentration d'auxine et du clone sur le nombre et la longueur des racines	142
II.1.3. Effets du type d'auxine, de la concentration d'auxine et du clone sur le nombre et la longueur des pousses	145
II.2. Discussion	149
III. Effets de la solution nutritive, du type de bouture et de la position de prélèvement de boutures sur la multiplication par bouturage de l'arganier	152
III.1. Résultats	152
III.1.1. Effets de la solution nutritive, du type de bouture et de la position de prélèvement de boutures sur le nombre et la longueur des pousses.....	152
III.1.2. Effets de la solution nutritive, du type de bouture et de la position de prélèvement de boutures sur le nombre et la longueur des racines.....	155
III.1.3. Effets de la solution nutritive, du type de bouture et de la position de prélèvement de boutures sur le taux de débourrement, le taux d'enracinement et le taux de réussite du bouturage.	159
III.2. Discussion	163

IV. Effets du type de substrat, du diamètre des boutures et du nombre de feuilles sur la multiplication par bouturage de l'arganier (<i>Argania spinosa</i> (L.) Skeels).	167
IV.1. Résultats	167
IV.1.1. Effets du type de substrat, du diamètre des boutures et du nombre de feuilles sur le nombre et la longueur des pousses	167
IV.1.2. Effets du type de substrat, du diamètre des boutures et du nombre de feuilles sur le nombre et la longueur des racines	171
IV.1.3. Effets du type de substrat, du diamètre des boutures et du nombre de feuilles sur le pourcentage de débourrement, le taux d'enracinement et le taux de réussite du bouturage d'arganier	175
IV.2. Discussion	178
V. Conception <i>in silico</i> d'amorces oligonucléotidiques de six principaux gènes impliqués dans la formation des racines	181
V.1. Résultats	181
V.1.1. Conception <i>in silico</i> d'amorces oligonucléotidiques du gène PIN1	181
V.1.2. Conception <i>in silico</i> d'amorces oligonucléotidiques du gène PIN4	184
V.1.3. Conception <i>in silico</i> d'amorces oligonucléotidiques du gène PIN7	188
V.1.4. Conception <i>in silico</i> d'amorces oligonucléotidiques du gène AUX1	192
V.1.5. Conception <i>in silico</i> d'amorces oligonucléotidiques du gène TIR1	196
V.1.6. Conception <i>in silico</i> d'amorces oligonucléotidiques du gène ABP1	199
V.1.7. Modalités d'acquisition des amorces oligonucléotidiques	204
V.2. Discussion	204
Conclusion	208
Perspectives	212
Références bibliographiques	214

Introduction

L'arganier (*Argania spinosa* (L.) Skeels) est l'unique espèce du genre *Argania* et la seule espèce représentant la famille subtropicale des Sapotaceae au Maroc et dans l'Afrique du Nord (Emberger, 1925 ; Ehrig, 1974 ; Mabberley, 2008). L'arganier est une espèce providentielle endémique du Maroc qui constitue la deuxième essence forestière du pays après le chêne vert (*Quercus ilex* L.). D'après Boudy, 1950, la superficie de l'arganier était de 700 000 hectares. Celle-ci a connu une augmentation progressive atteignant 828 000 hectares en 1998 et 870 000 hectares en 2007 (M'Hirit *et al.*, 1998 ; Kenny et Zborowski, 2007). Cependant, actuellement cette superficie a montré une légère baisse occupant 800 000 hectares (Msanda *et al.*, 2021). L'aire de distribution naturelle de cette espèce est caractérisée par une grande plasticité : elle regroupe une mosaïque de paysages, du littoral océanique aux plaines de la vallée du Souss et des montagnes de l'Anti-Atlas et du Haut-Atlas (Morton et Voss, 1987 ; M'Hirit *et al.*, 1998). La biosphère naturelle de l'arganeraie (2,560,000 ha ; latitude entre 29 °N et 32 °N) est un écosystème résilient et complexe, d'une très grande biodiversité (1440 taxons de plantes et 140 espèces endémiques), qui évolue naturellement. L'originalité de cet écosystème est due à la présence d'une flore thermophile adaptée à un climat aride avec plusieurs espèces endémiques telles que l'arganier (*Argania spinosa* (L.) Skeels), le gommier du Maroc (*Acacia gummiifera* Willd), les oliviers (*Olea europaea* L. subsp. *maroccana* (Greuter & Burdet) P. Vargas & al.) (Médail et Quézel, 1999 ; Médail *et al.*, 2001 ; Msanda *et al.*, 2021). L'arganier s'étend entre les embouchures de la vallée du Tensift au nord jusqu'à la vallée du Drâa au sud et dans la plaine du Souss ainsi que sur le versant sud des montagnes du Haut Atlas occidental et sur les versants nord et sud des montagnes de l'Anti-Atlas occidental à des altitudes comprises entre 1300 et 1500 m (Bouzoubaâ et El Mousadik, 2003). C'est une essence épineuse, thermophile et xérophile à feuilles persistantes qui a la capacité de survivre dans des conditions très sèches à des températures très chaudes allant jusqu'à 50 °C et de faibles niveaux de précipitations entre 150 et 400 mm/an (Ehrig, 1974 ; Morton et Voss, 1987 ; Alba-Sánchez *et al.*, 2015 ; Choukr-Allah *et al.*, 2017). La forêt d'arganier est un levier du développement durable de l'écosystème semi-aride et aride du Sud-Ouest marocain dans ses trois dimensions : économique, sociale et environnementale. En effet, l'arganier est l'exemple parfait de l'arbre à multi-usages. Il assure l'autonomie économique et la subsistance de 3 millions de personnes des communautés locales autochtones dont 2.2 millions en milieu rural, en particulier des femmes et contribue, par conséquent, à la lutte contre l'exode massif de millions de ruraux. Les différentes productions de l'arganeraie fournissent plus de 11 millions de journées de travail et génèrent environ 12 000 emplois. Il constitue également un pilier fondamental de la préservation de l'équilibre écologique et de la conservation de la biodiversité ainsi que de l'atténuation et de l'adaptation

aux changements climatiques (Charrouf et Guillaume, 2009 ; Perry, 2020 ; Sinsin *et al.*, 2020). L'arganeraie agit comme une ceinture verte contre la désertification, protège le sol contre l'érosion, retient l'humidité édaphique, restaure la fertilité du sol et offre un microclimat très favorable pour la culture intercalaire grâce à son système racinaire très développé en profondeur (M'hirit *et al.*, 1998 ; Marzen *et al.*, 2020 ; Msanda *et al.*, 2021). Pendant des siècles, la forêt naturelle d'arganiers a combiné un système agro-sylvo-pastoral ingénieux et un patrimoine culturel précieux fortement présents dans la mémoire collective des populations du Sud-Ouest marocain. C'est pour cette raison qu'elle a été reconnue en 1998 comme « Réserve de Biosphère (RBA) » et classée au patrimoine mondial de l'Organisation des Nations unies pour l'éducation, la science et la culture (UNESCO) par le programme sur l'Homme et la biosphère (MAB) (Msanda *et al.*, 2005). Les savoir-faire (connaissances et compétences) ancestraux et uniques associés à l'arganier ont également été classés en 2014 comme « patrimoine culturel immatériel de l'humanité » par le Comité Intergouvernemental de Sauvegarde du Patrimoine Culturel Immatériel de l'UNESCO. Par ailleurs, les pratiques agricoles singulières et résilientes du système agro-sylvo-pastoral fondées sur l'arganier et mises en place dans la zone d'Ait Souab-Ait Mansour ont été désignées en 2018 comme « Système Ingénieux du Patrimoine Agricole Mondial (SIPAM) » par l'Organisation des Nations unies pour l'alimentation et l'agriculture (FAO). Enfin, pour apprécier à leur juste valeur cette ressource précieuse et les communautés locales qui la cultivent et l'exploitent, l'Assemblée générale de l'Organisation des Nations Unies (ONU) a proclamé, en 2021, le 10 mai « Journée Internationale de l'Arganier ». Cependant, malgré la valeur biogéographique et l'importance socio-économique de cette espèce ; sa superficie, sa densité et ses ressources génétiques ont connu une dégradation et une régression inquiétantes. Par ailleurs, la régénération naturelle de l'arganier est pratiquement absente à cause de plusieurs facteurs d'origine anthropique tels que la pression démographique, la déforestation, l'urbanisation incontrôlée, mais aussi du fait de l'exploitation intensive des ressources hydriques et édaphiques par l'agriculture intensive (De Waroux et Lambin, 2012 ; Zhao *et al.*, 2019 ; Sinsin *et al.*, 2020). En outre, sa culture n'est pas suffisamment développée. Cela est dû, d'une part, à l'utilisation abusive des graines et amandons pour la production d'huile et au surpâturage qui a entravé la propagation conventionnelle par germination des graines (Nouaim *et al.*, 2002), et d'autre part, à l'absence d'un itinéraire technique spécifique à cette espèce, en particulier le faible progrès dans les méthodes de propagation, principalement en raison de la récalcitrance de cette espèce à former des racines adventives (Nouaim *et al.*, 2002). De nos jours, le reboisement de l'arganeraie s'effectue principalement par graine (multiplication sexuée). Cependant, cette méthode de multiplication n'est pas adéquate à la domestication et la culture de cette espèce car

l'arganier est une espèce allogame qui montre une variabilité génétique extrême au sein de la population naturelle (Nouaim *et al.*, 2002 ; Msanda, 2005). Par ailleurs, la multiplication par semis n'assure pas la préservation de certains caractères génétiques et pourrait également entraîner la perte des gènes favorables des arbres mères (Hartmann *et al.*, 2002). Cependant, de nombreux pépiniéristes n'utilisent pas les techniques de multiplication végétative (bouturage, marcottage, greffage et culture *in vitro*) car l'arganier est une espèce difficile à s'enraciner (Nouaim *et al.*, 2002). De ce fait, le développement d'une technique alternative et efficace telle que la multiplication clonale est nécessaire pour la domestication, l'amélioration et la propagation en masse de génotypes sélectionnés à partir de populations naturelles (Leakey *et al.*, 1990 ; Hartmann *et al.*, 1997). Les méthodes de multiplication végétative les plus courantes pour la production à grande échelle des espèces ligneuses sont la micropropagation (culture *in vitro*) et la macropropagation (bouturage). En comparaison avec les autres techniques de multiplication végétative, le bouturage est considéré comme la méthode la plus efficace et la moins coûteuse (Leakey, 2004). C'est une méthode efficace pour la production uniforme d'un grand nombre de plantes. La réussite du bouturage dépend de plusieurs facteurs qui influencent l'efficacité d'enracinement (Hartmann *et al.*, 2002). La formation de racines chez les espèces ligneuses est un processus complexe qui implique divers changements génotypiques, biochimiques, physiologiques et histologiques ainsi que des variations dans les conditions de culture comme les régulateurs de croissance, les solutions nutritives et les substrats depuis l'induction jusqu'à l'élongation des racines adventives (Hartmann *et al.*, 2002 ; Druege *et al.*, 2019).

L'objectif général de cette étude est de caractériser la composition chimique des graines et feuilles d'arganier afin d'analyser les mécanismes de croissance et la physiologie des boutures semi-ligneuses et d'identifier les gènes contrôlant le transport et l'homéostasie de l'auxine. Cette étude permettra également de bien comprendre le processus complexe de la rhizogenèse adventive récalcitrante et de mieux appréhender les capacités de la multiplication végétative qui constitue le maillon le plus faible de l'itinéraire technique de l'arganiculture.

Ainsi, ce mémoire de thèse comprend trois grandes parties : la première partie est consacrée à l'analyse du potentiel de la spectroscopie moyen infrarouge à transformée de Fourier (MIR-TF) couplée à la chimiométrie dans la détermination de la composition biochimique des feuilles et graines d'arganier afin de caractériser rapidement les qualités fourragères et fruitières en fonction des génotypes et de l'origine géographique ; la deuxième partie vise à développer et optimiser un système de multiplication végétative de l'arganier afin d'augmenter quantitativement et qualitativement la production rapide des plants uniformes et résoudre les

problèmes de régénération par les techniques conventionnelles. A cet égard, nous présenterons les effets de cinq facteurs endogènes (le génotype, le type de boutures, la position des boutures, le diamètre des boutures et la rétention des feuilles) et quatre facteurs exogènes (le type d'auxine, la concentration d'auxine, la solution nutritive, le substrat) sur le débourrement, l'enracinement et le taux de réussite du bouturage. Et enfin, la troisième partie est dédiée à l'identification par la recherche *in silico* de six principaux gènes intervenant dans l'influx (AUX1), l'efflux (PIN1, PIN4 et PIN7), la perception (ABP1 et TIR1) de l'auxine et impliqués dans la formation des racines et la conception d'amorces oligonucléotidiques à partir de ces gènes pour bien comprendre le mécanisme de l'enracinement adventif et contribuer aux programmes de sélection de l'arganier.

Première partie :
Revue bibliographique

I. Généralités sur l'arganier

I.1. Historique

L'arganier est un arbre providentiel anciennement connu au Maroc. Au fil des siècles, cet arbre millénaire a toujours suscité l'intérêt de plusieurs chercheurs dont le médecin arabo-andalou Ibn al-Baitar au Xe siècle, le géographe et historien El Bekri au XIe, l'explorateur, géographe, botaniste et médecin Al Idrissi au XIIe, le diplomate et explorateur Hassan al-Wazzan, dit Léon l'Africain au XVIe et le botaniste Schousboe au XVIIIe. L'arganier est considéré comme une espèce subtropicale marocaine, il a été mentionné en 1219 par Ibn El-Beïthar dans son ouvrage « Traité des simples », puis en 1510 par Jean-Léon L'Africain dans son ouvrage « Description de l'Afrique ». Parmi les ouvrages dédiés spécialement à l'arganier, on peut citer : L'arganier : une espèce fruitière-forestière à usages multiples (M'hirit *et al.*, 1998) ; L'arganier au Maroc : entre mythes et réalités : une civilisation née d'un arbre (Nouaïm, 2005) ; Atlas de l'arganier et de l'arganeraie (Kenny et Zborowski, 2007).

I.2. Systématique

L'*Argania spinosa* est l'appellation qui fait consensus auprès de tous les botanistes qui se sont intéressés à la classification des Sapotacées. Entre 1737 et 1853, l'arganier a connu cinq autres appellations scientifiques qui sont citées comme synonymes d'*Argania spinosa*, entre autres *Sideroxylon spinosum* et *Argania sideroxylon* (Emberger, 1925 ; Morton et Voss, 1987). L'arganier est l'unique espèce du genre *Argania* (monotype). Il appartient à l'ordre des Ebénales et représente l'espèce la plus septentrionale de la famille subtropicale des Sapotacées qui comprend environ 10 genres et 600 espèces (tableau 1) (Ehrig, 1974). La famille tropicale des Sapotacées ne pénètre que rarement dans les zones tempérées (M'hirit *et al.*, 1998). La majorité des espèces de cette famille ont des fruits comestibles et revêtent un intérêt économique et environnemental. Certaines ont été domestiquées progressivement et sont actuellement cultivées, c'est le cas du prunier natif d'Australie (*Sideroxylon australe*) et trois espèces appartenant au genre *Pouteria* (*P.lacuna*, *P.caimito* et *P.macrophylla*). Pour les forestiers, les membres de la famille des Sapotacées sont surtout réputés pour leur bois lourd et de bonne qualité (*Palaquim spp.*, *Baillonella spp.* et *Manikara spp.*). D'autres espèces sont connues pour leur richesse en huile (*Butyrospermum parkii*, *Calocarpum mamomsum*, *Dumoria africana*) et d'autres en Latex (*Palaquium*, *Manikara*). L'espèce la plus proche de l'arganier est le *Sideroxylon marmulano* qui est répandue dans l'île de l'archipel de Madère, au large de la côte nord-ouest du Maroc (Chevalier, 1943).

Tableau 1. Classification botanique de l'arganier (Ehrig, 1974).

Nom	<i>Argania spinosa</i> L. (skeels)
Embranchement	Phanérogames
Sous-embranchement	Angiospermes
Classe	Dicotylédones
Sous-classe	Gamopétales
Ordre	Ebenales
Famille	Sapotacées
Genre	<i>Argania</i>
Espèce	<i>Spinosa</i>

I.3. Aires biogéographiques

L'arganier constitue une aire biogéographique providence ayant une impressionnante plasticité, il regroupe une mosaïque de paysages du littoral océanique, des plaines de la vallée du Souss et des montagnes de l'Anti-Atlas et du Haut-Atlas (Morton et Voss, 1987). Par ailleurs, il constitue un espace singulier et original avec un brassage des éléments floristiques méditerranéen, macaronésien, tropical et saharien (Msanda *et al.*, 2005). Au nord de la plaine du Souss, l'arganier escalade le versant sud du Haut-Atlas et il n'est limité vers le sud que par l'altitude car il ne dépasse guère 1500 à 1700 m. Cependant, cette répartition peut subir des écarts notables suivant l'exposition du versant et la forme du relief. En altitude, l'arganier forme des peuplements mélangés avec le thuya et très rarement avec le chêne-vert (20 à 21 millions d'arbres) (Emberger, 1925 ; Boudy, 1950). L'arganeraie borde l'océan atlantique sur la façade ouest reliant l'embouchure de l'oued Tensift au nord d'Essaouira. Elle continue jusqu'à la frange saharienne aux environs de l'oued Draâ au Sud. A l'Est, l'arganeraie rentre dans les terres jusqu'aux environs de la région d'Aoulouz, tout au long de la plaine du Souss (Emberger, 1925 ; Msanda *et al.*, 2005). Aujourd'hui, la concentration d'arganiers est située à 80% dans la région de Souss-Massa-Drâa (29 et 32° de latitude Nord) au sud-ouest du Maroc où elle couvre une superficie de 700.000 à 950.000 ha, soit environ 17% de la superficie des essences forestières naturelles marocaines (deuxième essence forestière du pays, après le chêne vert (*Quercus rotundifolia*) et juste avant le thuya de Berbérie (*Tetraclinis articulata*)) (figure 1). L'arganeraie couvre le territoire de plusieurs provinces à savoir : Taroudant : 360 000 ha, Tiznit : 140 000 ha, Essaouira : 130 000 ha, Chtouka-Aït Baha : 90 000 ha, Agadir : 37 000 ha et Inzeguane-Aït Melloul : 13 000 ha (M'hirit *et al.*, 1998 ; Lefhaili, 2010). Par ailleurs, on note

aussi l'existence de deux colonies isolées qui témoignent de l'extension de l'arganier dans le nord au tertiaire et au début du quaternaire, notamment sur le massif montagneux des Beni-Snassène du versant méditerranéen sur une superficie de 800 ha et à la haute vallée de l'Oued Grou près de Rommani sur environ 30 ha (figure 1) (Emberger, 1925 ; Boudy, 1950). L'arganeraie est très clairsemée en zone aride sur l'Anti-Atlas et notamment sur les versants sud donnant sur le Sahara. Ainsi, la densité des peuplements est très variable suivant la région. En effet, la densité d'arbres est d'environ 250 arbres par hectare à 150 km au nord d'Agadir dans l'Atlas et d'environ 40 arbres dans le désert bordant la région de Goulimine (Anti-Atlas) (Msanda *et al.*, 2005).



Figure 1. Répartition géographique des peuplements de l'arganier au Maroc (Msanda *et al.*, 2021).

I.4. Ecologie

L'arganeraie est un écosystème complexe d'une très grande originalité, qui évolue et se modifie naturellement. L'arganier est une espèce endémique marocaine d'une longévité de plus de 300 ans, qui occupe une place prépondérante et symbolise toute la richesse faunistique et floristique du grand sud-ouest marocain. L'écosystème de l'arganeraie abrite une multitude d'organismes vivants dans des milieux très diversifiés (sols, climats, eau) (Ehrig, 1974 ; El Aboudi, 1990 ; Msanda *et al.*, 2002 ; López Sáez et Alba Sánchez, 2009).

I.4.1. Exigences climatiques

L'arganier est une relique tropicale (le dernier survivant d'une famille subtropicale des Sapotacées), thermophile et xérophile qui suscite la curiosité écologique en occupant plusieurs étages bioclimatiques (figure 2). Les peuplements de l'arganier sont exceptionnellement adaptés au bioclimat aride chaud et tempéré (plus de 520.000 ha), le long du littoral entre Safi et Ifni et dans les plaines du Souss, au bioclimat semi-aride chaud et tempéré sur les flancs des parties occidentales du Haut Atlas et de l'Anti-Atlas et au bioclimat saharien plus au sud. L'arganier s'y maintient non seulement grâce à sa rusticité et à son adaptation aux changements climatiques, mais aussi grâce à sa grande variabilité génétique (Peltier, 1983). Les descripteurs climatiques qui jouent un rôle efficient sur la détermination de la limite méridionale de l'Arganier ainsi que sur son état de développement sont la pluviométrie, les températures et l'hygrométrie atmosphérique. En effet, l'arganier a une grande plasticité climatique, pouvant supporter les températures moyennes minimales et maximales respectivement de 3 °C et 50 °C, ce qui explique son absence dans le grand-Atlas (Bouzoubaâ et El Mousadik, 2003 ; Alados et El Aich, 2008 ; Díaz-Barradas *et al.*, 2010). Du point de vue écophysiologique, l'arganier possède un réseau de racines souterraines développé et des mécanismes qui ralentissent ou limitent la chute des feuilles, ce qui lui permet de résister à la sécheresse et tolérer le stress hydrique. Il se trouve dans des zones où la pluviométrie est très variable (annuellement et inter-annuellement), les précipitations annuelles sont comprises entre 250 et 400 mm (bioclimats semi-arides) le long du littoral de Safi à Agadir. De la plaine du Souss jusqu'à l'Anti-Atlas, les précipitations annuelles varient de 250 à 150 mm (bioclimats arides) et elles sont souvent largement inférieures à 100 mm (bioclimats saharien) dans les zones à caractère désertique au sud (Msanda *et al.*, 2005). En revanche, au-delà d'un certain seuil d'accroissement de l'aridité et d'élévation de la température, l'arganeraie pourrait subir de graves perturbations (Emberger, 1925 ; M'hirit *et al.*, 1998). De même, l'arganier a besoin d'un climat doux en général, à contraste thermique très atténué sur la façade atlantique (degré hygrométrique de l'air dépasse

fréquemment 90% pendant de nombreux mois de l'année, surtout en été et en automne), ce qui explique son absence à l'intérieur du continent. En effet, les forêts les plus denses et vastes (hauteur, densité et nombre d'arbres, vigueur et densité du feuillage et hauteur) sont présentes sur le littoral marocain et plus en s'éloigne de la mer, l'arganeraie régresse pour disparaître à partir de 150 Km de la mer (Kenny et Zborowski, 2007).

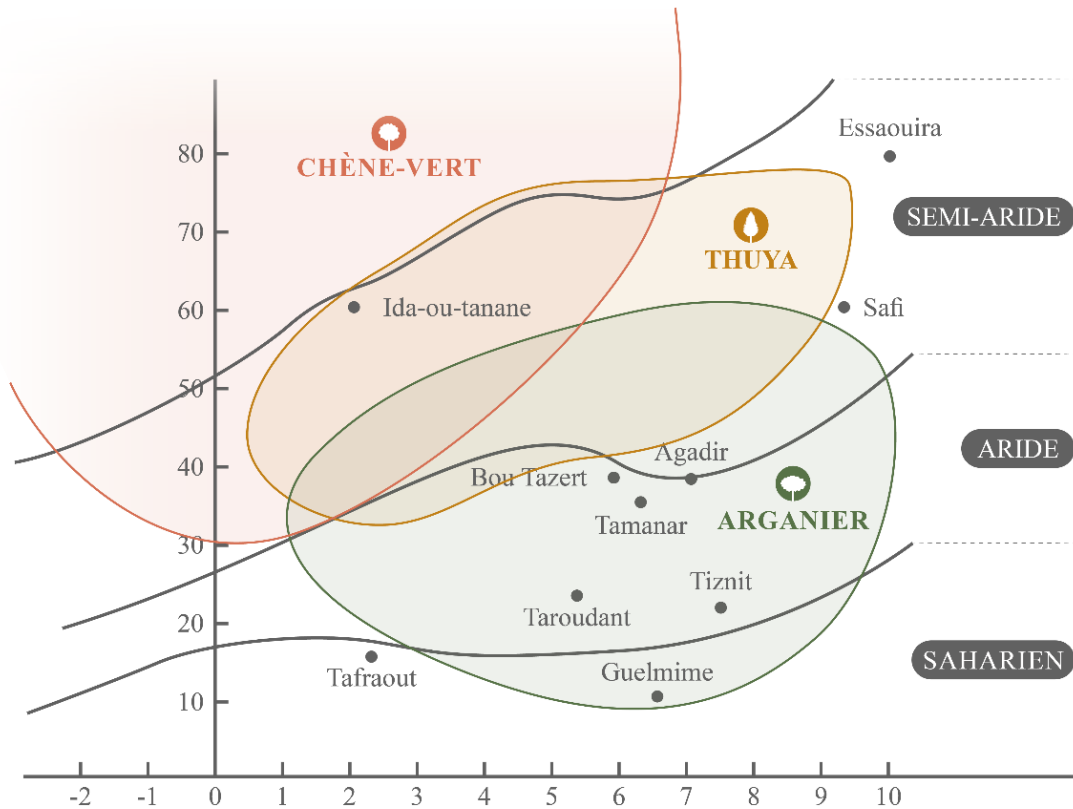


Figure 2. Différentes aires bioclimatiques de l'arganier (Mhirit et al., 1998).

I.4.2. Exigences édaphiques

L'arganier est une espèce vigoureuse, très robuste et rustique du sud-ouest marocain. Parfaitement adapté à son biotope, il s'accommode indifféremment à la nature lithologique et à la structure physico-chimique du sol ainsi qu'à la composition minérale des roches mères. En effet, l'arganier supporte des substrats et des sols variés, aussi bien compacts, perméables, argileux, calcaires, schisteux et les formations dunaires anciennes. Il supporte également une large gamme de pH allant de 4,6 à 7,5, tolère la salinité et n'a aucune exigence vis-à-vis de la texture du substrat car il se développe sur les substrats les plus variés à l'origine de nombreux types de sols (régosols, lithosols, vertisols, calcisols, ferralsols, etc) à l'exception des sables mouvants et des terrains régulièrement inondés ou trop gorgés d'eau (El Aboudi et al., 1992 ; Msanda, 1993 ; Msanda et al., 2007 ; Kirchhoff et al., 2021).

I.5. Morphologie et phénologie de l'arganier

L'arganier est un arbre très protéiforme ayant une physionomie rare qui peut revêtir plusieurs formes différentes. On distingue d'un côté les arbres inermes qui ne portent pratiquement pas d'épines avec une faible ramification (19%), et d'un autre côté, des arbres épineux avec quatre degrés de présence d'épines et de ramification : très épineux et très ramifiés (10%), épineux et ramifiés (17%), épineux et peu ramifiés (31%) et peu épineux, peu ramifiés (23%). La forme naturelle d'un arganier peut être modifiée sous l'effet de plusieurs facteurs comme l'âge de l'arbre, le climat et la pression anthropologique. Le caractère unique de l'arganier s'explique par le fait qu'il bénéficie d'une constitution particulière et d'un croisement génétique allogame entre les arbres. Ces éléments justifient ainsi sa résistance à un climat saharien connu pour sa grande aridité (Mhirit *et al.*, 1998).

I.5.1. Aspect et hauteur

L'arganier est un arbre de taille moyenne qui présente un port pleureur ou dressé selon son environnement. En effet, dans les sols fertiles et bien alimentés en eau, il offre une silhouette extrêmement robuste et une couronne dressée, largement déployée alors que dans les zones arides et désertiques, il présente une forme tordue et repliée sur elle-même. L'arganier est une essence ligneuse unique à croissance très lente (Morton et Voss, 1987). La hauteur de l'arganier peut atteindre habituellement 2 à 3 m, voire 3,5 m à 7 ans et plafonne à 6 ou 7 m à 30 ans dans des emplacements plus favorables. L'accroissement annuel moyen (aam) en hauteur est de 1 m durant la première année ; 0,5 m à 7 ans ; 0,3 m à vingt ans dans des parcelles encloses et bien surveillées (Boudy, 1950 ; M'hirit *et al.*, 1998).

I.5.2. Tronc

L'arganier a un tronc court, noueux et tortueux, souvent formé de plusieurs parties entrelacées avec une écorce rugueuse et crevassée. Il constitue un hérisson végétal dont le volume croît régulièrement, ce qui met les pousses centrales hors de la portée de la dent des animaux. Cependant, l'aspect tordu et noueux de cet arbre permet aux chèvres de l'escalader et de manger ses feuilles et ses fruits (M'hirit *et al.*, 1998). Le tronc de l'arganier a une couleur brunâtre au jeune âge et foncée grisâtre à l'âge adulte. Le bois de l'arganier est très lourd, dur, compact et résistant à la pourriture et à la détérioration. Il a une densité de 0,9 à 1 et une charge de rupture de 1250 et 1500 kg/cm². Le bois d'arganier est utilisé essentiellement comme bois de chauffage (Benzyane, 1989).

I.5.3. Branches et rameaux

L'arganier est une espèce aux rameaux très denses et épineux (*spinosa*), ce qui permet à l'arbre de se défendre naturellement contre le bétail. Les branches sont de couleur brunâtre au jeune âge (pousse de l'année) et grisâtre à un âge avancé (dès la deuxième année). Il porte des feuilles simples ou composées et des inflorescences en période favorable (figure 3). Les jeunes rameaux se développent sur les mêmes bourgeons qui donnent naissance aux feuilles et aux fleurs (Kenny et Zborowski, 2007). Les rameaux d'arganier peuvent manifester deux formes de croissance. D'un côté, on distingue une croissance à plagiotropisme positif, ce qui lui confère un aspect pleureur retombant, et d'un autre côté, on a une croissance à plagiotropisme négatif, ce qui lui confère un aspect frisé et dressé (Pumareda *et al.*, 2006 ; Zahidi *et al.*, 2013).

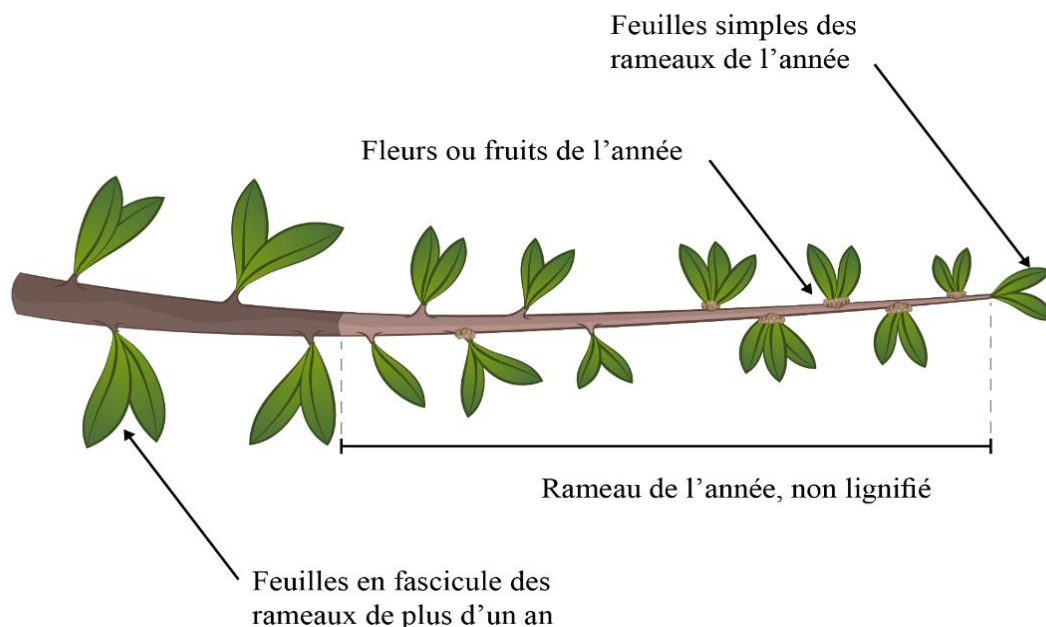


Figure 3. Différenciation morphologique des rameaux d'arganier (Pumareda *et al.*, 2006).

I.5.4. Feuilles et foliation

Les feuilles d'arganier sont simples ou groupées en rosette, coriaces de couleur vert-sombre à la face supérieure et claire en dessous et généralement longues de 2 à 3 cm. Elles sont alternes, dures, souvent fasciculées, lancéolées, ovales, parfois légèrement spatulées avec des pétioles pas très distincts, une nervure médiane très nette et des nervures latérales très fines et ramifiées (M'hirit *et al.*, 1998). Elles sont subpersistantes, mais elles peuvent chuter pour résister à l'évaporation en cas de sécheresse prolongée ou d'une vague de Chergui et/ou de Sirocco, vents chauds et secs venus du proche Sahara. L'arganier possède des mécanismes qui limitent ou ralentissent la chute du potentiel foliaire et relèvent de la stratégie d'évitement (Morton et Voss,

1987). La chute des feuilles (caducité) est partielle ou totale selon le degré de stress auquel est soumis l'arbre. En effet, lorsque le manque d'eau perdure sur une longue période, l'arbre perd son feuillage ce qui lui permet de subsister en ne consommant pas ou peu d'eau en attendant le retour des pluies. Ce phénomène qui peut durer parfois plusieurs années est possible grâce à la conservation d'eau réalisée par les cellules de ses branches et son tronc. Le débourrement des feuilles commence plusieurs semaines avant les pluies et aussitôt que la teneur hygrométrique de l'air devient suffisante pour déclencher les mécanismes internes de fabrication du parenchyme afin que dès l'intervention des premières pluies, tout l'appareil végétatif de l'arbre soit prêt à fonctionner (M'hirit *et al.*, 1998). Une coupe transversale de la feuille d'arganier montre un épiderme unisériel sans hypoderme. Le mésophylle a une structure équifaciale comportant un tissu palissadique à une (face abaxiale) ou deux (face adaxiale) assises de cellules allongées radialement. Le mésophylle referme les piliers de collenchyme situés de part et d'autre de la nervure centrale. Le pétiole se singularise par la présence de nombreux laticifères dans le parenchyme cortical. Les stomates sont généralement confinés à la face abaxiale de la feuille et sensiblement enfoncés dans l'épiderme, ce qui caractérise l'arganier comme une espèce hypostomatique. Le complexe stomatique (cellules de garde entourées de cellules épidermiques) est de type anomocytique ou ranunculacéen. Pour s'adapter au stress hydrique et aux conditions environnementales difficiles, l'arganier augmente la densité des stomates en réduisant leur largeur et leur longueur. En effet, le nombre de stomates par mm² varie de 50 à 312 pour les feuilles simples et de 62 à 294 pour les feuilles groupées (El Aboudi *et al.*, 1991 ; Bani-Aameur et Zahidi, 2005).

I.5.5. Racines et mycorhization

L'arganier possède un système racinaire extrêmement développé représentant 5 fois sa partie aérienne (tronc et branches). Il est d'une part doté de racines pivotantes et tournantes capables de d'atteindre plus de 20 mètres de profondeur pour puiser l'eau. Et d'autre part, il est doté de racines traçantes horizontales lorsque les roches dures s'opposent à son extension, ce qui lui permet de récupérer les faibles quantités d'eau condensées de la nuit tombant des feuilles (Kenny et Zborowski, 2007). En revanche, le système racinaire de l'arganier est magniloïde (dépourvu de poils absorbants). Il profite d'une association à bénéfices réciproques (une symbiose) avec des endomycorhizes (du grec myco ; champignon et rhiza ; racine) à vésicules et arbuscules pour pallier cette déficience (Nouaïm, 1994 ; Nouaïm et Chaussod, 1997). Cette association entre le réseau racinaire et les hyphes mycéliennes de leurs partenaires mycorhiziens a des bénéfices mutuels. En effet, la plante fournit aux champignons de l'énergie sous forme de

composés organiques (sucres) issus de la photosynthèse et, en retour, le champignon offre à la plante hôte son réseau étendu d'hyphes qui explore tout le sol et récupère les éléments minéraux présents en faible quantité (phosphore et azote notamment), ce qui permet une longue coévolution entre les deux espèces (Bousselmane *et al.*, 2002 ; Ganoudi *et al.*, 2021). Par ailleurs, cette symbiose mycorhizienne contribue à la résistance des plantes au stress hydrique, indirectement à travers une amélioration de l'efficacité de la nutrition minérale et directement à travers la modification des équilibres hormonaux ou l'augmentation de la surface de contact avec le sol pour en récupérer l'eau et son transport par les hyphes extraracinaires (Nouaïm et Chaussod, 2007). Dans les sols des arganeraies, plusieurs dizaines d'espèces différentes de champignons endomycorhiziens ont été recensées dont *Glomus* (*Glomus aggregatum*, *Glomus ampisporum*, *Glomus constrictum*, *Glomus deserticola*, *Glomus etunicatum*, *Glomus intraradices*, *Glomus macrocarpum*), *Gigaspora* (*Gigaspora margarita*), *Scutellospora* (*Scutellospora pellucida*, *Scutellospora biornata*), *Acaulospora* (*Acaulospora denticulata*, *Acaulospora reducta*), et *Entrophospora* (*Entrophospora infrequens*, *Entrophospora nevadensis*) (Sellal *et al.*, 2017). Le genre *Glomus* est le plus prépondérant dans les sols désertiques soumis à la sécheresse, parce qu'il contient des souches adaptées aux fluctuations environnementales (El Maati *et al.*, 2015).

I.5.6. Fleurs et floraison

L'arganier est une espèce monoïque : les fleurs mâles et femelles sont portées par le même arbre. Les fleurs de l'arganier sont jaunâtres, hermaphrodites et protogynes (c'est-à-dire que les stigmates mûrissent avant que les anthères de la même fleur ne s'épanouissent pour libérer le pollen). Cependant, d'autres recherches ont montré que la maturation des grains de pollen a lieu bien avant l'épanouissement des stigmates (protandrie), ce qui rend la fécondation allogame (par pollinisation croisée). La pollinisation est anémophile ou anémogamie (les gamètes mâles et femelles sont transportés par le vent) à 80% et entomophile ou entomogamie (insectes participent au transport du pollen) à 20%. Les fleurs sont axillaires, pentamères et gamopétales (5 pétales obtus, arrondis et blancs), couvrant entièrement l'arbre d'un voile jaune verdâtre après vingt jours durant le pic de la floraison. Les fleurs de l'arganier se caractérisent par trois phases phénologiques à savoir : les boutons floraux (BF de 1 à 2 mm), les boutons floraux avec styles apparents (BFS de 2-3,15 mm) et les fleurs ouvertes et épanouies (FE de 2-3,15 mm). Une période de 13 jours est suffisante pour la transformation du bouton floral en fleur épanouie, une fois épanouie, la durée de réceptivité de la fleur n'est que de 4 jours (Benlahbil et Bani-Aameur, 2002). L'ovaire pubescent et supère est surmonté d'un style court et conique, égalant

ou dépassant les étamines à filets courts avec une grosse anthère mucronée ou obtuse (M'hirit *et al.*, 1998). Les inflorescences se présentent en glomérules (15 fleurs et plus) localisés à l'aisselle des feuilles et au niveau des entrenœuds (Bani-Aameur, 2000). La floraison de l'arganier est de type remontant, car l'arbre fleurit régulièrement et abondamment pendant toute l'année si les conditions climatiques sont favorables (20 °C). Elle a lieu généralement en automne ou au printemps, ce qui provoque un échelonnement de la maturation des fruits sur une longue période de l'année (figure 5) (Benlahbil et Bani-Aameur, 2002). Selon la période de floraison, on distingue trois types d'arganiers : les arganiers précoces (octobre - décembre), les arganiers tardifs (février-mars) et les arganiers intermédiaires qui fleurissent durant toute la période humide entre l'automne et le printemps (Bani-Aameur, 2002).

I.5.7. Fruits et fructification

Le fruit d'arganier, appelé « noix d'argane » ou « affiache » est très particulier. C'est une baie sessile (fausse drupe avec faux noyau), de couleur verdâtre avant maturation, vert-jaunâtre clair ou jaune-brunâtre à maturité et évolue vers le brun-foncé au cours de sa dessiccation après la chute de l'arbre (figure 4) (Nouaïm *et al.*, 1991). La taille du fruit est de forme très variable (ovale, ovale-apiculée, goutte, arrondie, sphérique et fusiforme) contenant une noix coriace à tégument très dur et épais (endocarpe) abritant deux ou trois « amandons oléagineux » séparés par des cartilages ligneux, une chair ou pulpe (mésocarpe) charnue et un épicarpe. La longueur moyenne du fruit est d'environ 30 mm et son poids moyen peut aller de 5 à 20 g dont la chair ou la pulpe représente 55 à 75% du poids frais. La caractéristique essentielle de la pulpe est la présence de nombreux canaux laticifères contenant un latex guttoïde collant (Rammal *et al.*, 2009). Par ailleurs, la nouaison peut être groupée ou plus ou moins étalée, la longueur du cycle de maturation varie entre 9 et 16 mois et la production en fruits est irrégulière. En effet, il y a

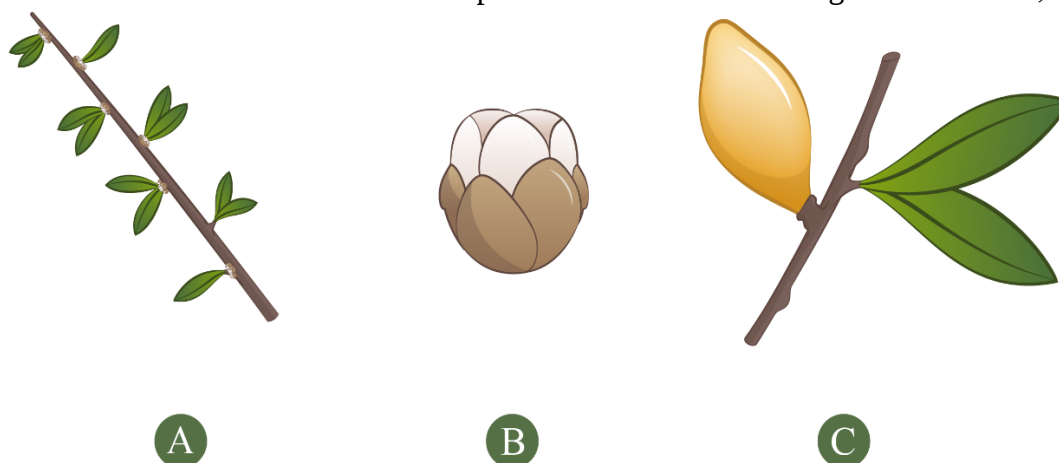


Figure 4. Caractères botaniques de l'arganier. A : Branche avec inflorescences ; B : Fleur de l'arganier au stade bouton floral (BF) ; C : Rameau avec fruit (M'hirit *et al.*, 1998).

trois types d'arbres en fonction de la fructification à savoir : les arganiers précoces produisant des fruits noués une fois par cycle en Mars, des arganiers tardifs produisant des fruits noués une fois par cycle en Juin et des arganiers produisant des fruits précoces et des fruits tardifs sur le même pied. Ainsi, la fructification échelonnée sur toute l'année, permet une excellente adaptation de l'arganier aux fluctuations climatiques qui caractérisent les zones semi-arides et arides (Mhirit *et al.*, 1998 ; Bani-Aameur *et al.*, 1998).

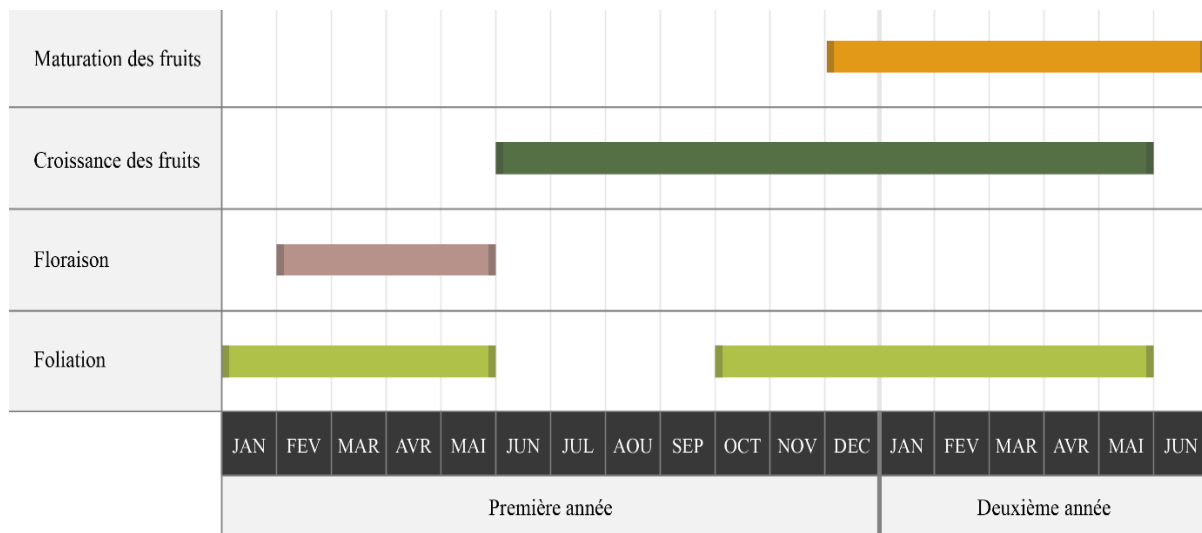


Figure 5. Cycle phénologique de l'arganier (Mhirit *et al.*, 1998).

I.6. Importance et rôles de l'arganier

L'arganier est indiscutablement l'essence d'agroforesterie la plus remarquable d'Afrique du nord. C'est un arbre très précieux qui joue un rôle incontournable et inégalé dans la vie culturelle, socio-économique et écologique des habitants riverains du grand Sud-Ouest marocain, tant par son usage forestier (bois de chauffage) et fruitier (huile d'argan) que fourrager (feuilles, pulpe et tourteau) (Nouaïm *et al.*, 1991).

I.6.1. Rôles environnementaux

L'arganeraie est un écosystème particulier disposant d'une biodiversité faunistique et floristique spécifique et originale dont l'élément central est l'arbre d'arganier. La biodiversité de la biocénose de l'arganeraie tient son originalité de la présence de lignées méso-mégathermes, d'espèces de souche tropicale et d'endémiques. Le recensement des biocénoses a fait l'objet de plusieurs études et publications ces dernières années. C'est un aspect nécessaire pour atténuer l'aggravation des impacts liés à l'utilisation du milieu végétal par l'homme et ses troupeaux et d'assurer une conservation rationnelle de cette végétation (Msanda *et al.*, 2005).

a) Aptitude de résistance aux changements climatiques

L'arganier a toujours résisté aux dérèglements climatiques depuis les glaciations de l'ère tertiaire jusqu'à l'époque actuelle. C'est une espèce parfaitement adaptée aux conditions climatiques extrêmes, marqués par l'aridité et l'irrégularité des précipitations. En effet, grâce à sa rusticité et sa grande variabilité génétique, il est qualifié comme thermophile, adapté aux fortes températures et xérophile, supportant la sécheresse qui menace très sérieusement le sud marocain. L'aire géographique de l'arganier jouit d'une importante nébulosité estivale accompagnée d'une fraîcheur relative et d'une très forte humidité relative que l'arganier piège et restitue au sol (Bouzoubaâ et El Mousadik, 2003 ; Msanda *et al.*, 2005). Ainsi, pour renforcer la résistance de l'arganeraie aux changements climatiques, l'agence de Développement des zones Oasiennes et de l'arganier (ANDZOA) et le Fonds vert pour le climat (GCF) ont lancé en 2018 le projet de mise en place de l'arganiculture en environnement dégradé « DARED » qui vise la promotion de l'agriculture dans les zones vulnérables et la collecte des eaux en vue de renforcer le développement durable, ainsi que la préservation de la réserve de biosphère d'arganeraie (RBA), qui couvre une superficie d'environ 2,5 millions d'hectares (Moukrim *et al.*, 2018).

b) Fonction édaphique

Dans le sud-ouest marocain, l'écosystème arganier couvre du point de vue géomorphologique différents types de reliefs (les versants du Haut-Atlas, les massifs de l'Anti-Atlas et la plaine du Souss) et représente un véritable rempart vert contre la désertification des zones pré-sahariennes de la plaine du Souss. L'arganier est une espèce végétale endémique du sud-ouest marocain, parfaitement adaptée aux zones arides et semi-arides et pratiquement irremplaçable pour la conservation des sols et la lutte contre l'érosion et la désertification (M'hirit *et al.*, 1998). En effet, grâce à son système racinaire profond, cet arbre participe à la fixation des sols et les protège contre l'érosion éolienne et pluviale (ruissellement) favorisant ainsi le maintien de l'humidité dans la rhizosphère et l'alimentation en eau des nappes phréatiques, notamment au niveau de la région Souss-Massa caractérisée par un stress hydrique alarmant (Nouaïm, 1994). Par ailleurs, les pieds d'arganier favorisent l'ombrage de zones immenses, enrichissent le sol en matières organiques issues de ses feuilles mortes et permettent le développement d'une diversité d'espèces végétales, d'une faune et d'une flore microbiologiques essentielles à la fertilité du sol. L'arganier récupère également l'eau grâce à la présence de champignons microscopiques endomycorhiziens capables de se développer à la fois dans les racines et dans le sol (Bani-Aameur, 2004).

I.6.2. Rôles organisationnels

L'arganier est un arbre providentiel très présent dans le paysage institutionnel et organisationnel sylvicole et rural du sud-ouest marocain. D'après le Haut-Commissariat aux Eaux et Forêts et à la Lutte Contre la Désertification, l'arganier est une espèce très précieuse qui joue un rôle inégalé dans la gouvernance territoriale et le développement inclusif et durable du sud-ouest marocain (M'hirit *et al.*, 1998). La filière d'argane est organisée sous l'égide de la Fédération Interprofessionnelle de la filière d'argane « FIFARGANE », composée de la Fédération Nationale des Associations Provinciales des ayants droit Producteurs et Usagers de l'arganeraie (FNADUA) et la Fédération Marocaine des Transformateurs, Exportateurs et Commerçants d'huile d'Argane (FMTEC) (Ansart *et al.*, 2016). Selon l'Office du Développement de Coopération (ODECO), la filière s'est structurée à travers la création de coopératives féminines spécialisées dans la production d'huile d'argan, dont le nombre s'est multiplié au fil des ans. En effet, le nombre de coopératives féminines est passé de quelques-unes au début des années quatre-vingt-dix à plus de 400 aujourd'hui, regroupant plus de 7000 membres, soit plus de 2% du tissu coopératif national. Cependant, ces coopératives de production d'huile d'argan, sont marquées par une mauvaise gestion et se voient fortement concurrencées sur l'approvisionnement en matière première par des opérateurs industriels privés opérant dans la commercialisation des produits cosmétiques à haute valeur ajoutée (Charrouf et Guillaume, 2009 ; Romagny *et al.*, 2016). A cet égard, dans le cadre du Plan Maroc Vert (PMV), le Pilier II a prévu le développement d'outils d'agrégation sociale qui s'articule sur un modèle d'organisation de l'agriculture solidaire à travers le soutien spécifique des partenariats gagnant-gagnant entre les coopératives et le secteur privé ou bien entre coopératives. C'est ce qui a poussé certaines d'entre elles à s'organiser au sein d'unions ou d'associations de coopératives féminines de production d'argane (UCFA) ou à se rassembler à travers un groupement d'intérêt économique (GIE) pour être plus compétitives. L'appui de l'Etat dans le processus d'agrégation est considérable. En effet, le département de l'agriculture (MAPMDREF) représenté par l'Agence de Développement Agricole (ADA) en partenariat avec l'Office du Développement de Coopération (ODCO) intervient en équipant les groupements d'intérêt économique (GIE) ou unions de coopératives de matériels appropriés à travers le Fond de Développement Agricole (FDA) (Bellefontaine *et al.*, 2012). Par ailleurs, la création des coopératives et l'augmentation du revenu ont permis aux femmes de prendre conscience de leurs droits, de scolariser leurs enfants, d'améliorer leur statut social, de s'habiller correctement et de se soigner. Ainsi, grâce aux programmes d'alphabétisation et d'éducation, les femmes ont pris conscience de l'intérêt de savoir lire et écrire dans l'amélioration de la gestion des coopératives (Faouzi, 2012).

I.6.3. Rôles économiques

L'écosystème de l'arganier et ses ressources naturelles représentent un pilier incontournable de l'économie locale de la région du sud-ouest marocain grâce à ses usages multiples et diversifiés (emploi, productions, exportations, etc.), ce qui génère un chiffre d'affaires total national de 1.139 millions de dirhams, 11 millions de journées de travail par an, 12.000 emplois et une valeur d'exportation de 273 millions de dirhams (augmentation significative de +35.4% depuis le lancement du PMV) et assure la subsistance de millions de personnes vivant dans des zones difficiles et parfois isolées (Turner, 2021). L'arganier est une sorte d'arbre de vie qui influence fortement la vie quotidienne de ces populations autochtones (Nouaïm *et al.*, 1991). C'est un pivot d'un système agraire de type agro-sylvo-pastoral basé en grande partie sur la complémentarité entre l'élevage pastoral de caprin et camelin, la céréaliculture ainsi que la production et la commercialisation d'huile d'argan et ses dérivés (Bourbouze et El Aïch, 2005 ; Chaussod *et al.*, 2005).

a) Usages énergétiques, artisanaux et architecturaux

L'arganier fournit un bois extrêmement dur, appelé bois de fer, utilisé comme bois d'œuvre (charpentes) ou pour la fabrication d'ustensiles de cuisine et d'outils agricoles (araires...) (Bourbouze et El Aïch, 2005). L'arganier est considéré également comme combustible, sous forme de bois de chauffage pour les populations locales surtout celles des zones montagneuses. En effet, le charbon de bois d'arganier est très réputé car plus un bois est dur, plus il va être un bois de chauffage performant car il mettra plus de temps à brûler, va se consumer lentement et va libérer de l'énergie. C'est ainsi que les populations du sud-ouest marocain exploitent, depuis longtemps, les qualités énergétiques de l'arganier avec une production annuelle estimée à 400 000 stères (100.000 m³) de bois et 80.000 tonnes de coques combustibles, soit 13% de la production nationale de combustible (Ehrig, 1974).

b) Usages fourragers et pastoraux

Les feuilles d'arganier et les fruits (en particulier la pulpe) sont traditionnellement utilisés dans la culture amazighe comme fourrage des caprins et camélins (chèvres, chameaux, dromadaires). En effet, l'arganeraie est un écosystème sylvo-pastoral original, longtemps voué au pâturage de type extensif. L'arganier est également surnommé « l'arbre à chèvres » car ces dernières escaladent avec aisance les branches d'arbres et raffolent de ses fruits. Par ailleurs, le tourteau « Zegmouna », résidu d'extraction d'huile, est réservé à l'engraissement des moutons et des bovins. Il est le plus souvent mélangé avec de la paille et/ou des céréales pour équilibrer

la ration alimentaire. L'analyse des activités sylvo-pastorales associées à l'arganeraie montre que la production fourragère de l'arganeraie est estimée à 200 unités fourragères (UF)/ha/an, totalisant 174 millions UF/an. Cette production contribue à hauteur de 38% aux besoins du cheptel de l'arganeraie (450 millions d'UF) estimé à 2 millions de têtes, dominé par l'élevage caprin qui représente 66% du cheptel des ruminants de la région (Bourbouze et El Aïch, 2005).

c) Usages d'huile d'argan

Les amandons sont albuminées et gorgées d'huile comestible appelée huile d'argan (Morton et Voss, 1987 ; M'hirit *et al.*, 1998). Cette huile est le principal intérêt de l'arganeraie. Dans les années 1990, avec les diverses découvertes de ses vertus culinaires, cosmétiques et médicinales, cette huile très prisée a connu un regain d'intérêt et une ascension commerciale fulgurante (Chaussod *et al.*, 2005 ; Charrouf et Guillaume, 2008). En deux jours de travail, une femme peut produire 1 litre d'huile d'argan, soit un rendement d'extraction d'environ 1% par rapport aux fruits, de 3% par rapport aux noix sèches et 30% par rapport aux amandons. En effet, la production potentielle de l'arganeraie est estimée à 32 000 tonnes d'huile d'argan par an sur la base d'une densité moyenne d'environ 50 arbres par hectare des peuplements d'arganier (Charrouf et Guillaume, 2008). La valeur économique de l'arganier repose sur l'huile argane. Noble et naturelle, cette huile est réputée par de nombreux usages et nombreuses propriétés alimentaires, cosmétiques et pharmaceutiques (Charrouf et Guillaume, 2008).

- Usages alimentaires

L'huile d'argan est une huile alimentaire produite par pressage à froid des amandons préalablement torréfiés à feu doux, dans des récipients en terre, selon un protocole rigoureux dont le savoir-faire ancestral est réservé aux femmes amazighes du sud-ouest marocain. Cette torréfaction donne à l'huile un parfum légèrement grillé, une couleur de miel et un arrière-goût particulier de noisettes, d'amandes et de graines de sésame grillées (Charrouf et Guillaume, 2008). Les populations amazighes de l'Atlas consomment l'huile d'argan quasi quotidiennement et l'utilisent pour ses vertus culinaires. Elle est aussi appréciée pour sa capacité à relever le goût, faire ressortir les arômes des épices et à parfumer les différentes préparations culinaires. Par ailleurs, l'huile d'argan alimentaire est un coupe-faim qui aide à combattre l'obésité. En effet, la consommation régulière d'huile d'argan au petit déjeuner ou en collation permet d'augmenter la concentration de pepsine dans le suc digestif, de faciliter la digestion et d'améliorer le fonctionnement du foie. L'huile d'argan est riche en acide gras essentiels (acide oléique (oméga-9), acide linoléique (oméga-6)) qui ne peuvent pas être

synthétisés par l'organisme (Moukal, 2004 ; Adlouni, 2010). L'huile d'argan contient un rapport des acides gras insaturés (acide oléique, acide linoléique, acide linolénique...) aux acides gras saturés (acide palmitique, acide stéarique...) d'environ 4/5. Les acides gras polyinsaturés constituent environ 80% d'huile d'argan, dont 45% d'acide oléique (Oméga-9), 35% d'acide linoléique (Oméga-6) (Adlouni *et al.*, 2008). Toutefois, la présence de ces acides gras essentiels est complétée par un apport d'acides gras linolénique (omega-3) pour conforter la valeur nutritionnelle d'huile d'argan (Charrouf et Guillaume, 2008).

- Usages cosmétiques

L'huile d'argan est adoptée depuis toujours par les femmes amazighes du sud marocain pour les soins corporels visant à contrer les méfaits de l'âge et du climat. L'huile d'argan à usage cosmétique est de couleur jaune clair et présente une odeur très légère de noisette (Guillaume et Charrouf, 2011). Les amandons destinés à l'huile d'argan cosmétique ne doivent pas avoir été ingérés ni régurgités par les chèvres et ne doivent pas être torréfiés pour garder les excellentes caractéristiques de cette huile (Chaussod *et al.*, 2005). L'huile d'argan n'est pas grasse, n'obstrue pas les pores et s'absorbe rapidement par la peau grâce à sa richesse en tocophérols, stérols, hydrocarbures (squalène...), triterpènes, alcools gras (cires) et pigments liposolubles, etc. Par ailleurs, elle est considérée comme un moyen efficace pour corriger les troubles cutanés, diminuer les pertes transépidermiques d'eau et améliorer l'état de l'épiderme par une activité palliative de dessèchement de la peau, grâce à l'acide linoléique. Par ailleurs, elle a un effet favorable sur l'élasticité et le tonus de la peau grâce à la fraction insaponifiable qui a des propriétés particulièrement intéressantes sur l'amélioration du métabolisme des fibroblastes. Ces deux effets complémentaires favoriseraient l'action contre le dessèchement cutané et le vieillissement physiologique de la peau, en agissant chimiquement sur la kératine de la peau, ce qui redonne à la peau son éclat de jeunesse (Charrouf et Guillaume, 2008). Dans la pharmacopée marocaine traditionnelle, on la recommande contre l'acné juvénile et la cicatrisation des brûlures (Moukal, 2004). De nombreuses études ont montré la capacité d'huile d'argan à fortifier les cheveux ternes et cassants et à empêcher leur chute. Cette huile est une véritable merveille pour réparer les pointes fourchues, dompter les cheveux crépus et rendre les cheveux plus faciles à coiffer, ainsi qu'elle apporte un éclat sain et attrayant tout en leur redonnant leur douceur naturelle et soyeuse. En plus des cheveux, l'huile d'argan nourrit, et revitalise le cuir chevelu en très peu d'applications. Cet « or liquide » aide à combattre les pellicules et protège les racines des cheveux (Charrouf et Guillaume, 2008). L'huile d'argan est recommandée pour nourrir, fortifier et protéger les ongles mous, cassants, abîmés, striés et

dédoublés contre les agressions extérieures en assainissant la flore fongique. Elle est également utilisée comme huile solaire pour le bronzage et la protection des rayons UV par les pêcheurs et les estivants de la région grâce à sa richesse en huiles essentielles, en vitamine E et en polyphénols (Moukal, 2004).

- Usages thérapeutiques

L'huile d'argan est particulièrement bien indiquée depuis des siècles en médecine traditionnelle, notamment par les femmes amazighes du sud-ouest marocain, en raison de ses diverses propriétés thérapeutiques (Charrouf et Guillaume, 2008). En effet, plusieurs composés biochimiques possèdent des propriétés biologiques qui peuvent justifier leur utilisation pharmaceutique comme remède naturel. Cependant, l'huile d'argan est rarement utilisée seule à des fins thérapeutiques, elle est toujours associée à d'autres ingrédients et plantes (Moukal, 2004 ; Khallouki *et al.*, 2005 ; Monfalouti *et al.*, 2010). Cette huile est préconisée dans le traitement de différentes maladies comme la prévention des maladies cardiovasculaires, l'inhibition de la prolifération des cellules cancéreuses, le soulagement de l'arthrose, la réduction de l'hypercholestérolémie, l'atténuation des démangeaisons et des lésions d'eczéma et du psoriasis, etc. (Charrouf et Guillaume, 2010).

I.6.4. Rôles socio-culturels

a) Intérêts sociaux

L'écosystème arganier présente un caractère fortement social, précisément familial pour les populations rurales riveraines du sud-ouest marocain et contribue profondément dans leur subsistance par le biais de ses produits. Depuis 1994, le développement du mouvement associatif a permis la stabilisation de la population locale durant des générations. Tous les aspects relatifs à l'exploitation de l'arganier dont la plantation des arbres, l'extraction d'huile et la préparation de produits dérivés constitue une activité génératrice de revenus et a toujours eu une fonction de développement humain en contribuant à la cohésion sociale, l'entente entre les individus et le respect mutuel entre les différentes communautés (M'hirit *et al.*, 1998). L'écosystème de l'arganeraie assure durablement la subsistance des populations locales. En effet, la forêt d'arganier est une source d'autonomie financière de quelques 3 millions de personnes dont 2.2 millions en milieu rural. Aujourd'hui, les activités de productions de l'arganeraie (extraction d'huile, travaux agraires, charbonnage de l'arbre, etc.) fournissent une dizaine de millions de journées de travail familial par an dont 7.560.000 journées de travail familial essentiellement féminines et ce, pour seulement le dernier maillon de la chaîne à savoir

l'extraction d'huile d'argan. Ainsi, le revenu familial a connu un essor considérable dans l'aire de l'arganeraie, participant à hauteur de 25 à 45% selon les zones et variant de 9 000 à 15 000 DH/an/ménage (M'hirit *et al.*, 1998 ; De Waroux, 2013b).

b) Intérêts culturels et touristiques

L'arbre d'arganier est un symbole de la civilisation marocaine et principalement amazighe du sud-ouest marocain. L'arganeraie est le berceau de traditions culturelles amazighes. Cette espèce mythique et sanctuaire est considérée comme un « don de Dieu » cependant, il symbolise aussi parfois un « satan », en tant que source de conflits d'usages. Ainsi, l'huile d'argan s'offre en cadeau de mariage et s'utilise fréquemment pour la préparation de plats de cérémonies (Nouaïm, 2005). Par ailleurs, la réserve de biosphère de l'arganeraie (RBA) a contribué à la promotion de l'écotourisme rural. En effet, la RBA regorge de potentialités touristiques, naturelles, humaines et culturelles. Le patrimoine naturel et les multiples activités socio-culturelles des riverains du sud-ouest marocain attirent un nombre considérable de visites touristiques annuellement (Aboutayeb, 2014).

I.7. Dégradation de l'arganeraie

L'arganier (*Argania spinosa* L. skeels) est une essence endémique du sud-ouest marocain. C'est un patrimoine universel ayant une très grande longévité (125 à 150 ans). Cette essence a dû vraisemblablement occuper durant l'ère tertiaire, période du soulèvement de l'Atlas, une aire plus étendue que celle qu'elle occupe actuellement (Emberger, 1925). En effet, l'évolution du climat vers une tendance chaude et tempérée aurait alors permis à l'arganier de se développer sur de vastes étendues du Maroc (2 128 000 ha) et notamment, à moindre mesure, d'Algérie et des îles Canaries (Boudy, 1950). Ces immenses étendues ont connu des vagues de déforestation successives au cours des années. Le premier recul de l'arganeraie remonte au quaternaire qui a été marqué par des glaciations sous forme de forte pluviosité et par la formation de glaciers en hautes montagnes. Cela expliquerait l'existence actuelle de quelques colonies dans la vallée d'Oued Grou, et près de la côte méditerranéenne dans les montagnes de Béni-Snassen. Une deuxième vague de dégradation a été causée par une sécheresse prononcée qui a frappé le sud-ouest marocain entre 1976 et 1982 et qui a décimé des milliers d'arganiers dans l'Anti-Atlas. Cette sécheresse a également accentué la pression du surpâturage dans l'arganeraie (M'hirit *et al.*, 1998). Les empires coloniaux espagnol et portugais sont responsables de la première régression d'origine anthropique. Ces derniers ont installé la culture de la canne à sucre sur des milliers d'hectares au détriment de l'arganier dans plusieurs localités du sud-ouest marocain

durant le XVe siècle (Kenny et Zborowski, 2007). Au début du XXe siècle, la dégradation de l'arganeraie s'est intensifiée avec l'arrivée des colons français qui ont introduit la céréaliculture et l'arboriculture, en particulier l'olivier au détriment de l'arganier. Les coupes anarchiques s'amplifièrent avec l'avènement de la seconde guerre mondiale (1939-1945). Une grande superficie a été défrichée (40.000 ha) pendant cette époque pour subvenir aux besoins en bois de chauffage des grandes villes marocaines et même certaines villes espagnoles et françaises. La production avait atteint 70.000 quintaux de charbon (1919- 1924) (Boudy, 1950 ; M'hirit *et al.*, 1998). Après l'indépendance, l'introduction massive des cultures maraichères et des agrumes a accentué le défrichement de la forêt d'arganier et surtout au début des années 1980 avec l'introduction des premières serres dans la région de Souss-Massa (Bellefontaine *et al.*, 2012). En plus de ces vagues de déforestation massive qui ont principalement touché l'arganier de la plaine, représentant environ 10 à 15 % de la superficie totale couverte par l'arganier, le reste correspondant à l'arganeraie de montagne qui ont été sujets à une pression continue et à l'endommagement par la population riveraine et les spéculateurs qui pratiquent une économie de rente basée sur la gratuité de la ressource due au surpâturage causé par les troupeaux caprins et camelins transhumants (M'Hirit *et al.*, 1998 ; Kenny et Zborowski, 2007). De nos jours, l'état des arganeraies du sud-ouest du Maroc est loin d'être parfait, sa situation est alarmante et connaît différentes formes de dégradation. En effet, les peuplements naturels et la biodiversité de la région sont en constante diminution sous l'effet combiné de la pression anthropique (l'accroissement et la pression démographique, l'exode rural accentué, l'urbanisation, le déboisement clandestin, la serriculture) et les conditions climatiques extrêmes (sécheresse, désertification) (Msanda *et al.*, 2005 ; Lybbert *et al.*, 2011). Par conséquent, l'arganeraie de la plaine régresse non seulement en termes de superficies mais surtout en densité, la densité moyenne des peuplements naturels de l'arganier est passée de 100 cépées/ha à moins de 30 cépées/ha, tandis que la superficie régressait en moyenne de 600 ha/an en moins d'un demi-siècle. Cependant, la dégradation d'arganeraie de montagne se fait à un rythme très modéré vu l'attachement des populations riveraines à ces écosystèmes (De Waroux, 2013a). Cette dégradation des forêts d'arganier affecte non seulement les arganiers mais aussi tout l'écosystème avec des conséquences sur les sols, les réserves d'eau, la faune et la flore sauvages (Benabid, 2000 ; De Waroux et Lambin, 2012).

I.8. Conservation des ressources génétiques et restauration de l'arganeraie

Depuis des décennies, les ressources sylvopastorales collectives de l'arganeraie dans le sud-ouest marocain sont soumises à une régression continue due à une forte pression anthropique

et une surexploitation qui placent les ressources naturelles de ce patrimoine mondial au cœur des préoccupations environnementales et du développement socio-économique. Ceci a donc incité les populations riveraines à mettre en place des formes de contrôle coutumières des espaces forestiers et pastoraux (Faouzi, 2013). Ces systèmes se perpétuent dans le Haut-Atlas marocain sous le nom d'Agdal du forestier, terme qui désigne un territoire sylvopastoral collectif soumis à des mises en défens temporaires (clôture des champs pour empêcher l'égarage des animaux). Ce système traditionnel de gestion communautaire des écosystèmes forestiers, trouve aujourd'hui un nouveau succès avec l'émergence du concept de développement durable (Auclair *et al.*, 2010). Durant les dernières années, l'engouement pour l'huile d'argan réputée et appréciée aussi bien au niveau national qu'à l'étranger a provoqué une augmentation considérable de la demande. Cependant, les activités de recherche et le développement de la filière restent encore préliminaires pour assurer une production massive de plants vigoureux d'arganier et compenser la dégradation de l'écosystème forestier (Bani-Aameur, 2000). De ce fait, il devient indispensable de conserver la biosphère de l'arganeraie et préserver sa biodiversité génétique à travers le reboisement des zones dégradées. Les techniques de semis en pépinière et de plantation ont été quelque peu améliorées cependant, de sérieuses lacunes persistent. En effet, après quelques mois d'élevage, les plants présentent trop souvent un chignon racinaire (enchevêtrement) qui condamne leur croissance et développement à plus ou moins longue échéance (Nouaïm, 2005). Ainsi, la régénération de l'arganeraie par des plants issus du semis se fait à une cadence trop lente et nécessite un sol approprié et la présence de conditions climatiques favorables (Nouaïm *et al.*, 2002).

I.9. Domestication, amélioration variétale et multiplication végétative de l'arganier

L'arganier est encore considéré en termes de génétique comme une essence forestière sauvage, poussant naturellement en forêt claire, et la culture d'arganier sous forme de verger moderne n'est pas encore adoptée par les populations riveraines du sud-ouest marocain (Bani-Aameur, 2004). Il est donc grand temps de prendre conscience que le changement de mentalité des populations est la seule possibilité d'inverser la tendance destructrice actuelle (Bellefontaine, 2010). Au fil du temps, la domestication de l'arganier a été pratiquée involontairement à travers le semis naturel ou artificiel des clones performants dans les champs ou à proximité des villages. Cette sélection peut être considérée comme l'amorce d'une domestication. En effet, la domestication de l'arganier permettra non seulement de sauvegarder l'arganeraie d'un point de vue écologique, mais aussi d'utiliser l'arganier en tant qu'arbre fruitier oléagineux pour la production d'huile d'argan vierge dans des vergers modernes (propagation, plantation,

itinéraire technique) (Nouaïm *et al.*, 2007). L'arganiculture permettrait de produire l'huile d'argan en quantité suffisante et de protéger le paysage naturel de l'arganier, d'augmenter les revenus des femmes rurales et indirectement d'assurer l'emploi pour les jeunes de la région (Lybbert *et al.*, 2002). En plus de la domestication, la sélection et l'amélioration des arganiers permettront de créer des variétés performantes mieux adaptées aux conditions du milieu et aux besoins des populations. Au fil des siècles, les générations d'agriculteurs du sud-ouest marocain vivant dans l'arganeraie ont exercé une certaine forme de sélection. En effet, plusieurs caractères ont été remarqués par les femmes qui récoltent traditionnellement les fruits dont la facilité de concassage des coques, la précocité à fournir des fruits en tout début de saison, le calibre des fruits, la qualité fourragère de la chair des fruits et la spinescence (absence des épines) des clones d'arganiers. De nos jours, les semis issus des fruits récoltés sur les têtes de spécimens sélectionnés permettent d'estimer l'héritabilité des caractères les plus prisés chez l'arganier et de réaliser des vergers à graines performants pour l'arganiculture fruitière (Bellefontaine, 2010). Bien que l'amélioration génétique de l'arganier demande des centaines, voire des milliers d'années, les progrès accomplis dans le domaine des biotechnologies modernes permettent de gagner énormément de temps, d'envisager sa domestication et de prévoir l'avenir de l'arganeraie avec un certain optimisme. En effet, la multiplication des arbres doit faire appel à une reproduction par voie végétative (marcottage, bouturage, greffage et micropropagation *in vitro*), qui seule, permettra de conserver et de reproduire les caractéristiques génétiques des arbres retenus pour leurs performances de productivité, de résistance aux stress et aux maladies (Bousselmame *et al.*, 2001 ; Nouaïm *et al.*, 2002 ; Bellefontaine *et al.*, 2010 ; Benbya *et al.*, 2018 ; Benbya *et al.*, 2019 ; Koufan *et al.*, 2020 ; Amghar *et al.*, 2021 ; Benbya *et al.*, 2021).

I.10. Promotion et valorisation de la filière d'arganier

La filière de l'arganier est caractérisée par une désarticulation des différents segments et une répartition déséquilibrée des bénéfices entre l'amont et l'aval de la filière dans la mesure où la valeur ajoutée est concentrée principalement dans les maillons terminaux de la filière « la production, la transformation et la commercialisation de l'huile d'argane ». De ce fait, le dysfonctionnement et la désarticulation des segments de la filière de l'arganier sont à l'origine de la dégradation de l'arganeraie et représentent des contraintes du développement durable dans la région du sud-ouest marocain. Dans l'objectif de développer la filière d'arganier, une stratégie nationale de sauvegarde de cette espèce a été élaborée. En effet, un contrat-programme de développement de la filière d'argane a été signé, entre le gouvernement marocain et la

Fédération Interprofessionnelle Marocaine de la Filière d'Argane (FIMARGANE). Cette stratégie de restructuration intégrée est fondée sur une planification participative, ascendante et territorialisée visant la mise en cohérence des impératifs du développement inclusif, équitable et durable de l'arganeraie avec le développement humain de la population riveraine de la région du sud-ouest marocain (Bellefontaine *et al.*, 2012). Le coût global de la mise en œuvre du programme pour la période 2011/2020 est estimé à 2,81 Milliard de dirhams dont 2,25 Milliard de dirhams constitue la contribution de l'Etat (Bellefontaine *et al.*, 2012). Ce programme a pour objectifs stratégiques : la réhabilitation de 200.000 ha d'arganeraie ; la plantation de 10.000 ha de vergers dans les zones vulnérables pour l'arganiculture ; l'augmentation de la production d'huile d'argan pour atteindre 10000 tonnes/an en 2020 (actuellement estimés à 4000 tonnes/an) ; la défense de la singularité du Label Maroc de l'arganier et de l'ensemble de ses produits et dérivés sur le marché international ; l'amélioration et l'allègement des conditions de travail des coopératives grâce à l'investissement dans la mécanisation du processus d'extraction de l'huile ; l'encouragement de l'approche genre, l'autonomisation économique des femmes rurales, le lancement des actions d'alphabétisation et de formations continues et la commercialisation d'huile d'argan dans le cadre du commerce équitable (CE). La mise en œuvre du contrat-programme s'inscrit dans le cadre de la collaboration et de la coopération entre l'Agence Nationale de Développement des Zones Oasiennes et de l'Arganier (ANDZOA), le Haut-commissariat aux Eaux et forêts (HCEFLCD) et la Fédération Nationale des Ayant-Droits Usagers de l'Arganeraie (FNADUA) (Romagny *et al.*, 2016). Le coût global de la mise en œuvre du programme pour la période 2011-2020 est estimé à 2,81 Milliard de dirhams dont 2,25 Milliard de dirhams constituent la contribution de l'Etat. Les faits majeurs du contrat programme 2008-2020 sont la réhabilitation de 146.400 Ha d'arganier (73% de réalisation) ; la plantation de plants d'argan (arganiculture) sur une superficie de 3.392 ha (34% de réalisation) ; l'homologation de 235 unités de valorisation d'argane ; la production de 5.640 tonnes par an d'huile argane (55% de réalisation) ; l'exportation de 1.348 tonnes par an d'huile argane (34% de réalisation) ; l'identification de 6 génotypes d'arganier et un pollinisateur; la création et l'inscription de 6 variétés, la rentrée en production précoce, la large adaptation ; la sensibilisation de 8000 ayants droit ; l'organisation de 5 éditions du congrès international de l'arganier et le premier salon de l'arganier. Dans le cadre de la stratégie "Génération Green", le Royaume du Maroc compte, d'ici 2030, miser sur l'arganiculture à travers la plantation de 50.000 hectares d'arganier. En effet, il sera procédé à la poursuite de la mise à niveau du secteur de l'arganiculture à travers notamment le lancement d'autres projets de développement dans le but d'atteindre un objectif cumulatif de 400.000 ha (Sinsin *et al.*, 2020).

II. Détermination et caractérisation des feuilles et graines d'arganier (*Argania spinosa* (L.) Skeels) selon l'origine géographique

La chimie analytique est la partie de la chimie qui concerne l'identification de composés chimiques ou/et la caractérisation des structures moléculaires qualitatives ou semi-quantitatives dont dépendent le plus souvent les propriétés biologiques des échantillons organiques (Skoog *et al.*, 2013). Depuis Antoine Lavoisier (1743–94), le père fondateur de la chimie moderne, une des premières préoccupations de la chimie a été de déterminer les produits dont sont composés tous les corps. En effet, plusieurs recherches ont été effectuées pour la mise au point des méthodes et instruments pour diviser les corps complexes en composés élémentaires, puis identifier et caractériser ces composés issus de cette décomposition (Büyüktiryaki *et al.*, 2020). Au cours de ces dernières années, les méthodes de séparation (chromatographie sur couches minces (CCM) ; chromatographie en phase gazeuse (CPG) ; chromatographie liquide (HPLC) et électrophorèse), les méthodes d'identification (spectrofluorométrie, spectrométrie UV-visible, spectrométrie IR, spectrométrie de masse et spectrométrie de résonance magnétique nucléaire (RMN)) et les méthodes de dosage basées sur les propriétés physiques des composés ont connu une progression rapide et un extraordinaire essor (Wei et Zeng, 2011). La spectroscopie est une technique très sélective qui permet l'identification et la caractérisation d'informations très importantes sur l'organisation et la conformation de la matière, ainsi que sur les interactions inter- et/ou intra-moléculaires, etc. (Biémont, 2015). Cette technique permet également de donner pour un coût relativement faible des résultats rapides, fiables et surtout sans limite du nombre d'échantillons analysés. C'est une technique potentielle pour l'authentification des produits et la traçabilité des échantillons selon l'origine géographique (Karoui *et al.*, 2005).

II.1. Spectroscopie

La spectroscopie constitue un domaine à part entière de la physique fondamentale et de la chimie analytique. C'est une méthode d'analyse fondée sur l'étude expérimentale qui permet la décomposition du spectre d'un phénomène physique sur une échelle d'énergie selon la fréquence ou la longueur d'onde, etc (Sharma, 2007). Les techniques de spectroscopie sont des méthodes instrumentales de caractérisation qualitative et quantitative qui peuvent être une alternative extrêmement efficace aux méthodes classiques (Brooker et Simpson, 1951). Les instruments d'analyse de la spectroscopie, appelés spectroscopes (le suffixe « -scopie » faisant référence à l'observation visuelle) ou spectromètres (le suffixe « -métrie » faisant référence à l'enregistrement d'un signal par un appareil) ont connu un développement remarquable avec

l'évolution de l'électronique et de l'informatique (Morris *et al.*, 2005). Les techniques de spectroscopie qualitatives fournissent des informations sur la nature des espèces atomiques ou moléculaires ou encore des groupes fonctionnels présents dans un échantillon ; les techniques quantitatives, quant à elles, fournissent des informations sur la concentration et la pureté d'un ou plusieurs composants inorganiques ou organiques (Skoog *et al.*, 2015).

II.1.1. Principe et techniques de la spectroscopie

La spectroscopie, ou spectrométrie représente une technique de mesure scientifique qui repose sur l'analyse du rayonnement émis, absorbé ou diffusé par une substance et la décomposition de son signal d'excitation sur une échelle d'énergie (fréquence ou longueur d'onde, etc) (Kalsi, 2007). L'excitation peut être générée par une onde électromagnétique ou par un faisceau de particules (électrons, protons, etc.) et les propriétés de l'ensemble des molécules d'un milieu peuvent être déduites à partir d'enregistrement des fréquences des spectres d'absorption (spectroscopie d'absorption), des spectres d'émission (spectroscopie d'émission), d'une fragmentation ou de modifications chimiques (Crews *et al.*, 2010). Des caractéristiques complémentaires de la substance étudiée peuvent souvent être obtenues à partir d'étude de plusieurs domaines spectraux (UV, visible, infrarouge, RMN, ...) (figure 6) (Kortüm, 2012).

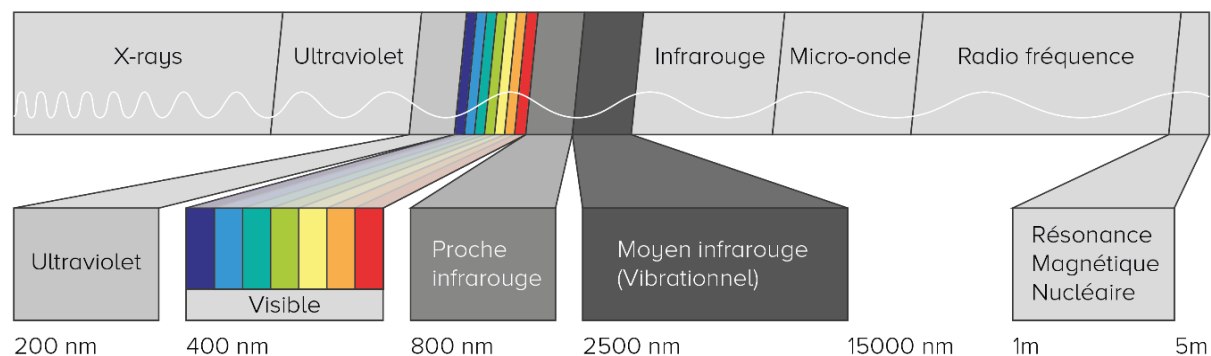


Figure 6. Portion du spectre électromagnétique présentant un intérêt pour les applications analytiques (Hollas, 2004).

II.1.1.1. Techniques de spectroscopie

Les techniques de spectroscopie peuvent être divisées en deux grandes classes : la spectroscopie photonique qui repose sur l'étude de l'interaction d'une onde électromagnétique avec la lumière, et la spectroscopie des particules (Lambert *et al.*, 2014). Dans la première classe, on trouve la plupart des méthodes spectroscopiques présentant un intérêt analytique pour le contrôle rapide (Siesler *et al.*, 2008). La seconde classe est essentiellement représentée par la

spectrométrie de masse et les méthodes dérivées, qui portent sur l'étude du rapport masse/charge de molécules ou fragments de molécule ionisées (Hollas, 2004 ; Bertrand, 2006).

II.1.1.2. Domaines spectraux du rayonnement électromagnétique

Le spectre électromagnétique est généralement divisé comme le montre la figure 7 en diverses régions en fonction de la longueur d'onde des radiations. Ainsi, on trouve les rayons Gama γ qui sont les plus énergétiques, les rayons X, l'ultraviolet UV, le visible, l'infrarouge (IR), les micro-ondes et les ondes radiofréquences (Yadav, 2013). A chaque région, on peut associer un type de transition atomique ou moléculaire différent mettant en jeu des énergies différentes (Kemp, 2017).

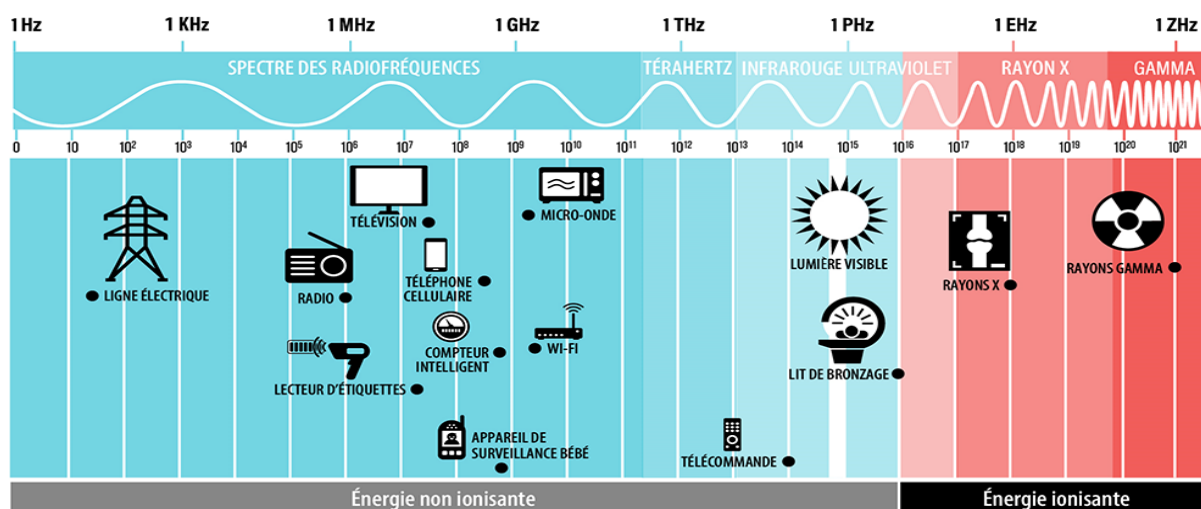


Figure 7. Domaines spectraux du rayonnement électromagnétique (Dalibart et Servant, 2000).

II.1.1.3. Radiations électromagnétiques

Les radiations électromagnétiques ont une double nature ondulatoire et quantique. La plupart des propriétés du rayonnement infrarouge peuvent être décrites à l'aide d'un modèle dans lequel il est assimilé à une onde sinusoïdale (figure 8) (Genot *et al.*, 2014). La principale caractéristique ondulatoire du rayonnement est sa fréquence de vibration ν , exprimée en Hertz. Elle est reliée à la longueur d'onde λ (la distance parcourue pendant un cycle complet) par l'équation :

$$\lambda = c/\nu$$

Avec : c : la célérité de la lumière (3.108 m.s⁻¹).

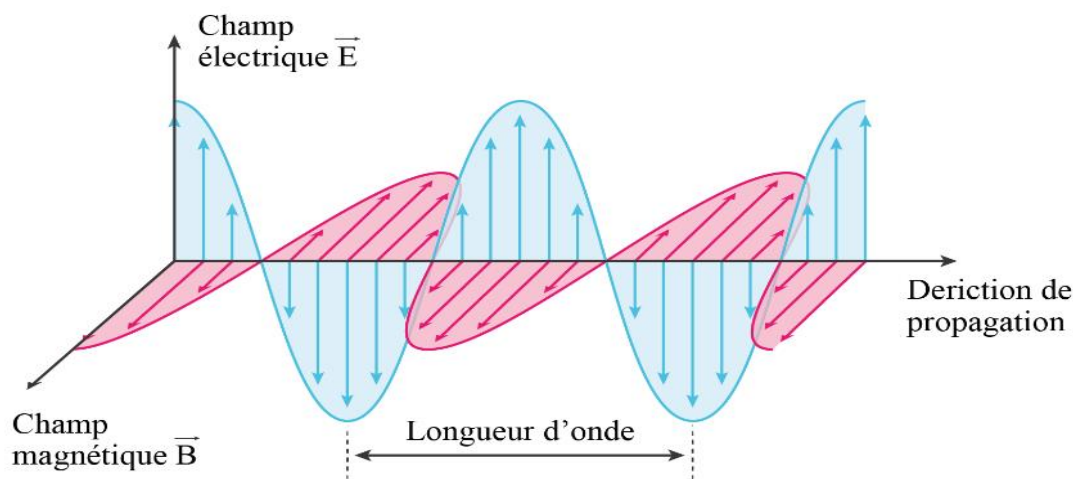


Figure 8. Nature et propagation d'une onde électromagnétique (Tural'chuk et al., 2015).

Les fréquences de vibration sont également reliées aux nombres d'ondes σ (cm^{-1}), wavenumber en anglais, par la formule :

$$\sigma = 1/\lambda = \nu/c$$

L'approche quantique permet la description des interactions énergétiques avec la matière au niveau moléculaire. Une radiation lumineuse ou ondes électromagnétiques (EM) présentent un caractère corpusculaire lors de leurs interactions avec la matière. Dans ces cas, le rayonnement EM se comporte comme étant constitué de corpuscules ou quanta d'énergie (grains d'énergie) appelés photons. Ces photons possèdent la propriété de transporter une quantité d'énergie finie, liée à la fréquence de la radiation. En effet, l'énergie E et la quantité de mouvement p des photons sont reliés à la longueur d'onde λ du rayonnement par les relations de de Broglie :

$$E = h.\nu \text{ et } p = h/\lambda$$

Avec :

$h = 6.626 \cdot 10^{-34} \text{ J/s}$: est la constante de Planck ;

ν : est la fréquence du rayonnement et λ est la longueur d'onde.

Le modèle quantique permet aussi de justifier l'absorption partielle ou complète de l'onde électromagnétique par la matière (Penner, 2017). En effet, l'énergie absorbée ou émise par molécule peut en première approximation être décomposée en trois composants indépendants :

$$E_{\text{tot}} = E_{\text{elec}} + E_{\text{vib}} + E_{\text{rot}}$$

Avec :

E_{elec} : énergie électronique ;

E_{vib} : énergie vibrationnelle, associée aux mouvements des atomes autour de leur position d'équilibre sans mouvement d'ensemble ;

E_{rot} : énergie rotationnelle, associée aux mouvements de rotation de la molécule autour d'un axe passant par le centre d'inertie.

Toutes ces énergies sont quantifiées et la différence entre deux niveaux électroniques, vibrationnels ou rotationnels ne sont pas du même ordre de grandeur :

$$E_{rot} \ll E_{vib} \ll E_{elec}$$

Avec l'ordre de grandeur suivant :

$$\Delta E_{elec} = 150 \text{ à } 2400 \text{ KJ.mol}^{-1} ;$$

$$\Delta E_{vib} = 5 \text{ à } 150 \text{ KJ.mol}^{-1} ;$$

$$\Delta E_{rot} = 1,2 \text{ à } 5 \text{ KJ.mol}^{-1}.$$

Pour le domaine de l'UV et du visible, les transitions d'énergie observées sont de type électronique. En effet, l'interaction lumière-matière permet l'absorption de l'énergie lumineuse qui fait passer des électrons d'une molécule d'un état fondamental, stable, à un état de plus haute énergie, instable (figure 9). Une fois un état excité instable atteint, la molécule retourne rapidement à son état fondamental, en restituant l'énergie en excès au milieu, soit sous forme de lumière (luminescence), soit sous forme de chaleur ou sous forme de fluorescence (Siesler *et al.*, 2008). Pour le domaine de l'IR, les transitions d'énergie observées sont de type vibrationnel, c'est-à-dire que chaque transition de vibration est accompagnée de plusieurs transitions de rotation distinctes qui peuvent être définies comme l'étude de l'interaction des ondes électromagnétiques et de la matière (Banwell, 1983).

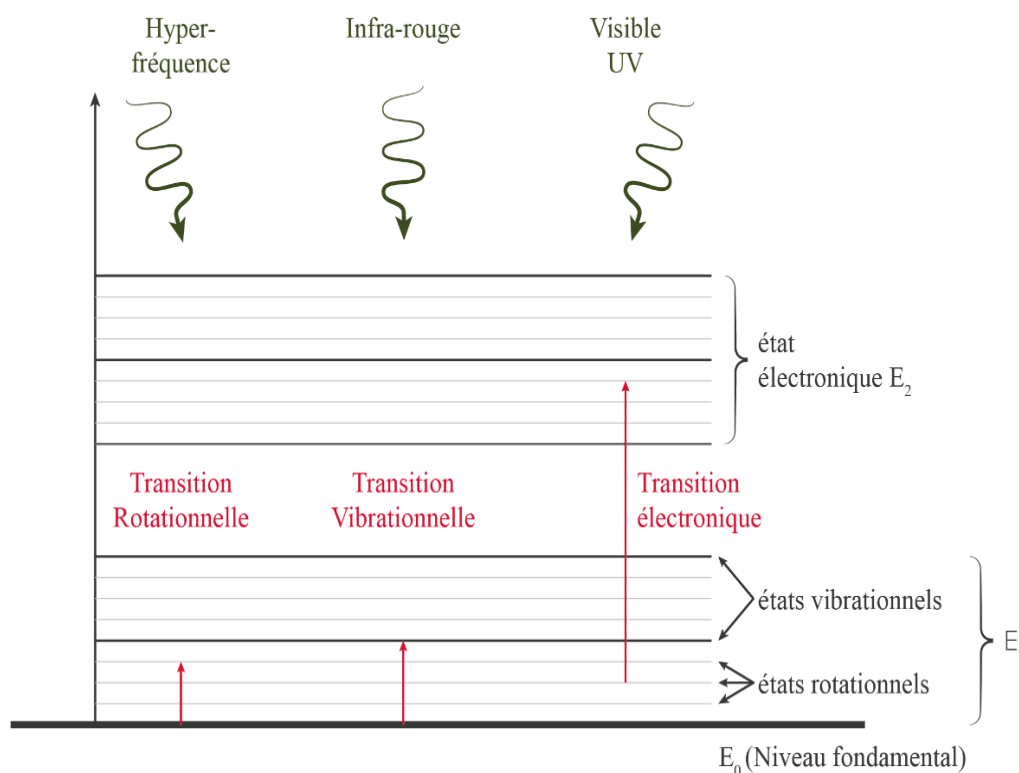


Figure 9. Spectres électromagnétiques et les différentes transitions électroniques associées (Biémont, 2015).

II.1.2. Applications de la spectroscopie

Les techniques de spectroscopie sont utilisées dans de nombreux domaines des sciences fondamentales et appliquées car elles permettent l'identification de la composition chimique d'une espèce déterminée et également l'obtention de renseignements pertinents sur la structure de la matière étudiée et sur les conditions physiques de la source émettrice du rayonnement (Hollas, 2004 ; Crews *et al.*, 2010). De nos jours, les applications de la spectroscopie sont multiples et variées dans pratiquement toutes les disciplines scientifiques et technologiques à savoir l'industrie, l'énergie, la médecine, la biologie, l'environnement, et l'astronomie etc. (Siesler *et al.*, 2008 ; Baranska, 2013). En outre, la spectroscopie a bénéficié, durant les dernières décennies, de progrès considérables réalisés dans des domaines de la physique très divers comme le développement des lasers et la technologie des détecteurs. Elle constitue désormais un outil d'investigation extrêmement puissant et incontournable pour l'étude des caractéristiques structurales et des propriétés radiatives des molécules (Biémont, 2015).

II.2. Spectroscopie infrarouge

La spectroscopie infrarouge, ou spectroscopie IR, est une classe de spectroscopie qui a été découverte par Frédéric Wilhelm Herschel en 1800. Elle traite de la partie infrarouge du spectre électromagnétique et recouvre plusieurs types de techniques, la plus commune est la spectroscopie d'absorption (Hollas, 2004).

II.2.1. Principe et techniques de la spectroscopie infrarouge

Le principe de la spectroscopie infrarouge est basé sur l'interaction d'un rayonnement IR par transmission ou par réflexion avec la matière, puis la détection et l'analyse des données spectrales (Siesler *et al.*, 2008 ; Penner, 2017). La spectroscopie d'absorption est une méthode analytique quantitative et qualitative qui consiste à mesurer l'absorbance A , la transmittance T ou la densité optique d'une substance chimique donnée, généralement en solution :

$$A = -\log(T) = -\log(I / I_0)$$

Avec :

T : la transmittance : $T = I / I_0$;

I : l'intensité lumineuse mesurée après traversée de la solution ;

I_0 : l'intensité lumineuse de référence, déterminée lors de l'étalonnage de l'appareil.

Par ailleurs, la loi de Beer-Lambert établie la relation entre l'absorbance d'une matière (liquide, solide ou gazeuse), sa concentration et la longueur de la cuve :

$$A = \epsilon_{(\lambda)} \times I \times c$$

Avec :

A : l'absorbance sans unité ;

ϵ (λ) (Epsilon) : le coefficient d'atténuation ou d'extinction molaire ou d'absorptivité propre à l'entité chimique (constante) en $\text{l.mol}^{-1}.\text{cm}^{-1}$;

l : la longueur de la cuve en cm ;

c : la concentration de l'entité chimique en mol.l^{-1} .

La spectroscopie vibrationnelle infrarouge exploite le fait que chaque molécule possède une fréquence spécifique pour laquelle elle absorbe la lumière infrarouge à des longueurs d'onde caractéristiques et vibre en correspondance avec un niveau d'énergie discret (mode vibrationnel) (Stuart, 2006). Les fréquences de résonance sont déterminées par la forme des surfaces d'énergie potentielle, les masses atomiques et par la force des liaisons chimiques. Les modifications permanentes du dipôle permettent d'activer dans l'infrarouge le mode vibrationnel dans une molécule. Dans les approximations simples de Born-Oppenheimer, lorsque le hamiltonien moléculaire correspondant à l'état fondamental électronique peut être comparé à un oscillateur harmonique idéal liant les deux masses à ses extrémités au voisinage de la géométrie moléculaire d'équilibre, les fréquences de résonance sont déterminées par les modes normaux correspondant à la surface d'énergie potentielle (figure 10). Néanmoins, ces fréquences peuvent être dans une première approche liée à la force de liaison, et aux masses atomiques de terminaison. Donc, la fréquence des vibrations peut être associée à une liaison particulière (Siesler *et al.*, 2008).

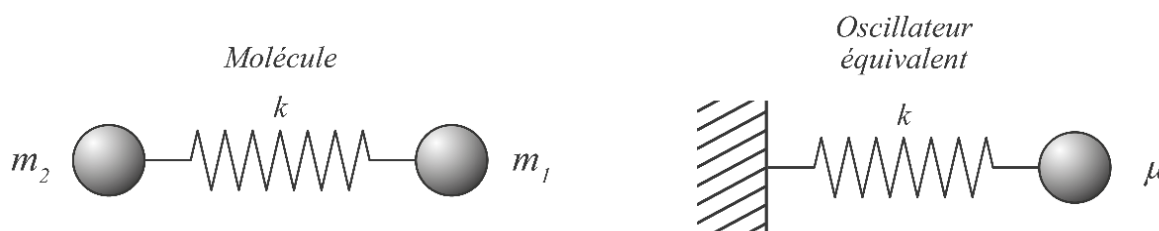


Figure 10. Modèle d'oscillateur harmonique d'une molécule diatomique (Delaire *et al.*, 2016).

Les molécules diatomiques qui n'ont qu'une seule liaison peuvent osciller autour de leur position d'équilibre avec une fréquence donnée par la loi de Hooke ν_0 et leur seule liaison peut être étirée. Lorsque cette molécule diatomique est soumise à l'action d'une onde électromagnétique caractérisée par la fréquence ν , elle absorbe la lumière infrarouge et vibre en correspondance (phénomène de résonance) lorsque : $\nu = \nu_0$. En effet, cette énergie vibrationnelle de la liaison est calculée par la relation suivante :

$$E\nu = h \nu_0 (\nu - 1/2)$$

Avec :

ν_0 : la fréquence donnée par la loi de Hooke $\nu_0 = 1/2\pi \sqrt{K/\mu}$;

k : la constante de force de la liaison en dynes.cm⁻¹ (1 Newton = 10⁵ dynes) ;

μ : la masse réduite en g ($m_1.m_2 / m_1 + m_2$) ;

v : un entier positif ou nul appelé nombre quantique vibrationnel.

Les molécules polyatomiques les plus complexes ont beaucoup de liaisons, et les vibrations peuvent être conjuguées, ce qui conduit à des absorptions infrarouges à des fréquences caractéristiques qui peuvent être liées à des groupes chimiques. Ainsi par exemple, les atomes d'un groupement CH₂, que l'on trouve communément dans les composés organiques peuvent vibrer de six manières différentes (figure 11) : Les vibrations d'élongation ou étirements (stretching) symétriques (vs) et antisymétriques (vas), les vibrations de déformation dans le plan (cisaillement (scissoring), bascule (rocking)), hors du plan (agitation (wagging) et torsion (twisting)) (Biémont, 2015).

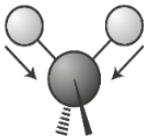
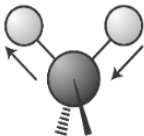
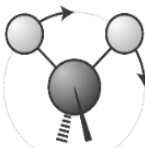
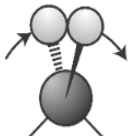
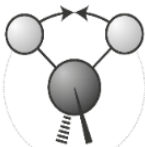
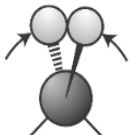
Vibration d'élongation (de valence)	
 Symétrique	 Asymétrique
Vibration de déformation	
Dans le plan	Hors du plan
 Asymétrique Rotation plane	 Asymétrique Balancement
 Symétrique Cisaillement	 Symétrique Torsion

Figure 11. Modes de vibration d'élongation et de déformation du groupement CH₂ des molécules polyatomiques (Biémont, 2015).

L'établissement du spectre infrarouge d'un échantillon repose sur le passage d'un faisceau de lumière infrarouge au travers de cet échantillon. La quantité d'énergie absorbée à chaque longueur d'onde est obtenue à travers l'examen de la lumière transmise. Cette analyse spectrale peut se faire avec un faisceau monochromatique, une modification de la longueur d'onde dans le temps, ou en utilisant un instrument à transformée de Fourier qui permet de mesurer toutes les longueurs d'onde simultanément. Les spectres peuvent être produits en absorbance ou en transmittance, en indiquant leurs longueurs d'onde d'absorption. L'analyse de ces caractéristiques permet d'indiquer les détails de la structure moléculaire de l'échantillon (Hollas, 2004). Cette technique fonctionne exclusivement sur les échantillons présentant des liaisons covalentes. Plus les degrés de pureté des échantillons sont élevés et leurs liaisons actives faibles, plus les spectres simples sont obtenus dans l'infrarouge. De ce fait, plus les structures moléculaires sont complexes plus le nombre de bandes d'absorption augmente et donc les spectres deviennent plus complexes. Cette technique a cependant été utilisée pour la caractérisation de mélanges très complexes (Siesler *et al.*, 2008).

II.2.2. Types de spectroscopie infrarouge

Le domaine infrarouge du spectre électromagnétique est localisé entre la région du spectre visible et la région du spectre micro-onde et s'étend de 14000 à 10 cm^{-1} . Il est arbitrairement sous divisé en trois catégories selon la fréquence ou la longueur d'onde : le proche, le moyen et le lointain infrarouges, nommés en relation avec le spectre visible. L'infrarouge lointain (le moins énergétique) qui s'étend de 400 à 10 cm^{-1} ($25 - 1000\text{ }\mu\text{m}$) est utilisé pour étudier la spectroscopie rotationnelle. Le moyen infrarouge (MIR) allant de 4000 à 400 cm^{-1} ($2,5 - 25\text{ }\mu\text{m}$) est utilisé pour étudier les vibrations fondamentales et la structure vibrationnelle associée. Le proche infrarouge (PIR), plus énergétique, couvre le domaine spectral de 14000 à 4000 cm^{-1} ($0,75 - 2,5\text{ }\mu\text{m}$) et peut exciter les vibrations harmoniques (Siesler *et al.*, 2008). Ainsi, les classifications et dénominations de ces catégories ne sont pas basées sur des divisions strictes ou sur des propriétés moléculaires ou électromagnétiques exactes mais, ce sont essentiellement des conventions (Hollas, 2004 ; Mesplède, 2013).

II.2.3. Spectroscopie moyen infrarouge

En infrarouge, la partie du spectre, dont les longueurs d'onde du faisceau lumineux qui traversent l'échantillon sont comprises entre $2,5$ et $25\text{ }\mu\text{m}$ (moyen infrarouge (MIR)), est la plus riche en informations. Les bandes d'absorption observées dans le MIR sont principalement associées à des transitions vibrationnelles fondamentales (mouvements internes de la molécule)

des liaisons de valence (ν) de groupes fonctionnels d'une molécule car le rayonnement absorbé n'est pas assez énergétique ($0,5 \text{ eV} < E < 0,02 \text{ eV}$). Ces transitions vibrationnelles sont caractérisées par leur bande d'absorption qui est propre à chaque liaison covalente. Ainsi, l'obtention d'un spectre d'analyse varie en fonction de la longueur d'onde et de l'intensité du faisceau émis. Les spectres MIR de nombreuses liaisons et molécules sont d'ores et déjà connus et leurs valeurs sont rassemblées dans un tableau sous forme de nombre d'ondes, fréquences et intensités observées pour divers modes de vibration (tableau 2) (Karoui *et al.*, 2010).

Tableau 2. Valeurs en nombre d'ondes, fréquences et intensités observées pour divers modes de vibration en spectroscopie infrarouge (Servant *et al.*, 2011).

Liaison	Nature	Nombre d'onde cm^{-1}	Intensité
O-H (alcool libre)	Élongation	3580 - 3670	F, large
O-H (alcool lié)	Élongation	3200-3400	F, large
N-H (amine)	Élongation	3100 - 3500	m
C-H ($\text{C}_{\text{digonal}}$)	Élongation	3300 - 3310	
C-H ($\text{C}_{\text{trigonal}}$)	Élongation	3000 - 3100	m ou f
C-H (aromatique)	Élongation	3030 - 3080	m
C-H ($\text{C}_{\text{tétraonal}}$)	Élongation	2800 - 3000	m
C-H (aldéhyde)	Élongation	2750 - 2900	F
O-H (acide carboxylique)	Élongation	2500 - 3200	m
C=C ; C=N	Élongation	2100 - 2250	F à m, large
C=O (anhydride)	Élongation	1700 - 1840	F ou m
C=O (chlorure d'acyle)	Élongation	1770 - 1820	F, 2 bandes
C=O (ester)	Élongation	1700 - 1740	F
C=O (aldéhyde et cétone)	Élongation	1650 - 1730	F
C=O (acide)	Élongation	1680 - 1710	F
C=C	Élongation	1625 - 1685	F
C=C (aromatique)	Élongation	1450 - 1600	M (3 ou 4 bandes)
N=O	Élongation	1510-1580 et 1325-1365	F, 2 bandes
N-H (amine ou amide)	Déformation	1560 - 1640	F ou m

Avec : F : forte ; m : moyenne ; f : faible.

II.2.4. Spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier

Les instruments de la spectroscopie infrarouge (IR) qui reposaient sur des prismes pour agir comme des éléments dispersifs sont disponibles dans le commerce depuis les années 1940, mais au milieu des années 1950, des réseaux de diffraction avaient été introduits dans des machines dispersives. À cette époque, la spectroscopie infrarouge (IR) s'est avérée comme un outil puissant pour étudier les molécules biologiques. En effet, dans le domaine de l'agroalimentaire, la spectroscopie moyen infrarouge (MIR) a été moins employée pour des mesures en ligne que le PIR. Ceci est expliqué par le fait que l'eau (constituant majeur des produits alimentaires) contribue fortement au spectre MIR (Siesler *et al.*, 2008). Cependant, les progrès les plus significatifs de la spectroscopie infrarouge sont survenus avec l'avènement des spectromètres à transformée de Fourier (IRTF). Ce type d'instrument utilise un interféromètre et exploite le processus mathématique bien établi de la transformation de Fourier (figure 12). La spectroscopie FTIR a considérablement amélioré la qualité des spectres IR et minimisé le temps nécessaire pour obtenir les données. De plus, avec les améliorations apportées aux outils informatiques ces dernières années, la spectroscopie IR a fait de grands progrès. En effet, la spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (IRTF) a permis ces dernières années l'obtention d'informations intéressantes sur les éléments organiques, notamment la composition moléculaire qualitative ou semi-quantitative (les liens chimiques et les structures moléculaires) des matériaux organiques (protéines et des lipides) (Fan *et al.*, 2012). Elle permet également d'analyser les contaminations, les couches minces, les revêtements et les films mono-moléculaires (Nandiyanto *et al.*, 2019).

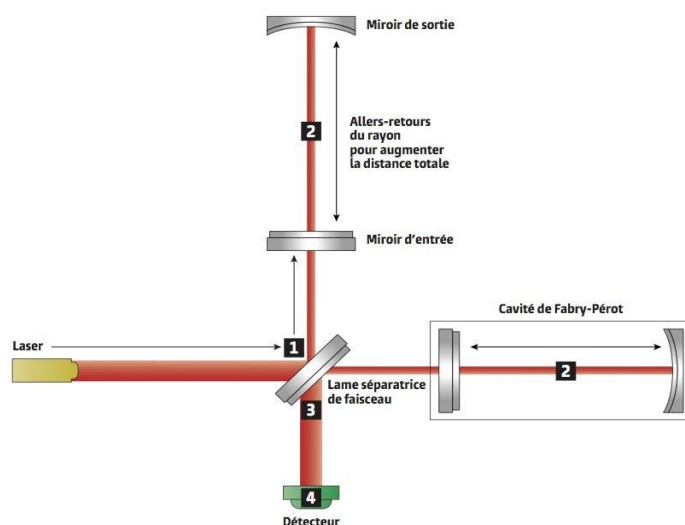


Figure 12. Principe de la spectroscopie IRTF selon le diagramme schématique de l'interféromètre de Michelson (Jaggi and Vij, 2006).

II.2.5. Réflectance totale atténuée

La réflectance totale atténuée, ou ATR de l'anglais (Attenuated Total Reflectance) est une technique en spectroscopie infrarouge, ou plus précisément spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (IRTF), basée sur le principe optique de la réflectance ou le phénomène de réflexion, permettant de déterminer les liaisons chimiques d'un échantillon, lorsqu'un faisceau passe d'un milieu dense à un milieu moins dense (Thomasson et Morgan, 2014). Le milieu dense utilisé en ATR est un cristal d'indice de réfraction élevé comme le sélénure (Se), le zinc (Zn), le silicium (Si) ou le germanium (Ge) (figure 13). Le milieu moins dense déposé sur la lame cristalline est l'échantillon à analyser (Ribeiro, 2006). Ainsi, lors de la réflexion totale du faisceau incident de la lame cristalline (milieu dense) à l'échantillon (moins dense), il y a perte d'intensité du signal due à une pénétration d'onde dans le milieu moins dense, et donc une diminution de cette réflexion totale. L'onde qui pénètre dans l'échantillon à analyser (milieu moins dense) est appelé l'onde évanescente. La profondeur de pénétration dépend des indices de réfraction des deux milieux, de la longueur d'onde utilisée et de l'angle du faisceau incident par rapport à l'interface (Rodriguez-Saona *et al.*, 2006). Le développement de la technique de réflexion totale atténuée (ATR) s'est révélé très utile pour l'acquisition des spectres MIR de différents types d'échantillons. L'accessoire ATR ne nécessite que très peu de préparation de l'échantillon et permet d'analyser directement aussi bien des échantillons solides, liquides ou viscoélastiques (pâteux). Il permet également d'enregistrer des spectres infrarouges à différentes températures entre 20 et 200°C (Garside et Wyeth, 2003).

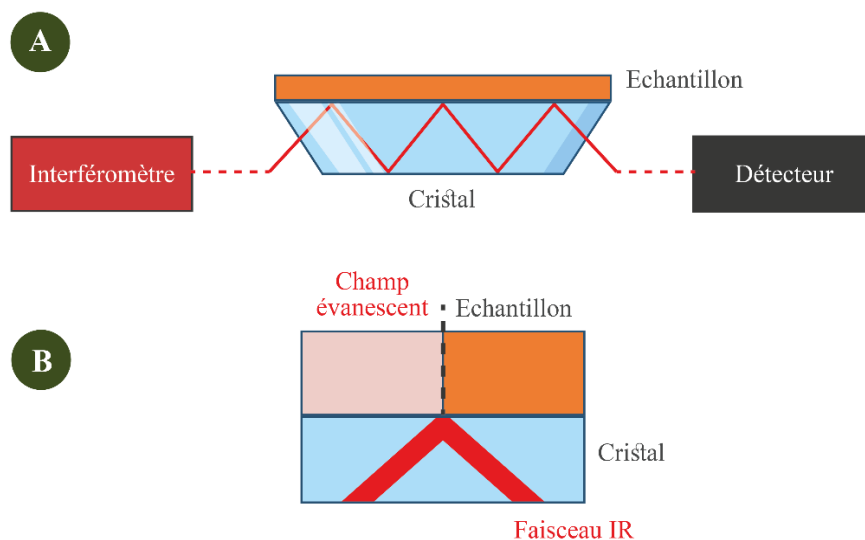


Figure 13. Mode de la réflexion totale atténuée (ATR) de la spectroscopie IRTF. A : Schéma d'un montage avec un éclairage ATR à multiples réflexions ; B : Détails de l'éclairage de l'échantillon par un champ évanescent généré à l'interface cristal/échantillon par une réflexion totale atténuée du faisceau infrarouge (Lam *et al.*, 2019).

II.3. Chimiométrie

La chimiométrie, ou chemometrics en anglais, est une discipline associant l'acquisition, la validation et le traitement de données dans le domaine de la chimie analytique (Bertrand, 2006). La chimiométrie rassemble et développe des traitements mathématiques du signal et les méthodes statistiques pour extraire l'information structurée et interprétable présente dans des données spectrales (Workman *et al.*, 1996). Le développement des méthodes analytiques et particulièrement celles qui sont basées sur les techniques spectroscopiques est intimement lié aux progrès chimiométrique et informatique. En effet, l'évaluation et l'analyse des données spectrales complexes présentant de faibles différences nécessite l'emploi de méthodes chimiométriques ; démarche pratiquée avec succès dans le domaine de la spectroscopie infrarouge depuis de nombreuses années (Siesler *et al.*, 2008). L'application de ces outils statistiques sur des collections de données renfermant plusieurs variables mesurées pour un grand nombre d'échantillons permet d'extraire l'information pertinente et de conclure sur le niveau de signification statistique des faibles différences spectrales observées (Kemsley *et al.*, 2019). Les méthodes chimiométriques peuvent avoir comme objectifs principaux soit la description et la classification des données sous forme synthétique, soit l'étalonnage au laboratoire (ou modélisation) où toutes les mesures de variables doivent être réalisées et où le modèle de prédiction est calculé, soit la prédiction (ou estimation) et validation des modèles (Lavine et Workman, 2013).

II.3.1. Prétraitements appliqués aux spectres

Les données spectrales brutes, telles qu'elles sont acquises par un spectromètre, ne revêtent pas obligatoirement la forme la plus adaptée aux traitements chimiométriques ultérieurs. Elles peuvent être entachées d'anomalies liées à des effets perturbateurs à cause de la présence d'un bruit aléatoire ou à des déformations de la ligne de base. Les prétraitements ont pour objectifs la compensation de ces effets perturbateurs, l'amélioration du signal et la condensation des données. Parmi les prétraitements les plus utilisés, on peut citer la déviation normale standardisée (SNV), les lissages et les dérivées (Bertrand and Vigneau, 2006). La méthode « SNV » (Standard Normal Variate) est une transformation de normalisation par la déviation standard. Cette technique est appliquée à chaque spectre pris séparément sans référence à l'ensemble des échantillons de calibration. Contrairement aux autres méthodes, elle est indépendante de l'ensemble des spectres utilisés pour l'analyse quantitative (Barnes *et al.*, 1989). En effet, pour un spectre d'absorbance S constitué de w longueurs d'onde, la moyenne des absorbances de S notée $\bar{a}$ est :

$$\bar{a} = \sum_{i=1}^w a_i$$

Avec :

a_i : l'absorbance à une longueur d'onde i .

Celle-ci est retranchée à l'absorbance sur chaque longueur d'onde i . C'est l'étape de centrage des données. Finalement, pour obtenir l'absorbance corrigée à la longueur d'onde i (SNV $_i$), on norme par la déviation standard des absorbances du spectre S :

$$SNV_i = (a_i - \bar{a}) / \frac{\sqrt{\sum_{i=1}^w (a_i - \bar{a})^2}}{w-1} \text{ Pour } i = 1 \dots w$$

Cette transformation a permis d'améliorer les résultats de nombreuses analyses quantitatives. Les variations de signal dues aux phénomènes physiques diminuent laissant apparaître les informations chimiques. Sur les spectres MIR, il est commun d'observer des lignes de base incurvées. Cette déformation nuit souvent à l'analyse quantitative. Afin de redresser les lignes de base, une modification de la SNV appelée « SNVD » (SNV Detrending) est proposée. Ainsi pour chaque spectre la correction SNV est toujours appliquée mais la ligne de base est redressée par un polynôme du second degré. L'équation du polynôme est obtenue par minimisation des moindres carrés (Barnes *et al.*, 1994).

II.3.2. Méthodes exploratoires : Analyse en Composantes Principales

L'Analyse en Composantes Principales (ACP), ou principal component analysis (PCA) en anglais, fait partie du groupe des méthodes descriptives multidimensionnelles appelées méthodes factorielles (descriptives, non supervisées), elle constitue un domaine important de la chimiométrie. L'ACP est une méthode statistique exploratoire qui ne s'appuie pas sur un modèle probabiliste, mais sur un modèle géométrique. Elle a comme objectif de décrire, d'analyser et de visualiser un nombre de données important, contenant des individus décrits par plusieurs variables quantitatives, sans introduire d'éléments de connaissance. Avant de commencer une étude quantitative, il faut observer les données spectrales pour apprécier leur structure et détecter, par exemple, la présence d'un spectre aberrant. L'ACP propose des représentations géométriques de ces objets et de ces variables organisées sous forme d'un tableau rectangulaire de données comportant les valeurs de p variables quantitatives pour n objets, unités, individus ou observations (Workman *et al.*, 1996). Pour les variables, on cherchera quelles sont celles qui présentent une corrélation positive plus ou moins forte, et celles qui, au contraire, sont corrélées négativement. Elle calcule de nouvelles variables, appelées composantes principales qui sont des combinaisons linéaires des variables initiales.

Ces composantes principales, mutuellement orthogonales, sont les directions de l'espace selon lesquelles les individus sont les plus dispersés (Wold, 1987). L'objectif de l'analyse étant la simplification, il faut donc choisir la dimension de l'espace de représentation en effectuant un compromis entre deux objectifs contradictoires : prendre un espace de faibles dimensions et conserver une variance expliquée maximale. La première composante choisie doit donc être la combinaison linéaire des variables d'origine décrivant la droite d'allongement maximum du nuage. Les autres composantes doivent être orthogonales aux composantes précédentes et respecter la règle de description de l'allongement maximum (Sarmiento *et al.*, 2011). L'ACP est une méthode exploratoire particulièrement adaptée à la spectroscopie. En effet, lorsque les données de départ sont des spectres infrarouges, elle projette les données spectrales dans un espace de représentation de faibles dimensions de telle sorte que les vecteurs propres associés aux composantes principales apparaissent comme analogues à des spectres de produits purs, et les coordonnées factorielles comme analogues à des concentrations. Enfin, l'ACP est une méthode descriptive qui sert d'une part à mieux connaître les données sur lesquelles on travaille, puis à détecter d'éventuelles valeurs suspectes, et enfin à aider à formuler des hypothèses qu'il faudrait étudier à l'aide de modèles et d'études statistiques inférentielles (Movasaghi *et al.*, 2008).

II.4. Avantages et inconvénients de la spectroscopie infrarouge

II.4.1. Avantages de la spectroscopie IRTF

La spectroscopie IRTF a plusieurs avantages par rapport aux autres méthodes de spectroscopie dispersives à savoir :

- Méthode non destructive : possibilité d'analyser des produits solides et liquides à l'état pur (l'échantillon n'a pas besoin d'être préparé) contrairement à la spectrométrie à balayage (dispersif) ;
- Outil très utile : absorption de la lumière infrarouge moyenne par la majorité des molécules de l'univers ;
- Haute sensibilité : acquisition simultanée de l'information de toutes les longueurs d'onde ;
- Instruments simples et faciles à manipuler ;
- Moindre sensibilité à la lumière parasite : élimination de la lumière parasite et un rapport signal sur bruit plus élevé ;
- Meilleure précision sur les longueurs d'onde : avantage de Connes ;
- Détermination du débit de l'interféromètre uniquement par le diamètre du faisceau collimaté en provenance de la source, augmentant la quantité de lumière qui passe à travers ;

- Données riches en informations biochimiques ;
- Haute résolution spectrale ;
- Temps d'analyse très court : temps de balayage plus court pour une résolution donnée ;
- Technique universelle et relativement peu coûteuse ;
- Reproductibilité et fiabilité.

II.4.2. Inconvénients de la spectroscopie IRTF

- Pas d'utilisation des techniques de filtrage électronique avancées, impliquant un rapport signal sur bruit inférieur à celui des techniques dispersives ;
- Gamme spectrale restreinte ;
- Certaines limitations dues à la chambre d'échantillonnage en raison de sa taille relativement petite ;
- Obstruction du faisceau infrarouge par les pièces montées donnant lieu à des spectres complexes. Seuls les petits objets comme les anneaux peuvent être testés ;
- Impossibilité de détecter les atomes ou les ions monoatomiques (les entités atomiques contenant aucune liaison chimique) ;
- Impossibilité de détecter les molécules composées de deux atomes identiques symétriques tels que N₂ ou O₂ ;
- Difficulté d'analyse des solutions aqueuses, l'eau étant un puissant absorbeur d'IR ;
- Absorption complète du rayonnement infrarouge par plusieurs matériaux impliquant l'impossibilité d'obtenir un résultat fiable.

III. Techniques de restauration de l'arganier (*Argania spinosa* (L.) Skeels)

La multiplication de l'arganier (*Argania spinosa* (L.) Skeels) peut être faite soit par voie sexuée (graines) soit par voie asexuée ou végétative (séparation de drageons, marcottage, bouturage et greffage). Par ailleurs, en plus de ces techniques traditionnelles, la culture *in vitro* « micro-propagation » est également possible (Bousselmame et al., 2001). Cette technique est basée sur la régénération d'une plante entière à partir de la mise en culture d'explant (cellules ou tissus végétaux) en milieu nutritif artificiel et en conditions axéniques contrôlées. Elle peut se faire par organogénèse, embryogénèse somatique, culture de protoplastes, culture de méristèmes, haplodiploïdisation, etc. Cependant, lorsqu'elle est initiée à partir d'un matériel juvénile, elle présente les mêmes inconvénients que la multiplication par graine, à savoir la non-conformité avec les génotypes mères (Nouaïm et al., 2007 ; Bellefontaine, 2010).

III.1. Multiplication de l'arganier par voie sexuée et asexuée

III.1.1. Multiplication par voie sexuée ou semis

La multiplication par voie sexuée fait intervenir deux structures reproductrices issues de la méiose, cellules reproductrices (gamètes) à n chromosomes. La fécondation ou l'union aléatoire du pollen (gamète mâle) avec l'ovule (gamète femelle) donne naissance à un œuf diploïde (zygote à $2n$ chromosomes). L'œuf, puis la nouvelle plante, possède la même quantité d'information génétique que ses deux parents et les nouvelles paires de chromosomes homologues présentent donc une nouvelle recombinaison allélique due à la fusion aléatoire des gamètes (Bhat et Swamy, 2004).

III.1.1.1. Multiplication par semis de l'arganier

La multiplication par semis (généralive ou sexuée) est un mode par lequel l'arganier se régénère naturellement. Dans la forêt, il se fait par le biais des graines qui tombent naturellement au sol sous les arbres et dont la germination est fortement liée aux conditions édapho-climatiques de la zone. Dans les pépinières forestières, la multiplication par semis est la plus utilisée pour la production de plants d'arganier destinés aux reboisements forestiers. En effet, ce mode de multiplication est simple, relativement facile et offre une descendance très diversifiée (Nouaïm et Chaussod, 1994). Cependant, l'arganier (*Argania spinosa* (L.) Skeels) subit l'aridité de son milieu où il n'est pas rare que les périodes de sécheresse couvrent plusieurs années consécutives (Peltier, 1983). Il subit également la pression accélérée et grandissante des actions anthropiques, avec l'exode rural et l'urbanisation rapide et anarchique des plaines ainsi que les effets dévastateurs des coupes affouagères en bois de chauffage et du surpâturage causé par les troupeaux caprins et camelins locaux et des grands transhumants broutant le feuillage et les fruits en montagne (De Waroux, 2013a). En raison de cette destruction, l'arganier ne se régénère ni naturellement par semis sous l'arbre, ni de façon artificielle en plantations, sauf exceptionnellement en bordure d'oueds ou dans des endroits très protégés notamment dans les tapis denses d'euphorbes, et sous les rares jujubiers épineux qui subsistent dans les sous-bois (Mellado, 1989). Par ailleurs, la régénération de l'arganier par semis naturel est pratiquement absente à cause du ramassage excessif et quasi systématique des fruits, du broutage par le bétail des rares plantules issues de la germination des noyaux restant mais aussi, à cause des conditions du milieu défavorables à la germination spontanée des noyaux et à l'établissement des plantules (M'hirit, 1989). Pour remédier à cette situation, la régénération artificielle par l'élevage en pépinière et la transplantation de jeunes plants d'arganier a été entreprise dans

plusieurs périmètres de reboisement. En revanche, les plantules produites en pépinière par semis de noyaux entiers sont hétérogènes et leur taux de levée est très faible (Bouzoubaâ et Mousadik, 2003 ; Alouani et Bani-Aameur, 2014). Ce faible rendement est dû d'une part à l'effet combiné de la non-viabilité et de la dormance des semences (tégumentaire et embryonnaire) et d'autre part à la fonte de semis en pré-émergence et en post-émergence attribuée principalement au *Fusarium* spp, et aux rongeurs (Bani-Aameur et alouani, 1999). Cependant, les plantules issues de semis ont une croissance très lente et une production aléatoire de mauvaise qualité. En effet, il faudrait probablement une dizaine à une quinzaine d'années pour que ces plantules grandissent et deviennent défensables (Nouaïm et Chaussod, 1994 ; Alouani et Bani-Aameur, 2014 ; De Waroux et Lambin, 2012). D'où l'intérêt de s'orienter vers la domestication de l'arganier et l'adoption des modes de multiplication végétative plus appropriées pour reproduire de façon conforme des arbres sélectionnés, préserver leurs caractères de performance (productivité en huile et résistance) et diminuer la pression sur l'arganier forestier (Nouaïm et al., 2007 ; Bellefontaine et al., 2010).

III.1.1.2. Avantages et inconvénients du semis

a) Avantages

- Technique simple et en général peu coûteuse ;
- Possibilité de multiplication par semis de la plupart des espèces et conservation facile des graines ;
- Transmission faible des maladies (virales en particulier) par la graine ;
- Obtention d'un grand nombre de semences avec peu de pieds-mères ;
- Mécanisation du semis possible dans de nombreux cas ;
- Conservation des caractères génétiques et spécifiques des plantes tout en créant de la variation génotypique et phénotypique, à travers la recombinaison des gènes due au brassage intrachromosomique et interchromosomique ;
- Adaptation des espèces aux aléas climatiques, facilitant leur survie et leur évolution ;
- Amélioration génétique des espèces en sélectionnant les individus présentant des caractères agricoles jugés intéressants afin d'améliorer quantitativement et qualitativement la production.

b) Inconvénients

- Transmission des caractères de la plante-mère à sa descendance parfois imparfaite : méthode de reproduction souvent infidèle ;

- Reproduction par semis impossible pour certaines espèces dont la floraison est parfois difficile ou nulle ;
- Végétation des plants issus du semis parfois hétérogène ;
- Temps entre la plantation et la fructification parfois très long : la juvénilité des plants retarde leur entrée en production.

III.1.2. Multiplication végétative ou asexuée

III.1.2.1. Techniques de multiplication végétative de l'arganier

La multiplication végétative, appelée aussi reproduction asexuée, est un mode de régénération et de dissémination perpétuel des végétaux à partir de certains de leurs tissus ou organes végétatifs (tige, feuille, racine, bourgeon etc.) pouvant se détacher de l'organisme parental et donner des individus complets. Un seul parent est donc nécessaire, on parle souvent de ce parent comme étant le pied mère (Davies Jr et al., 2017). La multiplication végétative est une technique de reproduction des végétaux qui se déroule indépendamment des phénomènes de sexualité (méiose et fécondation). D'un point de vue génétique, ce phénomène ne fait pas intervenir les gamètes et n'entraîne aucune recombinaison génétique, mais plutôt un autre processus très strict de division cellulaire (totipotence) qui remet à zéro « l'horloge cellulaire » de la plante à travers la différenciation sous forme de tissus somatiques et méristématiques (Boutherin et Bron, 2013). A l'inverse du semis qui donne de nouveaux spécimens (avec un nouveau patrimoine génétique), la multiplication végétative consiste à faire une copie conforme du génome de la plante mère pour la perpétuer dans de nouveaux lots homogènes d'individus (clones), d'où le nom de reproduction clonale (Bhojwani et Razdan, 1996). On peut donc considérer la multiplication végétative comme fixatrice et conservatrice du stock génotypique d'une population issue d'un individu de patrimoine génétique et de caractères héréditaires jugés intéressants, acquis au cours des vicissitudes de la reproduction sexuée. Cette caractéristique permet à une espèce végétale de coloniser rapidement un milieu qui lui est favorable (Hartmann et al., 1997). Par ailleurs, la multiplication végétative est un outil de sélection et d'amélioration génétique qui permet de conserver des copies des meilleurs arbres dans des parcs à clone et surtout créer des vergers à graines de valeur additive élevée. Elle est ainsi la méthode de propagation la plus efficace pour la production commerciale de plants industriels pouvant répondre aux besoins de la conduite horticole moderne (Beyl et Trigiano, 2016). Les techniques de multiplication végétative à faible coût sont attractives pour les populations rurales riveraines, les agroforestiers et les pépiniéristes du sud-ouest marocain, car elles permettent la reproduction d'arbres sélectionnés pour leurs usages multiples (fruitier, fourrager, pharmacopée, etc.) et la

réalisation de vergers productifs de plants à croissance plus rapide et à maturité plus précoce, ce qui raccourcit le retour sur investissement. Ces techniques sont rustiques et très aisément reproductibles. Elles n'exigent ni intrants coûteux, ni connaissances particulières et leurs bases sont simples et rudimentaires pouvant être acquises en quelques heures de formation par les populations rurales de pays en développement (Meunier et al., 2006 ; Ezekiel, 2010 ; Bellefontaine et al., 2015). La multiplication végétative à faible coût de l'arganier constitue une source de revenus supplémentaires pour les femmes rurales, ce qui permettrait à l'évidence l'amélioration des conditions de vie des communautés rurales (Kenny et De Zborowski, 2007 ; Bellefontaine, 2018). De plus, c'est un outil favorisant la domestication des espèces ligneuses à usages multiples pour toutes les zones (du semi-aride à l'humide) (Meunier et al., 2006 ; Bellefontaine, 2010). Elle regroupe principalement, le bouturage (de tiges, de branches, de rejets de souche, de feuilles ou de racines), le marcottage terrestre (par simple contact avec le sol ou provoqué), le marcottage aérien et le drageonnage (naturel ou artificielle) (figure 14). Ainsi, le bouturage est le mode de multiplication végétative le plus efficace, le plus économique et le plus utilisé pour produire en grandes quantités des plants sans altérer leur patrimoine génétique (Dai et al., 2004 ; Cheng et al., 2006 ; Sbay et Lamhamedi, 2015).

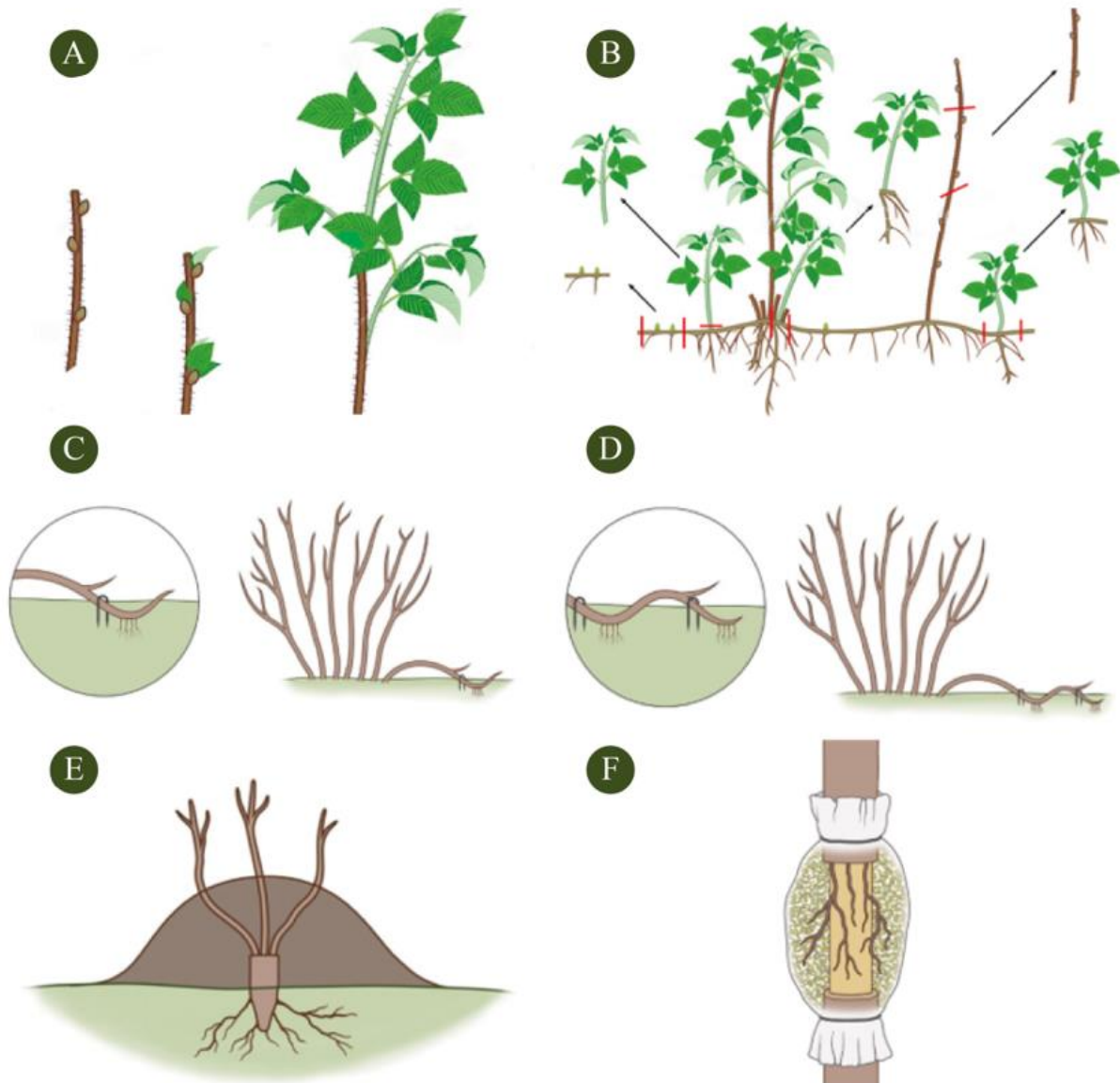


Figure 14. Techniques de multiplication végétative à faible coût. (A) le bouturage (cutting) de rameau simple feuillé ; (B) le drageonnage (suckering); (C) le marcottage (layering) par couchage ; (D) marcottage en serpenteau ; (E) le marcottage en cépée ; (F) le marcottage aérien (Bellefontaine et al., 2015).

III.1.2.2. Techniques de bouturage

Le bouturage est probablement la technique agroforestière de multiplication la plus communément employée par le plus grand nombre de pépinières produisant des espèces ligneuses (horticoles et sylvicoles) par voie végétative (Bhat et Swamy, 2004). Ce procédé de multiplication est relativement simple, rentable et très avantageux pour obtenir à grande échelle de nombreux plants uniformes pour les vergers modernes en agroforesterie. Le bouturage de masse est souvent appelé macro-propagation par opposition à la micro-propagation réservée à la multiplication en masse *in vitro* (Jackson, 1986). Depuis le début de l'agriculture au

Néolithique, il y a 12 000 ans avant J.-C., le paysan sédentarisé a progressivement appris à mettre en culture des plantes herbacées annuelles et vivaces ainsi que des plantes ligneuses, en se fondant sur leur comportement dans la nature (Demoule, 2013). En effet, l'idée de faire des boutures fut, sans doute, comme un grand nombre de découvertes précieuses, le produit du hasard avant de se mettre à imiter la magie de la nature et en arriver à innover en bouturage par la mise au point de procédés agricoles. La première expérience fut de multiplier les vieux arbres par bouturage pour l'afforestation directe. Cependant, il s'avéra rapidement que ce n'était pas possible, sauf pour un nombre limité d'espèces. Ensuite, une deuxième idée vint essentiellement de Kleinschmit *et al.* (1973) qui a eu le mérite de réaliser brillamment le bouturage en masse (à grande échelle) des individus jeunes issus de bonnes provenances. En effet, les individus jeunes étaient beaucoup plus faciles à bouturer que les vieux arbres. Les premiers travaux sur le bouturage de l'arganier qui ont été menés par Platteborze (1977) sur des boutures herbacées issues d'arbres adultes n'ont pas donné satisfaction puisque le pourcentage d'enracinement était faible.

a) Principe du bouturage

Le bouturage est une technique de multiplication végétative qui consiste à prélever sur un végétal, appelé pied mère, un organe ou un fragment d'organe dépourvu de racines, appelé bouture (pousse, tige, feuille) et à le mettre dans des conditions favorables à la rhizogenèse et au débourrement afin de reformer les parties qui manquent et reconstituer une plante complète. En effet, le bouturage consiste à prélever la bouture de la plante-mère et de la placer en terre avant tout phénomène d'enracinement, à la différence du marcottage terrestre ou aérien qui implique la rhizogenèse d'une partie aérienne de la plante mère puis la séparation de l'organe végétatif (Hartmann *et al.*, 2002). Ainsi, le bouturage englobe différentes étapes telles que : la sélection des arbres élites, l'installation du parc à bois, la collecte des boutures saines et uniformes, la préparation et la plantation, le suivi, la mise en pot de boutures enracinées, la cicatrisation, l'induction, l'initiation, l'élongation du système racinaire et l'endurcissement. Ces étapes doivent être franchies avec succès pour que la bouture puisse donner naissance à un plant fonctionnel et autonome (Sbay et Lamhamedi, 2015).

b) But du bouturage

En amélioration génétique des arbres forestiers, les buts du bouturage, à partir d'un individu donneur de qualité (arbre élite), sont de créer soit des parcs à clones, soit des vergers à graines, soit surtout de multiplier en masse des plants pour le reboisement direct (Martin, 1976). Par

ailleurs, le bouturage des arbres adultes d'arganier permet de sauvegarder les phénotypes les plus productifs en huile sous forme de pieds mères à partir desquels seront produits les plants destinés à l'installation de vergers modernes d'arganiers oléagineux. Les résultats des premiers travaux sur le bouturage de l'arganier ont montré un assez faible pourcentage de réussite. Ceci est dû soit à une mauvaise maîtrise des techniques ou à des tissus végétaux inappropriés, par exemple des boutures prélevées sur une mauvaise position (topophysis), ou sur de vieux arbres ou testées en dehors de la saison la plus propice (cyclophysis) avec un emploi inadéquat d'hormones de bouturage, etc. (Nouaïm *et al.*, 2007).

c) Type de boutures de rameaux feuillés

Les boutures de rameaux feuillés (BRF) est un mode de bouturage qui concerne la majorité des espèces à usages multiples avec des succès variables. Cette technique consiste à prélever sur la plante un fragment de tige avec les feuilles afin de la faire repartir en substrat (Meunier *et al.*, 2006). Ces boutures sont formées à l'aide de fragments de rameaux sur lesquels on fait développer des racines pour les transformer en individus complets. Les diverses sortes de boutures au moyen de fragments de tige sont assez nombreuses (Hartmann *et al.*, 1997).

- Boutures par rameaux simples

La bouture simple (BS) consiste à prélever des fragments de 10 à 20 cm (selon le nombre de nœuds) de rameaux nés l'année précédente (figure 8). Chaque extrémité de la bouture doit être terminée par un nœud, afin qu'ils permettent le développement de la bouture (Bird, 2014). Les boutures sont plantées en lignes plus ou moins distantes, en ne laissant apparaître que deux nœuds de l'extrémité supérieure et en comprimant la terre contre la base de la bouture. La bouture simple se prête bien à la multiplication de la plupart des plantes annuelles, pluriannuelles, herbacées, semi-ligneuses et ligneuses (Dumroese *et al.*, 2009).

- Boutures par rameaux à talon

La bouture à talon (BT) consiste à prélever des fragments de 10 à 20 cm (selon le nombre de nœuds) de rameaux nés l'année précédente avec une petite portion du corps ligneux de la branche sur laquelle ils étaient rattachées (figure 15). Les plaies qui en résultent donnent souvent lieu à des chancres « cancer des arbres » prenant typiquement un aspect tumoral caractérisé par une lésion nécrosée du tissu ligneux externe de la plante, ce qui entraîne, petit à petit, la destruction et la perte de l'arbre. Afin d'éviter ces accidents, il est bon de recéper entièrement les tiges pour stimuler l'induction des bourgeons vigoureux et permettre ainsi aux

souches de fournir, tous les deux ans, une abondante récolte de boutures à talon (Bird, 2014). Les boutures à talon s'enracinent plus facilement, car l'empatement de la base offre une plus grande quantité de phytohormones (auxine) qui favorisent la formation des racines. Cette technique se fait soit à la main ou au greffoir et s'applique à des arbustes à feuillages persistants (Dumroese *et al.*, 2009).

- **Boutures par rameaux en crossettes**

La bouture en crossette (BC) consiste à prélever des fragments de rameaux nés l'année précédente qui conservent à leurs bases une portion de bois plus ancien de la branche à laquelle elles étaient rattachées (figure 8). La longueur de la bouture varie de 20 à 30 cm (selon le nombre des nœuds) et celle de la portion de la branche de 10 à 15 cm (Bird, 2014). Les boutures en crossettes sont plantées sur un angle d'environ 45° en ne laissant sortir de terre que deux boutons de l'extrémité supérieure. Les boutures en crossette facilitent l'enracinement des espèces récalcitrantes car, la portion de bois le plus ancien de la branche à la base, offre une quantité importante d'auxine qui favorisent la formation des racines (Dumroese *et al.*, 2009).

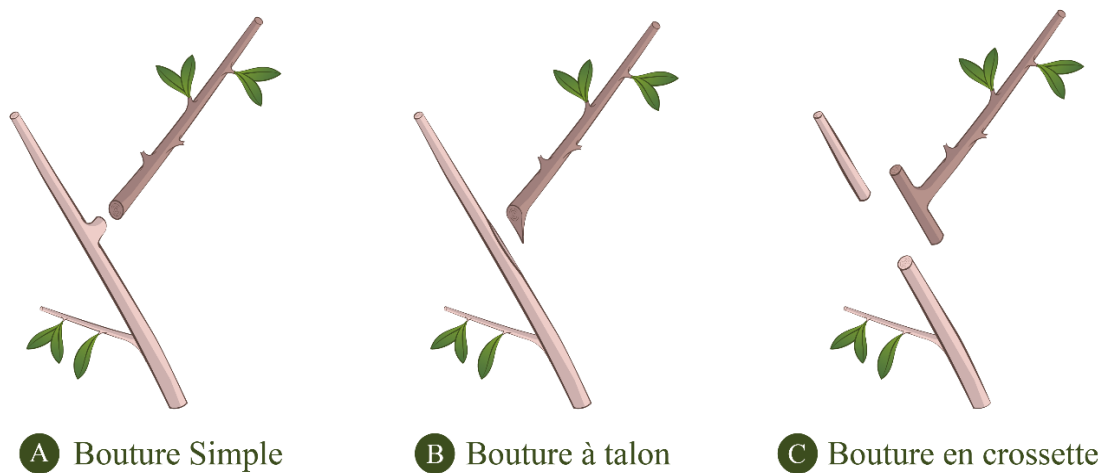


Figure 15. Types de boutures de rameaux feuillés. A : Bouture simple ; B : Bouture à talon ; C : Bouture en crossette (Source : Dumroese *et al.*, 2009).

III.1.2.3. Avantages et inconvénients du bouturage

Les avantages du bouturage sont semblables à ceux de la multiplication végétative (homogénéité, reproduction fidèle) et les inconvénients ne sont pas négligeables (obligation d'avoir des pieds-mères, problèmes sanitaires, etc.). Cependant, les avantages l'emportent nettement, ce qui fait du bouturage un procédé de multiplication très courant en horticulture et en sylviculture (Sadhu, 1994).

a) Avantages du bouturage

Les principaux avantages du bouturage par rapport à la production de plants issus de semis sont les suivants (Sbay et Lamhamedi, 2015) :

- Technique de multiplication végétative la plus sûre qui permet de reproduire fidèlement les caractéristiques du pied mère (génétiquement identique) et facilite la distinction des individus montrant une plus grande uniformité ;
- Procédé de multiplication moins onéreux, relativement simple et sa maîtrise est aisée pour les pépiniéristes. Il met à la disposition des agroforestiers et des populations rurales des plants à croissance plus rapide que ceux obtenus par multiplication sexuée qui présente le problème de dormance, au moins pendant les premières années raccourcissant ainsi le cycle reproductif et le fossé de retour sur investissement ;
- Méthode facilitant l'avancement des connaissances sur la physiologie, la sélection ciblée multicritères, l'intégration de la foresterie multi-variétale à l'échelle opérationnelle et la multiplication des pieds mères issus de croisements dirigés et destinés aux reboisements intensifs de haute productivité ;
- Mode de multiplication permettant de fixer un génotype intéressant obtenu par reproduction sexuée, phénomène d'autant plus important que l'espèce présente une forte hétérozygotie dans la descendance ;
- Les plants vigoureux et résistants aux agents pathogènes (champignons, virus, etc.) présentant ce mode de reproduction sont dans une situation éminemment favorable pour conquérir un biotope à partir d'un individu dont le génotype est bien adapté aux conditions édapho-climatiques de ce site ;
- Technique permettant la multiplication des végétaux pour lesquels la fructification est aléatoire, peu ou non fructifère et aussi de pallier à l'hétérogénéité des porte-greffes obtenus par voie sexuée et de multiplier des porte-greffes compatibles ;
- La séparation des sexes entre les pieds mâles et femelles chez les espèces dioïques est une raison supplémentaire pour privilégier la multiplication par bouturage ;
- Méthode obligatoire pour de nombreuses espèces qu'elles soient haploïdes, triploïdes et d'une manière générale polyploïdes, hybrides, mutantes ou autres...

b) Inconvénients du bouturage

Les principaux inconvénients du bouturage des arbres fruitiers et forestiers sont les suivants (Sbay et Lamhamedi, 2015) :

- Les techniques de bouturage spécifiques à chaque essence nécessitent des entretiens obligatoires des pieds-mères ;
- La production des plants forestiers par bouturage est limitée à la quantité de boutures produites par les pieds-mères ;
- Certaines espèces comme le cèdre de l'Atlas (*Cedrus atlantica* Malelli (Endl.) carrière) ou certains pins (pin d'Alep (*Pinus halepensis* Mill.), pin maritime (*Pinus pinaster* Aiton) et pin noir (*Pinus nigra* Arn.) sont réfractaires à cette technique, puisque leurs boutures sont récalcitrantes à l'enracinement ;
- La réussite de l'enracinement des boutures de certaines espèces comme l'arganier (*Argania spinosa* (L.) Skeels) ou le chêne liège (*Quercus suber* L.) dépend largement des conditions environnementales ;
- Chez la majorité des espèces ligneuses, la capacité d'enracinement des boutures est influencée par l'âge des pieds-mères. Les boutures prélevées sur des pieds-mères âgés ont un état de juvénilité dégradé et un taux d'enracinement réduit ;
- Dans certains programmes de reboisement, le recours à la foresterie clonale peut être accompagné d'une réduction de la diversité génétique, due principalement à l'augmentation de l'auto-consanguinité, l'incompatibilité phénologique et l'hybridation forcée ;
- L'effet du bouturage contribue parfois à l'augmentation de l'hétérogénéité intraclonale et figure parmi les obstacles au bouturage du matériel prélevé sur des arbres adultes ;
- Le bouturage pourrait facilement favoriser le développement, l'accumulation, la transmission et la propagation de certaines maladies virales, bactériennes et à degré moindre fongiques à cause de la monoclonie ;
- A l'inverse de la multiplication par semis, l'aptitude des boutures à la mécanisation est difficile ;
- Les coûts élevés du processus et les faibles taux d'enracinement et de survie des plants exigent l'adoption de techniques de bouturage spécifiques à chaque essence et des réajustements et des optimisations continues.

III.1.2.4. Production et contrôle des plants standards d'arganier par bouturage

Le règlement technique relatif à la production et au contrôle des plants standards d'arganier a pour objectif d'établir les conditions et les règles que les pépiniéristes doivent respecter pour produire des plants certifiés.

a) Étapes de production de plants standards d'arganier par bouturage

La production et la multiplication de plants standards d'arganier doivent obéir à un système de production très rigoureux décrivant avec précision toutes les informations concernant la vie du plant et son processus de production depuis le prélèvement du matériel végétal de départ sur les pieds mères jusqu'à la plantation dans le verger. Il est nécessaire de remonter de la destination des plants produits jusqu'à la délimitation des zones de prélèvement (Jaenicke, 2006).

- Délimitation des zones de prélèvement des boutures

Les zones de prélèvement des boutures doivent être bien identifiées, codées, délimitées moyennant le système d'information géographique (SIG) et décrites sur le plan de la superficie, de la densité de peuplement à l'hectare et des caractéristiques pédologiques de la rhizosphère de ces zones. En absence de variétés fixées, ces zones seront considérées comme des parcs à bois provisoires autorisés pour une exploitation pendant la période transitoire. Afin d'éviter l'exploitation abusive des zones de prélèvements, leur délimitation ainsi que la durée de leur exploitation feront l'objet de contrôles effectués par l'ANDZOA assistée par l'ONSSA, les Directions Régionales de l'Agriculture (DPA) et le Haut-Commissariat aux Eaux et Forêts et à la Lutte Contre la Désertification (HCEFLCD). En cas de surexploitation, la zone en question sera interdite de tout prélèvement (Dupraz et Liagre, 2008 ; MAPM, 2013).

- Identification et description des pieds mères

Les arbres utilisés comme pieds-mères pour le prélèvement des boutures doivent faire l'objet d'une caractérisation concernant les aspects morphologiques (hauteur de l'arbre, vigueur, port, surface d'ombre, degré de développement des feuilles, degré de présence d'épines, etc.), pomologiques (forme des fruits, poids moyen de 100 fruits, rendement à l'arbre, rendement en concassage (%), etc.), production et teneur en huile. Ces arbres doivent également faire l'objet d'une identification moyennant les coordonnées GPS, et numérotés dans chaque zone de prélèvement définie (Jackson, 2012 ; MAPM, 2013).

- **Description du mode de multiplication par bouturage**

Le mode de multiplication par bouturage doit être précisé sur les étiquettes par la lettre « B » et décrit pour chaque lot de plants (MAPM, 2013).

- **Prélèvement du matériel végétal**

Le prélèvement doit se faire par des pépiniéristes agréés par le ministère chargé de l'agriculture et contrôlées par les services de l'ONSSA, à partir d'arbres identifiés dans les zones de prélèvement délimitées. Le prélèvement doit être effectué de préférence de très bonne heure le matin, où l'air est plus calme et moins chargé de poussières et la zone de prélèvement ne doit présenter aucune cicatrice d'élague naturel, ni aucune irrégularité de surface et se trouver à une hauteur commode pour l'exécution du travail (Boutherin et Bron, 2013 ; MAPM, 2013).

- **Attribution de numéro de lot**

Chaque prélèvement portera un numéro de lot qui doit être maintenu jusqu'à la plantation. Le numéro de lot devra faire référence aux éléments suivants : le code de la zone, le numéro de l'arbre, le mode de multiplication (B), le numéro de la pépinière agréée, les dates de production et de prélèvement (Jaenicke, 2006 ; MAPM, 2013).

- **Enregistrement de la traçabilité**

Au cours du processus de la multiplication, les pépinières de production de plants standards d'arganier sont contrôlées par les services de l'ONSSA, toutes les étapes inscrites dans un registre concernant les informations relatives à la zone, les coordonnées des arbres élites à partir desquels les boutures sont prélevées, les dates de prélèvement du matériel végétal, le nombre de boutures prélevées, la période et la saison de multiplication, l'état sanitaire, le développement des plants, le nombre de plants produits, les quantités livrées et les dates de livraison ainsi que la destination des plants (Dupraz et Liagre, 2008 ; MAPM, 2013).

- **Étiquetage et commercialisation des plants**

A la livraison, l'étiquetage doit être de couleur jaune parfaitement lisible pour faciliter la traçabilité de la commercialisation des plants. En effet, les étiquettes appropriées doivent mentionner les éléments définis par la réglementation (étiquettes officielles pour les plants certifiés) comme le nom de la pépinière et le numéro de lot. L'étiquetage est sous l'entière responsabilité des pépiniéristes. Par ailleurs, ceux-ci ne peuvent commercialiser les plants

produits que s'ils sont agréés par les services du ministère de l'agriculture. Ainsi, ils sont dans l'obligation de déclarer à l'ONSSA, au mois de septembre de chaque année, leurs quantités de plants produits, leurs ventes et la situation de leurs stocks disponibles en plants certifiés (Jaenicke, 2006 ; MAPM, 2013).

b) Qualité des plants de l'arganier

Les plants d'arganier produits dans les pépinières doivent répondre aux caractéristiques qualitatives suivantes : être homogènes, avoir un chevelu racinaire abondant et bien développé ; avoir été élevés en conteneur d'un volume d'au moins 350 cc (centimètre cube) ; avoir un large diamètre au collet de la tige (au moins 10 mm) ; respecter une taille minimale de 20 cm ; avoir un feuillage adapté au soleil ; être indemnes de toute contamination par les organismes nuisibles au moment de leurs livraisons (Jaenicke, 2006 ; MAPM, 2013).

c) Suivi des plantations de l'arganier

Après plantation, les agriculteurs doivent assurer la continuité de la traçabilité, sous la supervision de la Direction Régionale de l'Agriculture (DPA) concernée et l'Agence nationale pour le développement des zones oasiennes et de l'arganier (l'ANDZOA), par le maintien de registres, jusqu'à l'entrée en production des plantes. A ce titre, les vergers modernes plantés doivent être identifiés par un système d'information géographique ou SIG (Dupraz et Liagre, 2008 ; MAPM, 2013).

III.2. Mécanisme d'enracinement des boutures chez les ligneux

III.2.1. Aspect morphologique

III.2.1.1. Historique des racines

La paléobotanique ou étude des plantes fossiles, a démontré qu'au cours du Cambrien (il y a quelques 500 Ma), les terres émergées étaient totalement dénuées de toute végétation. Ainsi, les formes de vies primitives foisonnaient dans les océans, mais sur terre, c'était la désolation. Par ailleurs, les tous premiers végétaux qui ont commencé à coloniser, au début de l'ère primaire, les environnements côtiers des continents n'avaient pas de racines (Cundy et Shin, 2017). La végétation proprement dite issue du milieu aquatique a commencé réellement la colonisation des terres émergées un peu plus tard, entre le milieu de l'Ordovicien (- 470 Ma) et le milieu du Silurien (- 430 Ma) et ceci lorsque sur le littoral, les mousses ont commencé à apparaître là où la mer a déposé des sédiments. Durant les millions d'années qui ont suivi, les plantes ont évolué et se sont dotées de cellules spécialisées qui leur permettent le transport de l'eau et des nutriments vers les organes situés en hauteur. La vascularisation a facilité également la croissance verticale, et a ainsi permis l'apparition de grandes plantes terrestres (Murphy, 2011). Par ailleurs, ces plantes primitives ont développé une sorte de squelette hydraulique leur permettant d'aller chercher plus haut les rayons solaires et une couche de cire protectrice leur permettant de supporter la sécheresse, suite à quoi ont apparu de minuscules orifices appelés "stomates" leur permettant une respiration aérienne (Lüttge *et al.*, 2014). En outre, vu la faible quantité de nutriments dans le sol, car en fait le "sol" à proprement parler n'existait pas encore à ce moment de l'histoire, les plantes développaient de simples excroissances cellulaires de la partie inférieure, un peu semblables aux poils absorbants des racines actuelles (Eshel et Beeckman, 2013). Cependant, la végétation reste éparse, il fallait encore avancer dans le temps (quelques dizaines de millions d'années) pour que la végétation soit répandue sur tous les continents, bordant toutes les étendues d'eau. Les tiges ont été désormais bien solides et les premières forêts primaires peuplées ont apparu dès la fin de cette période nommée Dévonien (il y a quelques 380 Ma). Ce sont ces immenses forêts et leurs racines bien développées qui ont certainement contribué à la formation des sols (Holbrook et Zwieniecki, 2011). C'est également à cette époque que les premières plantes à feuilles font leur apparition ce qui, via le phénomène de photosynthèse, contribuent à l'enrichissement en oxygène de l'atmosphère de la planète (Teyssède, 2003). C'est ainsi que l'apparition de vraies racines a eu lieu en même temps que les plantes vasculaires vers le milieu de l'ère primaire. Les fossiles ont révélé aussi que ces

premières racines étaient déjà associées à des champignons symbiotiques intracellulaires, préfigurant les actuelles mycorhizes (Varma, 2008).

III.2.1.2. Morphologie des racines

La racine est construite sur un modèle assez différent de celui de la tige. Les événements se déroulent de manière linéaire au niveau du méristème racinaire et se succèdent de la pointe de la racine vers sa base. En effet, la jeune racine et ses ramifications présentent, en partant de l'extrémité distale, plusieurs zones chevauchantes (figure 16), à savoir : une zone embryonnaire comportant peu de divisions qui constitue le pôle de croissance (0, zone quiescente), protégée par une coiffe conique (-1, coiffe), sorte de capuchon et composée de cellules subérifiées se renouvelant constamment et permettant une meilleure pénétration de la racine dans le sol par la sécrétion de polyosides (lubrifiant). Puis se présente une zone dans laquelle les divisions sont nombreuses (1, zone de multiplication). Elle comprend le méristème apical et les méristèmes primaires, au niveau desquels se fait l'absorption des sels minéraux. Au-dessus de cette zone, les cellules des méristèmes subissent une auxèse importante et permettent à la racine de s'enfoncer dans le sol (2, zone d'élongation). Cette zone est le siège de la croissance en longueur, limitée à quelques millimètres, suivie par une zone pilifère ou assise pilifère (3, zone de différenciation) dans laquelle les cellules achèvent leur croissance et entrent dans des processus de différenciation. Cette zone garnie de poils absorbants (très fréquemment 300/400 par mm²) caractérise tous les végétaux dont les racines plongent dans la terre. Ces poils absorbants (trichoblastes ou poils racinaires), constitués d'une seule cellule très allongée à grande vacuole, meurent très vite et sont remplacés par d'autres au fur et à mesure de la croissance de la racine. Enfin, plus loin de l'apex et de manière variable selon les plantes, on retrouve une zone de ramification (4, zone d'organogénèse) au niveau de laquelle apparaissent des racines secondaires ayant les mêmes caractéristiques que la racine principale (Drénou, 2006 ; Johnson *et al.*, 2011).

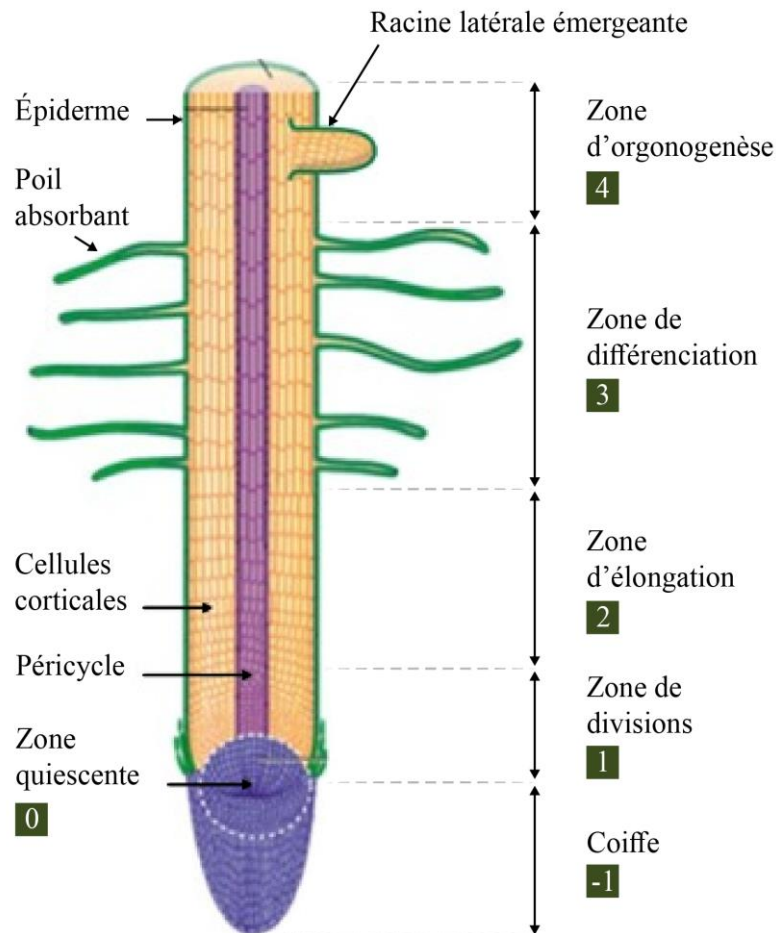


Figure 16. Structure de la racine et différentes zones du système racinaire (Péret et al., 2009).

III.2.2. Aspect anatomique des racines

La racine peut présenter deux types successifs de structure : la structure primaire chez les jeunes plantules et la structure secondaire chez les plantes plus âgées mais uniquement chez les dicotylédones des angiospermes et les gymnospermes (Kutschera et al., 2009).

III.2.2.1. Structure primaire

La structure primaire de la plante est une structure anatomique qui comprend les parties jeunes et souples des racines. En section transversale (figure 17), la racine est divisée en 2 parties :

a) L'écorce ou le rhytidome : est la couche de revêtement extérieur des racines. Elle est constituée du rhizoderme qui porte d'abord les poils absorbants de la racine (ou assise pilifère) puis une couche de cellules subérisées (l'assise subéreuse, lorsque la racine vieillit), et du parenchyme cortical, composé de grandes cellules polyédriques, qui assure le transport des éléments absorbés jusqu'au centre de la racine et leur diffusion à travers toute la plante (Johnson

et al., 2011). La partie la plus interne du cortex (écorce) dans les jeunes racines est souvent constituée d'une couche de cellules épaissies sous forme d'une barrière qui contrôle le cheminement des molécules circulant dans la racine, c'est l'endoderme (Crang *et al.*, 2018).

b) Le cylindre central ou stèle : est la partie au centre de la racine qui contient les tissus vasculaires de la racine. Il est composé tout d'abord du péricycle (tissu primaire vivant), une couche unique de cellules correspondant à l'extrémité du cylindre central entourée de l'endoderme. Il peut se transformer en méristème et recommencer à se diviser pour former les ramifications de la racine. Viennent ensuite les deux types de tissus conducteurs (transport de la sève), le xylème (ou bois) qui est un faisceau de cellules conduisant la sève brute vers les feuilles et le phloème (ou liber) qui est le faisceau de cellules qui redistribue la sève élaborée dans toute la plante. Contrairement à la tige, ces deux types de tissus, issus d'une couche intermédiaire de procambium, ne sont pas groupés en faisceaux : ils sont disposés sur des rayons différents et alternes. Enfin, au centre de la stèle, on trouve la moelle, composée de parenchyme médullaire de réserve (tissu fondamental) qui a été mise en place par le procambium et non par le méristème fondamental (Kutschera *et al.*, 2009).

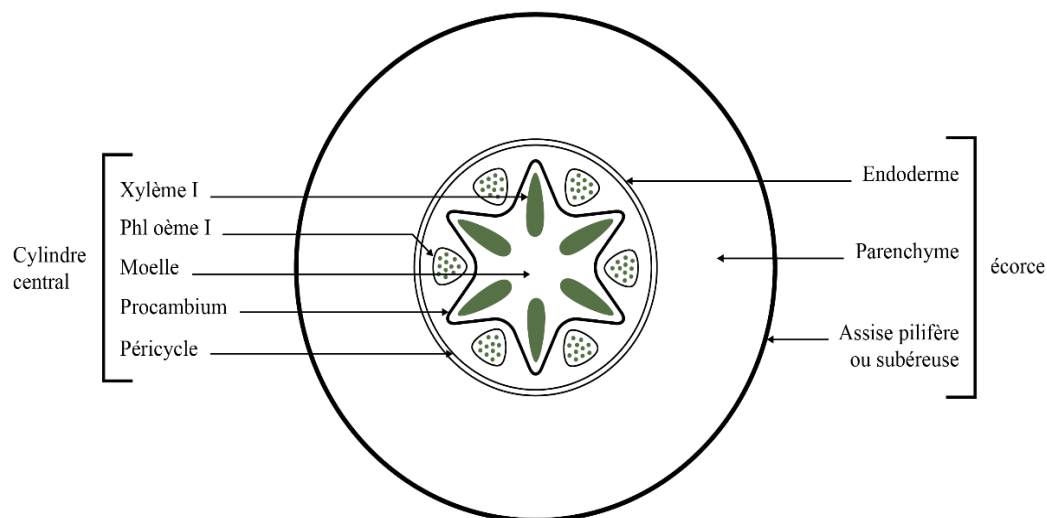


Figure 17. Structure primaire d'une racine (Drénou, 2006).

III.2.2.2. Structure secondaire

Il s'agit d'une structure anatomique qui ne se met en place que chez les plantes pluriannuelles. Sur une coupe transversale d'une racine (figure 18), on observe l'apparition d'un cambium continu, qui apparaît sous une forme étoilée au début de la croissance et devient progressivement circulaire avec la croissance de la racine en épaisseur (Eshel et Beeckman, 2013). Le cambium vasculaire (assise génératrice libéro-ligneuse), appelé parfois assise

interne, va créer les tissus de conduction secondaires que sont le liber (phloème secondaire) vers l'extérieur, et le bois secondaire (xylème secondaire) vers l'intérieur (Kutschera *et al.*, 2009). Le cambium cortical (phellogène) situé vers la périphérie de la racine (assise génératrice subéro-phellodermique), appelé parfois assise externe, va créer les tissus de protection que sont le phelloderme (tissu parenchymateux) vers l'intérieur et le suber (le liège) vers l'extérieur. Les racines peuvent aussi devenir plus ligneuses au fil des ans, grâce à des méristèmes secondaires (Bowes et Mauseth, 2008).

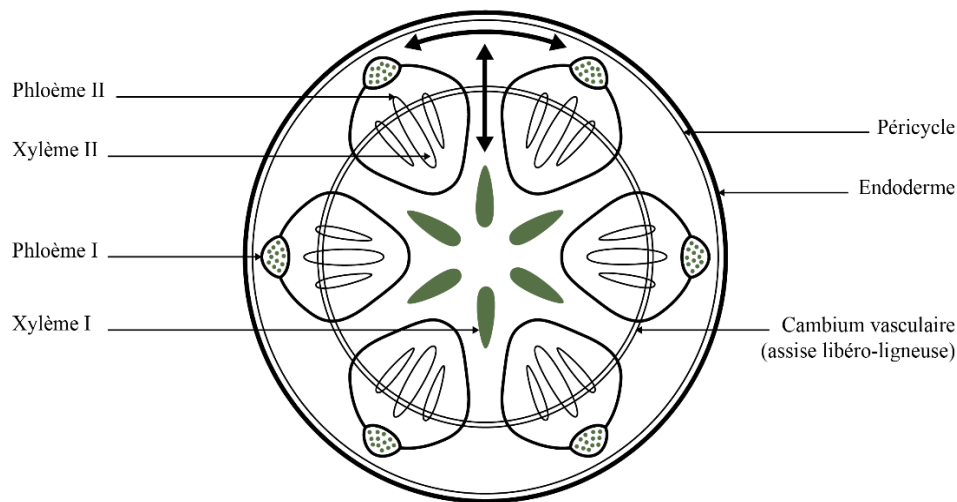


Figure 18. Structure secondaire d'une racine (Drénou, 2006).

III.2.3. Aspect physiologique des racines

III.2.3.1. Formation des racines

La rhizogenèse est l'ensemble des phénomènes qui conduisent à la formation des racines. C'est une étape clé dans la multiplication végétative (Steffens et Rasmussen, 2016). Elle est conditionnée par plusieurs facteurs limitants : disponibilité en sels minéraux et en sucres, température, lumière et développement foliaire (Ryan *et al.*, 2016).

a) Racines principales

La racine principale est issue du développement de l'ébauche racinaire (radicule) après germination de la graine. En effet, la radicule est la forme embryonnaire de la racine principale d'une plante. C'est la première structure apparente de la plantule qui émerge de la graine après germination. Elle pousse vers le bas (géotropisme positif), à partir de l'hypophyse (ou apophyse). Au-dessus de la radicule, se trouve l'hypocotyle, qui porte les cotylédons (Chrispeels et Sadava, 2003).

b) Racines latérales

Après le développement de l'embryon, la racine primaire peut se ramifier et former des racines latérales ou secondaires. Celles-ci se forment de manière endogène (organes d'origine interne) à proximité de l'apex à partir du péricycle (assise cellulaire située entre l'écorce et la stèle) (Kareem *et al.*, 2016). Ce phénomène nécessite une dédifférenciation cellulaire et l'organisation de nouveaux méristèmes racinaires (figure 19). En effet, les cellules du péricycle situées en face d'un pôle vasculaire se divisent (A). Elles se dédifférencient et retournent à l'état méristématique (B). Le massif méristématique formé se développe et forme une extrusion dans le parenchyme cortical bourré de réserves, généralement des amyloplastés (C). Le massif méristématique s'organise en méristème typique de racine (D). Son fonctionnement devient alors similaire à celui du méristème racinaire de la racine principale (Szymanowska-Pułka *et al.*, 2012).

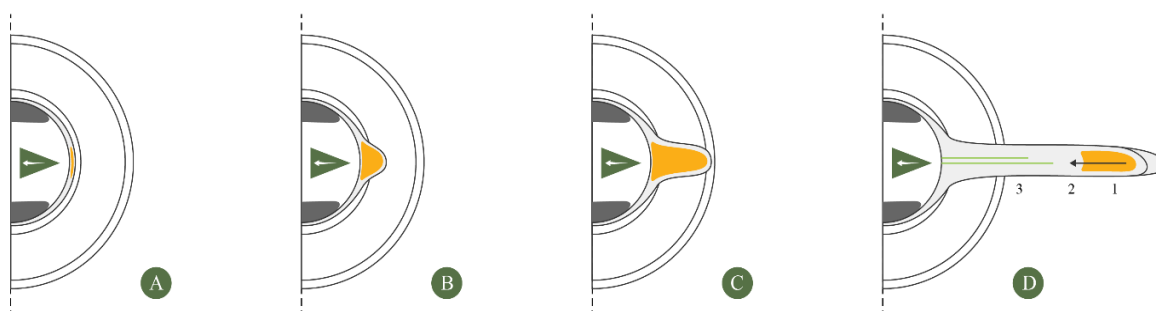


Figure 19. Etapes de la formation de la racine latérale ou secondaire (Bowes et Mauseth, 2008).

c) Racines adventives

Les racines adventives sont des racines post-embryonnaires qui se forment autrement que sur l'embryon ou par ramification de la racine primaire, soit de manière constitutive (naturelle), soit de façon accidentelle, fortuite et inhabituelle (blessure ou stress) ou encore si les conditions de bouturage sont modifiées (Li *et al.*, 2009 ; Bellini *et al.*, 2014). La capacité d'enracinement adventive est variable et les facteurs qui l'influencent sont complexes. L'emplacement exact des racines adventives varie considérablement ; pour autant, elles se développent habituellement à proximité des tissus vasculaires afin qu'elles puissent se connecter au xylème et au phloème. En effet, chez les jeunes tiges, un îlot de cellules méristématiques de type primaire se développe directement à partir du cambium, puis s'organise ensuite en un méristème de type racinaire (Davis et Haissig, 2013). À la base de la bouture à croissance secondaire et essentiellement à partir du cambium, une prolifération cellulaire intense aboutit à la formation d'un cal. À l'intérieur de ce cal, certaines cellules évoluent en cellules méristématiques de type primaire, puis s'organisent en méristèmes de type racinaire (Naija *et al.*, 2008).

III.2.3.2. Physiologie des racines

L'absorption d'eau et de sels minéraux par les racines dépend non seulement de leur concentration dans le sol et du pH du sol mais aussi de l'évapotranspiration. Le mécanisme d'absorption racinaire d'une plante est analysé selon deux points de vue : thermodynamique ou mécanistique. L'analyse thermodynamique s'intéresse à la nature de la source d'énergie impliquée dans le transport des ions au travers des membranes. L'analyse mécanistique s'intéresse, elle, aux modes de fonctionnement des systèmes de transport au niveau moléculaire, par exemple à la façon dont la perméation du substrat est réalisée. Dans la racine, le transport d'eau s'effectue de façon radiale, des poils absorbants vers la stèle centrale où se trouve le xylème (vaisseaux conducteurs de la sève brute), en traversant la paroi ou le cytoplasme des cellules du cortex. Ensuite, après avoir franchi la barrière endodermique, l'eau et les sels minéraux sont entraînés par le flux de sève brute à travers le xylème (vaisseaux ou trachéides conducteurs) pour être distribués à tous les organes aériens de la plante (Hopkins, 2003).

a) Absorption : Transport latéral (radial) dans la racine

À l'interface du sol et de la racine, les ions minéraux de la solution extérieure se déplacent tout d'abord librement en empruntant la voie apoplasmique puis par la voie symplastique, vers les cellules internes. Dans ce trajet vers les vaisseaux conducteurs, ils rencontrent deux barrières cellulaires à la diffusion des substances provenant du sol vers les tissus conducteurs de la stèle : l'exoderme et l'endoderme (figure 20) (Lüttge et Pitman, 2012).

- La barrière exodermique résulte de la différenciation de la première couche cellulaire sous le rhizoderme (ancien hypoderme). Elle se différencie plus lentement à partir d'une certaine distance (environ une dizaine de centimètres) de l'apex chez la plupart des espèces. Cette barrière joue un rôle important dans l'adaptation de la racine à son environnement.
- La barrière endodermique, qui constitue la limite entre le cortex et la stèle de la racine, est présente chez toutes les espèces (Morte et Varma, 2014). L'endoderme se différencie rapidement au-dessus de l'apex racinaire (environ 1 centimètre de l'apex). L'endoderme joue un rôle protecteur et constitue une barrière très efficace à la migration des ions dans les racines. Sur ses parois, le processus de ligno-subérification (la subérine, et par la suite de la lignine) hydrophobe constitue une importante barrière sélective qui filtre les solutés (notamment les ions) de l'eau. Cela signifie qu'à ce niveau le transfert vers la stèle doit forcément emprunter la voie symplastique (Eshel et Beeckman, 2013). Les ions ne peuvent donc atteindre la stèle et le xylème qu'en se soumettant à un contrôle du plasmalemmes et de

ses systèmes de transport actif. L'endoderme joue ainsi un rôle crucial dans le contrôle de la physiologie de l'absorption racinaire (Martinka *et al.*, 2012 ; Steward, 2012).

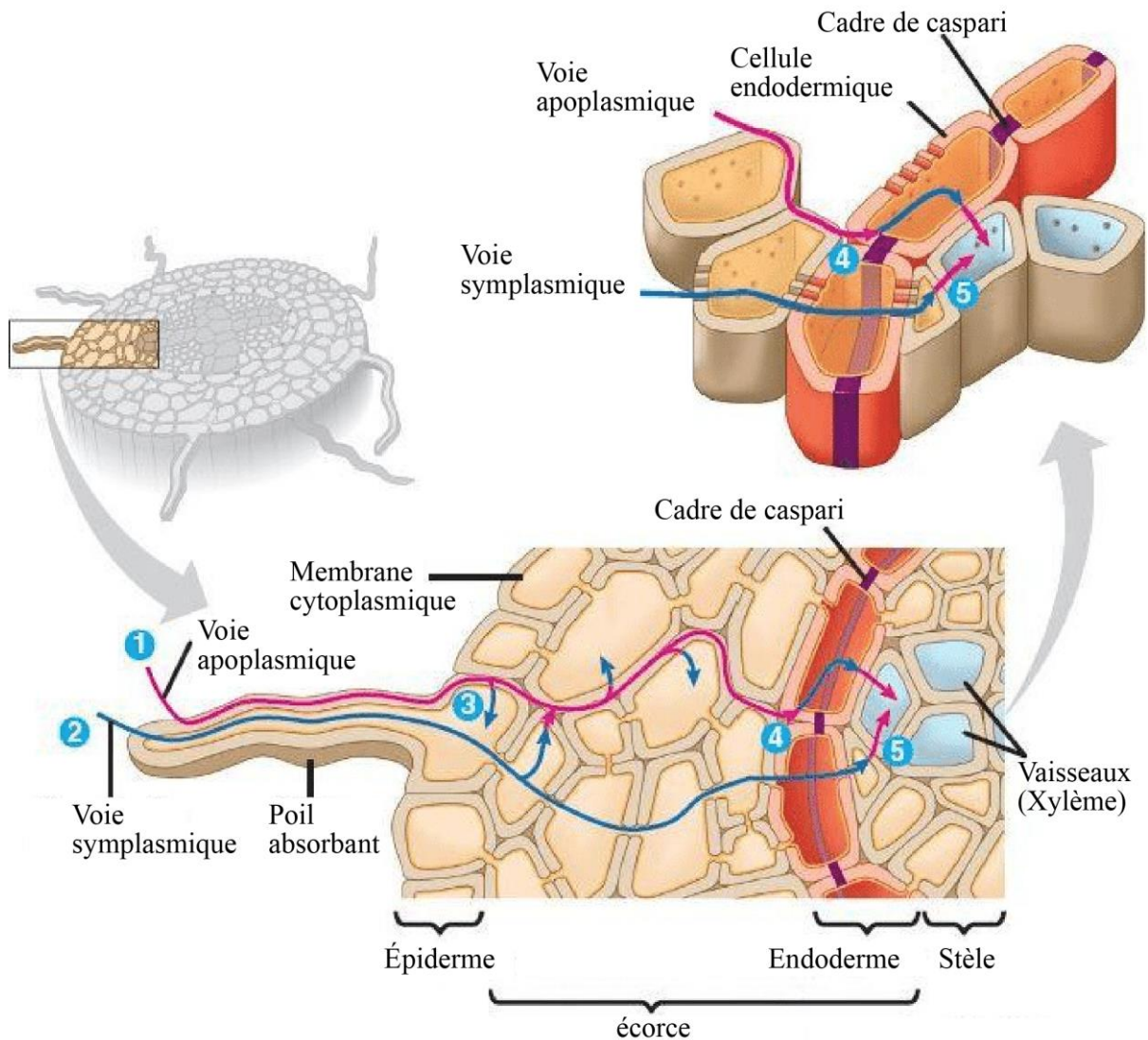


Figure 20. Transport latéral dans les racines. 1 : La voie apoplasme. 2 : La voie symplasmique. 3 : Le transport d'eau et de minéraux de la voie apoplasme à la voie symplasmique. 4 : La bande Caspary, bande cireuse, ne permet qu'à des minéraux dans le symplasma de passer dans le cylindre vasculaire à travers la membrane plasmique des cellules endodermiques. 5 : Les cellules dans les vaisseaux vasculaires (xylème) transportent l'eau et les minéraux dans la plante (Beck, 2010).

b) Translocation : transport axial vers les parties aériennes

Après avoir traversé latéralement la racine et franchi la barrière endodermique, les ions sont sécrétés dans l'apoplasme de la stèle puis se diffusent dans les vaisseaux xylémiens où ils sont entraînés par le flux de sève brute pour être distribués à tous les organes aériens de la plante (figure 21). Ainsi, la sortie des ions du symplasme vers le xylème nécessite le franchissement du plasmalemme d'une cellule. Cette sortie est contrôlée par des transporteurs spécifiques (Holbrook et Zwieniecki, 2011). La montée de la sève brute se fait grâce aux différences de potentiel hydrique. Le potentiel hydrique (noté Ψ) représente le potentiel de transfert de l'eau entre 2 compartiments (en l'occurrence le sol, la plante et l'atmosphère). L'eau passe du milieu le plus concentré en eau (Ψ le moins négatif) vers le milieu le moins concentré (Ψ le plus négatif) (Lambers et Colmer, 2005). Par ailleurs, l'aspiration foliaire (tension foliaire) attire les molécules d'eau provenant du sol, des racines et du xylème, qui s'évaporent par transpiration au niveau des stomates ouverts (Meng *et al.*, 2016).

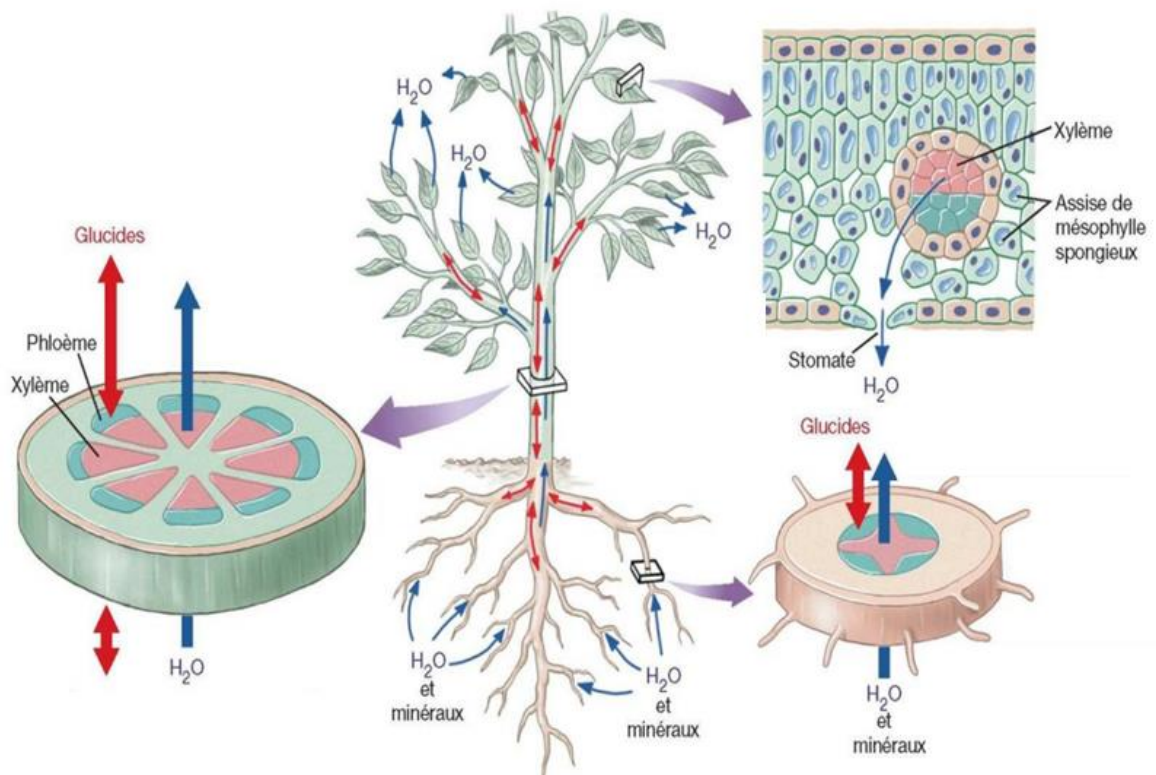


Figure 21. Transport axial de la sève brute dans la plante (Hopkins, 2003).

III.2.3.3. Rôles des racines

Les racines se présentent ordinairement comme une prolongation souterraine de la partie aérienne propre aux végétaux vasculaires que sont les ptéridophytes, les gymnospermes et les angiospermes (Lux et Rost, 2012). Le système racinaire représente en moyenne un tiers de la biomasse totale de la plante et reçoit 20 à 50% des produits de la photosynthèse. L'aspect, la structure, la fonction du système racinaire et leurs interactions avec le sol changent généralement d'une espèce de plante à une autre et sont en rapport avec la vie fixée des plantes (Schmidt, 2014 ; Ryan *et al.*, 2016). La rhizosphère est le petit volume de sol situé à proximité immédiate des racines et dont les propriétés sont affectées par celles-ci. Dans cette zone, la distribution des racines dépend de la forme des plantes, de la distribution spatiale et temporelle de l'eau et des nutriments, ainsi que des propriétés physiques du sol (Valentine *et al.*, 2012 ; Thorup-Kristensen et Kirkegaard, 2016). Plus récemment, les termes de mycorhizosphère et de mycosphère ont été ajoutés pour désigner plus précisément le sol sous influence des mycorhizes ou des hyphes mycéliens des champignons qui en émanent et qui font partie du microbiote des plantes (Fortin *et al.*, 2016). Le système racinaire désigne l'ensemble des parties souterraines d'un végétal servant à puiser l'eau et les éléments nutritifs (absorption) et assurer leur transport vers toutes les parties de la plante afin de permettre sa croissance et son développement. Dans certains cas, les racines servent aussi à stocker des réserves d'eau, d'éléments minéraux, de sucres ou d'amidon. Certaines racines de plantes sont comestibles ou à usage médicinal, d'autres sont hautement toxiques (Zarebanadkouki *et al.*, 2016). Par ailleurs, les racines jouent un rôle primordial dans la fixation des plantes dans le sol (ancrage et soutien de la plante) et la protection des milieux naturels (sol, eau, air). Les racines peuvent présenter également des adaptations afin de prévenir certains risques (glissement de terrain, inondation, etc.), assurer la séquestration du carbone (CO₂) atmosphérique par le sol (la respiration des racines) et la rhizodéposition pendant la vie des racines (sécrétions racinaires, desquamation et décomposition des racines) (Bispo *et al.*, 2016).

III.3. Facteurs influençant la rhizogenèse et la réussite du bouturage

Le succès de l'enracinement adventif, nécessaire à la réussite de la multiplication par bouturage est un processus physiologique extrêmement complexe qui met en jeu de très nombreux facteurs. L'aptitude à l'enracinement diffère d'une espèce à une autre. Certaines espèces s'enracinent facilement alors que d'autres n'arrivent pas à émettre de racines (Ezekiel, 2010). Le potentiel d'enracinement des boutures varie en fonction des interactions entre les facteurs endogènes (potentiel génétique inné de l'espèce ou de la variété, âge du pied mère, état

physiologique du pied mère, position et hauteur de prélèvement des boutures, type de bouture, feuilles et surface foliaire totale, état phytosanitaire du pied mère, etc.) et les facteurs exogènes environnementaux (température, humidité, lumière, aération, traitement hormonal, irrigation, nutrition minérale des pieds mères, conteneur, substrat, etc.) (Jackson, 2012 ; Makouanzi *et al.*, 2014). Il est important de noter que l'enracinement éventuel des boutures n'est pas le seul objectif visé. Il faut rechercher également un enracinement abondant et rapide pour une reprise optimale après la transplantation. Par conséquent, une combinaison adéquate entre les facteurs intrinsèques et extrinsèques favorisera l'obtention de boutures d'excellente qualité (Geiss *et al.*, 2018).

III.3.1. Facteurs endogènes ou intrinsèques

Les facteurs endogènes qui ne peuvent être contrôlés et qui sont liés à la plante elle-même induisent des effets significatifs sur la variation de l'aptitude à la formation et au développement de racines adventives (Hu *et al.*, 2020).

III.3.1.1. Potentiel génétique de l'espèce ou de la variété

Pour la majorité des espèces allogames, il existe une variabilité très importante de l'aptitude à l'émission racinaire. Les variations des taux d'enracinement peuvent être extrêmement importantes entre les espèces végétales, les variétés et même les clones. En effet, la variabilité interclonale indique que les boutures pourraient avoir un développement différent suivant leur origine génétique (Husen, 2013). Cette aptitude n'est pas facile à déterminer visuellement et seule l'expérience permet de sélectionner les plants qui possèdent cette faculté (Hu *et al.*, 2008 ; Mankessi *et al.*, 2010). Si les aspects anatomiques, physiologiques, biochimiques, ont été abondamment étudiés, l'identification des gènes impliqués en est à ses tout premiers débuts (Stenvall *et al.*, 2004 ; Villacorta-Martín *et al.*, 2015). Les recherches de l'effet génétique sur l'enracinement des boutures sont effectivement récentes. Un certain nombre de gènes impliqués dans la formation de racines adventives ont été identifiés comme le gène ARF (Auxin Response Factor) qui joue un rôle de régulateur majeur de la formation des racines adventives en modulant l'homéostasie de l'auxine (Inukai *et al.*, 2005 ; Roosjen *et al.*, 2018) ; le gène GH3 (GRETCHEN HAGEN) qui stimule la conjugaison rapide de l'auxine (Staswick *et al.*, 2005) ; les gènes de la famille AUX1 (AUXIN1) et les LAX1 (LIKE AUX1) connus pour leur capacité à importer l'auxine à l'intérieur de la cellule ; les gènes de la famille des transporteurs ABC (ATP-BINDING CASSETTE) disposés sur toutes les faces de la cellule et connus pour leur capacité à exporter l'auxine vers l'extérieur de la cellule ; les gènes de la famille des

transporteurs PINs (PIN-FORMED) polarisés au niveau de la membrane plasmique ; les gènes de la famille des transporteurs PILS (PIN-LIKES) localisés sur la membrane du réticulum endoplasmique (Zažímalová *et al.*, 2010 ; Zhou et Luo, 2018. Dahuja *et al.*, 2021) ; les gènes SUR1 et SUR2 (SUPERROOT) qui codent respectivement pour une protéine C-S lyase et le cytochrome P450 Cyp83B1, impliqués dans la voie métabolique de biosynthèse de l'auxine (Barlier *et al.*, 2000 ; Mikkelsen *et al.*, 2004) ; le gène YUCCA 1 (YUC) qui code pour une flavine monooxygénase adaptée à la conversion de la tryptamine en N-hydroxyle tryptamine (NHT), avant que ce composé ne soit transformé en AIA (Zhao *et al.*, 2002 ; Cheng et Zhao, 2006) ; les gènes RRD1 et RRD2 et RRD 4 (Root Redifferentiation) qui interviennent dans certains processus fondamentaux requis pour la prolifération cellulaire lors de l'initiation du cal dans les explants hypocotyliques (Konishi and Sugiyama, 2003) et le gène SCR (SCARECROW) qui induit la division péricleinale asymétrique d'une cellule initiale à l'origine de la formation des deux tissus que sont l'endoderme et le cortex (Heidstra *et al.*, 2004).

III.3.1.2. Etat physiologique du pied mère et des boutures

Quel que soit le type de boutures (ligneuses, semi-ligneuses ou herbacées), leur aptitude à l'enracinement et au débourrement dépend fortement des caractéristiques physiologiques du pied mère sur lequel elles ont été prélevées (Peer et Greenwood, 2001). La plante mère choisie doit être vigoureuse, avoir un port régulier et harmonieux et posséder une bonne végétation. Par ailleurs, les ortets doivent représenter parfaitement l'espèce, la variété ou le cultivar choisi et être parfaitement de bonne qualité. Les composantes phénoliques, la concentration interne de l'auxine, le statut nutritif des tissus du pied mère et surtout l'équilibre des concentrations en hydrates de carbone et en azote nitrique et ammoniacal (le ratio C/N) sont également des facteurs déterminants de la capacité au bouturage. En effet, les boutures possédant des tissus qui renferment une concentration en hydrates de carbone élevée et une concentration en azote moyenne, produisent de nombreuses racines (Druege *et al.*, 2000 ; Dag *et al.*, 2012). De ce fait, il est indispensable de veiller à l'entretien de la rhizosphère du pied mère et de l'apport d'une formule équilibrée entre une nutrition minérale complète et des besoins en eau satisfaisants (Da Costa *et al.*, 2013).

III.3.1.3. Age du pied mère

Le vieillissement des tissus de la plante présente une signification particulière dans la croissance et le développement. L'âge du pied mère influence l'enracinement des boutures car il reflète l'état de jeunesse. L'enracinement des boutures prélevées sur des pieds mères âgés constitue

un défi de taille. En effet, au fur et à mesure de l'augmentation de l'âge des pieds mères (ortet), on observe généralement une diminution très rapide de l'aptitude à l'enracinement adventif des boutures qu'on y prélève (Husen et Pal, 2006). Cette décroissance s'accompagne toujours d'une diminution importante de la qualité et du développement des boutures (Shepherd *et al.*, 2005). On distingue trois types d'âges, à savoir : l'âge chronologique, l'âge ontogénique et l'âge physiologique. L'âge chronologique est lié au temps écoulé depuis la germination de la graine jusqu'à la mort de la plante. L'âge ontogénique, quant à lui, est relatif au nombre de divisions opérées par les cellules initiales, c'est-à-dire le développement spatial de l'individu. Enfin, l'âge physiologique d'une plante renvoie au stade de développement dans lequel se situent la rhizogenèse adventive, la floraison, la sénescence, etc. Ainsi, l'âge physiologique est relatif à l'état nutritionnel et hormonal de la plante, et par conséquent varie avec la proximité de prélèvement du système racinaire (Monteuuis *et al.*, 1989). Le phénomène de maturation peut engendrer une érosion des gains génétiques réalisés par la sélection clonale ou variétale, et de ce fait constituer un inconvénient très sérieux pour tout système de multiplication végétative (Diaz-Sala *et al.*, 1996). Pour de nombreuses espèces forestières, les clones infantiles (plants en pépinière) sont capables d'atteindre assez facilement un taux de réussite de 90% et plus si les pieds mères sont issus de jeunes semis (1 à 3 ans). De tels taux accompagnés de la production de plants durablement vigoureux et orthotropes autorisent alors le reboisement direct à grande échelle. Les boutures à partir de clones juvéniles (5 à 30 ans) peuvent atteindre un taux de réussite de l'ordre de 30%. Ce taux est très suffisant pour fixer les têtes de clones et même remplir directement les vergers à graines. En revanche, la faculté d'enracinement adventif des boutures est pratiquement perdue (souvent 0 à 5% de réussite) pour des clones matures au-delà de 30 ans (Ballester *et al.*, 1999). Par ailleurs, la forme de croissance des boutures est liée au facteur d'âge. En effet, la transition des formes de croissance ramifiées (plagiotropes) aux formes dressées (orthotropiques) se produit plus rapidement lorsque les ortets parents sont jeunes. Cependant, les boutures de certains arbres âgés peuvent s'enraciner mais ne perdent pas la forme de croissance plagiotrope même après plusieurs années (Vidal *et al.*, 2003). Le phénomène de maturation est un facteur important dans la réussite du bouturage, il est donc indispensable d'envisager des techniques de rajeunissement qui consistent à rabattre plus ou moins sévèrement le pied mère de manière à obtenir une repousse de rameaux jeunes et vigoureux avant d'entreprendre toute opération de propagation végétative. En dépit de ces avantages, cette technique a ses limites et n'est pas efficace sur des plantes très âgées que l'on voudrait malgré tout multiplier (Greenwood *et al.*, 1989). Une autre solution consiste à réaliser une succession de repiquages *in vitro* qui permettrait de retrouver un caractère juvénile et

d'obtenir, après acclimatation, des pieds mères ayant une meilleure aptitude au bouturage (Muñoz-Gutiérrez *et al.* 2009).

III.3.1.4. Position et hauteur de prélèvement des boutures

Le succès de l'enracinement et la réussite du bouturage sont conditionnés par le lieu de prélèvement des boutures sur l'arbre. D'une manière générale, plus les boutures sont prélevées sur la tige principale et proches du système racinaire, plus leur récalcitrance à la rhizogenèse adventive diminue. L'effet de la position sur le développement des racines adventives se manifeste, d'une part, sur la rapidité d'entrée en croissance et, d'autre part, sur le pourcentage de boutures enracinées (Husen et Pal, 2007 ; Otiende *et al.*, 2017). Si le bouturage à partir de rameaux dormants de la cime est pratiquement irréalisable, il est relativement aisé de bouturer des gourmands émis directement sur le tronc, ainsi que des rejets de souche. En effet, au fur et à mesure que l'on s'éloigne de l'apex et que l'on se rapproche de la région basale, on observe une augmentation des teneurs en éléments minéraux endogènes (azote, zinc, manganèse et fer), en sucres solubles (glucose, fructose, saccharose et sucres solubles totaux), en métabolites secondaires (les alcaloïdes, les terpénoïdes et les composés phénoliques) et en phytohormones (auxines) (Caplan *et al.*, 2018). Ainsi, la variation de la rhizogenèse dépend également de la topophysie qui est un phénomène par lequel certaines caractéristiques sont conservées par les parties de la plante pendant diverses périodes. A titre d'exemple, les boutures issues de rameaux de cime ne perdent la forme de croissance plagiotrope qu'après plusieurs années (Owusu *et al.*, 2014).

III.3.1.5. Type de boutures

Les techniques de bouturage utilisées à l'échelle opérationnelle diffèrent selon le type de boutures. On distingue trois types de boutures de tige en fonction de la maturité des tissus : les boutures herbacées, les boutures semi-ligneuses et les boutures ligneuses (Boutherin et Bron, 2013).

a) Bouturage herbacé

Les boutures herbacées ou boutures en vert sont des jeunes rameaux feuillés prélevés sur des arbres étalons ou pieds mères en pleine croissance et végétation. La durée optimale de prélèvement des boutures herbacées correspond à la phase de croissance, qui se situe habituellement au printemps (de la mi-mars à la mi-mai). La gestion de la serre et le suivi minutieux des boutures sont particulièrement pertinents dans la multiplication des boutures

herbacées. En effet, plus les racines apparaîtront tôt, plus rapidement les jeunes plantules seront autonomes pour leur absorption en eau et nutrition minérale (Hrideek *et al.*, 2019). Le bouturage herbacé en masse de jeunes individus permet une multiplication à grande échelle et offre de meilleures chances de réussite pour les espèces récalcitrantes ayant montré une grande performance en termes de productivité (McGroarty, 2006). Cependant, les tissus des boutures herbacées sont encore tendres, fragiles et nécessitent un meilleur contrôle des conditions édapho-climatiques pour réussir l'émission de racines avant de flétrir et dépérir (Fabbri *et al.*, 2004). Le bouturage herbacé comprend trois principales phases, à savoir : le prélèvement des boutures sur des pieds-mères élités dans des parcs à bois présentant une authenticité variétale et un bon état phytosanitaire, l'enracinement des boutures et enfin, la production de plants en pépinière forestière, sous les serres de nébulisation puis d'endurcissement selon des techniques culturales adaptées (conteneur, fertilisation, irrigation, etc.) (Mayer *et al.*, 2020).

b) Bouturage semi-ligneux

Les boutures semi-ligneuses ou boutures semi-aoûtées sont des boutures semi-herbacées qui commencent leur aoûtement et endurcissement (lignification) avec une augmentation de leur teneur en matière sèche (Johnson *et al.*, 2020). Le bouturage semi-ligneux s'effectue généralement à la fin de la saison de croissance et la date de prélèvement optimale se situe habituellement de la mi-mai à la mi-juin. Cette technique est largement utilisée pour multiplier les arbres à feuillage persistant ainsi que les conifères à feuilles plates (Ky-Dembele *et al.*, 2016).

c) Bouturage ligneux

Les boutures ligneuses ou boutures aoûtées sont généralement des boutures de rameaux de bois sec bien lignifiés, prélevées après la chute automnale des feuilles (Shry et Reiley, 2016). Le stade de prélèvement optimal pour ces boutures est l'automne ou l'hiver, pendant le repos de la végétation avant le débourrement des bourgeons. Les boutures sont récoltées sur des rameaux dormants, et conservées au froid jusqu'à leur utilisation (Stewart, 2012). Pour une longue durée d'entreposage des boutures ligneuses, la conservation pourra se faire à -2°C pendant 3 à 4 mois. La coupe doit être faite au sécateur désinfecté ou à l'aide d'un couteau tranchant, en biais sur la face opposée au bourgeon. La partie basale du rameau ainsi que l'apex, souvent mal aoûté sont généralement enlevés. (Mankessi *et al.*, 2010).

III.3.1.6. Nombre et forme des feuilles

La forme et le nombre de feuilles d'une bouture sont également des facteurs importants de la réussite du bouturage de rameaux feuillés, dans la mesure où l'initiation, la croissance et le développement des racines adventives sont stimulés par les feuilles. Comme les bourgeons axillaires sont constitués d'ébauches foliaires, on peut logiquement penser que leur action sur l'enracinement est essentiellement due à la présence de ces feuilles (Gomes *et al.*, 2018). L'optimisation de l'effeuillage des boutures fait partie des facteurs de réussite du bouturage car il a des effets importants sur les premières phases de l'enracinement (survie des boutures, initiation des racines, etc.) (Thomas et Schiefelbein, 2004). En effet, un grand nombre de feuilles ou une surface foliaire trop grande peuvent engendrer un stress hydrique chez la bouture, retarder l'initiation des racines ou provoquer un dessèchement prématuré des boutures qui ne possèdent pas encore de racines (Caplan *et al.*, 2018). Ces feuilles matures produiraient au cours de la photosynthèse les éléments responsables (photoassimilats et hormones végétales) de la stimulation rhizogène. Par ailleurs, le méristème apical de l'apex végétatif constitue un centre de synthèse de plusieurs phytohormones (auxines) susceptibles d'intervenir dans la croissance et le développement des racines adventives. En condition de multiplication, l'énergie photosynthétique produite par une feuille immature est principalement utilisée pour compléter sa croissance et non pour stimuler l'enracinement (Tarragó *et al.*, 2005). Ainsi, il faut choisir une surface foliaire mature et suffisante pour produire l'énergie nécessaire au développement des racines, mais non excessive, afin de ne pas épuiser la bouture. Trop de feuilles nuit également à la bonne distribution des gouttelettes de nébulisation, qui doivent se répartir uniformément sur tout le feuillage pour maintenir sa turgescence (Tchoundjeu *et al.*, 2002 ; Rapaka *et al.*, 2005).

III.3.1.7. Etat sanitaire du pied mère et des boutures

L'une des principales caractéristiques de la multiplication végétative étant la transmission des maladies présentes au moment du prélèvement (Nelson, 2003 ; Mason, 2004) ; il est impératif de veiller à ce que le matériel multiplié soit sain et d'adopter une « chaîne sanitaire » qui commence au pied mère (amont) et se termine à la transplantation de la bouture (aval). Ce protocole doit comporter l'essentiel des règles sanitaires à respecter, à savoir : prélever les boutures sur des pieds mères sains ; désinfecter, entre chaque plante, le matériel de prélèvement pour limiter le risque de transmission des maladies (spécialement virales et bactériennes) ; stériliser ou désinfecter le substrat ; désinfecter ou acheter de nouveaux conteneurs ; désinfecter les tablettes avec les mêmes produits que pour la désinfection des contenants. Enfin, tout au

long de la culture, il faudra surveiller de très près l'état sanitaire et intervenir avec une technique adaptée (Kim, 2017).

III.3.2. Facteurs exogènes ou extrinsèques

III.3.2.1. Saison de bouturage

Les résultats obtenus au cours de différentes campagnes de bouturage peuvent varier dans le temps, bien que le matériel génétique soit comparable et la technique de bouturage identique (Xue *et al.*, 2013). Une partie de ces variations saisonnières peut être attribuée aux changements morphologiques du cycle phénologique des plantes. Une autre partie s'explique par l'état physiologique des boutures, en relation avec les saisons et les variations du climat qui sont devenues parfois extrêmes. De ce fait, pour cibler la meilleure période de récolte, on peut être guidé par l'état d'activité de la plante. La principale période pour bouturer est fixée selon les espèces. Les boutures de rameaux feuillés peuvent se faire en toute saison, mais les périodes les plus favorables sont celles avant ou juste après le débourrement des bourgeons de l'arbre, ce qui correspond à la période de croissance active, c'est-à-dire d'élongation de nouvelles pousses (Teklehaimanot *et al.*, 2004).

III.3.2.2. Conditions environnementales

Durant le processus de bouturage, la période qui détermine le taux de réussite de la multiplication est celle pendant laquelle les boutures sont dépourvues de système racinaire tout en subissant les conditions environnementales variables (Geiss *et al.*, 2018). La croissance et le développement des plants dans la pépinière sont affectés à la fois par les conditions climatiques au-dessus du sol (humidité, température et lumière) et les conditions édaphiques du sous-sol (type de substrat, eau et éléments nutritifs). Ces conditions environnementales induisent des effets significatifs sur l'aptitude à la formation et au développement de racines adventives (Jaenicke, 2006 ; Hu *et al.*, 2008).

a) Température

La température figure parmi les facteurs les plus importants à gérer pendant l'enracinement des boutures. Le maintien d'une température uniforme constitue la condition la plus favorable pour l'enracinement des boutures (Corrêa et Fett-Neto, 2004). Une température adéquate de l'air et du substrat favorise la formation de cals, permet un meilleur taux d'enracinement ainsi qu'une plus grande vitesse de formation et de développement des racines, à travers la modulation du métabolisme de l'auxine endogène, son transport et son absorption. En règle générale, le

maintien de la température du substrat de 2 à 5 °C supérieure à la température ambiante de l'air permet de stimuler la division cellulaire du cal (Druege *et al.*, 2000). La température optimale du substrat varie en fonction des génotypes et des espèces multipliées, mais se situe généralement entre 25 et 32°C pour la première phase de l'enracinement (Hansen, 1989). La température ambiante moyenne favorable de l'air varie entre 20 et 25 °C, ce qui permet de ralentir le développement des pousses en attendant la mise en place d'un système racinaire. S'il n'y a pas de système de chauffage sur les tables (câbles chauffants électriques ; câbles chauffants à l'eau ; tapis chauffants ; couvertures chauffantes, etc.), des températures ambiantes de 25 à 27 °C le jour et de 15 °C la nuit sont généralement recommandées (Ragonezi *et al.*, 2010). Les basses températures (inférieures à 18°C) ne permettent pas l'enracinement des boutures. Par ailleurs, une température élevée de l'air favorise le débourrement des bourgeons et la croissance de la partie aérienne au détriment du développement racinaire. Ainsi, le réchauffement excessif qui pourrait résulter d'un manque d'ombrage provoque la plupart du temps une hausse importante de la transpiration du feuillage et cause donc le dessèchement et la mort des boutures (Corrêa et Fett-Neto, 2004).

b) Lumière

La lumière joue également un rôle important dans l'entrée en croissance des racines adventives, mais ce rôle est difficile à mesurer, notamment pour certaines espèces (Sorin *et al.*, 2005). Une bonne intensité lumineuse est indispensable pour l'enracinement et pour la reprise de croissance et de développement des boutures. En effet, la photopériode est nécessaire pour maintenir l'activité photosynthétique, la production des glucides (énergie) et leur transport vers la zone d'enracinement (Lopez et Runkle, 2008). Avant la formation de cals, les boutures sont en état de stress et font peu de photosynthèse car les stomates sont souvent fermés. A cet égard, il est recommandé de réduire la luminosité, afin d'éviter d'ajouter un stress supplémentaire (chaleur et assèchement) aux boutures. Après l'émergence des racines, l'intensité lumineuse doit être réhaussée progressivement jusqu'à atteindre un éclairage d'appoint afin de réduire le temps d'enracinement et d'éviter aux pousses des jeunes plants de trop s'étioler (Fett-Neto *et al.*, 2001). Par contre, son absence se traduit par le maintien de l'état de latence des apex de racines adventives présentes dans les zones apicale et basale et l'entrée en croissance des seules ébauches des zones médianes. Les racines adventives présentes dans la zone médiane sont donc les seules capables d'entrer en croissance même en absence de lumière, car il semblerait qu'elle dispose d'une réserve énergétique et nutritionnelle suffisante pour permettre la croissance racinaire (Ruedell *et al.*, 2013).

c) Humidité

Les boutures sont des organes isolés à l'interface sol-atmosphère, et sont extrêmement vulnérables à la déshydratation parce qu'elles ne peuvent puiser l'eau dans le substrat de façon suffisante et ont tendance à subir une perte continue d'eau par la transpiration ou par les surfaces des coupes (Davis et Potter, 1989). Pour maintenir toutes les fonctions physiologiques de la bouture, le prélèvement doit se faire tôt le matin, afin de réduire au minimum la transpiration et le dessèchement des boutures. Ainsi, les boutures doivent être confinées dans une atmosphère à hygrométrie élevée et dans un endroit ombragé pour limiter le dessèchement et réduire au maximum la transpiration pendant la période qui s'étale entre le prélèvement des boutures et l'émission des racines (Kalyoncu *et al.*, 2009). Cependant, il ne faut pas apporter une quantité d'eau excessive afin d'éviter une accumulation d'eau dans le substrat et causer par conséquent l'asphyxie de la base de la bouture due à une réduction de l'aération (Ersoy *et al.*, 2010). De ce fait, deux méthodes spécifiques de l'humidification peuvent être utilisées afin que l'humidité relative ne baisse pas en dessous d'un certain seuil (85-90%), à savoir : la mise à l'étouffée (sous film de polyéthylène clair ou blanc) et la brumisation (sous nébulisation (mist) ou brouillard (fog)). Une combinaison de ces deux méthodes est également possible (l'utilisation de brumisation ou micro-brumisation sous une serre) (Newton et Jones, 1993). Pour améliorer le taux de réussite du bouturage, d'autres pratiques culturales permettant la réduction des pertes en eau peuvent être également envisagées comme : cirer les entêtes des boutures ligneuses, limiter le nombre de feuilles sur une bouture à deux demi-feuilles seulement et incorporer une légère dose de surfactant (agent mouillant) dans l'eau du système de nébulisation afin de permettre aux gouttelettes de s'écraser sur le feuillage et faciliter la réhydratation des feuilles (Blythe *et al.*, 2004).

d) Aération

L'eau n'est pas l'élément le plus important à apporter aux boutures ; un film d'eau arrosant en permanence le feuillage peut d'ailleurs nuire à leur respiration et favoriser la croissance de maladies fongiques (De Almeida *et al.*, 2017). Les processus de rhizogenèse ont également besoin d'une quantité suffisante d'oxygène pour produire l'énergie nécessaire et améliorer la vitesse des réactions métaboliques. (Aghdaei *et al.*, 2019). Un substrat gorgé d'eau ralentit la formation des cellules du cal et peut provoquer l'asphyxie et même la mort des cellules. De ce fait, la gestion de l'humidité doit être modulée selon les stades d'enracinement. Les nébulisations doivent démarrer dès que l'eau libre est asséchée sur le feuillage et ne devrait pas permettre le ruissellement de l'eau du feuillage au substrat (Mabizela *et al.*, 2017). Dès

l'apparition du cal, les nébulisations sont progressivement réduites, au fur et à mesure que les racines prennent la relève pour apporter de l'eau aux feuilles (Swarts *et al.*, 2018 ; Beck-Pay et Laing, 2019). Par ailleurs, le taux d'oxygène détermine la profondeur limite d'enracinement dans le sol permettant un développement racinaire. En effet, en dessous de 15% d'oxygène, l'absorption minérale décroît. En dessous de 12%, il n'y a plus d'initiation de nouvelles racines. En-dessous de 5%, il n'y a plus de croissance racinaire. En-dessous de 1%, les racines perdent du poids et meurent. Par conséquent, le maintien d'une forte microporosité générale et la constitution d'une macroporosité verticale réapprovisionnant les horizons profonds, sont les garants d'un bon développement racinaire (Zheng *et al.*, 2020).

III.3.2.3. Substrat d'enracinement

La composition physico-chimique, la texture et la structure du substrat doivent assurer les conditions favorables au développement des racines adventives, et plus généralement les conditions indispensables à leur bon fonctionnement pour nourrir la plante. En effet, le substrat doit maintenir les bases des boutures à l'abri de la lumière, tout en assurant un bon apport hydrique, sans provoquer un manque d'oxygène (Jackson, 2012). Les substrats diffèrent par leurs caractéristiques physiques et chimiques, en particulier leur porosité, leur pouvoir de rétention en eau, leur capacité d'échange cationique, leur pH, leur conductivité électrique, etc. De ce fait, une attention particulière doit être portée à ces propriétés physico-chimiques importantes. Généralement, le mélange d'un composant organique (par exemple la tourbe) et d'un composant minéral (par exemple la perlite, la vermiculite, le sable grossier, etc.) répond à ces conditions. Une teneur relativement élevée de la matière organique permet de garantir une bonne capacité de rétention en eau et d'échange cationique, ce qui favorise également la rétention des éléments minéraux, notamment lors des premières fertilisations après la phase d'enracinement (Kreen *et al.*, 2002). Par conséquent, un substrat poreux bien aéré favorise le drainage de l'eau et la disponibilité en oxygène, principalement lors de la phase d'enracinement et après la transplantation des boutures enracinées. En règle générale, le volume d'air ne doit pas être en dessous de 15% du volume de substrat afin d'assurer l'aération de ce dernier et la présence d'oxygène (Blok *et al.*, 2017). Dès l'apparition des racines adventives, le substrat doit progressivement sécher entre deux arrosages successifs, afin de favoriser les échanges gazeux entre la rhizosphère autour des racines et l'atmosphère, augmenter l'oxygénation des poils absorbants et accroître la division et la croissance des cellules racinaires (Lebude *et al.*, 2004). En effet, les boutures s'enracinent très bien dans du sable grossier, faible en sels (conductivité électrique (C.E) $\leq 0.75\text{-}1.0$ mS) avec un pH non alcalin entre 5,2 et 6,5 (ou

correspondant au besoin de l'espèce) (Tenenbaum, 2003). Par ailleurs, un substrat d'enracinement ayant un réchauffement rapide est très nettement favorable à l'enracinement des boutures car il permet de lutter contre la pourriture et la prolifération d'organismes phytopathogènes (Muñoz-Gutiérrez *et al.*, 2009). Ainsi, l'utilisation d'un substrat de culture sain (exempt de maladies, ravageurs et adventices) est un bon investissement. Quant à la qualité phytosanitaire, le substrat doit être stérilisé de la même manière que les conteneurs, surtout lorsqu'il est recyclé en pépinière (longue durée d'exposition au soleil d'été sous une couverture en plastique, désinfection chimique, etc.) (Shah *et al.*, 2006).

III.3.2.4. Conteneurs

La nature du conteneur, la volumétrie, la densité des cavités, le nombre de boutures par cavité et la profondeur de plantation ont une influence sur l'enracinement des boutures (Brown et Klett, 2020). Durant la phase d'endurcissement, le choix des dimensions du conteneur doit être suffisamment réfléchi en fonction de la durée de plantation, la taille et la vigueur recherchées du plant. En effet, pour améliorer la reprise et la croissance et échapper aux risques d'enroulement et de formation d'un chignon racinaire (les racines tournent en rond au fond du pot), le volume du substrat doit être suffisamment important, notamment dans des conditions difficiles, d'où l'adoption d'un volume moyen de 200 cm³ représentant un bon compromis technico-économique en zone tempérée méditerranéenne. Par ailleurs, la durée d'endurcissement ne doit pas excéder 12 mois pour des volumes inférieurs à 200 cm³ (Jaenicke, 2006). Ainsi, la densité de plantation ne doit pas être très élevée afin de permettre un développement harmonieux du plant, aussi bien en hauteur qu'en diamètre (respect des normes hauteur-diamètre) (Campos et Caligari, 2017). Le système racinaire doit se répartir uniformément dans le substrat pour éviter la déformation due aux enroulements et à l'échelonnage des racines latérales autour du pivot. Par conséquent, les sols à texture fortement argileuse ou présentant un obstacle à la pénétration racinaire accentuent les défauts préexistants (chignons), et favorisent les chablis et les mortalités ultérieurs (LeBude *et al.*, 2006 ; Markovic *et al.*, 2020). Les boutures sont généralement insérées dans le substrat de façon à ce que les points de coupe des boutures se situent à une profondeur variant de 1 à 2 cm (trois nœuds axillaires) sous la surface du substrat. Cependant, plus la profondeur augmente plus l'aération diminue et plus la probabilité de formation des cals à la base de la bouture augmente, ce qui entrave la formation des racines (Brickell, 2003).

III.3.2.5. Phytohormones rhizogènes

Les hormones de croissance jouent un rôle essentiel dans plusieurs processus de développement des plantes (Egbe *et al.*, 2012). Parmi celles-ci, l'auxine (*auxein* qui signifie croître), découverte à la fin du XIXe siècle, est considérée comme une phytohormone de croissance végétale indispensable dans la biologie d'une plante. Elle agit de façon synergique avec l'éthylène et l'acide abscissique et de façon antagoniste avec les cytokinines et l'acide gibbérellique pour déclencher une série de processus qui participent à la formation des racines adventives (Steffens et Sauter, 2006). L'auxine a d'abord été découverte dans les tissus des végétaux supérieurs sous forme d'acide indole-3-acétique (AIA) qui constitue la forme majoritaire à l'état naturel dans les plantes. Cependant, de nombreuses substances naturelles possèdent des propriétés auxiniques analogues. Ces composés auxiniques présentent comme point commun un noyau aromatique et une fonction carboxylique (Fogaça et Fett-Neto, 2005). Des recherches récentes ont prouvé que les plantes sont capables de produire d'autres formes d'auxines endogènes actives, comme l'acide indole-3-butyrique (AIB), l'acide 4-chloro-indole-3-acétique (4-Cl-AIA) et l'acide-2-phénylacétique (APA) à faible activité auxinique (figure 22) (Bajguz et Piotrowska, 2009).

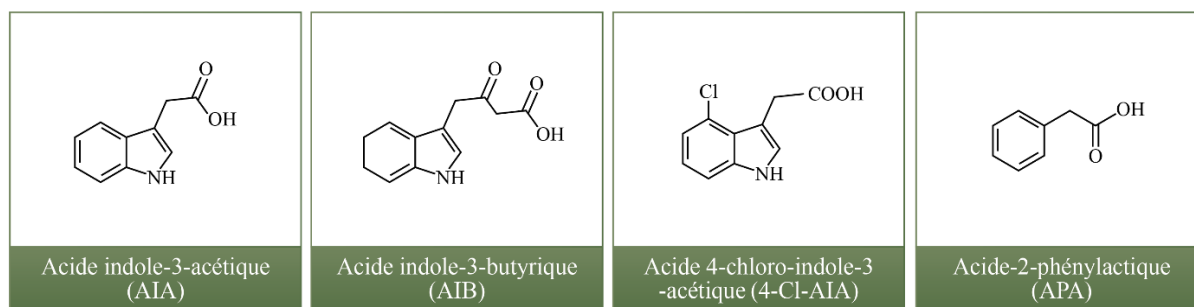


Figure 22. Structure chimique des principales auxines naturelles (Taiz et Zeiger, 2010).

D'autres molécules synthétiques possèdent un noyau benzène ou naphthalène et sont associées au terme « auxines synthétiques » par leurs activités biologiques de type « auxinique ». On distingue l'acide 1-naphtalène-acétique (1-ANA), l'acide 2,4-dichlorophénoxyacétique (2,4-D), l'acide 2,4,5-trichlorophénoxyacétique (2,4,5-T), l'acide 2-méthoxy-3,6-dichlorobenzoïque (Dicamba) et l'acide 4-amino-3,5,6-trichloropicolinique (Pichlorame) (figure 23) (Ludwig-Müller *et al.*, 2005 ; Woodward et Bartel, 2005 ; Bajguz et Piotrowska, 2009). Contrairement à ce qui a longtemps été admis, la réponse des plantes à l'auxine n'est pas universelle. En effet, chaque tissu montre une sensibilité à une concentration d'auxine spécifique, ce qui nécessite des recherches pour définir la concentration la plus adaptée pour chaque tissu et chaque espèce avant de commencer la multiplication végétative à grande échelle (Imin *et al.*, 2007 ; Baul *et*

al., 2009). Même s'il est largement admis que le traitement avec l'AIB est habituellement nécessaire, une concentration trop élevée pourrait donner l'effet inverse de celui recherché et inhiber complètement l'émission des racines et donc diminuer le taux de réussite du bouturage (Sulusoglu et Cavusoglu, 2010 ; Tromas *et al.*, 2010).

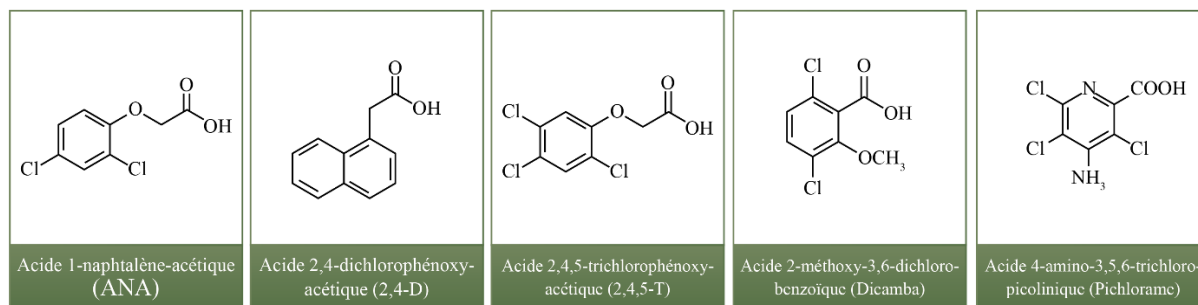


Figure 23. Structure chimique des principales auxines (Taiz et Zeiger, 2010).

L'auxine est une phytohormone qui joue un rôle central dans tous les processus physiologiques de la plante. Les actions de l'auxine sur la croissance et le développement de la plante sont multiples et varient en fonction de sa concentration et du type de tissu sur lequel elle agit. En effet, elle stimule l'élongation des cellules dès les premiers stades de l'embryogenèse et contrôle aussi bien l'organisation du méristème apical (phyllostaxie) et la ramification des parties aériennes de la plante (dominance apicale). L'auxine joue aussi un rôle dans l'organogenèse, dans la mesure où elle agit sur la rhizogenèse, en favorisant l'apparition de racines adventives sur les boutures. Par ailleurs, l'auxine joue également un rôle fondamental dans l'adaptation de la plante au stress hydrique à travers la réponse différenciée des racines aux gradients d'humidité du sol et la contribution à la capacité de production des radicules qui se dirigent vers les zones de sols plus riches en eau disponible. En outre, l'auxine intervient dans les tropismes en réponse à la gravité (gravitropisme) ou à la lumière (phototropisme positif). En effet, un éclairage dissymétrique de la tige entraîne une migration latérale de l'auxine à des concentrations plus importantes du côté éclairé vers le côté placé à l'obscurité ce qui favorise la croissance rapide du côté sombre et la courbure de la tige vers la source de lumière. Ainsi, dans les rameaux fructifères, l'action de l'auxine est suffisamment forte pour retarder la senescence des feuilles et stimuler l'induction florale, le développement et la maturation des fruits. Le cas des plants issus de boutures qui fleurissent l'année de la plantation s'explique ainsi (Sauer *et al.*, 2013). En agissant sur l'élongation cellulaire ou auxèse, l'auxine favorise la croissance cellulaire en longueur et la croissance de la plante. Ce mode d'action est dû à la croissance acido-dépendante causée par l'augmentation du potentiel protonique de la membrane (la tension entre les deux côtés de la membrane est plus forte). L'acidification de la paroi a pour conséquence d'activer les expansines (protéines non enzymatiques) qui induisent la relaxation de l'armature de

cellulose, la séparation des polysaccharides de connexion (hémicellulose et microfibrilles) et l'extension des parois des cellules végétales de façon pH-dépendante en coupant les liaisons hydrogènes (non covalentes) entre les microfibrilles de cellulose et d'autres composants de la paroi cellulaire. Par la suite, l'augmentation de la concentration protonique (H^+) favorise l'entrée d'ions potassium (K^+) qui vont permettre l'entrée d'eau dans la cellule par un phénomène d'osmose, d'où une augmentation de la pression de turgescence qui s'exerce sur la totalité de la paroi cytoplasmique. La complémentarité entre ces facteurs physiologiques entraîne l'allongement cellulaire et ceci lorsque la pression de turgescence à l'intérieur de la cellule dépasse l'élasticité de la paroi végétale. Ces multiples effets à l'échelle de la plante résultent du contrôle qu'elle exerce sur la division cellulaire et certaines étapes de différenciation (figure 24).

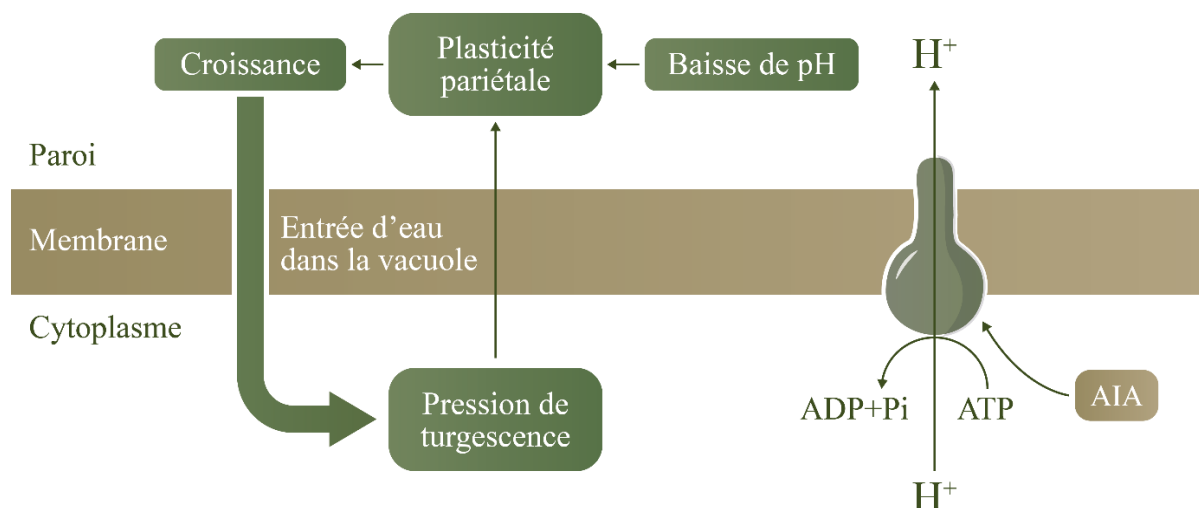


Figure 24. Mécanisme de l'augmentation de la pression de turgescence et la plasticité de la paroi cytoplasmique sous l'effet de l'auxine (AIA).

Si la division cellulaire cesse, la croissance s'arrêterait et le développement des fleurs et des fruits serait interrompu (ils tomberaient), empêchant ainsi la formation de bourgeons (Tromas *et al.*, 2010). De plus, l'auxine active et dirige le mouvement des photoassimilats (aliments, sucres) vers la plante entière. Au fur et à mesure que la plante se développe, les auxines sont davantage produites dans les feuilles et se déplacent vers les racines ce qui conduit à la migration de plus de sève brute vers la partie aérienne de la plante (figure 25). Ainsi, au fur et à mesure que la quantité d'auxines dans la partie aérienne de la plante augmente, elle provoque la dormance dans les bourgeons végétatifs et reproducteurs (Liu *et al.*, 2013). Lorsque les plantes atteignent la vigueur et le stade de croissance les plus développés, la grande quantité d'auxines transportée et accumulée dans les racines aura tendance à inhiber la division cellulaire. La perte de vigueur des racines qui en résulte provoque l'apparition de la sénescence (mort cellulaire) de la plante (Ellis *et al.*, 2005). Dès que la sénescence commence, la quantité

d'auxines augmente dans les bourgeons et les zones fructifères. Ainsi, on assiste à une augmentation de la quantité d'éthylène et d'acide abscissique dans les fruits, les grains et les tissus de stockage, qui commencent leur maturation (McAtee *et al.*, 2013).

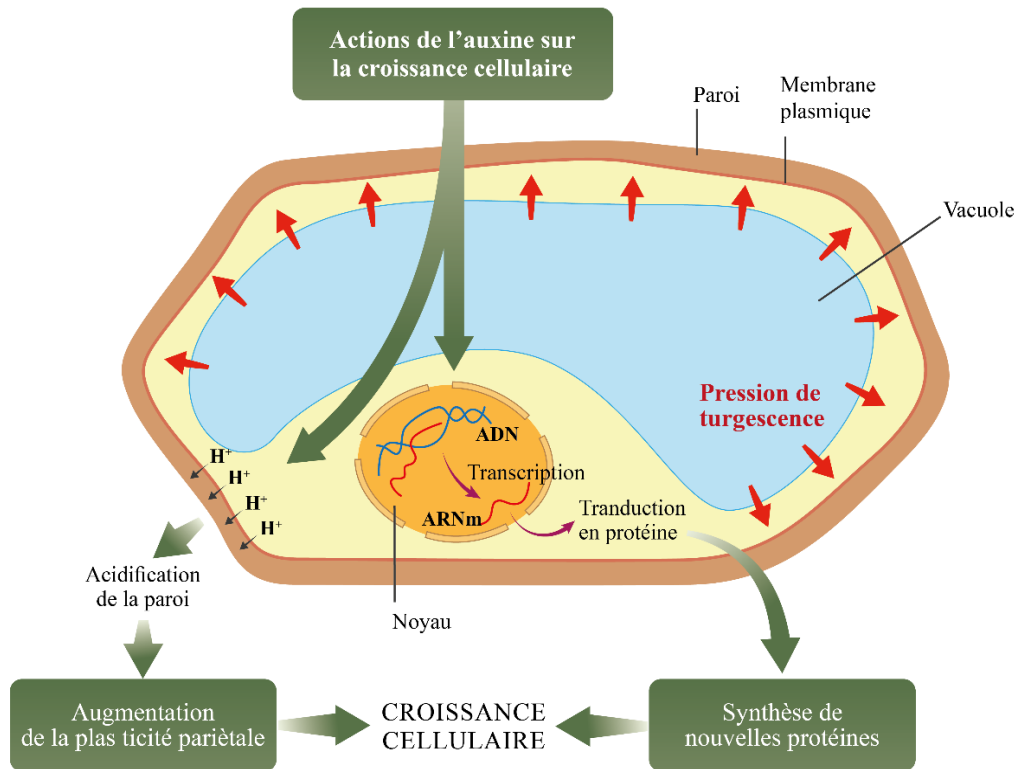


Figure 25. Action de l'auxine sur la croissance cellulaire (Richard et Johnson, 2019).

III.3.2.6. Nutrition minérale

Les plantes, grâce à leur système racinaire, absorbent les sels minéraux qui leur sont nécessaires et qui jouent un rôle essentiel dans leur métabolisme. Les éléments minéraux n'ont pas un effet cumulatif mais ils interagissent entre eux lorsqu'ils sont apportés sous forme d'une solution nutritive. En effet, le calcium (Ca), l'azote (N) et le zinc (Zn) affectent significativement le nombre de racines, alors que le phosphore (P), le fer (Fe), le manganèse (Mn) et l'azote influencent la longueur des racines (Schwambach *et al.*, 2005). Ces nutriments minéraux peuvent fonctionner comme des constituants de structures organiques, des activateurs, des catalyseurs des réactions enzymatiques, osmorégulateurs, etc (Lanteri *et al.*, 2006). Les besoins de la jeune bouture en éléments minéraux varient considérablement selon les stades d'enracinement. En effet, avant la formation des racines adventives, la bouture n'est pas apte à consommer des éléments minéraux et l'apport excessif d'éléments minéraux dans le substrat peut nuire au développement racinaire. Il est donc conseillé d'utiliser un substrat d'enracinement faible en sels ($C.E < 1,0$ mS) et d'apporter des éléments fertilisants au fur et à

mesure que l'enracinement progresse. Ainsi, une faible fertilisation foliaire peut être appliquée afin d'éviter l'apparition de carences car le feuillage peut perdre une partie de ses minéraux. Au moment de la formation des cals, les boutures commencent déjà à devenir un peu plus autonomes car une certaine quantité d'eau et d'éléments minéraux peuvent entrer dans la tige. De ce fait, une fertilisation équilibrée et adéquate, une ou deux fois par semaine, donne généralement de bons résultats (Schwambach *et al.*, 2005). Par ailleurs, la réserve en éléments minéraux des pieds mères est primordiale pour la production et l'enracinement des boutures. Par conséquent, avant l'échantillonnage des boutures, les pieds mères doivent être bien entretenus et convenablement fertilisés afin que les boutures aient un meilleur pourcentage d'enracinement. Enfin, la concentration foliaire en éléments minéraux devrait également être surveillée car ces éléments favorisent la division cellulaire et la croissance des apex racinaires (Miller *et al.*, 2003).

III.3.2.7. Alimentation hydrique

L'alimentation en eau des boutures de tiges feuillées est certainement le facteur le plus déterminant dans la reprise des boutures. De ce fait, la procédure de prélèvement des boutures doit se faire de telle manière à ce que les boutures échappent au stress hydrique. Afin d'éviter la perte en eau par transpiration et le dessèchement des boutures, il s'avère nécessaire d'arroser les pieds mères et de les prélever tôt le matin. Après le prélèvement, il est recommandé de conserver les boutures dans des sacs humides ou dans une glacière, particulièrement lorsque la durée de transport est longue entre le site d'échantillonnage des boutures et la station de bouturage. Pour les espèces qui possèdent de larges feuilles, la surface foliaire des boutures doit être réduite car les pertes d'eau par transpiration au niveau des feuilles peuvent causer le flétrissement des boutures avant que l'émission de racines adventives n'ait permis de prendre le relais de l'alimentation hydrique à partir du substrat (Parker, 2009). En plus de leur sensibilité au dessèchement, les boutures sont également sensibles aux excès d'eau dans le substrat de croissance. De ce fait, après le repiquage des boutures dans le substrat d'enracinement, des arrosages raisonnés avec de l'eau sont également recommandés (Puri et Thompson, 2003). Cependant, la mauvaise qualité de l'eau d'irrigation (minéraux, pH, taux de salinité, types de sels) dans les zones arides et semi-arides peut avoir des effets négatifs sur l'enracinement et la croissance des plants issus de boutures. Certains éléments et ions, dont le calcium, le magnésium, le sodium, le bore, le chlorure, le bicarbonate, le fluorure, le fer et le soufre, présentent un risque s'ils existent dans l'eau d'irrigation. En effet, lorsque le calcium et le magnésium se trouvent dans l'eau qui est considérée comme « une eau dure » peuvent

provoquer le colmatage des équipements d'irrigation, ce qui peut empêcher les composants du système de bien fonctionner. Ces deux éléments ainsi que le bicarbonate sont souvent responsables du pH élevé et/ou de l'alcalinité de l'eau d'irrigation qui peuvent engendrer des symptômes de carence et causer le dessèchement foliaire lors de la croissance des boutures (Sarkar, 2009). Le sodium et le chlorure, à certaines concentrations, peuvent s'avérer toxiques ; c'est le cas du chlorure à un niveau supérieur à 350 mg/L. Le bore et le fluorure peuvent également causer des problèmes de toxicité. Le bore ne pose généralement pas de problème s'il se trouve à des niveaux inférieurs à 0,5 mg/L, mais à des niveaux plus élevés (> 2,0 mg/L), l'eau d'irrigation devient toxique (Prabucki *et al.*, 1999). Le fluorure, se trouve dans l'eau de ville. De nombreuses plantes à feuillage sont sensibles aux fluorures. Si la concentration du fluorure est élevée (> 0,2 mg/L), le risque de toxicité peut être évité en augmentant l'ombrage, en ajustant le pH du substrat et/ou de l'eau d'irrigation, ou en évitant l'utilisation d'engrais ou de composants de substrat contenant des fluorures. Enfin, le fer et le soufre peuvent laisser des résidus sur les feuilles et provoquer la formation de bactéries susceptibles de boucher les buses du système d'irrigation (Hilo *et al.*, 2017).

IV. Identification des principaux gènes impliqués dans la formation des racines et conception *in silico* d'amorces oligonucléotidiques

IV.1. Homéostasie et métabolisme de l'auxine dans la plante

L'homéostasie, *hómoios* (similaire ou semblable) et *stásis* (stabilité) en grec, est un processus de régulation complexe intégrant une multitude de systèmes de contrôle qui permettent de maintenir un équilibre dynamique du milieu interne malgré les fluctuations constantes de l'environnement externe d'un organisme vivant. L'idée d'homéostasie fut initialement définie en 1866 par le physiologiste français Claude Bernard, pionnier de la physiologie moderne (Pěňčík *et al.*, 2013). L'homéostasie de l'auxine correspond à la capacité que peut avoir une cellule à maintenir son équilibre de fonctionnement dans le milieu intérieur en dépit des contraintes externes. Elle requiert toute une série de processus biochimiques qui varient de manière complexe en impliquant plusieurs substances (figure 26) (Ljung *et al.*, 2002 ; Mateo-Bonmatí *et al.*, 2019).

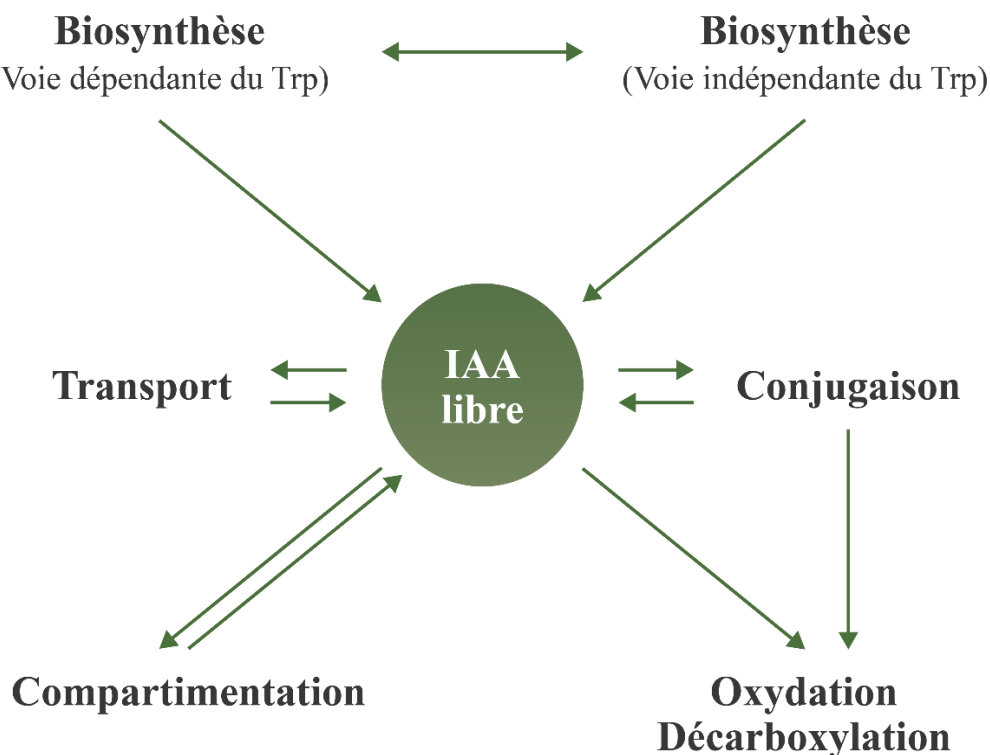


Figure 26. Homéostasie de l'auxine avec diverses voies métaboliques : la biosynthèse, la conjugaison, le transport, la compartimentation et la dégradation (Péret *et al.*, 2009).

L'homéostasie de l'auxine est strictement régulée au sein de chaque cellule en modulant non seulement le métabolisme (l'anabolisme et le catabolisme) mais également la conjugaison (pour l'inactiver), le transport (pour attirer ou évacuer), la compartimentation (pour la stocker ou l'inactiver) ou la dégradation (oxydation ou décarboxylation) (figure 27) (Kerk *et al.*, 2000 ; Seo et Park, 2009).

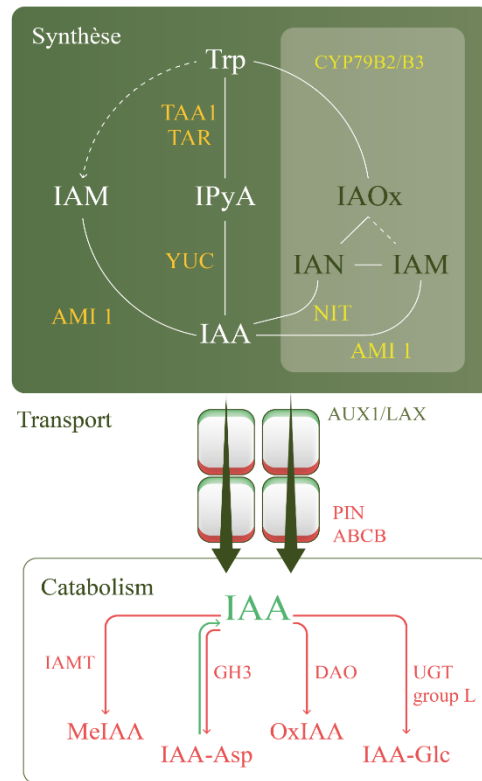


Figure 27. Diverses voies d'homéostasie de l'auxine dans les boutures. (A) Voies de biosynthèse de l'IAA. (B) Différents gènes intervenant dans le transport polaire de l'IAA. (C) Processus possibles de conjugaisons et de dégradations de l'IAA. Les gènes impliqués dans ces processus sont en rouge et en vert (Sánchez-García *et al.*, 2018).

IV.1.1. Biosynthèse de l'auxine

L'auxine est majoritairement synthétisée au niveau des organes photosynthétiques comme les tissus méristématiques des cotylédons, les jeunes feuilles et les bourgeons apicaux puis est transportée des organes sources vers les organes puits (Ljung *et al.*, 2005 ; Petersson *et al.*, 2009). La concentration des auxines dans les tissus des feuilles peut être jusqu'à 1 000 fois supérieure à celle des extrémités des racines. Toutefois, chaque tissu végétal est potentiellement capable de produire de l'auxine. A ce jour, deux voies de biosynthèse distinctes sont caractérisées : une voie majoritaire dépendante du tryptophane et une voie indépendante (figure

28) (Ljung, 2013). La plupart des précurseurs de l'auxine proviennent du L-tryptophane (L-Trp) qui est transformé dans le chloroplaste. Les tryptophanes (précurseurs) ont été synthétisés dans les feuilles âgées et les méristèmes intercalaires de la plante-mère et mis en réserve. Ils sont transformés en indole-3-acétaldoxime sous l'action d'enzymes à cytochromes P450 (Zhao, 2010 ; Eckardt, 2001). L'acide 3-indolacétique est alors obtenu via des réactions d'oxydation de l'indole-3-acétaldoxime. Une voie indépendante du tryptophane, à partir d'indole, est également envisagée pour expliquer qu'une plante déplétée en tryptophane serait toujours

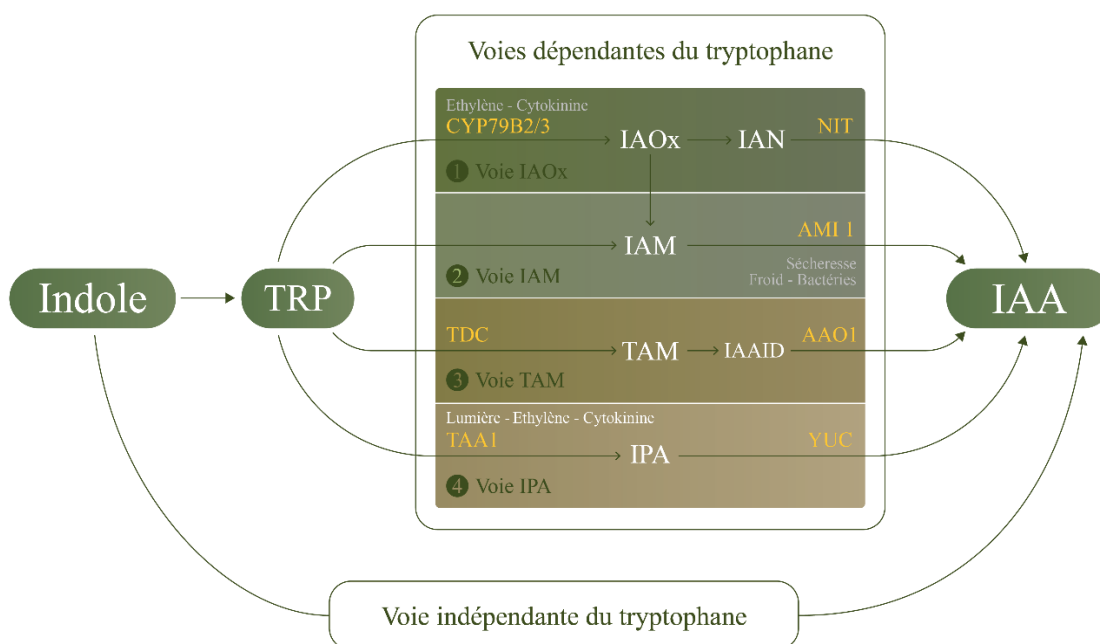


Figure 28. Biosynthèse d'IAA par voie dépendante et indépendante du tryptophane (Rosquete et al., 2012).

capable de produire des métabolites auxiniques (Ouyang et al., 2000).

IV.1.2. Conjugaison de l'auxine

La conjugaison de l'auxine est un moyen efficace et rapide pour inactiver et contrôler la concentration locale et intracellulaire en auxine libre (AIA) et donc de préserver son homéostasie dans la plante (Hopkins, 2003 ; Tromas et Perrot-Rechenmann, 2010). L'auxine peut être conjuguée ou liée à des glycosides, des peptides ou à des sites récepteurs cellulaires. En effet, pendant la conjugaison, la chaîne latérale est modifiée et deux types de conjugués peuvent être formés : les auxines conjuguées de type ester, où le groupement carboxyle de la chaîne latérale est lié par un pont oxygène à des sucres ou des polyols cycliques ; les auxines conjuguées de type amide, où le groupement carboxyle de la chaîne latérale forme une liaison

amide avec des acides aminés (-Ala, -Glu, -Leu, -Asp) ou des polypeptides (figure 29) (Staswick *et al.*, 2005 ; Bajguz et Piotrowska, 2009). Cependant, certaines formes de conjugaison de l'auxine à la glutamine ou à l'acide aspartique font partie du catabolisme de l'auxine dans la mesure où les conjugués formés ne peuvent être retransformés en auxine active. Ce mécanisme de rétrocontrôle permet ainsi un contrôle efficace de la signalisation et une réponse mesurée (Tam *et al.*, 2000 ; Kowalczyk et Sandberg, 2001). Par ailleurs, lors d'un traitement de la plante par une source exogène d'auxine, une part importante d'AIA intracellulaire est neutralisée par l'accumulation de conjugués. Certaines auxines synthétiques peuvent également être rapidement conjuguées, comme l'acide 1- naphthalène acétique (ou 1-ANA). En revanche, d'autres auxines synthétiques comme l'acide 2,4-dichlorophénoxyacétique (ou 2,4-D) ne sont que très difficilement métabolisées (Rampey *et al.*,

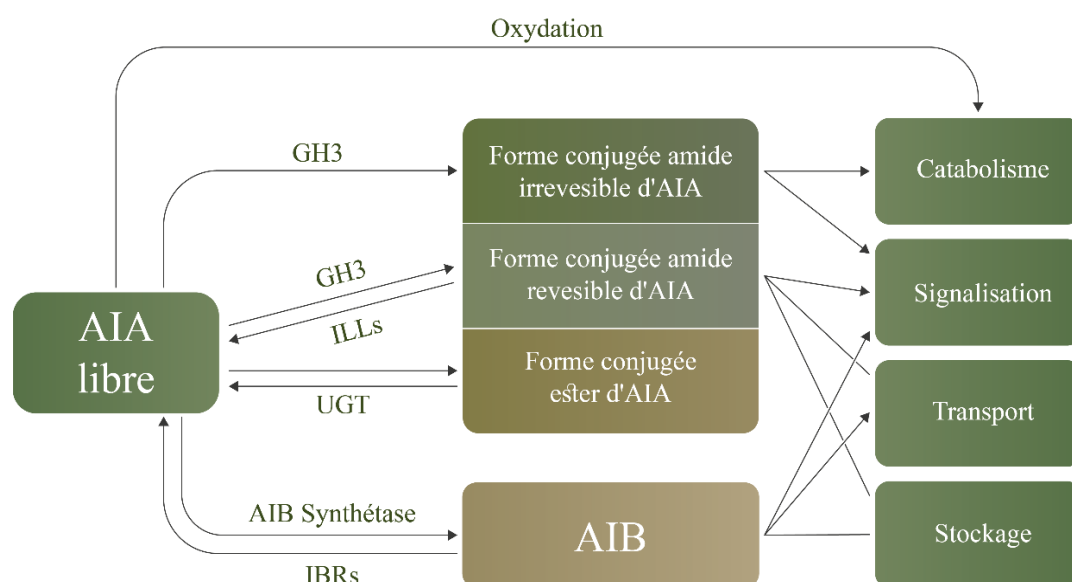


Figure 29. Voies de conjugaisons et de dégradations de l'AIA (Rosquete *et al.*, 2012).

2004).

IV.1.3. Transport de l'auxine

L'auxine, en tant que signal, doit être transportée pour accomplir son rôle de messenger entre les cellules, les tissus ou les organes. Le transport permet à l'auxine d'être présente dans toutes les parties de la plante, y compris les racines, où elle s'accumule (Petrášek et Friml, 2009). La distribution de l'auxine à l'échelle de la plante joue un rôle physiologique primordial dans les mécanismes de développement. Le transport de l'auxine à travers la plante se fait selon deux procédés différents : le transport par voie apolaire rapide (5-20 cm.h⁻¹) et le transport par voie polaire relativement lente (5-20 mm.h⁻¹) (Friml et Palme, 2002).

IV.1.3.1. Transport apolaire

Le transport apolaire ou non-polarisé assure essentiellement le transport longue distance de l'acide indole-3-acétique (AIA) par le système vasculaire. Ce transport se dit de longue distance, unidirectionnel et basipète. En effet, l'auxine est véhiculée dans les tissus parenchymateux des tiges et des feuilles puis dans les vaisseaux de phloème, tissu végétal conducteur permettant la circulation au sein de la plante de la sève synthétisée au niveau des organes chlorophylliens. En effet, des différences de concentration en auxine dans différentes parties vont entraîner la mise en mouvement de la molécule qui va pouvoir être progressivement déchargée vers les différents organes et tissus puits où elle sera redistribuée en plus grande quantité par le transport polaire (Marchant *et al.*, 2002).

IV.1.3.2. Transport polaire

Le transport polaire ou polarisé de l'acide indole-3-acétique (AIA) se produit de cellule à cellule. Il est caractérisé par une directivité strictement contrôlée, spécifique des auxines libres et actives, sensible aux inhibiteurs de synthèse des protéines et nécessitant de l'énergie. C'est un processus chimio-osmotique basé sur les différentes propriétés des formes acido-basiques. En effet, l'auxine est un acide faible ($pK_a = 4,8$) qui va pouvoir exister sous sa forme acide (AIAH) ou basique (AIA^-) en fonction du pH (Friml, 2003 ; Weijers et Friml, 2009). À l'extérieur de la cellule, dans l'espace intercellulaire (apoplasme), le pH se situe aux alentours de 5,5, dû à des ATPases qui sont chargées d'acidifier l'apoplasme à l'extérieur de la paroi squelettique de la cellule, ce qui permet l'apparition de molécules protonées (AIAH) non chargées et hydrophobes. Sous cette forme, la molécule AIAH peut entrer dans la cellule suivante soit par diffusion selon son gradient électrochimique à travers la membrane cytoplasmique de la cellule, soit à travers des canaux spécifiques (perméases) en utilisant le gradient de protons créé précédemment (transport actif secondaire) (Yang *et al.*, 2006 ; Michniewicz *et al.*, 2007). Une fois dans le cytoplasme, les conditions changent et le pH augmente aux alentours de 7,2, ce qui favorise considérablement la forme déprotonée (AIA^-) hydrophile. Sous cette forme, l'anion auxine ne peut alors plus traverser la paroi cellulaire par diffusion et sortir de la cellule (Michniewicz *et al.*, 2007). Pour continuer à se déplacer à travers la cellule, la seule possibilité de sortie est d'utiliser des transporteurs spécifiques situés sur une face basale de la cellule. Arrivé à l'extérieur de la paroi, l' AIA^- se reprotone et le mécanisme recommence (figure 30) (Petrasek et Friml, 2009). Les transporteurs d'auxine ont toute leur importance dans le transport actif (import et export) et de création des gradients d'auxine. La distribution inégale et asymétrique des transporteurs dans la membrane plasmique de chaque

cellule végétale favorise le trafic unidirectionnel (polaire) de cellule à cellule et donc une répartition contrôlée de l'auxine (Vanneste et Friml, 2009 ; Zažímalová *et al.*, 2014).

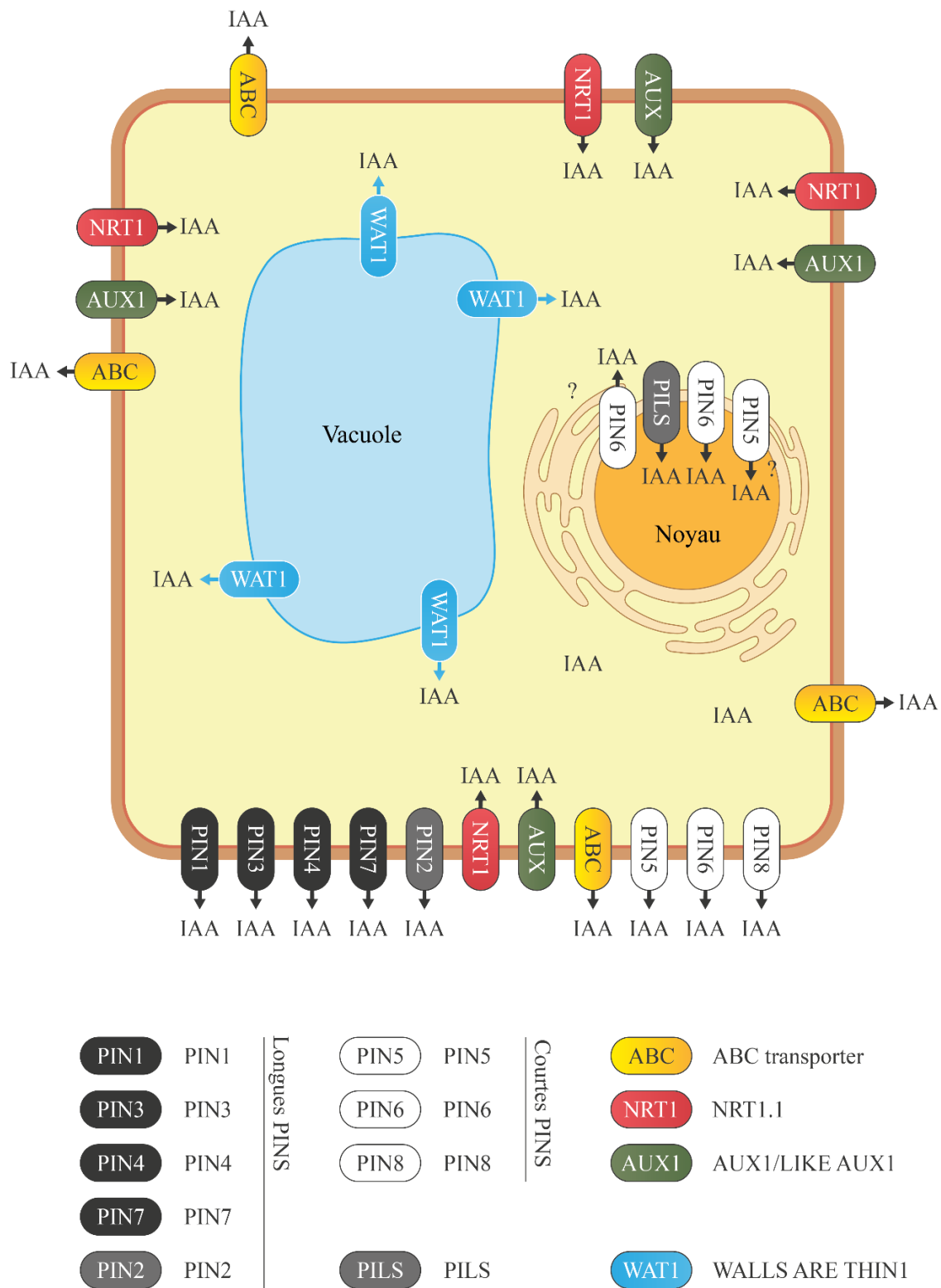


Figure 30. Modèle du transport polaire de l'AIA (Barbosa *et al.*, 2018).

IV.1.4. Compartimentation et stockage de l'auxine

Les mécanismes de la compartimentation et du stockage de l'auxine sont relativement complexes et assez peu étudiés. D'après les théories actuelles, le réticulum endoplasmique (RE), est un organelle désigné comme étant utilisé par la cellule végétale pour l'homéostasie (la dégradation ou le stockage) de l'auxine notamment car on y trouve plusieurs éléments liés à la biologie de l'auxine (Wabnick et al., 2011). Par ailleurs, la libération d'auxine par hydrolyse est réalisée dans le peroxysome ou le réticulum endoplasmique et catalysée par des hydrolases, qui transforment les conjugués d'auxine en auxine libre. Le transport de l'auxine entre les différents compartiments cellulaires est assuré par différents transporteurs comme PIN5, PIN8 ou les PILS qui permettraient de charger l'auxine ou ses conjugués dans le RE (figure 31) (Woodward et Bartel, 2005 ; Barbez et al., 2012).

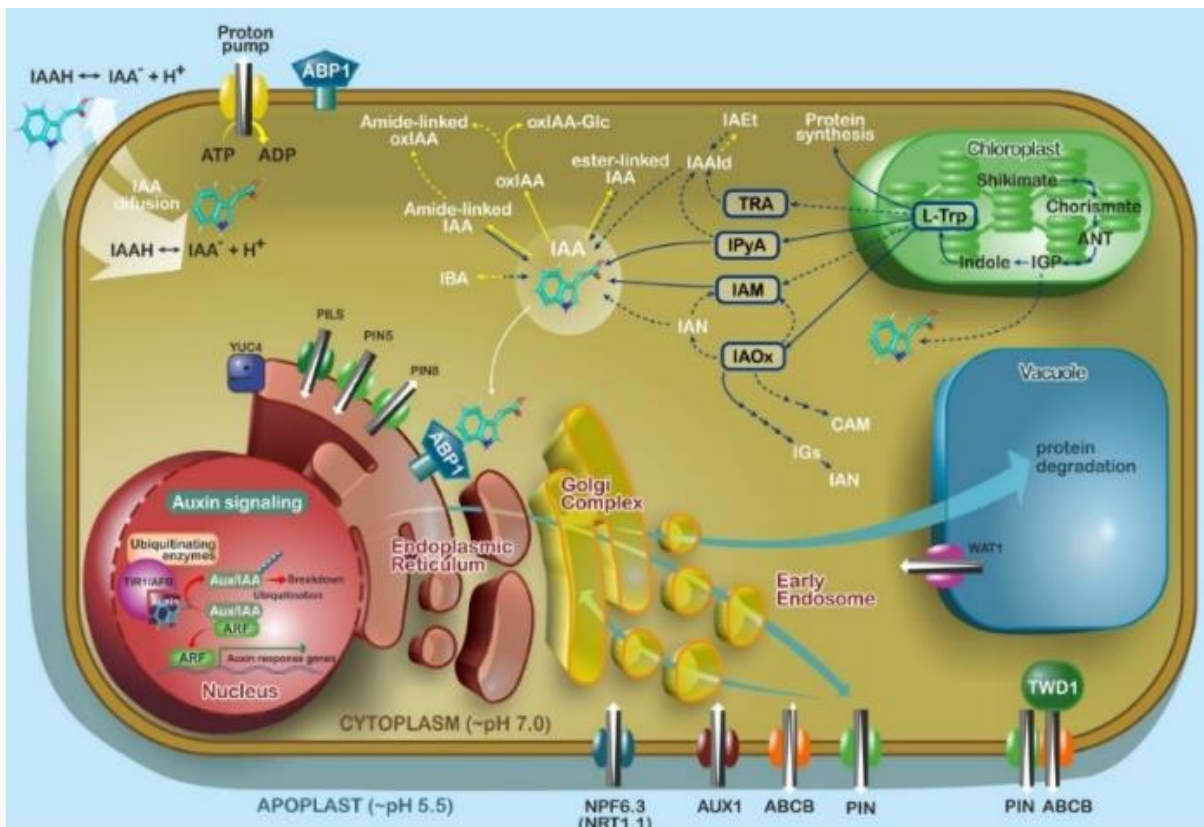


Figure 31. Transport et stockage de l'auxine entre les différents compartiments cellulaires assurés par PIN5, PIN8 ou les PILS (Skalický et al., 2018).

IV.1.5. Perception et signalisation de l'auxine

La perception, la reconnaissance ou la réponse de la plante à l'auxine se fait grâce à une série de réactions regroupées en une « cascade de signalisation » qui permet l'initiation de nouvelles chaînes de transduction du signal et entraîne une réponse physiologique spécifique (Tran, et Pal, 2014). L'auxine est reconnue par de nombreuses protéines réceptrices qui peuvent être

divisées en deux groupes : les protéines solubles et non solubles. Chacune de ces protéines affiche une affinité différente avec l'auxine. La voie de signalisation à l'auxine dans la cellule se fait au niveau de trois sites de liaison, à savoir : la fraction nucléaire, les fractions endomembranaires et la membrane plasmique (figure 32) (Dohrmann *et al.*, 1978 ; Paciorek et Friml, 2006).

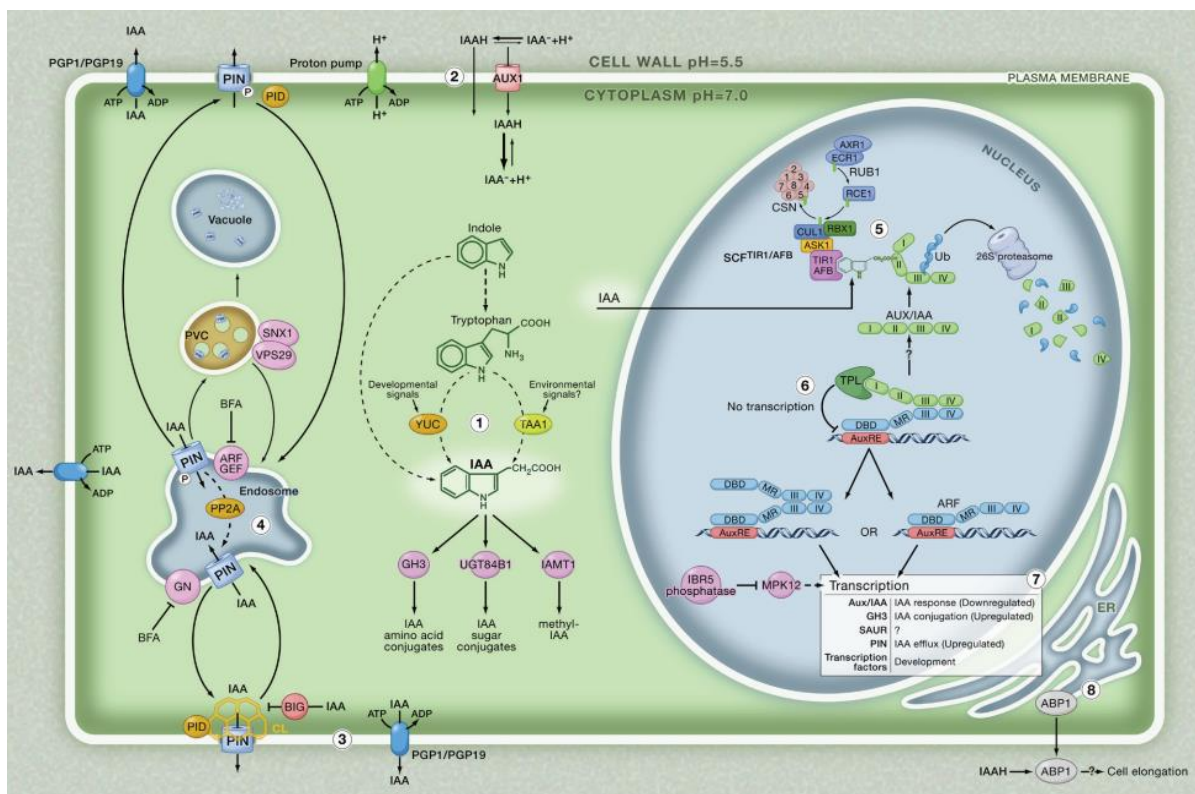


Figure 32. Voies de signalisation de l'AIA régulées par TIR1 et ABP1 dans la cellule (Paciorek et Friml, 2006).

IV.1.6. Dégradation ou catabolisme de l'auxine

La dégradation, le catabolisme ou l'oxydation de l'auxine se fait soit directement sur l'auxine libre soit sur un conjugué. Elle fait intervenir deux mécanismes coexistant et leur importance varie selon les plantes. La première voie de catabolisme de l'AIA est l'oxydation avec décarboxylation aussi bien du noyau indole que de la chaîne latérale. Cette voie est catalysée par plusieurs enzymes peroxydases, appelées généralement des AIA⁻ oxydases. La deuxième voie de catabolisme de l'AIA est l'oxydation sans décarboxylation du noyau aromatique. L'oxydation de l'AIA en oxAIA (acide 2-oxindole-3 acétique) est un phénomène irréversible qui commence par une oxydation à partir du dioxygène et implique la participation d'un système enzymatique constitué d'une ou plusieurs oxydases ou oxygénases. Les oxAIA semblent jouer un rôle prépondérant compte tenu de l'augmentation de leur concentration après un stimulus pour contrôler au mieux les concentrations locales d'auxines (Sairanen *et al.*, 2012).

IV.2. Familles de gènes intervenant dans l'homéostasie de l'auxine et la rhizogenèse adventive

IV.2.1. Familles intervenant dans le transport d'auxine

IV.2.1.1. Famille AUX1/LAX (Auxin influx carrier protein)

Les approches génétiques ont permis d'identifier des protéines impliquées dans le transport d'influx associés au chargement de l'auxine vers le phloème et à ses redistributions localisées nécessaires à la croissance et au développement des plantes (par exemple la formation des racines ou le gravitropisme) (Jones *et al.*, 2009). Les transporteurs d'influx ne sont pas présents dans toutes les cellules et appartiennent à une famille de perméases aux acides aminés, nommées AUX1/LAX, initialement AUX1 (auxin resistant 1) et LAX (like aux1) (Bainbridge *et al.*, 2008). AUX1 permet le transfert de l'auxine caulinaire vers le phloème pour favoriser son transport basipète vers le primordium racinaire (Yang *et al.*, 2006). AUX1 est localisée au niveau des extrémités inférieures des cellules épidermiques et les cellules de la coiffe de la racine, au-dessous de la zone d'élongation (Kleine-Vehn *et al.*, 2006 ; Stone *et al.*, 2008). Par ailleurs, AUX1 affiche une distribution non polaire à travers la membrane plasmique et elle est accumulée dans les compartiments de l'appareil de Golgi et le réticulum endoplasmique (figure 33) (Kleine-Vehn *et al.*, 2006). AUX1 joue également un rôle crucial dans le maintien de l'homéostasie de l'auxine. En effet, lorsque la concentration en auxine est forte, elle intervient pour accélérer son entrée dans les cellules mais, lorsque la concentration est faible et que la diffusion est presque négligeable, elle intervient comme co-transporteurs permettant l'entrée simultanée d'un anion AIA⁻ pour deux protons H⁺, de l'apoplasme vers le cytoplasme des cellules (Yang *et al.*, 2006 ; Bainbridge *et al.*, 2008).

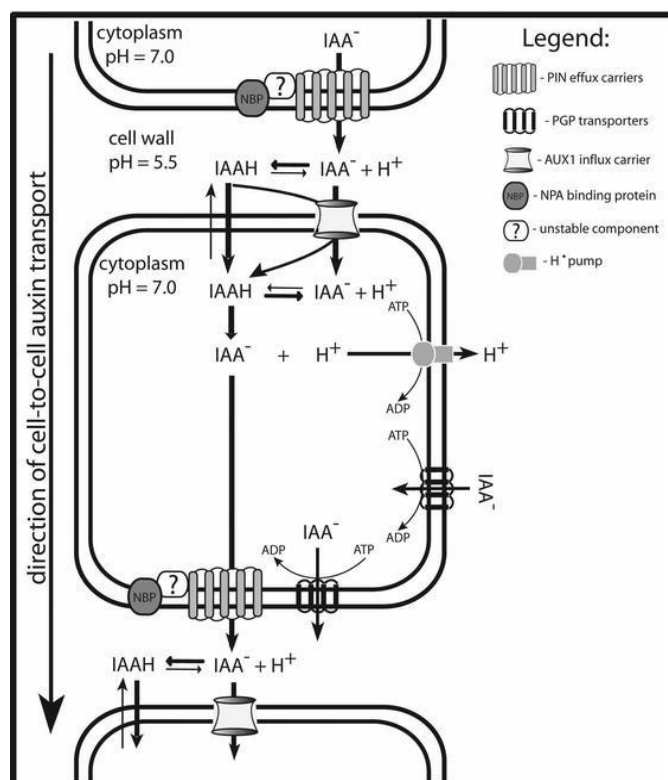


Figure 33. Localisation des transporteurs d'influx d'auxine AUX1 dans les cellules (Michniewicz et al., 2007).

IV.2.1.2. Famille PIN-FORMED (Auxin efflux carrier protein)

L'efflux de l'auxine du cytoplasme de la cellule vers l'apoplasme est complexe et fait intervenir plusieurs types de protéines membranaires. Comme l'exportation d'auxine par la cellule ne s'effectue pas par diffusion, l'efflux requiert des transporteurs membranaires spécifiques (Friml et al., 2002). Ces transporteurs jouent un rôle essentiel dans le contrôle de l'homéostasie, l'établissement de gradients de concentration localisés ainsi que dans le transport longue distance de l'auxine, depuis les lieux de synthèse situés dans la région apicale vers les racines. Ce transport à longue distance, polarisé et la capacité de redistribution de l'auxine sont étroitement liés à l'activité et à la localisation des transporteurs (Jönsson et al., 2006 ; Smith et al., 2006). La famille PIN est l'une des familles de protéines les plus étudiées qui regroupe un ensemble de protéines localisées asymétriquement sur la membrane plasmique de certaines cellules. Actuellement, seuls huit membres de cette famille ont été caractérisés fonctionnellement, à savoir : PIN1, PIN2, PIN3, PIN4, PIN5, PIN6, PIN7 et PIN8 (Mravec et al. 2009). La redistribution d'auxine dépendante de protéines PIN est indispensable au bon déroulement de processus développementaux essentiels tels que l'acquisition de la polarité et de la symétrie embryonnaire, la formation et le maintien des méristèmes apicaux caulinaires et racinaires et la phyllotaxie. Ces protéines semblent être rapidement renouvelées au niveau de

la membrane plasmique de la cellule ce qui permet un ajustement permanent du flux d'auxine et de son orientation au sein de la plante (Petrasek et Friml, 2009). La famille PIN est divisée en 2 catégories, nous avons d'une part les protéines de type PIN5, PIN6 et PIN8 qui sont localisées au niveau du réticulum endoplasmique et d'autre part, les PIN1, PIN2, PIN3, PIN4 et PIN7. Cette seconde catégorie est localisée sur la membrane plasmique et interagit avec le flux d'auxine. Ces protéines ont des actions redondantes, la mutation d'une d'entre elle est compensée par une autre (Huang *et al*, 2010). Les gènes PIN seraient nécessaires pour le transport correct et la localisation coordonnée de l'auxine. Ainsi, l'auxine pourrait agir comme un messenger intercellulaire dans les processus morphologiques et grâce à son rôle dans le signalement de longue distance (Friml *et al.*, 2003). Le sens du transport de l'auxine est déterminé par la localisation subcellulaire des protéines PIN. PIN1 est localisée à la base (apex racinaire) au niveau du système vasculaire de la racine; PIN2 sur le côté basal des cellules corticales et à la partie apicale (apex de la tige) à côté des cellules de l'épiderme et de la coiffe racinaire ; PIN4 sur la partie basale des cellules du méristème racinaire central et avec une polarité moins prononcée dans les cellules du centre quiescent et sur le côté basal des cellules de la stèle, cependant les PIN7 sont apolaires dans les cellules de la columelle (figure 34) (Friml *et al.*, 2003).

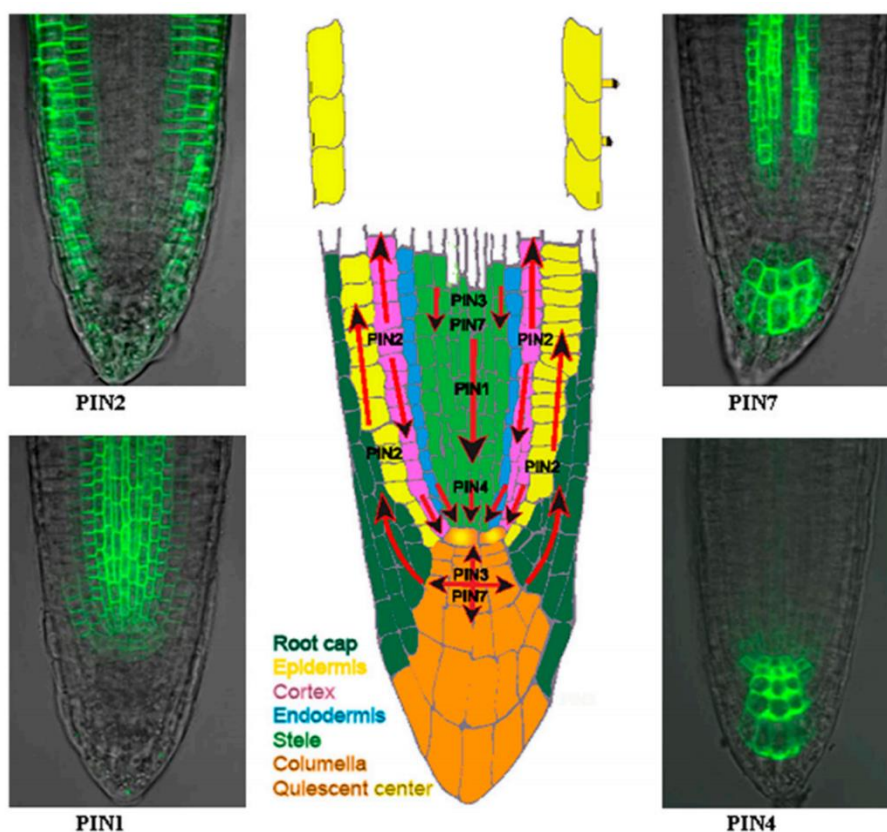


Figure 34. Localisation subcellulaire et niveau d'expression des protéines de transport de l'auxine PINs au niveau de la racine (Feraru et Friml, 2008).

IV.2.2. Famille intervenant dans la perception et la signalisation de l'auxine

IV.2.2.1. Famille ABP (Auxin-Binding Protein)

La signalisation ou la perception de l'auxine fait intervenir plusieurs types de protéines membranaires. Ces récepteurs sont en partie associés à la membrane plasmique et pourraient donc percevoir très rapidement toute modification de concentration en auxine. Parmi ces protéines, on cite l'ABP1 (Auxin Binding Protein 1). En effet, l'ABP est un récepteur d'auxine qui a été identifié dans les années 1980 sur la base de sa capacité à lier l'auxine (Čovanová *et al.*, 2013). L'auxine se fixe sur l'ABP1 ce qui active une enzyme mettant en mouvement une pompe à protons. Cette pompe va expulser les protons de l'intérieur de la cellule vers le milieu extracellulaire (Chen *et al.*, 2001). La modification de pH résultante va avoir plusieurs effets : relâchement de la paroi cellulaire par rupture des liaisons de ses constituants, entrée d'ions calcium Ca^{2+} déstabilisant la paroi, entrée d'ions potassium K^+ provoquant l'entrée d'eau d'où un gonflement de la cellule. L'ensemble de ces processus entraîne l'élongation cellulaire et le développement embryonnaire (figure 35). Par ailleurs, il a été démontré que la surexpression de ABP1 conduit à une sensibilité plus élevée des cellules de garde à l'auxine (Baulcy *et al.*, 2000).

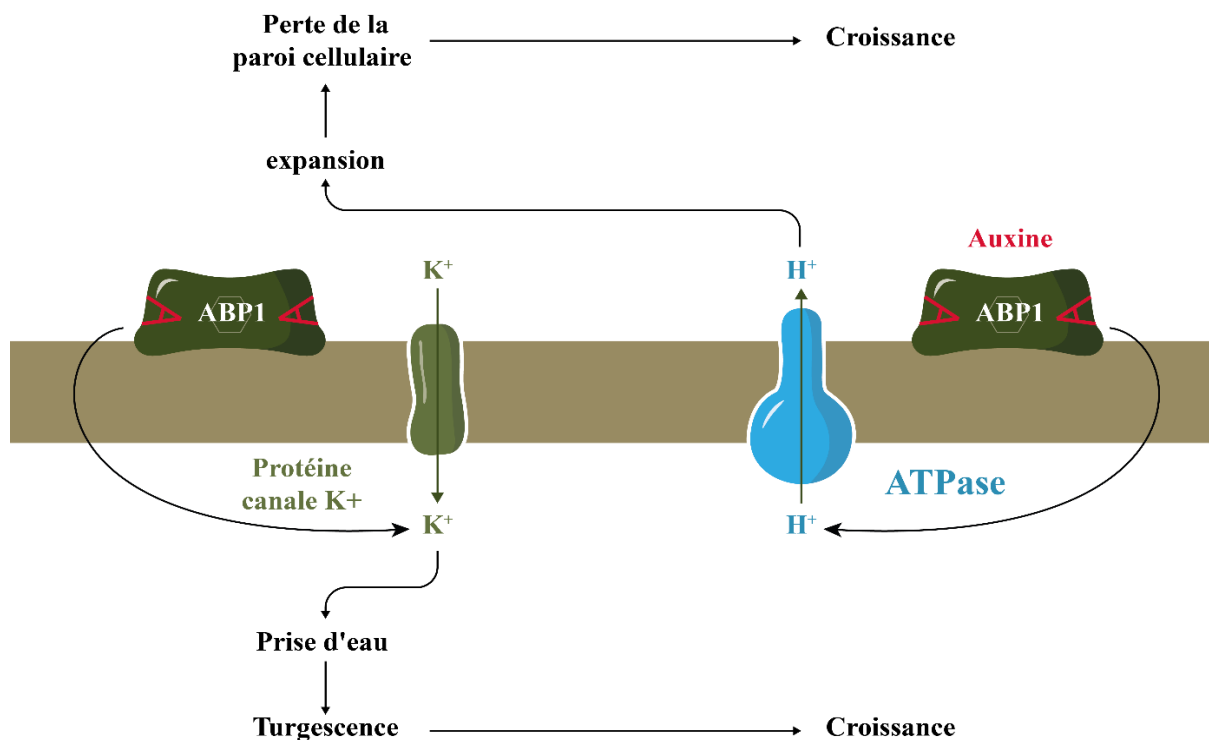


Figure 35. Processus de croissance cellulaire par ABP1. ABP1 stimule rapidement l'activité de l'ATPase de la membrane plasmique et les canaux K^+ . L'ATPase de la membrane plasmique induit l'acidification de l'espace extracellulaire, entrée d'ions potassium K^+ provoquant l'entrée d'eau d'où un gonflement de la cellule (Sauer et Kleine, 2011).

IV.2.2.2. Famille TIR (Transport Inhibitor Response)

En plus des récepteurs de la famille ABP (Auxin-binding protein), la voie de signalisation de l'auxine fait intervenir des récepteurs protéiniques de la famille TIR (Transport Inhibitor Response). Parmi ces derniers, TIR1 est une protéine nucléaire qui appartient au complexe SCFTIR1 (Dharmasiri *et al.*, 2005 ; Badescu et Napier, 2006). En présence d'AIA et en fonction de sa concentration, le récepteur TIR1 intervient directement dans le contrôle de la dégradation des répresseurs de transcription, en bloquant l'expression de certains gènes (Kepinski et Leyser, 2005). En effet, la liaison de l'auxine avec TIR1 favorise la modification puis la dégradation des protéines IAA/AUX, en leur ajoutant des ubiquitines. L'ubiquitination des protéines et leur dégradation par le protéasome laissent libres les activateurs de transcription de la famille ARF (Auxin Response Factor) et permettent le démarrage de la transcription des gènes dits de réponse précoce à l'auxine (figure 36) (Napier, 2005 ; Mockaitis et Estelle, 2008). Cette dernière est transitoire et sera de nouveau inhibée par des répresseurs IAA/AUX nouvellement synthétisés ce qui nécessite un apport continu d'auxine pour conserver les effets déclenchés par la perception du signal auxine. Par ailleurs, les protéines TIR1 appartiennent à une sous-famille contenant 7 membres, dont 3 sont nommés AFB 1, AFB 2 et AFB 3 pour "Auxin signalling F-Box" (Woodward et Bartel, 2005).

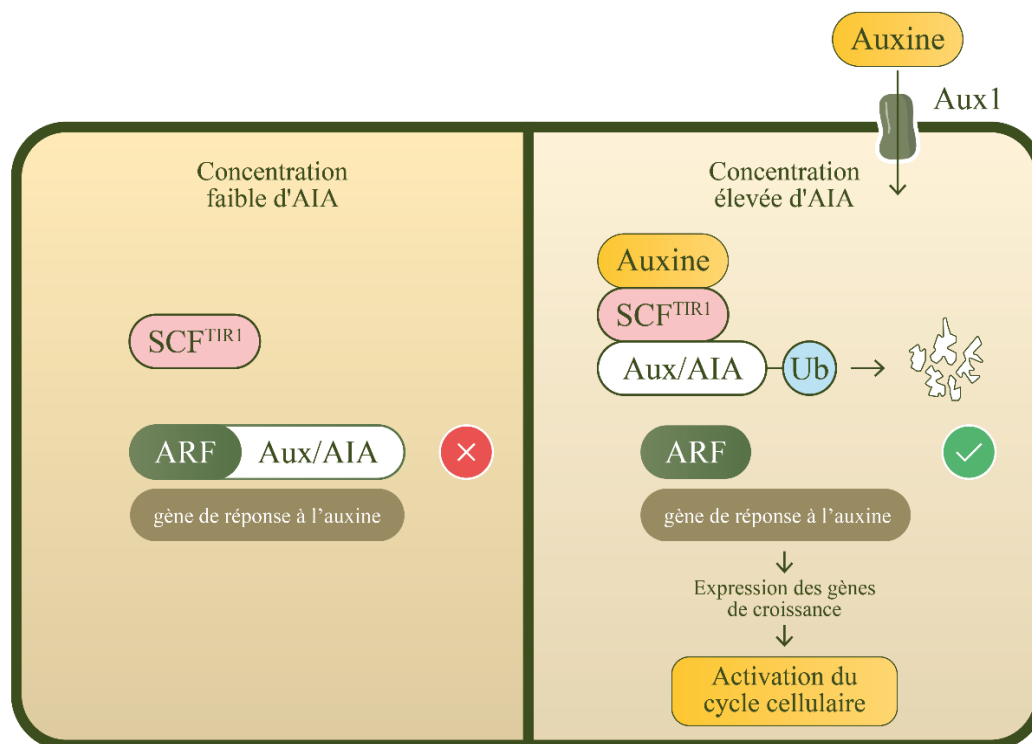


Figure 36. Effet de l'auxine sur l'expression des gènes et l'activation du cycle cellulaire à travers la destruction des protéines Aux / IAA par le complexe SCF contenant les protéines du gène TIR1 (Callis, 2005).

IV.3. Conception des amorces oligonucléotidiques

La conception des amorces pour la PCR est déterminée par de nombreuses règles qui varient en fonction du but recherché. En effet, une PCR destinée à amplifier un échantillon d'ADN permettra l'obtention de la plus grande quantité d'ADN possible, alors qu'une PCR en temps réel destinée au diagnostic moléculaire n'est essentiellement qu'un indicateur binaire de la présence ou non d'un élément pathogène recherché : c'est l'amplification elle-même qui est recherchée et, dans ce cas il ne sera pas donné autant d'importance à la quantité d'ADN produit. Cependant, pour toute PCR, on cherchera à respecter certaines règles de base dans la conception des amorces (Apte et Daniel, 2009).

IV.3.1. Choix des amorces

Les amorces utilisées dans la PCR ont une longueur comprise entre 16-30 nucléotides, ce qui conduit à une température d'hybridation raisonnablement élevée. Les amorces doivent être exemptes de suites de séquences de poly bases ou de motifs répétitifs, ceux-ci pouvant s'hybrider de manière inadéquate avec la matrice (Dieffenbach *et al.*, 1993). Par ailleurs, les amorces synthétisées présentent parfois dans leur structure primaire des séquences répétées inversées qui s'hybrident en formant des structures secondaires (dimères d'amorce) sous forme de boucles ou épingles à cheveux (hair pin loops), ce qui empêcherait l'hybridation avec le brin matrice particulièrement au niveau de l'extrémité 3' de l'amorce. De ce fait, Les extrémités 3' des amorces devraient être riches en bases G et C pour empêcher l'hybridation entre les amorces et assurer une meilleure hybridation de l'extrémité qui sera étendue (Poitras et Houde, 2002). La distance moyenne entre les deux amorces devrait être inférieure à 10 Kb. En général, on observe une réduction substantielle du rendement lorsque la distance entre les amorces est très élevée (plus de 3 Kb environ). Ainsi, une concentration suffisante d'oligonucléotides est indispensable pour compléter les 30 cycles d'amplification. Une concentration plus élevée peut entraîner l'amplification de séquences non cibles indésirables. Cependant, la PCR est inefficace lorsque la concentration d'amorce est trop faible (Basu, 2015).

IV.3.2. Conception des amorces

La conception des amorces est sans doute le paramètre le plus important pour le succès de la réaction PCR. L'amorce détermine plusieurs paramètres de fonctionnement et d'efficacité de la PCR, tels que la position et la longueur du produit, la température de fusion (T_f) et le rendement (Singh et Kumar, 2001). Une amorce mal conçue peut conduire à une faible production, voire une inhibition de l'amplification, en raison d'une non spécificité et/ou d'une

formation de dimères d'amorce, qui peuvent devenir suffisamment compétitifs pour inhiber la formation de produit (Yuryev, 2007).

IV.3.3. Choix des amorces

Plusieurs variables doivent être prises en considération lors de la conception des amorces pour la PCR. Ainsi, les plus importantes sont : longueur de l'amorce ; température de fusion (T_f) ; spécificité ; séquences d'amorce complémentaires ; teneur en G/C et suites polypurine (A, G) ou polypyrimidine (T, C) ; séquence à l'extrémité 3' (Singh et Kumar, 2001).

IV.3.3.1. Longueur de l'amorce

La longueur de l'amorce est un paramètre essentiel pour le succès de la PCR. En effet, l'efficacité de plusieurs variables comme la spécificité, la température et le temps d'hybridation dépendent en partie de la longueur de l'amorce. En général, les oligonucléotides entre 18 et 24 bases sont extrêmement spécifiques de la séquence, à condition que la température d'hybridation soit optimale (Hyndman et Mitsunashi, 2003). La longueur de l'amorce est également proportionnelle à l'efficacité d'hybridation. En effet, plus la longueur de l'amorce augmente, moins l'hybridation est efficace. Le nombre de matrices amorcées diminuant à chaque étape, cela peut aboutir à une diminution sensible de produit amplifié. Cependant, les amorces ne devraient pas être trop courtes, à moins que l'application l'exige spécifiquement (Wang et Seed, 2003).

IV.3.3.2. Température de fusion (T_f)

La température joue un rôle primordial pour améliorer l'efficacité de l'amplification. En effet, durant les trois étapes constituant un cycle de PCR, le recours à des températures différentes permet de contrôler l'activité enzymatique. Ainsi, l'étape de dénaturation, est réalisée à environ 94°C/95°C, pour une séparation complète des deux brins d'ADN ; l'étape d'hybridation se fait à une température T_a (annealing temperature) qui sera définie selon la nature des amorces et déterminera la stabilité de l'appariement entre les amorces et la matrice ; l'étape de polymérisation, est réalisée à environ 72°C, pour la synthèse des brins complémentaires d'ADN par l'ADN polymérase thermorésistante à partir des extrémités 3'OH libre des amorces hybridées (Saiki, 1989). Les températures de dénaturation et de polymérisation sont fixes, seule la température d'hybridation qui dépend de la séquence en bases des oligonucléotides devra être calculée pour chaque nouvelle PCR. Elle est légèrement inférieure (environ de 5°C) à la

température de fusion des amorces (appelée T_m) qui est la température de demi-dénaturation qui correspond à la température à laquelle 50% des amorces sont appariées.

$$T_a = T_m - 5^{\circ}\text{C}$$

Les deux amorces d'oligonucléotides de la PCR doivent être conçues de sorte qu'elles aient autant que possible des températures de fusion semblables (typiquement entre 50 et 60 °C, avec une préférence généralement autour de 54 ou 55 °C) afin que l'élongation des amorces se fasse optimalement à la même température (Robertson et Walsh-Weller, 1998). Si les 2 oligonucléotides amorces ne concordent pas en termes de T_f , l'amplification sera moins efficace ou peut ne pas fonctionner du tout. Dans ce cas, il faudra prendre la température de fusion la plus faible pour calculer T_a , afin de favoriser l'hybridation des 2 amorces (Abd-El salam, 2003). Les températures de fusion des oligonucléotides sont déterminées à l'aide des logiciels de conception d'amorces déjà disponibles sur le marché. Pour calculer la T_m d'un oligonucléotide de 18-24 nucléotides, une bonne approximation peut être obtenue à l'aide de la règle de Wallace suivante (tableau 3) :

$$T_m = T_f = 2(A+T) + 4(G+C) \text{ [en Celsius]}$$

Avec : A, T, G et C sont respectivement le nombre de chacune de ces bases puriques et pyrimidiques dans l'amorce oligonucléotide (Álvarez-Fernández, 2013).

Tableau 3. Calcul de la température de fusion des amorces avec l'équation de Wallace (Suggs et al., 1981).

Longueur de l'amorce	$T_f =$ $2(A+T) + 4(G+C)$	Longueur de l'amorce	$T_f =$ $2(A+T) + 4(G+C)$
4	12 °C	22	66 °C
6	18 °C	24	72 °C
8	24 °C	26	78 °C
10	30 °C	28	84 °C
12	36 °C	30	90 °C
14	42 °C	32	96 °C
16	48 °C	34	102 °C
18	54 °C	36	108 °C
20	66 °C	38	114 °C

IV.3.3.3. Spécificité

La spécificité de l'amorce signifie que les amorces doivent être choisies minutieusement de telle sorte qu'elles aient une séquence unique dans l'ADN matrice qui doit être amplifié dans la PCR. La spécificité de l'amorce dépend de plusieurs variables dont le plus important est la longueur. En effet, plus la longueur de l'amorce augmente plus le nombre d'oligonucléotides uniques augmente et le nombre de séquences répétitives conduisant à une traînée lors de l'amplification des brins d'ADN diminue (Rychlik, 1995). En général, une longueur d'amorce de 18-24 bases est optimale pour l'hybridation des amorces sur l'ADN matrice selon la règle de Wallace. Par ailleurs, en plus de la longueur, la spécificité de l'amorce dépend de la température d'hybridation. Une température de fusion comprise entre 55- 72 °C permet une meilleure spécificité et donne d'excellents résultats. Si la température de fusion est trop basse, un amorçage non spécifique peut se produire entre les amorces et la matrice, ce qui peut être étendu par l'ADN polymérase avec la présence d'une homologie courte à l'extrémité 3' et par conséquent inhiber la formation de produit (Bustin *et al.*, 2020).

IV.3.3.4. Séquences d'amorce complémentaires

La conception des amorces exige absolument que l'homologie intra-amorce (autohomologie) ne dépasse pas 3 paires de bases. Si une amorce possède une telle région d'autohomologie, des structures partiellement doubles brin en « épingles à cheveux (Hairpin) » pourraient se former et perturberont l'hybridation avec la matrice (Montera et Nicoletti, 2008). Par ailleurs, un autre risque connexe est l'homologie inter-amorce (figure 37). En effet, l'homologie partielle dans les régions centrales de deux amorces peut interférer avec l'hybridation. La formation de dimères d'amorce se produit lorsque l'homologie entre les deux amorces se situe à l'extrémité 3' de l'une ou de l'autre amorce, ce qui, par compétition, empêchera le plus souvent l'amplification du produit désiré durant la PCR (Kumar et Chordia, 2015).

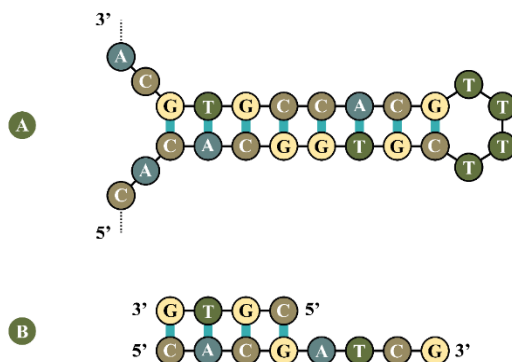


Figure 37. Homologie intra-amorce (épingles à cheveux) (A) et homologie inter-amorce (dimères d'amorce) (B) (Thornton et Basu, 2015).

IV.3.3.5. Teneur en G/C et suites polypurine (A, G) ou polypyrimidine (T, C)

La composition chimique des amorces en termes de nucléotides est une condition sine qua non pour la réussite et l'efficacité de l'amplification. Idéalement, les amorces devraient être composées d'un mélange presque aléatoire de nucléotides avec une teneur de 50% en GC (Kim, 2000). Par ailleurs, la séquence d'amorce doit être choisie de telle sorte que les suites polypyrimidine (T, C), polypurine (A, G), poly-A, poly-G, poly-T et poly-C devraient être évitées pour assurer une meilleure spécificité du complexe amorce-matrice et une hybridation optimale (Li *et al.*, 2001).

IV.3.3.6. Séquence à l'extrémité 3'

Le moteur de la PCR est une ADN-polymérase qui assure la polymérisation des nucléotides libres des nouveaux brins selon la loi de la complémentarité. Pour qu'elle puisse allonger une amorce appariée à un brin d'ADN, cette enzyme doit pouvoir « s'asseoir » sur l'extrémité 3' de l'amorce (figure 38). De nombreuses études ont montré que la position terminale 3' dans les amorces PCR est essentielle pour empêcher les problèmes de mésappariements entre l'amorce et la matrice et l'homologies entre les deux amorces. En effet, plus on s'éloigne de l'extrémité 3', moins les mésappariements et les dimères compteront contre une possible élongation de l'amorce (Gorelenkov *et al.*, 2001). Par ailleurs, pour garantir au mieux l'efficacité de la réaction et réduire au minimum les mésappariements qui pourraient se produire, il importe donc de tenir compte de l'inclusion d'un résidu G ou C à l'extrémité 3' des amorces lors de la conception d'amorces. Ce « crampon GC » contribue à la fixation correcte à l'extrémité 3' en raison de la liaison hydrogène triple, plus forte des résidus G/C (Linhart et Shamir, 2007).

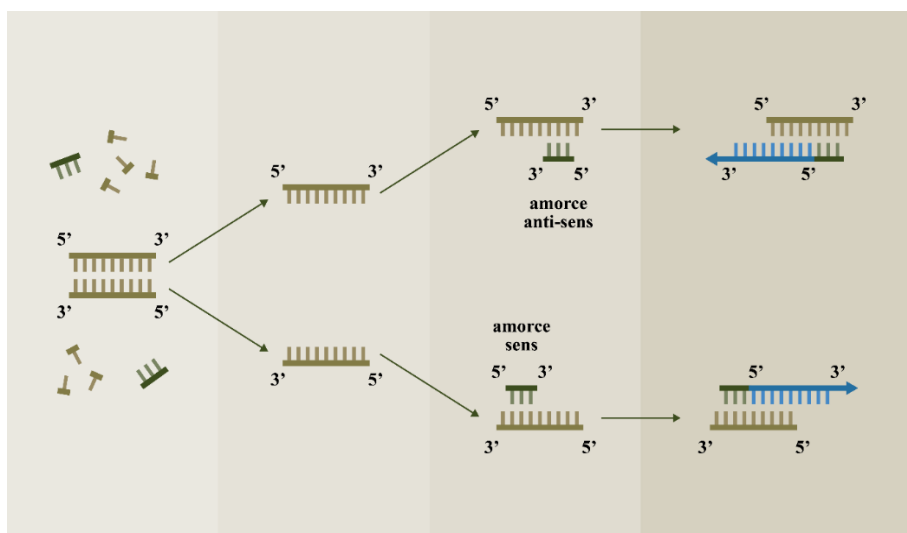


Figure 38. Extrémité 5' de l'amorce sens et antisens fixée à l'extrémité 3' du brin d'ADN cible au niveau de la fourche de réplication (Gorelenkov *et al.*, 2001).

Deuxième partie : Matériel et méthodes

I. Détermination et caractérisation par spectroscopie moyen infrarouge à transformée de fourier (IRTF) couplée à la chimiométrie de la composition biochimique des feuilles et graines d'arganier (*Argania spinosa* (L.) Skeels) selon l'origine géographique

I.1. Choix du matériel végétal et préparation des échantillons

I.1.1. Choix du matériel végétal

Le matériel végétal utilisé est constitué de graines et de feuilles d'arganier issues de 12 clones différents. Les deux types d'échantillons étudiés proviennent respectivement de deux sites protégés appartenant aux domaines forestiers délimités par le Haut-Commissariat aux Eaux et Forêts et à la Lutte Contre la Désertification (HCEFLCD) (figure 39).



Figure 39. Origines géographiques des échantillons de feuilles et graines d'arganier.

Le premier site, « la forêt d'Admine » (30°19' N - 9°20' W ; 35 m altitude ; 13,68 km de la côte atlantique marocaine), se trouve dans la province d'Inezgane Ait Melloul. Il s'étend sur une superficie de 22 000 hectares dans la plaine du Souss et se situe dans l'aire de distribution naturelle de l'arganier au sud-ouest du Maroc. Ce site est soumis à des précipitations annuelles moyennes de 200 mm.an⁻¹ et il se caractérise par un sol à texture généralement sablo limoneuse du quaternaire. Le bioclimat de la zone d'Admine, selon le Quotient pluviométrique d'Emberger (Q2), est de type semi-aride tempéré à aride tempéré. L'aire protégée de la forêt d'Admine est considérée comme l'un des secteurs d'Arganeraie les plus représentatifs de la diversité de l'arganier au Maroc. Cependant, cet écosystème est en déséquilibre prononcé et sa végétation est très appauvrie à cause d'une forte pression anthropozoogène (figure 40).



Figure 40. Localisation géographique de la forêt d'Admine, province d'Inezgane Ait Melloul, Maroc ($30^{\circ}19' N - 9^{\circ}20' W$; 35 m altitude ; 13,68 km de la côte atlantique marocaine).

Le deuxième site, « l'Arboretum de Oued Cherrat » ($33^{\circ}32' - 33^{\circ}44' N - 6^{\circ}50' - 7^{\circ}01' W$; 45 m altitude, 2,03 km de la côte atlantique marocaine), se trouve dans la province de Benslimane, s'étend sur une superficie de 160 hectares et se situe en dehors de l'aire géographique de distribution de l'arganier avec des précipitations annuelles moyennes de 460 mm.an^{-1} ($33^{\circ}32' - 33^{\circ}44' N - 6^{\circ}50' - 7^{\circ}01' W$; 45 m altitude, 2,03 km de la côte atlantique marocaine). Ce site se caractérise par un sol à texture généralement sablo-argileuse avec des rives parfois rocheuses de schistes primaires. Le bioclimat de la zone Arboretum d'Oued Cherrat, selon le Quotient pluviométrique d'Emberger (Q2), est de type subhumide chaud à tempéré à semi-aride tempéré (peu étendu). Ce site protégé a été reboisé entre 1932 et 1936 et transformé en Arboretum par la station de recherche forestière en 1945 à des fins de recherches scientifiques. Les écosystèmes sylvatiques et les zones humides de l'Arboretum d'Oued Cherrat sont parmi les plus riches au Maroc et les plus remarquables pour la qualité de leur cortège floristique et faunistique (figure 41).



Figure 41. Localisation géographique de l'Arboretum forestier d'Oued Cherrat, province de Benslimane, Maroc ($33^{\circ}32' - 33^{\circ}44' N - 6^{\circ}50' - 7^{\circ}01' W$; 45 m altitude ; 2,03 km de la côte atlantique marocaine).

Les clones d'arganier (*Argania spinosa* L) ont été choisis sur la base de leur vigueur, croissance générale, phénologie (feuillage (figure 42) et forme et calibre du fruit (figure 43)) et biomasse élevée (diamètre de la couronne). Au niveau de chaque site, 30 graines et 30 feuilles d'arganier ont été collectées aléatoirement. Les feuilles et les fruits ont été récoltés directement sur les arbres et mis dans des sachets en plastique. Une fois au laboratoire, les fruits ont été épluchés et les graines ont été séchées sous le soleil de l'été et conservés ensuite dans des sachets de plastique à 4°C jusqu'au moment de leur utilisation (figure 44).



Figure 42. Différents aspects des feuilles de quelques clones d'arganier de la forêt d'Admine (ASFA : *Argania spinosa* de la Forêt d'Admine). A : ASFA1 ; B : ASFA2 ; C : ASFA3 ; D : ASFA4.



Figure 43. Différentes formes de graines d'arganier de quelques clones (*Argania spinosa* (L.) Skeels) de la forêt d'Admine. A : fruits ovales du clone ASFA1 ; B : fruits fusiformes du clone ASFA2 ; C : fruits fusiformes du clone ASFA3 ; D : fruits ovales fusiformes du clone ASFA4. Barres d'échelle : 20 mm.



Figure 44. Différents aspects des fruits (baies ou fausses drupes) d'arganier (*Argania spinosa* (L.) Skeels). A : fruits immatures avec péricarpe (pulpe) verte ; B : fruits matures avec péricarpe orange ; C : fruits épluchés (noyau) ; D : fruits concassés avec des amandons (graines).

I.1.2. Préparation des échantillons

Avant l'acquisition des spectres, les échantillons des feuilles et des graines ont été préalablement préparés afin d'améliorer l'homogénéité et limiter l'apport des facteurs de réflexion dans l'altération des signaux spectraux.

I.1.2.1. Echantillons des feuilles

La préparation des échantillons des feuilles a été effectuée dans le département de la valorisation de production du Centre Wallon de Recherches agronomiques (CRA-W) de Gembloux. Le protocole expérimental a été divisé en deux étapes :

- Une lyophilisation qui consiste en une congélation des feuilles à des températures de l'ordre de - 80 °C puis en leur dessiccation dans un lyophilisateur pendant 48 heures ;
- Un broyage avec un broyeur à traitement discontinu pourvu d'un fléau en acier inox puis avec un mortier et pilon afin de réaliser un mélange fin et homogène (figure 45).

I.1.2.2. Echantillons de graines

La préparation des échantillons de graines a été également effectuée au département de la valorisation de production du Centre Wallon de Recherches agronomiques (CRA-W) de Gembloux. La préparation des échantillons à analyser a été réalisée en deux phases : les graines ont été préalablement broyées à l'aide d'un mortier et pilon en porcelaine pouvant supporter les basses températures de l'azote liquide puis les échantillons ont été parfaitement mélangés afin d'assurer une meilleure homogénéité (figure 46).

I.2. Méthodes d'analyse

Une fois préparés, les échantillons ont été conservés dans une enceinte climatique à une température de 4°C pour conserver les caractéristiques physico-chimiques.

I.2.1. Acquisition des spectres

Les spectres ont été analysés sur un spectrophotomètre infrarouge à transformée de Fourier Bruker Vertex 70 équipé d'accessoire ATR golden gate (Bruker S.A., Wissembourg, France) (figure 45). Les spectres infrarouges ont été enregistrés sur l'intervalle de longueurs d'onde compris entre 2,5 et 25 μm (soit 4000 cm^{-1} à 400 cm^{-1} en nombres d'onde), avec une résolution spectrale d'enregistrement 4 cm^{-1} . Les spectres ont été identifiés par comparaison avec des spectres de référence en scannant les échantillons à une distance fixe de l'émetteur de lumière (qui correspond à l'épaisseur du collier attaché à cette dernière) (figure 46). Chaque spectre constitue la moyenne de 32 scans et a été acquis après 2 min en réflexion diffuse.

I.2.2. Analyses des données

Avant d'effectuer l'analyse, les spectres acquis ont été prétraités pour réduire les bruits de mesure des collections de spectres et améliorer la qualité du signal. Il existe différents types de prétraitements ; cependant, dans cette étude, nous avons principalement opté pour la Standard Normal Variate (SNV) qui consiste à centrer et réduire les spectres afin de supprimer les erreurs et bruits dus à l'effet additif et à l'effet multiplicatif. L'analyse a été effectuée en 3 temps. La puissance du laser a été fixée à 600 mW. Les échantillons ont été randomisés et l'échantillonnage a été réalisé de manière aléatoire. Le logiciel OPUS 6.5 a été utilisé pour l'acquisition spectrale, la manipulation et la transformation. Le traitement des données, via l'analyse en composantes principales et les prétraitements (D1), a été effectué par le logiciel statistique UNSCRAMBLER X.

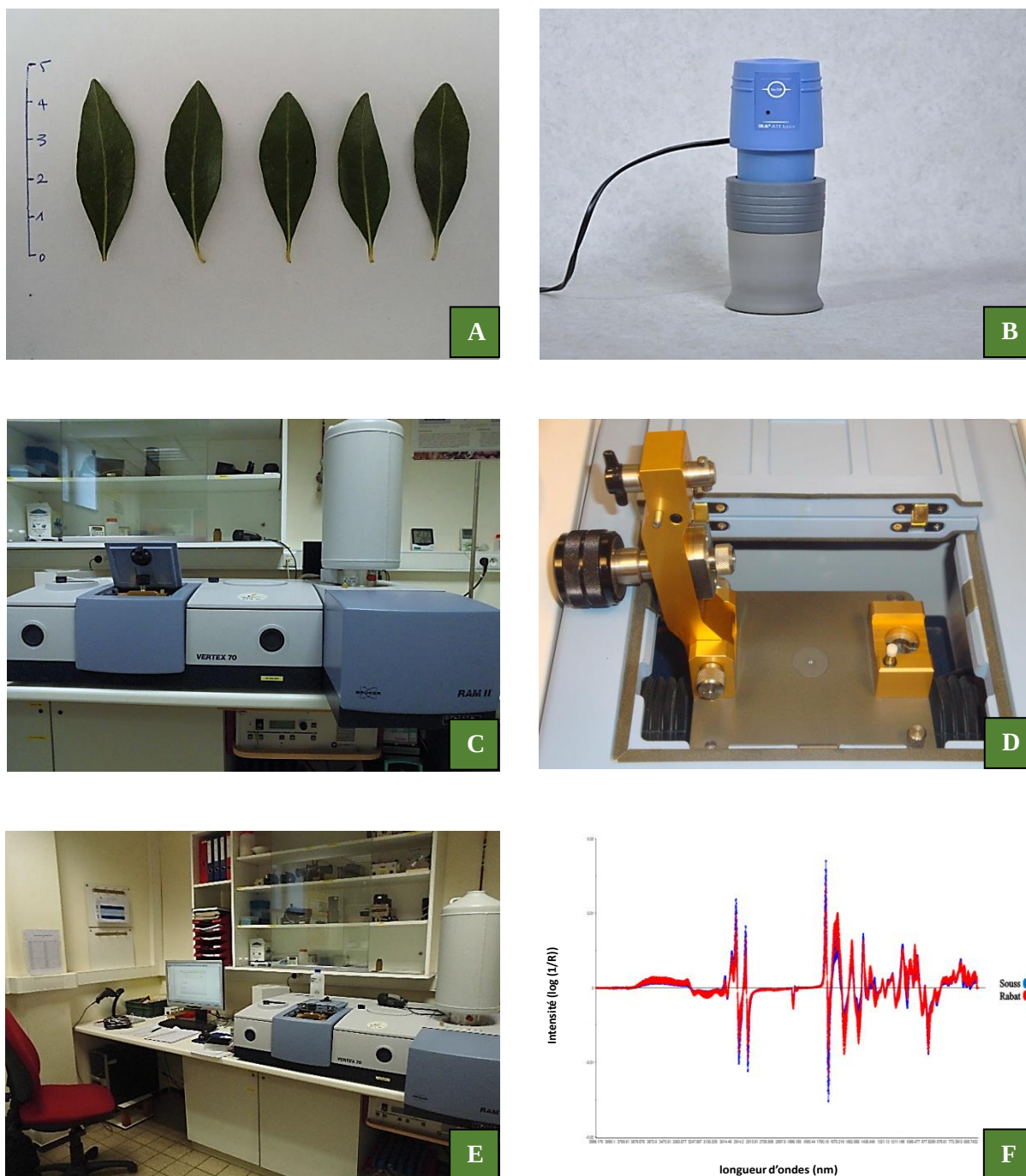


Figure 45. Préparation des échantillons de feuilles pour l'analyse par spectroscopie moyen infrarouge par transformée de Fourier. A : Feuilles d'arganier ; B : Broyeur à traitement discontinu ; C : Spectrophotomètre infrarouge à transformée de Fourier Bruker Vertex 70 ; D : Accessoire ATR golden gate ; E : Acquisition des spectres moyen infrarouges des feuilles ; F : Données spectrales moyen infrarouge des graines broyées d'arganier.

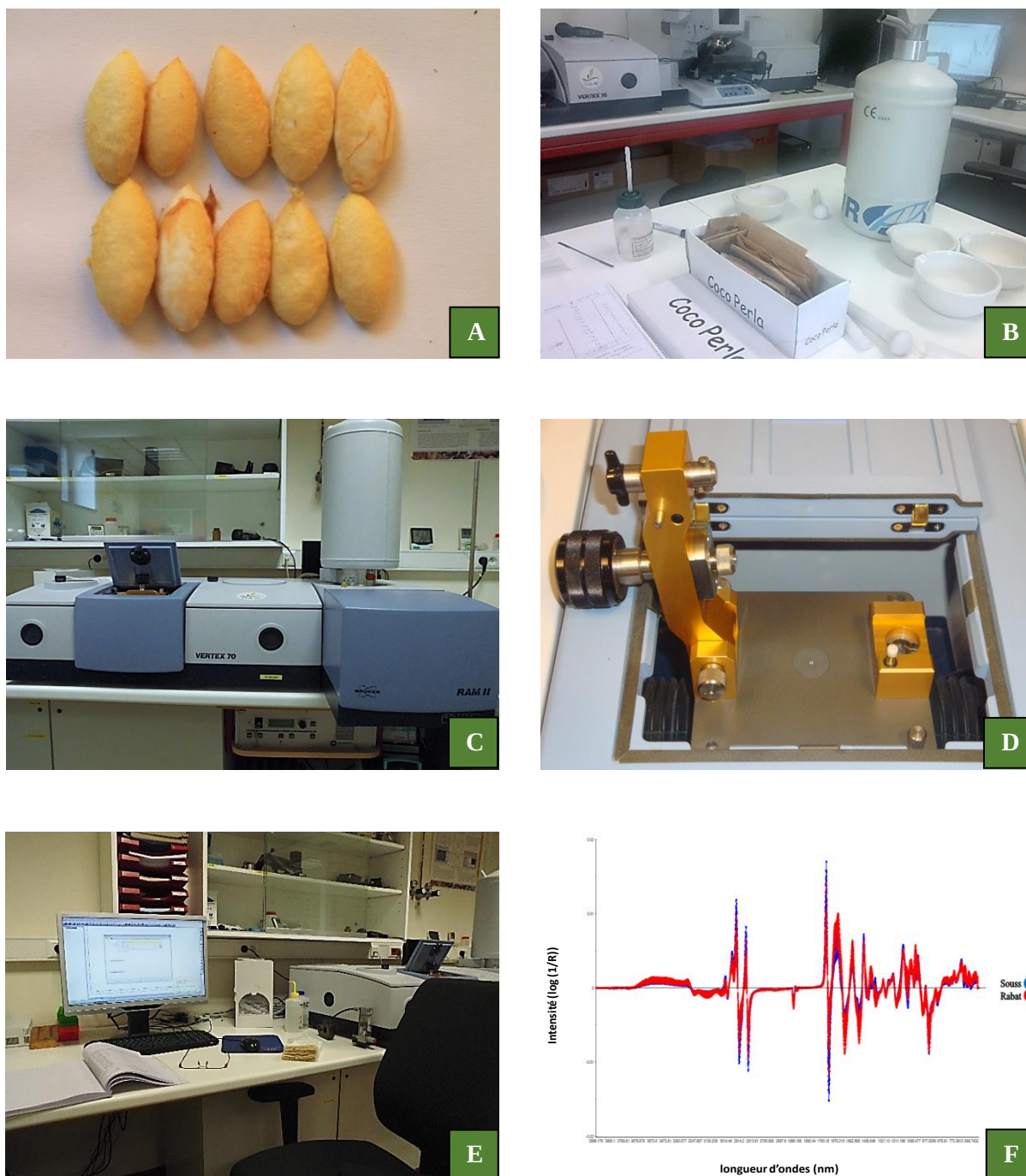


Figure 46. Préparation des échantillons de graines pour l'analyse par spectroscopie moyen infrarouge par transformée de Fourier. A : Amandons d'arganier après décorticage des graines ; B : Broyage des échantillons de graines à l'aide de mortier et pilon en porcelaine avec l'azote liquide ; C : Spectrophotomètre infrarouge à transformée de Fourier Bruker Vertex 70 ; D : Accessoire ATR golden gate ; E : Acquisition des spectres moyen infrarouges des graines ; F : Données spectrales moyen infrarouge des graines broyées d'arganier.

II. Multiplication végétative de l'arganier (*Argania spinosa* (L.) Skeels) par bouturage semi-ligneux

II.1. Choix du matériel végétal

L'étude de la multiplication végétative a été réalisée sur des boutures collectées uniquement sur des arbres adultes de l'Arboretum d'Oued Cherrat. Le choix des arbres s'est donc fait sur la vigueur, la croissance générale, la phénologie (feuillage, début de floraison, début de fructification, période de fructification, maturation des fruits, forme et calibre du fruit), la biomasse élevée (diamètre de la couronne), la capacité de régénération et l'aptitude à produire des boutures (figure 47).

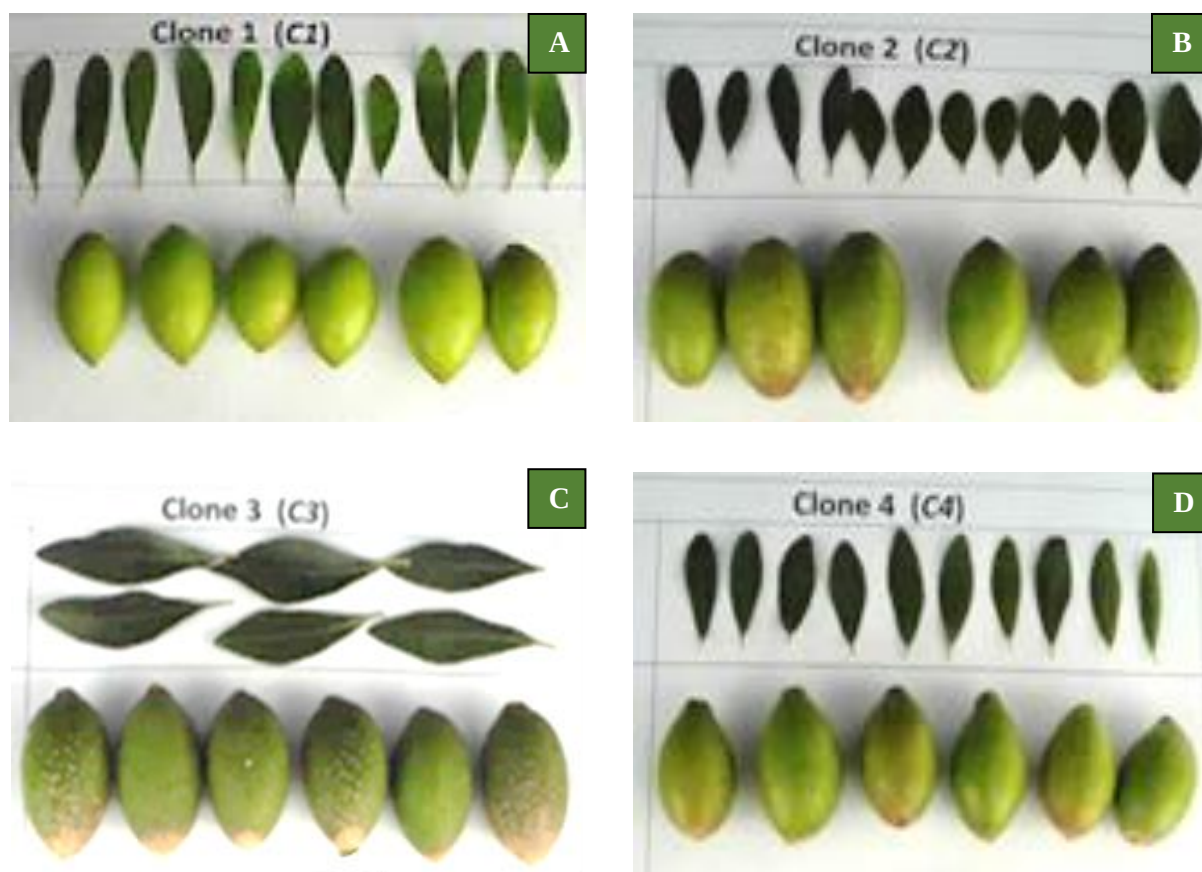


Figure 47. Caractéristiques morphologiques (feuilles et fruits) des quatre clones d'arganier étudiés de l'Arboretum forestier d'Oued Cherrat (ASOC : *Argania spinosa* d'Oued Cherrat). A : ASOC1 ; B : ASOC2 ; C : ASOC3 ; D : ASOC4.

Les quatre clones (plantes mères) ont été étiquetés pour identification et taillés régulièrement (trois fois par an) afin de permettre la production de bonnes pousses et de maintenir la jeunesse des arbres (tableau 4). Au bout d'un an, des boutures semi-ligneuses ont été collectées à partir de pousses situées dans la partie basale de la couronne des arbres.

Tableau 4. Coordonnées géographiques de quatre clones étudiés.

Clone	Région	Coordonnées géographiques
Clone 1	Skhirat-Bouznika	N 3381996
		W 711083
Clone 2	Skhirat-Bouznika	N3382018
		W711086
Clone 3	Skhirat-Bouznika	N3381915
		W711069
Clone 4	Skhirat-Bouznika	N3381921
		W711128

II.2. Prélèvement et conditionnement des boutures

Les boutures ont été prélevées tôt le matin à l'aide de sécateurs stériles et les pousses collectées ont été déposées à l'ombre. Après la collecte, ces pousses ont été conservées dans des sacs en plastique perforés et placées dans une glacière réfrigérée afin de réduire l'effet de dessiccation pendant la collecte et le transport. Une fois au laboratoire, les boutures ont été conservées dans une chambre froide (4 °C) pendant 48 heures.

II.3. Sites d'expérimentation et conditions d'essai

Les trois essais ont été conduits dans une serre expérimentale orientée Nord-Sud (ensoleillement maximum et meilleure répartition de la lumière) de l'unité de biotechnologie du Centre Régional de Recherche Agronomique (CRRRA) de Rabat, INRA-Maroc. Cette serre est munie d'un système d'ombrage permettant la protection des boutures durant les mois chauds d'été (juin, juillet et août). Les boutures ont été cultivées sans brouillard, sous une température de 32 ± 2 °C et une photopériode de 16 heures (figure 48).



Figure 48. Serre expérimentale de l'unité de biotechnologie du Centre Régional de Recherche Agronomique (CRRRA) de Rabat, INRA-Maroc. A : porte SAS afin de limiter le risque de contamination des serres ; B : essai de bouturage semi-ligneux de l'arganier installé selon un dispositif en Bloc Aléatoire Complet (DBAC).

II.3.1. Substrat

Pour la réalisation du bouturage, nous avons choisi un substrat bien drainé et chimiquement inerte (capacité d'échange faible) afin d'assurer des conditions édaphiques convenables pour l'enracinement adventif, d'éviter la pourriture, contrôler la nutrition minérale des plants d'arganier et contribuer au raisonnement de la fertilisation et à la maîtrise de l'itinéraire technique du verger moderne d'arganier. A cet effet, six échantillons du substrat étudié ont été analysés au laboratoire des sciences du sol de l'Unité de l'Environnement et la Conservation des Ressources Naturelles au Centre Régional de la Recherche Agronomique de Rabat (CRRARabat) afin de déterminer les caractéristiques physico-chimiques.

II.3.1.1. Sable

a) Préparation des échantillons pour l'analyse physico-chimique

Après prélèvement, les six échantillons composites représentatifs du substrat étudié ont été homogénéisés, séchés à l'air libre à une température inférieure à 45 °C pendant sept jours et tamisés à 2 mm afin d'extraire les débris végétaux et les cailloux de taille supérieure à 2 mm selon la norme AFNOR NF X31-101 (AFNOR, 1992a). Une aliquote du substrat tamisé à 2 mm est conservée pour les analyses physiques. Une autre aliquote du substrat tamisé à 0,2 mm est conservée pour l'analyse de la matière organique et les analyses chimiques (figure 49).

b) Analyse granulométrique par sédimentation

Les particules minérales constituant le substrat étudié ont été isolées, triées et classées suivant leur taille (la proportion de terre fine (< 2 mm), de graviers (2 à 5 mm) et de cailloux (> 5 mm)) selon la méthode de la pipette décrite par la norme AFNOR NF X31-107 (AFNOR, 1983a). Dans un premier temps, la matière organique du sol est attaquée par l'eau oxygénée pour éliminer les cations adsorbants (Ca^{++} , Mg^{++} , NH_4^+ , H^+). Après leur élimination, on passe à l'attaque du calcaire avec du HCl avant de siphonner la solution pour ne laisser que l'échantillon sédimenté. Une petite quantité de KCl est ensuite ajoutée afin d'éliminer les ions H^+ fixés sur les argiles. Finalement, l'eau distillée est rajoutée jusqu'à disparition totale d'HCl. Puis, 25 ml de solution de pyrophosphate de sodium $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$ (un dispersant) sont ajoutés à une concentration de 50g/l. Chaque échantillon est versé dans une éprouvette de 1L et complété jusqu'à 100 ml avec de l'eau distillée. Après 30 secondes d'agitation, la lecture est effectuée à l'aide d'un densimètre (6 min, 8h et 24h). Finalement le contenu de l'éprouvette est versé dans un tamis de 0,05mm pour obtenir la fraction sableuse. Cette dernière est versée dans une boîte

avant d'être déposée dans une étuve. Le sable grossier ainsi que le sable fin sont tamisés à l'aide d'un tamis de 0,2 mm. Les analyses granulométriques ont révélé que le substrat utilisé est de texture sablonneuse par excellence, vu qu'il contient 88,3% de sable total. Le sable étudié contient un taux de sable total très élevé de 88,3%, composé d'un mélange de sable fin (54,9%) et grossier (33,43%), alors que les taux d'argile et de limon sont très faibles (3,1% et 8,6% respectivement) (tableau 5).

Tableau 5. Composition granulométrique du substrat étudié.

Argile ($<2\mu\text{m}$)	Limons fins ($2\mu\text{m}$ à $20\mu\text{m}$)	Limons grossiers ($20\mu\text{m}$ à $50\mu\text{m}$)	Sable fin ($50\mu\text{m}$ à $200\mu\text{m}$)	Sable grossier ($200\mu\text{m}$ à 2mm)	Sable Total
3,1	3,9	4,7	54,9	33,43	88,3

c) Composition chimique du substrat

- Détermination de l'azote total

L'azote total a été déterminé par distillation après minéralisation par la méthode Kjeldahl. Dans un premier temps, l'azote des composés organiques est transformé en azote ammoniacal par l'acide sulfurique concentré, à ébullition, qui agit comme oxydant et détruit la matière organique. Pour cela, 2,5 g des six échantillons prélevés à partir du substrat étudié ont été attaqués à chaud par l'acide sulfurique concentré conformément à la norme AFNOR NF X31-111 (AFNOR, 1983b). Le carbone et l'hydrogène se dégagent à l'état de gaz carbonique et de vapeur d'eau. L'azote transformé en ammoniacque est fixé par l'acide sulfurique à l'état de sulfate d'ammonium. Puis l'ammoniacque est distillée dans une solution d'acide borique. Le titrage est effectué avec une solution d'acide sulfurique à 0.02 N. Après ajout d'une très petite quantité de catalyseur sélénium et de H_2O_2 , le produit intermédiaire a été porté progressivement à chaud jusqu'à décoloration (Bremner, 1960). Le dosage par colorimétrie automatique a révélé que le substrat utilisé contient une très faible quantité d'azote totale (0.17 ppm).

- Détermination du phosphore assimilable

Le phosphore assimilable est dosé par la méthode Olsen où l'extraction est faite par le bicarbonate de sodium (NaHCO_3) 0,5 N à pH 8,5. Après agitation et filtration, la solution est dosée par un colorimètre automatique à 825 nm conformément à la norme AFNOR X31-116 (AFNOR, 1992c) (Olsen, 1954). La densité optique des filtrats a montré que la concentration en ions phosphore initialement présents dans le substrat étudié est très faible (0,14 ppm).

- Détermination du potassium extractible

Le potassium extractible est dosé par un spectrophotomètre à émission de flamme après minéralisation des échantillons du substrat étudié avec une solution d'acétate d'ammonium. La méthode de minéralisation est décrite par la norme AFNOR X31-108 (AFNOR, 1992b). Le dosage du potassium extractible par photométrie a montré que le substrat utilisé contient de très petites quantités de potassium (1,5 ppm) (tableau 6).

Tableau 6. Teneur du substrat en éléments majeurs.

NO ₃ (ppm) (Méthode de Kjeldahl)	P ₂ O ₅ (ppm) (Méthode d'Olsen)	K ₂ O (ppm) (Méthode d'extraction à l'Acétate d'ammonium)
2,3	0,4	1,8

Avec : Azote totale = NO₃/4,43 ; phosphore assimilable = P₂O₅/2,29 ; potassium extractible = K₂O/1,2.

d) Détermination du pH

La mesure du pH du sol est réalisée généralement soit par le pH_{eau} correspondant au pH d'une suspension de terre dans l'eau, soit par le pH_{KCl} correspondant au pH d'une suspension de terre dans une solution de chlorure de potassium ou l'eau pure est remplacée par une solution de KCl et les ions K⁺ sont remplacés par les ions H⁺. La détermination du pH du substrat étudié est réalisée selon un rapport sol/solution (1/2,5) à travers une suspension de l'échantillon respectivement dans de l'eau distillée et une solution normale de KCl (N) (Jones, 1999). Ces deux méthodes électrométriques consistent à introduire dans un flacon, 20 g de sol tamisé à 2 mm et à y ajouter 50 ml de solution (aqueuse ou de KCl). Le mélange obtenu est mis en agitation pendant une heure conformément à la norme AFNOR X31-103 (AFNOR, 1988) pour le pH-eau et la norme AFNOR X31-104 (AFNOR, 1988) pour le pH-KCl. Le pH est directement lu sur le pH-mètre à électrodes en verre et le pH_{KCl} donne des valeurs inférieures au pH_{eau} de 0,5 à 1 unité (Baize, 2018). Les mesures de l'acidité ont révélé que le substrat utilisé est moyennement alcalin, le pH-H₂O et pH-KCl étant respectivement de 8,4 et 7,8 (tableau 7).

e) Détermination de la conductivité électrique

La conductivité électrique d'un extrait aqueux a été déterminée selon un rapport sol/solution de 1/5 à travers une suspension des échantillons dans de l'eau distillée. La méthode consiste à introduire dans un flacon (borosilicaté ou en polyéthylène), 20 g de sol tamisé à 2 mm et à y ajouter 100 ml de solution aqueuse (Calvet, 2003). Le mélange obtenu est mis en agitation pendant 30 minutes conformément à la norme AFNOR X31-130 (AFNOR, 1993b). Puis, le mélange est directement filtré sur papier filtre. La conductivité électrique est directement lue sur le EC-mètre à électrodes en verre. L'extrait 1/5 a montré que le substrat utilisé contient une très faible conductivité électrique (0,2 mS/cm).

f) Détermination du calcaire actif

Le calcaire actif est la fraction du calcaire total susceptible de se dissoudre facilement et rapidement dans la solution du sol. Elle correspond à la fraction fine au plan granulométrique (moins de 2 μm). Elle permet de maintenir une saturation calcique élevée de la CEC et, indirectement, un pH basique stable. La présence de calcaire actif peut induire, dans certains substrats pauvres en fer libre, un risque de chlorose ferrique. Le calcaire actif du substrat étudié a été déterminé par la mise en contact avec l'oxalate d'ammonium, qui attaque une fraction du calcaire total seulement (Schvartz *et al.*, 2005). Le calcium extrait est ensuite dosé. Cette méthode d'analyse courante décrite dans la norme AFNOR NF X31-106 (AFNOR, 1982) a révélé que le substrat utilisé contient un pourcentage très faible du calcaire actif (1,1%).

g) Détermination du Carbone Organique par oxydation sulfochromique

Le carbone total de la matière organique a été déterminé par la méthode de Walkley et Black (1934). Six échantillons de 0,5 g du substrat étudié ont été oxydés à froid par un oxydant puissant (bichromate de potassium ($\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$) 1N) en présence d'acide sulfurique (H_2SO_4) concentré. L'excès de bichromate a été titré par le sel de Mohr de formule chimique $\text{Fe}(\text{SO}_4)_2(\text{NH}_4)_2$ en présence d'indicateur coloré selon la norme AFNOR NF X31-109 (AFNOR, 1993a ; Girard *et al.*, 2011). La quantité de dichromate réduite est proportionnelle à la quantité de carbone organique présent dans l'échantillon étudié. Les résultats de l'analyse ont montré que le substrat utilisé contient une très faible teneur en matière organique (0,2%).

Tableau 7. Acidité, conductivité électrique, teneur en calcaire actif et teneur en matière organiques du sable étudié.

pH-H ₂ O	pH-KCl	EC (mS/cm) (1/5)	Calcaire actif (%)	Matière organique (%)
8,1	7,8	0,2	1,1	0,2

Avec : Matière organique = Carbone organique $\times$ 1,72

h) Humidité résiduelle

L'humidité résiduelle (HR) est la quantité d'eau capable d'être conservée par un échantillon du substrat. Elle correspond à la perte de masse observée après passage dans une étuve à 105°C d'une prise (10 à 20 g) d'échantillon du substrat préparé pour analyse (séché à l'air ou à l'étuve à 45°C), et ce pendant 24 heures conformément à la norme AFNOR X31-102 (1981) (Pansu *et al.*, 2003). Le pourcentage d'humidité résiduelle du sable étudié est de 0,8%.

II.3.1.1. Tourbe

La composition physique et chimique de la tourbe utilisée est constituée majoritairement d'eau (800 ml/l) et de matière organique mal décomposée ou matière sèche (25%). Les 20% restants correspondent à la matière organique décomposée. Le pH-H₂O est légèrement acide (5-6,5) et la conductivité électrique de l'extrait aqueux 1/5 est très faible (0,05 mS/cm) (tableau 8).

Tableau 8. Acidité, rétention en eau, conductivité électrique, matière sèche et matière organique de la tourbe utilisée.

pH-H ₂ O	Rétention en eau (ml/l)	EC (1/5) (mS/cm)	Matière sèche (%)	Matière organique (%)
5 - 6,5	800	0,05	25	20



Figure 49. Analyse des caractéristiques physiques et chimiques du substrat étudié. A : séchage et tamisage du substrat ; B : analyse granulométrique par sédimentation ; C : détermination du phosphore assimilable (méthode d'Olsen) et du potassium extractible (méthode d'acétate d'ammonium) ; D : détermination de l'azote total (méthode de Kjeldahl) ; E : détermination du pH-H₂O (1/5) (pH-mètre électronique) ; F : détermination de la conductivité électrique (EC-mètre électronique).

II.3.2. Conteneurs

Les pots de polystyrène de 1000 cm³ (12 semaines) et de 2150 cm³ (48 semaines) ont été préalablement trempés dans un bain d'eau de javel diluée à 20% puis rincés, permettant ainsi une stérilisation du matériel. Les pots ont été ensuite perforés pour assurer le drainage et éviter la pourriture des racines (figure 50).



Figure 50. Pots de polystyrène de 1000 cm³ préalablement désinfectés et étiquetés par le code BSCR selon les blocs (B1 ; B2 ; B3 et B4), la solution nutritive (H : solution Hoagland et Arnon ; Q : Quoirin et Lepoivre ; W : Woody Plant Medium et M : Murashige et Skoog), les clones (C1 : ASOC1 ; C2 : ASOC2 ; C3 : ASOC3 et C4 : ASOC4) et les répétitions (R1 ; R2 ; R3 ; R4).

II.3.3. Irrigation et fertilisation

Concernant les trois essais réalisés, la gestion de l'irrigation et la nutrition minérale ont été caractérisées par deux étapes : la première étape (90 premiers jours) qui consiste à apporter seulement un volume d'eau de 50ml et ceci une fois par semaine. La deuxième étape (après l'enracinement) consiste à apporter les éléments minéraux sous forme d'une solution nutritive pour assurer la croissance et le développement des boutures. Les boutures ont été irriguées régulièrement le matin à 2/3 d'humidité à capacité au champ avec une fréquence de 3 fois par semaine.

II.3.4. Désinfection, suivi et protection phytosanitaire

Les extrémités apicales des boutures fraîchement taillées ont été protégées avec du mastic cicatrisant pour réduire la perte d'eau et protéger la plante de toute attaque extérieure. Puis, le 1/3 de la partie basale des boutures a été trempé pendant 10 minutes dans une solution de fongicide à 0,2% (Dithane avec la matière active mancozèbe 750 g/kg) et lavé soigneusement 3 fois à l'eau distillée stérile avant l'application des traitements de phytohormones. Lorsque les boutures sont installées sous serre, un suivi quotidien s'impose afin de vérifier leur état sanitaire

(suppression des feuilles mortes, vérifier l'état des boutures, etc.). Malgré le suivi, lors des contaminations, des applications de produits phytosanitaires sont nécessaires.

II.4. Préparation des boutures, traitements et dispositif expérimental

Dans le but d'optimiser les conditions d'enracinement, de croissance et développement des boutures de l'arganier, trois essais successifs ont été réalisés dans différentes conditions expérimentales et sous l'effet de plusieurs facteurs endogènes et exogènes.

II.4.1. Mise en place d'un dispositif expérimental pour l'étude de l'effet des différents types d'auxines et du clone sur le débourrement et l'enracinement des boutures de l'arganier (*Argania spinosa* (L.) Skeels)

II.4.1.1. Préparation des boutures et traitements

Les boutures semi-ligneuses de l'arganier prélevées ont été divisées en segments de (5 ± 1) mm de largeur et $(10 \pm 0,5)$ cm de longueur avec 4 feuilles et 10-12 nœuds (figure 51). Les apex des rameaux ont été éliminés et les boutures ont été effeuillées à la base sur près de 5 cm afin de dégager la partie du rameau à insérer dans le substrat. Lors de cet essai, trois types d'auxines ont été utilisées : l'AIB (Acide Indole Butyrique) ; l'AIA (Acide Indole Acétique) et l'ANA (Acide Naphtalène Acétique), en présence de quatre concentrations : 0 ; 1000 ; 3000 et 5000 ppm, ce qui correspond respectivement à (5,71 ; 17,12 et 28,54 mM) pour l'AIA, (5,37 ; 16,11 et 26,85 mM) pour l'ANA et (4,92 ; 14,76 et 24,60 mM) pour l'AIB. La solution concentrée d'auxine a été préparée en faisant dissoudre la poudre d'hormone dans 10 ml d'éthanol (95%), puis de l'eau distillée autoclavée a été ajoutée à un volume final de 1L. Les boutures du traitement témoin ont été trempées dans de l'eau distillée.



Figure 51. Boutures semi-ligneuses d'arganier de (5 ± 1) mm de largeur et $(10 \pm 0,5)$ cm de longueur avec 4 feuilles et 10-12 nœuds.

II.4.1.2. Conditions d'installation et de croissance de l'essai

Les boutures ont été insérées dans des pots de polystyrène de 1000 cm³ (deux boutures par pot). Les pots perforés ont été remplis d'un substrat d'enracinement de sable fin de rivière tamisé et stérilisé à l'autoclave (1 heure, 121°C, 1 bar). Des trous ont été confectionnés dans le substrat pour permettre l'insertion des boutures sans endommager le cambium ou éliminer l'hormone d'enracinement. Après l'insertion des boutures, le substrat d'enracinement a été légèrement pressé autour de leur point de contact avec le substrat. L'essai a été conduit dans ces pots pendant 12 semaines. Ensuite, les boutures enracinées ont été retirées des pots et le substrat a été soigneusement lavé du système racinaire. Les systèmes racinaires ont été soigneusement manipulés afin qu'aucun dommage ne se produise lors de la transplantation. Après la collecte des données, ces plantules ont été transférées dans des pots noirs en polyéthylène plus grands (20 cm de diamètre, 20 cm de profondeur, volume de 2150 cm³) contenant un mélange de sol provenant de forêt et stérilisé, de la tourbe et du sable fin tamisé (1 : 1 : 1 v / v). Ces pots ont été ensuite placés dans une serre en plein soleil (sans système d'ombrage), à un écartement de 20 cm × 20 cm. Une solution nutritive Hoagland (Hoagland et Arnon, 1950) a été utilisée une fois par semaine pour répondre aux besoins nutritionnels des plantules.

II.4.1.3. Dispositif expérimental

Le dispositif expérimental adopté pour cet essai est le Dispositif en Bloc Aléatoire Complet (DBAC) (figure 52). Au total, 32 boutures et 4 répétitions ont été utilisées pour chaque combinaison de traitement avec quatre clones (ASOC1 ; ASOC2 ; ASOC3 et ASOC4), trois types d'auxine (AIB ; AIA et ANA) et quatre concentrations (contrôle, 1000, 3000 et 5000 mg l⁻¹).

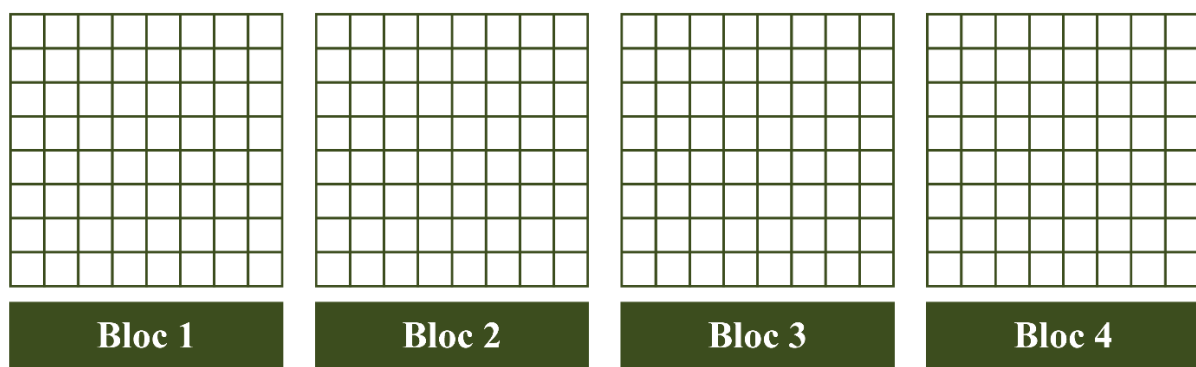


Figure 52. Dispositif en Bloc Aléatoire Complet (DBAC).

II.4.2. Mise en place d'un dispositif expérimental pour l'étude de l'effet de la solution nutritive, du type de bouture et de la position de prélèvement de boutures le long de tiges de pieds mères sur l'enracinement des boutures de l'arganier (*Argania spinosa* (L.) Skeels)

II.4.2.1. Préparation des boutures et traitements

Les boutures du clone ASOC1 ont été prélevées et conservées séparément en fonction de la position de prélèvement le long de tiges des pieds mères (basale, médiale et apicale), puis ont été classées en fonction des types de boutures. En effet, des boutures ligneuses (aoûtées sans feuilles) ont été prélevées en hiver, les boutures herbacées (bois vert et tendre) au printemps et les boutures semi-ligneuses (semi-herbacées ou semi-aoûtées) en été. Les pousses d'arganier ainsi prélevées ont été divisées en segments de (5 ± 1) mm de largeur et $(10 \pm 0,5)$ cm de longueur avec 4 feuilles et 10-12 nœuds. Les apex des rameaux ont été éliminés et les boutures ont été effeuillées à la base, sur près de 5 cm pour dégager la partie du rameau à insérer dans le substrat. Enfin, avant d'être insérées dans le substrat, les boutures ont été trempées pendant 5 min dans 3000 mg.l⁻¹ d'acide indole-3-butyrique (AIB).

II.4.2.2. Conditions d'installation et de croissance de l'essai

Les boutures ont été placées sous serre de la même façon que le premier essai. Pour répondre aux besoins nutritionnels des plantules, quatre solutions nutritives de Hoagland (HA, Hoagland et Arnon, 1950) ; Quoirin et Lepoivre (QL, Quoirin et Lepoivre, 1977) ; Murashige et Skoog (MS, Murashige et Skoog, 1962) et Woody Plant Medium (WPM, Lloyd et Mc Cown, 1980) ont été appliquées une fois par semaine. La solution mère des micro-éléments contient tous les micronutriments à l'exception du fer. Le fer est ajouté sous forme de sulfate ferreux heptahydraté ($\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$). Les macronutriments et les microéléments ont été ajoutés séparément dans les solutions filles. Le pH de la solution nutritive a été ajusté à une valeur de $5,6 \pm 0,2$ (tableau 9).

II.4.2.3. Dispositif expérimental

Le dispositif expérimental adopté pour cet essai est le Dispositif en Bloc Aléatoire Complet (DBAC) avec quatre blocs et trois variables dépendantes (le type de boutures, la position de prélèvement et les solutions nutritives). Au total, 32 boutures et 4 répétitions ont été utilisées pour chaque combinaison de traitement avec trois types de boutures (herbacées, semi-ligneuses et ligneuses), trois positions de prélèvement (apicale, médiane et basale) et quatre solutions

nutritives (Hoagland et Arnon (HA) ; Quoirin et Lepoivre (QL) ; Murashige et Skoog (MS) et Woody Plant Medium (WPM)).

Tableau 9. Concentrations en macroéléments et microéléments des quatre solutions nutritives étudiées : Hoagland et Arnon (HA) ; Quoirin et Lepoivre (QL) ; Murashige et Skoog (MS) et Woody Plant Medium (WPM).

Element minéraux	Solutions nutritives			
Macroéléments (mM)	HA	QL	WPM	MS
NH_4^+	02,0	05,0	05,0	20,6
NO_3^-	14,0	33,0	09,7	39,4
PO_4^-	02,0	02,0	01,3	01,3
K^+	06,0	19,8	12,6	20,0
Ca^+	04,0	05,1	03,0	03,0
Mg^+	01,0	01,5	01,5	01,5
SO_4^-	01,0	01,6	07,2	01,7
Microéléments (μM)	HA	QL	WPM	MS
Fe^{++}	64,0	100,0	100,0	100,0
Zn^{++}	02,0	29,9	29,9	29,9
Cu^{++}	0,50	01,0	01,0	01,0
B^{+++}	25,0	100,0	100,0	100,0
Mn^{++}	02,0	44,8	132,0	100,0
MoO_4^-	0,50	01,0	01,0	01,0
I^-	–	0,50	–	05,0
Co^{++}	–	0,10	–	00,1
Cl^-	50,0	–	01,3	06,0
Na^+	64,0	200,0	200,0	200,0
Valeurs récapitulatives (mM)	HA	QL	WPM	MS
Total N	16,0	38,0	14,7	60,0
$\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$	07,0	06,6	02,0	01,9
Molarité totale	30,2	68,5	42,2	94,0

II.4.3. Mise en place d'un dispositif expérimental pour l'étude de l'effet du type de substrat, du diamètre des boutures et du nombre de feuilles sur la multiplication par bouturage de l'arganier (*Argania spinosa* (L.) Skeels).

II.4.3.1. Préparation des boutures et traitements

Les boutures semi-ligneuses prélevées du clone ASOC1 ont été divisées en segments de longueur uniforme ($10 \pm 0,5$) cm et partagées en trois groupes selon le diamètre : (0,1-0,3) cm avec 10 à 12 nœuds, (0,3-0,6) cm avec 8 à 10 nœuds et (0,6-0,9) cm avec 6 à 8 nœuds en utilisant un pied à coulisse électronique calibré. Ces boutures ont été également classées selon le nombre de feuilles : sans feuilles, avec deux feuilles, avec quatre feuilles ou avec huit feuilles. Les apex des rameaux ont été éliminés et les boutures ont été effeuillées à la base, sur près de 5 cm pour dégager la partie du rameau à insérer dans le substrat. Puis, le 1/3 de la partie basale des boutures a été trempé pendant 5 min dans une solution fraîchement préparée d'auxines (3000 ppm ou 14,76 mM d'AIB). La solution concentrée d'auxine a été préparée en faisant dissoudre la poudre d'hormone dans 10 ml d'éthanol (95%), puis de l'eau distillée autoclavée a été ajoutée à un volume final de 1 L.

II.4.3.2. Conditions d'installation et de croissance de l'essai

Les boutures ont été placées sous serre suivant le même processus que nous avons établi durant le premier et le deuxième essai.

II.4.3.3. Dispositif expérimental

Le dispositif expérimental adopté pour cet essai est le Dispositif en Bloc Aléatoire Complet (DBAC) avec quatre blocs et trois variables dépendantes (diamètre des boutures, nombre de feuilles et type de substrat). Au total, 32 boutures et 4 répétitions ont été utilisées pour chaque combinaison de traitement avec trois diamètres (0,1-0,3 cm ; 0,3-0,6 cm et 0,6-0,9 cm), quatre nombres de feuilles (sans feuilles ; 2 ; 4 et 8 feuilles) et trois types de substrats (sable fin ; tourbe et mélange sable fin/tourbe) (figure 53).



Figure 53. Dispositif en Bloc Aléatoire Complet (DBAC) des boutures semi-ligneuses d'arganier installées dans un substrat de tourbe à une température de 32 ± 2 °C.

II.5. Observations et réalisation des mesures

Au terme des deux phases d'enracinement et d'endurcissement, les observations et les mesures effectuées ont porté sur des paramètres de croissance et de développements destructifs et non destructifs à savoir : le nombre de pousses (NP) ; la longueur des pousses (LP) ; le pourcentage de débourrement (PD,%) ; le nombre de racines de plus d'1 cm partant de la base de la bouture (NR) ; la longueur de l'axe racinaire principal (LR, cm) ; le pourcentage d'enracinement des boutures (PR,%) : les boutures avec racines (≥ 1 mm) ont été considérées comme enracinées et ont été incluses pour le calcul du pourcentage d'enracinement ; le taux de réussite au bouturage (TR,%) : rapport entre le nombre de boutures vivantes à trois mois de bouturage et le nombre de boutures installées dans les pots. Ce pourcentage a été enregistré après 48 semaines, période jugée suffisante pour la survie des boutures racinées.

II.6. Analyses des données

Toutes les données ont été enregistrées dans des fichiers Microsoft Excel (version 2016). Le traitement des données a été effectué à l'aide du logiciel SAS (SAS Institute Inc., 2009). Une analyse de variance a été effectuée en vue de tester l'effet des trois facteurs étudiés ainsi que leurs interactions sur les paramètres contrôlés (Dagnelie, 1992). Une comparaison de moyennes a été effectuée par test de Duncan à 5% de probabilité. Les valeurs des différents paramètres de croissance ont été considérées égales à zéro pour toutes les boutures n'ayant pas repris après transplantation. Les valeurs ont été écrites sous forme de moyennes $\pm$ Erreur standard de la moyenne (SEM). Les pourcentages ont subi une transformation $\text{Arcsin}\sqrt{P}$ avant de procéder à l'analyse de la variance.

III. Identification des principaux gènes impliqués dans la formation des racines et conception *in silico* d'amorces oligonucléotidiques

III.1. Recherche *in silico* des gènes sur les banques de séquences nucléiques

Les approches bibliographiques et bio-informatiques sont deux méthodes de recherche complémentaires, qui permettent de sélectionner « *in silico* » des gènes candidats. Ainsi, afin de rechercher *in silico* des gènes impliqués dans la formation des racines, nous avons effectué une recherche de gènes dans les bases de données suivantes :

- a) la base de données américaine (GenBank) de NCBI (National Center for Biotechnology Information) ;
- b) la base de données européenne (EMBL) de l'EBI (European Bioinformatics Institut) ;
- c) la base de données japonaise (DDBJ) de NIG (National Institute of Genetics).

III.2. Alignement de séquences

L'alignement de séquences nucléiques en format Fasta pour identifier les amorces oligonucléotidiques des différents gènes candidats a été réalisé par la méthode de recherche heuristique BLAST (Basic Local Alignment Search Tool) et le programme Align X (logiciel Vector NTI), afin de chercher l'homologie entre les séquences nucléotidiques.

III.3. Sélection et analyse des amorces oligonucléotidiques

III.3.1. Outils bio-informatiques utilisés

Après avoir extrait plusieurs séquences d'intérêt à partir des bases de données des séquences nucléiques et les avoir alignées via la méthode BLAST (Basic Local Alignment Search Tool) et le programme Align X (logiciel Vector NTI) ; le choix d'amorces oligonucléotides a été effectué par les programmes Vector NTI et Primer 3 qui ont permis d'effectuer des alignements multiples d'ADN, de gérer des bases d'oligonucléotides et de proposer des couples d'amorces adaptés à la réalisation d'une PCR.

III.3.2. Paramètres de sélection des amorces oligonucléotidiques

Les deux amorces sens et antisens d'oligonucléotides ont été conçues pour être stables, spécifiques à une région donnée de l'ADN pour l'amplification et ayant des propriétés adaptées aux protocoles expérimentaux qui seront utilisés comme base de recherche dans les laboratoires de biotechnologies et de biologie moléculaire. En effet, la séquence d'amorces détermine plusieurs paramètres de fonctionnement et d'efficacité de la PCR :

- la longueur de l'amorce : 15-30 résidus nucléotidiques (bases) ;
- la température de fusion (Tf) : 52-58 °C ;
- la teneur en G/C (CG%) : 40-60% ;
- la séquence à l'extrémité 3' : contient un G ou C.

III.3.3. Synthèse des oligo-nucléotides dégénérés

La nomenclature internationale des oligo-nucléotides dégénérés inclut des abréviations pour les bases normales d'ADN : les purines (G (Guanine) et A (Adénine)) et les pyrimidines (C (Cytosine) et T (Thymine)). En effet, il existe 11 lettres supplémentaires pour les bases dégénérées. La synthèse des oligo-nucléotides à des positions dégénérées se fait selon la nomenclature internationale suivante :

R = G ou A (puRine)	H = A ou T ou C (non G)	N = G ou A ou T ou C
Y = T ou C (pYrimidine)	V = G ou A ou C (non T)	S = G ou C (3 liaisons H = Strong en anglais)
B = G ou T ou C (non A)	K = G ou T (kéto ou cétone en anglais)	W = A ou T (2 liaisons H = Weak en anglais)
D = G ou A ou T (non C)	M = A ou C (aMine)	

Troisième partie : Résultats et discussion

I. Détermination et caractérisation par spectroscopie moyen infrarouge à transformée de Fourier (IRTF) couplée à la chimiométrie de la composition biochimique des feuilles et graines d'arganier (*Argania spinosa* (L.) Skeels) selon l'origine géographique

I.1. Résultats

I.1.1. Analyse des spectres MIR-ATR par transformée de Fourier (IRTF) des graines de l'arganier

Les analyses de variance des spectres moyens infrarouges MIR par transformée de Fourier de type réflexion totale atténuée (ATR) des graines de l'arganier montrent une différence significative entre la forêt d'Admine et l'Arboretum d'Oued Cherrat. Les coefficients de variation des spectres moyens infrarouges des graines de l'arganier sont représentés par la figure 54 ; il en découle une augmentation de 7% de la variation moyenne entre les échantillons de la région de la forêt d'Admine et ceux de l'Arboretum d'Oued Cherrat.

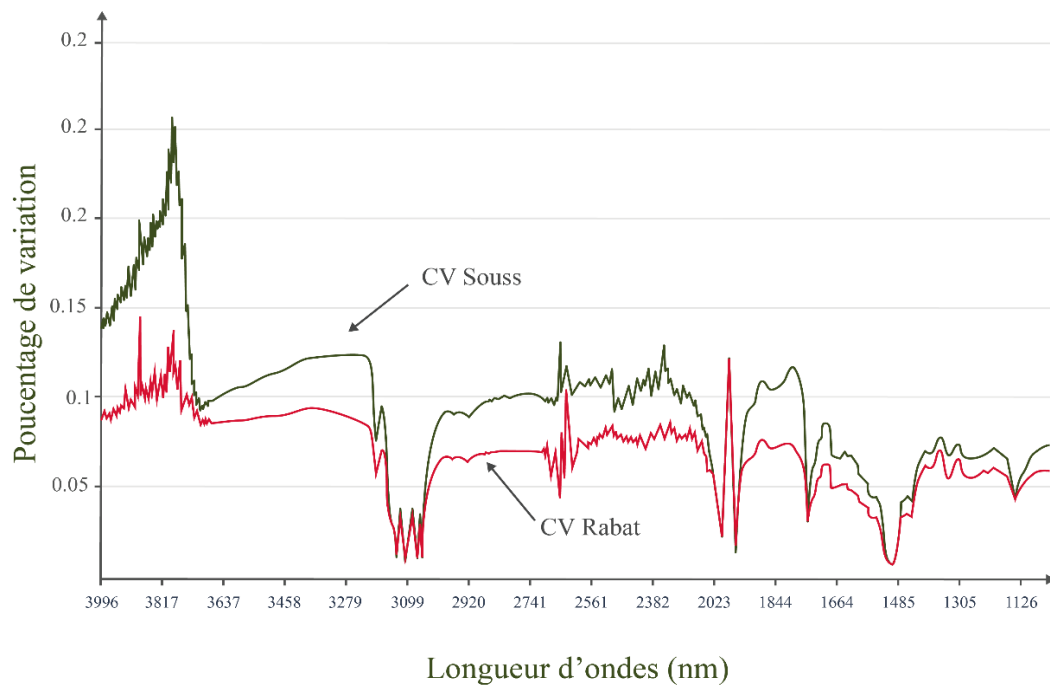


Figure 54. Coefficient de variation des spectres moyen infrarouge par transformée de Fourier (IRTF) de type réflexion totale atténuée (ATR) des graines de l'arganier de la forêt d'Admine et de l'arboretum d'Oued Cherrat.

La figure 55 montre la contribution des différentes composantes principales dans l'explication de la variance des spectres moyen infrarouge des graines de l'arganier de la forêt d'Admine et de l'Arboretum d'Oued Cherrat.

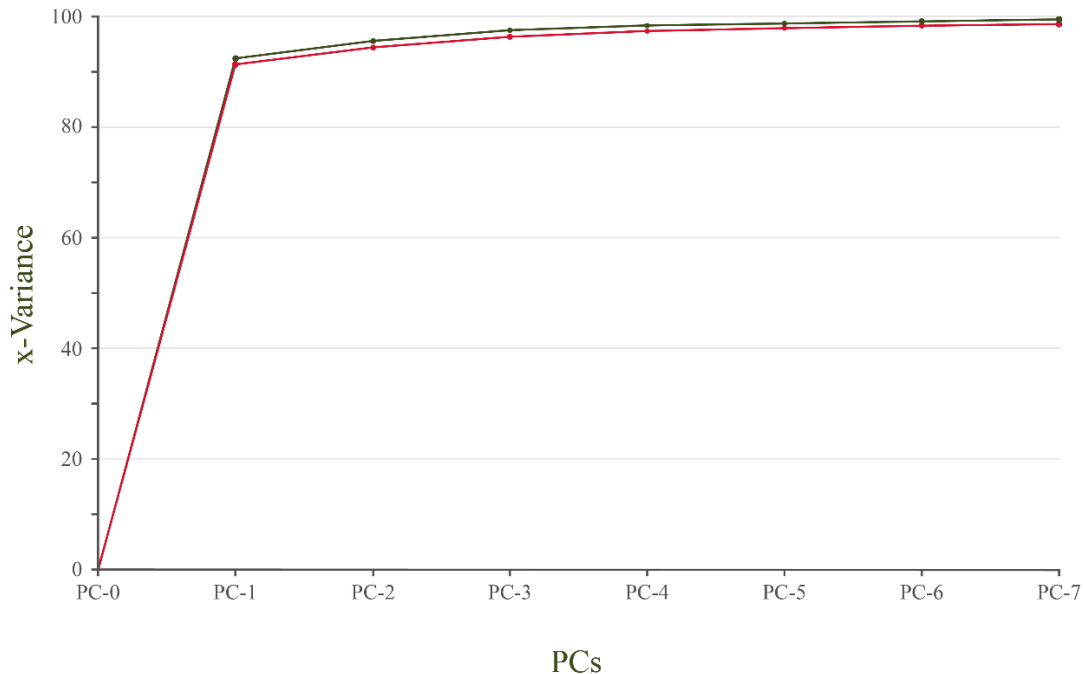


Figure 55. Variance expliquée par les spectres moyen infrarouge par transformée de Fourier (IRTF) de type réflexion totale atténuée (ATR) des graines d'arganier en fonction des composantes principales.

La figure 56 présente la carte factorielle des deux premières composantes de l'analyse en composante principale ACP (axes 1 et 2) des spectres moyen infrarouge obtenus sur des graines d'arganier issues de la forêt d'Admine située au Sud-Ouest et de l'Arboretum d'Oued Cherrat situé au Nord-Ouest du Maroc. Cette carte porte environ 95% de la variabilité totale des spectres avec 92% pour l'axe 1 et 3% pour l'axe 2. Les deux composantes principales ont permis de bien visualiser les données et de séparer les différentes graines en fonction de leur origine géographique. L'analyse des spectres moyen infrarouge a révélé la formation de trois groupes d'échantillons distincts. En effet, les individus du groupe 1 sont situés à gauche sur l'axe 1, légèrement dispersés le long de l'axe 2 et correspondent aux graines des arbres de la forêt d'Admine (A1, A2, A4, A5, A6). Par ailleurs, les individus du groupe 2 sont situés sur une position fortement positive sur l'axe 2, légèrement dispersés le long de l'axe 1 et correspondent aux graines des arbres de l'Arboretum d'Oued Cherrat (R1, R4, R5, R6). En revanche, les individus du groupe 3 sont situés sur une position négative sur l'axe 1 et l'axe 2 et représentent des graines des arbres de la forêt d'Admine et de l'Arboretum d'Oued cherrat (A3, A5, R2, R3).

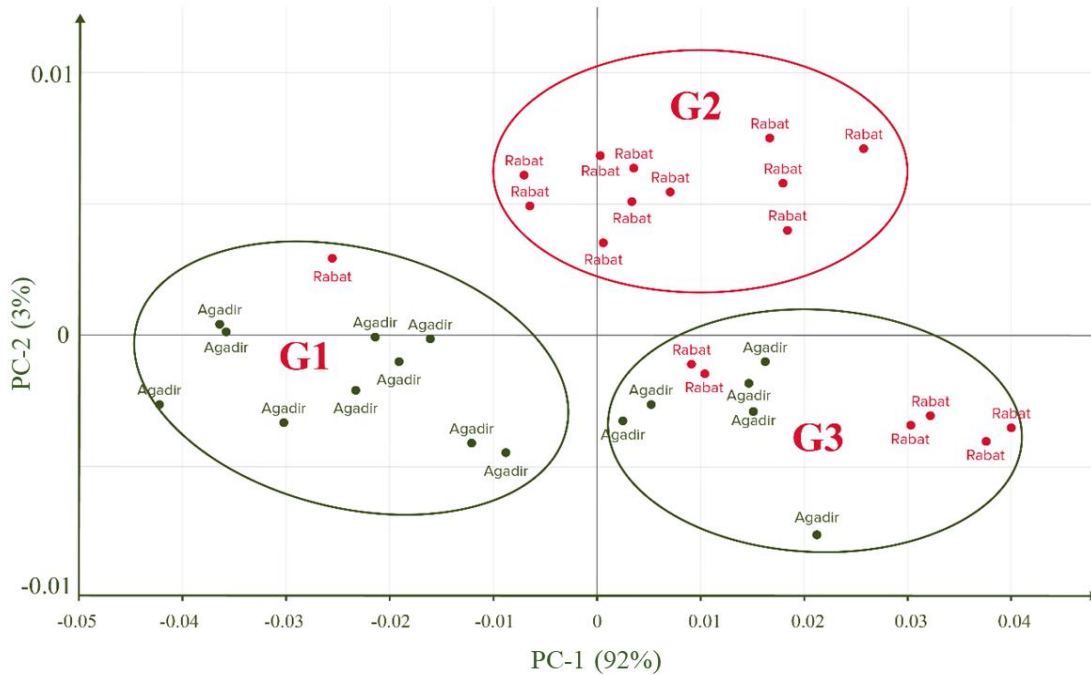


Figure 56. Carte factorielle de l'analyse en composante principale ACP (axes 1 et 2) des données spectrales moyen infrarouge par transformée de Fourier (IRTF) de type réflexion totale atténuée (ATR) obtenus sur des graines de l'arganier de la forêt d'Admine et de l'arboretum d'Oued Cherrat. Le traitement des données a été effectué en triple. La gamme spectrale choisie ici est comprise entre 700 et 4000 nm. 92% de la variance est expliquée par la première composante (PC-1) et 3% par la deuxième composante (PC-2).

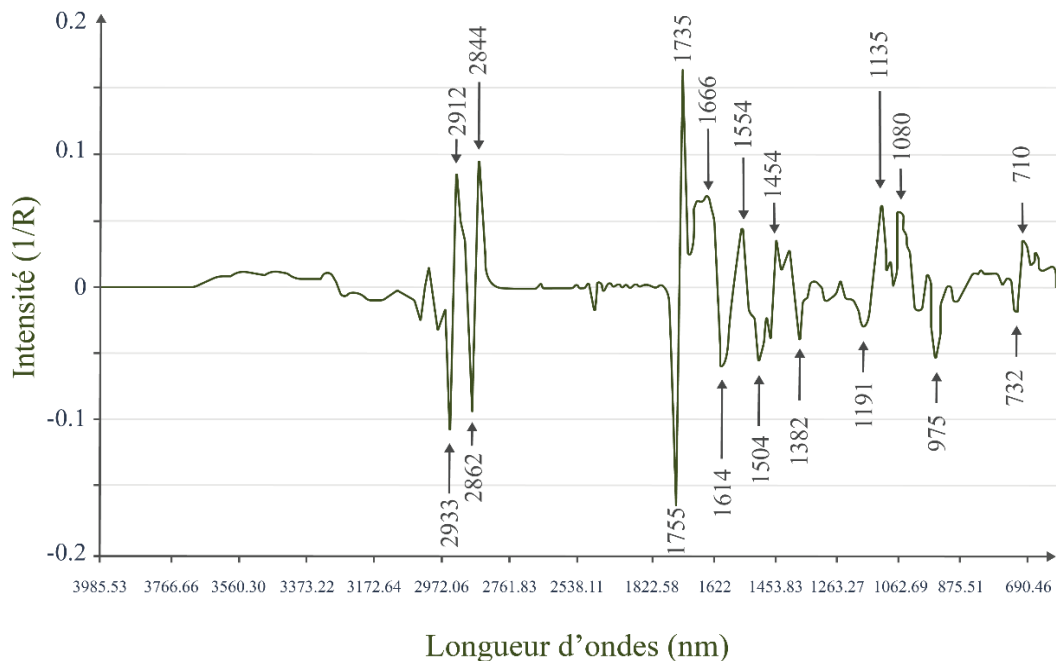


Figure 57. Vecteurs propres des spectres moyen infrarouge par transformée de Fourier (IRTF) de type réflexion totale atténuée (ATR) de l'axe 1 de l'ACP des graines de l'arganier de la forêt d'Admine et de l'arboretum d'Oued Cherrat. Deux types de prétraitements de spectres ont été testés : la dérivée d'ordre 1 et la procédure SNV (Standard Normal Variate).

Les vecteurs propres des spectres moyen infrarouge par transformée de Fourier (IRTF) de type réflexion totale atténuée (ATR) de l'axe 1 de l'ACP des graines de l'arganier de la forêt d'Admine et de l'Arboretum d'Oued Cherrat sont présentés par la figure 57. Avant l'application de l'analyse en composante principale des spectres moyen infrarouge obtenus sur des graines de l'arganier, certaines zones spectrales de nombres d'ondes ($4000\text{--}3\,200\text{ cm}^{-1}$; $2600\text{--}1800\text{ cm}^{-1}$; $1690\text{--}1470\text{ cm}^{-1}$; $700\text{--}600\text{ cm}^{-1}$) ont été supprimées. Ces zones sont connues pour ne pas avoir d'informations sur les graisses, et être susceptibles de provoquer des interférences avec la vapeur d'eau, le CO_2 et les signaux bruyants. Les zones spectrales de nombres d'onde sélectionnées ($3200\text{--}2600\text{ cm}^{-1}$, $1800\text{--}1690\text{ cm}^{-1}$ et $1470\text{--}700\text{ cm}^{-1}$) ont été utilisées pour faire la comparaison entre les échantillons des graines des deux zones géographiques étudiées. En effet, les valeurs positives sur l'axe 1 sont liées principalement à deux bandes d'absorption dans la région $2840\text{--}2918\text{ cm}^{-1}$ correspondant à des groupes méthylène ($-\text{CH}_2-$) aliphatiques. On observe aussi une absorption dans le domaine $1735\text{--}1753\text{ cm}^{-1}$ correspondant à une double liaison $\text{C}=\text{O}$ ester du triglycéride. Ainsi, plusieurs bandes de faible intensité d'absorption ont été enregistrées dans la région $1470\text{--}700\text{ cm}^{-1}$. Concernant les valeurs négatives de l'axe 1, on enregistre deux bandes d'absorption dans le domaine $2840\text{--}2940\text{ cm}^{-1}$ correspondant aux groupes acycliques ($-\text{CH}_2-$) des triglycérides et des bandes avec de très faibles intensités d'absorption dans la région $1470\text{--}700\text{ cm}^{-1}$.

I.1.2. Analyse des spectres MIR-ATR par transformée de Fourier (IRTF) des feuilles de l'arganier

L'analyse de variance des spectres moyen infrarouge par transformée de Fourier (IRTF) de type réflexion totale atténuée (ATR) des feuilles d'arganier montre une différence significative entre les deux régions étudiées. Le coefficient de variation du moyen infrarouge des feuilles de l'arganier est caractérisé par une homogénéité importante des échantillons des deux régions étudiées. Les résultats du coefficient de variation des spectres moyen infrarouge par transformée de Fourier (IRTF) de type réflexion totale atténuée (ATR) des feuilles de l'arganier de la forêt d'Admine et de l'Arboretum d'Oued Cherrat sont représentés sur la figure 58.

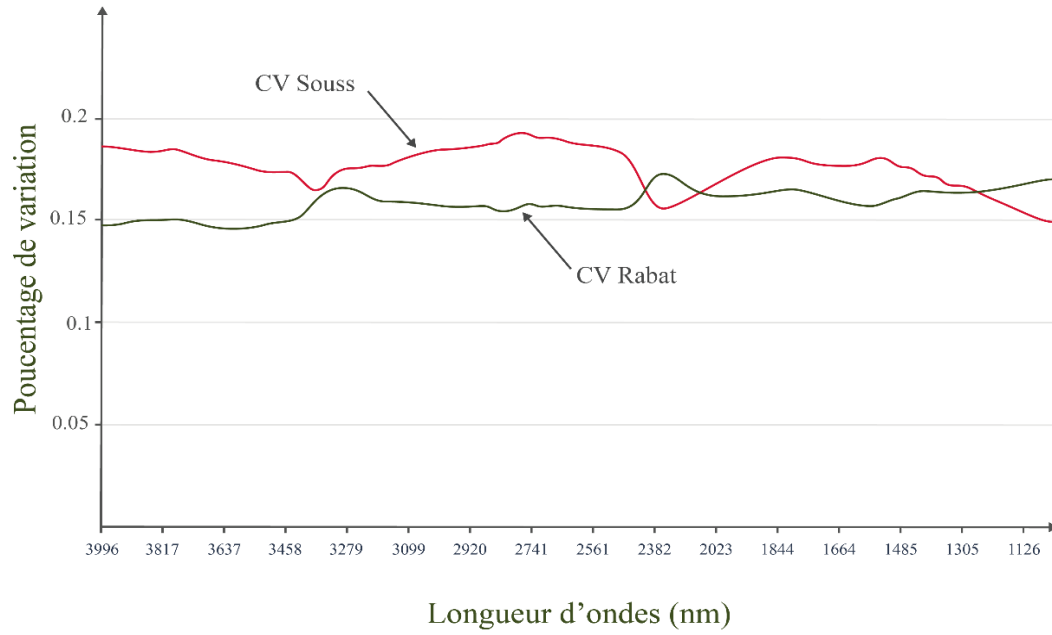


Figure 58. Coefficient de variation des spectres moyen infrarouge par transformée de Fourier (IRTF) de type réflexion totale atténuée (ATR) des feuilles d'arganier de la forêt d'Admine et de l'arboretum d'Oued Cherrat.

La figure 59 illustre la contribution des différentes composantes principales dans l'explication de la variance des spectres moyen infrarouge par transformée de Fourier (IRTF) de type réflexion totale atténuée (ATR) des feuilles d'arganier.

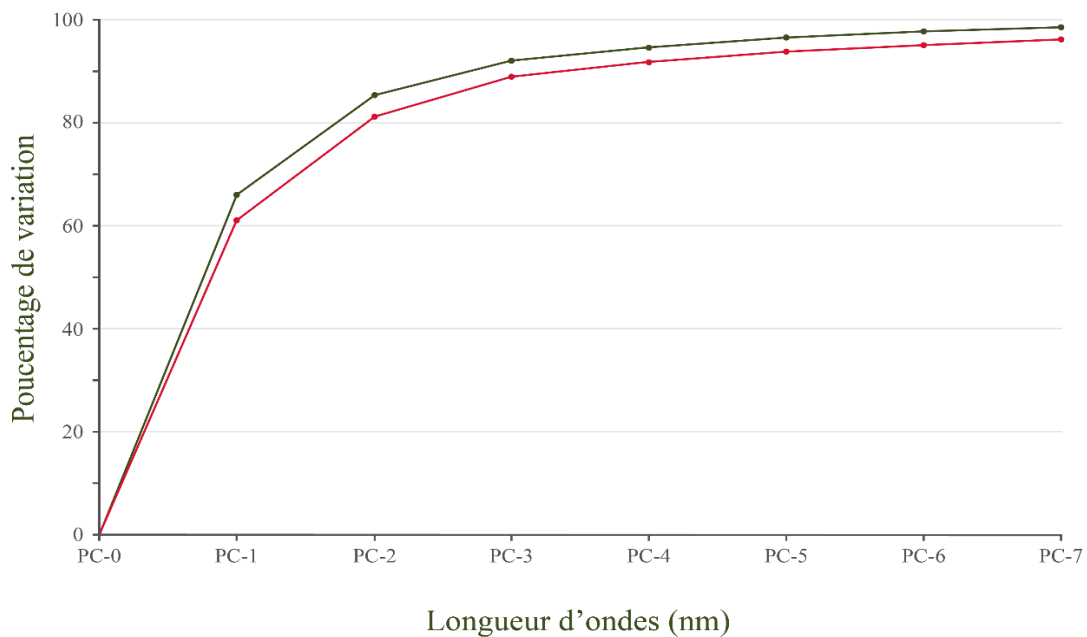


Figure 59. Variance expliquée des spectres moyen infrarouge par transformée de Fourier (IRTF) de type réflexion totale atténuée (ATR) des feuilles en fonction des composantes principales.

La figure 60 présente la carte factorielle des deux premières composantes de l'analyse en composante principale ACP (axes 1 et 2) des spectres moyen infrarouge obtenus sur des feuilles d'arganier issues des deux régions étudiées. Cette carte porte environ 85% de la variabilité totale des spectres avec 66% pour la première composante (PC-1) et 19% pour la deuxième composante (PC-2). L'analyse des spectres moyen infrarouge par transformée de Fourier (IRTF) de type réflexion totale atténuée (ATR) des feuilles d'arganier a révélé une bonne discrimination des différents échantillons des feuilles d'arganier en fonction de leur origine géographique, par rapport à la première composante. L'analyse multidimensionnelle des spectres moyen infrarouge des feuilles d'arganier a révélé la formation de deux groupes distincts. En effet, les individus du groupe 1 sont situés à gauche sur l'axe 1, légèrement dispersés le long de l'axe 2 et correspondent aux feuilles des arbres de l'Arboretum d'Oued Cherrat. Toutefois, les individus du groupe 2 sont situés sur une position fortement positive sur l'axe 2, légèrement dispersés le long de l'axe 1 et correspondent aux feuilles des arbres de la forêt d'Admine. La figure 60 illustre l'analyse en composante principale ACP (axes 1 et 2) des spectres moyen infrarouge par transformée de Fourier (IRTF) de type réflexion totale atténuée (ATR) obtenus sur des feuilles d'arganier de la forêt d'Admine et de l'Arboretum d'Oued Cherrat.

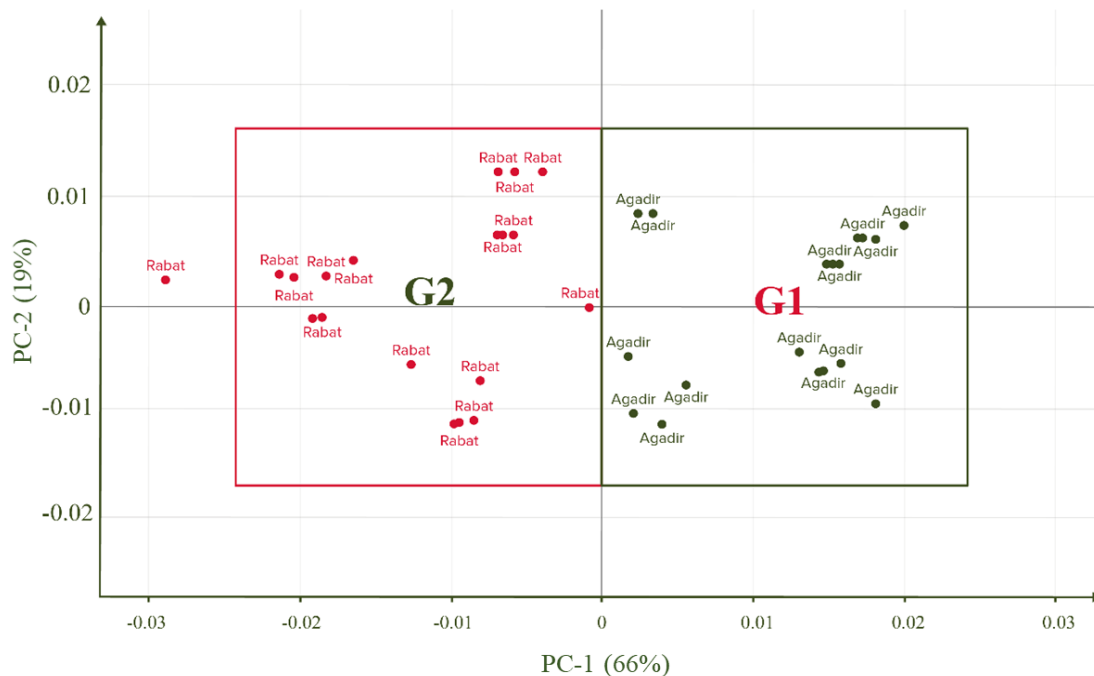


Figure 60. Carte factorielle de l'analyse en composante principale ACP (axes 1 et 2) des données spectrales moyen infrarouge par transformée de Fourier (IRTF) de type réflexion totale atténuée (ATR) obtenues sur des feuilles de l'arganier de la forêt d'Admine et de l'Arboretum d'Oued Cherrat. Le traitement des données a été effectuée en triple. La gamme spectrale choisie ici est comprise entre 700 et 4000 nm. 66% de la variance est expliquée par la première composante (PC-1) et 19% par la deuxième composante (PC-2).

Les résultats concernant les vecteurs propres des spectres moyen infrarouge par transformée de Fourier (IRTF) de type réflexion totale atténuée (ATR) de l'axe 1 de l'ACP des feuilles d'arganier de la forêt d'Admine et de l'Arboretum d'Oued Cherrat sont illustrés par la figure 61.



Figure 61. Vecteurs propres des spectres moyen infrarouge par transformée de Fourier (IRTF) de type réflexion totale atténuée (ATR) de l'axe 1 de l'ACP des feuilles de l'arganier de la forêt d'Admine et de l'arboretum d'Oued Cherrat. Deux types de prétraitements de spectres ont été testés : la dérivée d'ordre 1 et la procédure SNV (Standard Normal Variate).

Généralement, avant l'application de l'analyse en composante principale des spectres moyen infrarouge, certaines zones spectrales de nombres d'ondes ($4000\text{--}3200\text{ cm}^{-1}$; $2600\text{--}1800\text{ cm}^{-1}$; $1690\text{--}1470\text{ cm}^{-1}$; $700\text{--}600\text{ cm}^{-1}$) connues pour ne pas avoir d'informations sur les graisses, et être susceptibles de provoquer des interférences avec la vapeur d'eau, le CO_2 et les signaux bruyants sont supprimées. Les zones spectrales de nombres d'onde sélectionnées ($3200\text{--}2600\text{ cm}^{-1}$, $1800\text{--}1690\text{ cm}^{-1}$ et $1470\text{--}700\text{ cm}^{-1}$) ont été utilisées pour faire la comparaison entre les échantillons des feuilles des deux zones géographiques étudiées. En effet, les valeurs positives sur l'axe 1 sont liées principalement à deux bandes d'absorption dans le domaine $2840\text{--}2918\text{ cm}^{-1}$ correspondant à des groupes méthylène ($-\text{CH}_2-$) aliphatiques. On observe aussi deux bandes avec une très faible intensité d'absorption dans la région $1470\text{--}700\text{ cm}^{-1}$ correspondant à une bande trans du groupe ($-\text{CH}=\text{CH}-$) insaturé. Cette zone spectrale comprend également une bande d'absorption autour de 981 cm^{-1} qui correspond à une bande trans du groupe ($-\text{CH}=\text{CH}-$) insaturé. Concernant les valeurs négatives de l'axe 1, on enregistre deux bandes d'absorption avec une faible intensité d'absorption dans le domaine $2840\text{--}2940\text{ cm}^{-1}$ correspondant aux groupes acycliques ($-\text{CH}_2-$) des triglycérides. On note également une absorption dans le domaine $1470\text{--}700\text{ cm}^{-1}$ liée aux étirements des liaisons C-O ou C-C.

I.2. Discussion

Cette étude porte sur l'analyse du potentiel de la spectroscopie moyen infrarouge à transformée de Fourier (IRTF) couplée à la chimiométrie pour la caractérisation des graines et feuilles d'arganier (*Argania spinosa* (L.) Skeels) en fonction de l'origine géographique. Les résultats obtenus indiquent des effets significatifs ($P < 0,05$) de l'origine géographique sur la composition chimique des graines et feuilles d'*Argania spinosa*. Les spectres moyen infrarouge à transformée de Fourier (IRTF) des graines et feuilles issues des deux régions étudiées présentent des pics d'absorption spécifiques des fonctions chimiques présentes chez les autres espèces oléagineuses (Oussama *et al.*, 2012). En effet, les différentes bandes d'absorption enregistrées correspondent à des spectres caractéristiques d'acides gras (Deng *et al.* 2012). Les résultats de la présente étude montrent également que le nombre d'ondes enregistrées ont été affectées par le degré d'insaturation des acides gras (Mirghani *et al.*, 2003 ; Lerma-Garcia *et al.*, 2010). Ces résultats correspondent bien à ceux obtenus par Riaublanc *et al.*, (2006) qui ont rapporté que les caractéristiques spectrales changent avec le degré d'insaturation. D'après les résultats obtenus sur les spectres moyen infrarouge des groupes 2 (R1, R4, R5, R6) et 3 (A3, A5, R2, R3) des graines d'arganier, les deux bandes observées autour de 2912 et 2844 cm^{-1} dans la première zone spectrale (3200–2600 cm^{-1}) sont caractéristiques de la chaîne d'acide gras et sont liées aux absorptions d'étirement C-H trouvées dans les groupes acycliques (-CH₂-) des triglycérides (Riaublanc *et al.*, 2006 ; Vlahov *et al.* 2010). Dans la deuxième zone spectrale (1800–1690 cm^{-1}), la bande d'absorption d'environ 1735 cm^{-1} est corrélée avec la vibration de la double liaison C=O de l'acide gras libre (Ismail *et al.*, 1993 ; Riaublanc *et al.*, 2006). Dans la troisième zone spectrale (1470–700 cm^{-1}), la bande autour de 1454 est liée aux déformations symétriques et asymétriques (-CH₃) et (-CH₂-) et les bandes d'absorption autour de 1135 et 1080 cm^{-1} sont liées aux étirements des liaisons C-O ou C-C (Yookyung *et al.*, 2007 ; Zhang *et al.*, 2012). Pour les graines du groupe 1 (A1, A2, A4, A5, A6), les deux bandes observées autour de 2933 et 2862 cm^{-1} dans la première zone spectrale (3200–2600 cm^{-1}) sont également liées aux absorptions d'étirement C-H trouvées dans les groupes acycliques (-CH₂-) des triglycérides (Zhao *et al.*, 2015). Dans la deuxième zone spectrale (1800–1690 cm^{-1}), la bande d'absorption d'environ 1755 cm^{-1} est caractéristique de la double liaison ester C=O du triglycéride (Riaublanc *et al.*, 2006 ; Lerma-Garcia *et al.* 2010). Dans la troisième zone spectrale (1470–700 cm^{-1}), la bande d'absorption autour de 1382 cm^{-1} est liée aux déformations symétriques et asymétriques (-CH₃) et (-CH₂-) et la bande d'absorption autour de 1191 cm^{-1} est liée aux étirements des liaisons C-O-C ou C-C (Mirghani *et al.* 2003 ; Yookyung *et al.*, 2007). La distribution des spectres moyen infrarouge des graines d'arganier issues des deux régions étudiées montre que

les graines des groupes 2 et 3 contiennent le plus d'acides gras libres alors que les graines du groupe 1 sont celles qui en contiennent le moins. Ceci signifie que les huiles des graines du groupe 1 sont les plus saturées, contrairement aux huiles des graines des groupes 2 et 3 qui contiennent le plus d'insaturation. Concernant les résultats obtenus sur les spectres moyen infrarouge à transformée de Fourier (IRTF) des feuilles d'arganier, les données spectrales du groupe 1 (A1, A2, A3, A4, A5, A6) montrent que les deux bandes observées autour de 2910 et 2840 cm^{-1} dans la première zone spectrale (3200–2600 cm^{-1}) sont liées aux vibrations C-H trouvées dans les doubles liaisons cis (-CH=CH-) (Lerma-Garcia *et al.* 2010 ; Deng *et al.* 2012). Dans la troisième zone spectrale (1470–700 cm^{-1}), la bande autour de 1301 cm^{-1} est liée aux déformations symétriques et asymétriques (-CH₃) et (-CH₂-) et la bande d'absorption autour de 1191 cm^{-1} est liée aux étirements des liaisons C-O-C ou C-C. Cette zone spectrale comprend également la bande d'absorption autour de 981 cm^{-1} correspondant à une bande trans du groupe (-CH=CH-) insaturé (Yookyung *et al.*, 2007 ; Vlahov *et al.* 2010). Pour les résultats obtenus sur les spectres moyen infrarouge du groupe 2 (R1, R2, R3, R4, R5, R6) des feuilles, les deux bandes observées autour de 2929 et 2858 cm^{-1} dans la première zone spectrale (3200–2600 cm^{-1}) sont liées aux vibrations C-H trouvées dans les doubles liaisons cis (-CH=CH-) (Zhao *et al.*, 2015). Elles sont également affectées par le degré d'insaturation des acides gras et sont liées aux absorptions d'étirement C-H trouvées dans les groupes acycliques (-CH₂-) des triglycérides (Riaublanc *et al.*, 2006). Dans la deuxième zone spectrale (1800–1690 cm^{-1}), la seule bande d'absorption d'environ 1753 est corrélée avec des vibrations du groupe carbonyle des acides gras et de la liaison ester du glycérol des acides gras. Cette bande d'absorption est caractéristique de la double liaison ester C=O du triglycéride (Riaublanc *et al.*, 2006 ; Zhang *et al.* 2012). Dans la troisième zone spectrale (1470–700 cm^{-1}), la bande autour de 1469 cm^{-1} est liée aux déformations symétriques et asymétriques (-CH₃) et (-CH₂-) et les bandes d'absorption autour de 1160 et 1076 cm^{-1} sont liées aux étirements des liaisons C-O-C ou C-C (Yookyung *et al.*, 2007 ; Zhao *et al.*, 2015). De ce fait, les résultats des spectres moyen infrarouge à transformée de Fourier (IRTF) des feuilles sont conformes aux résultats obtenus sur les graines d'arganier. La distribution des spectres moyen infrarouge des feuilles d'arganier issues des deux régions étudiées montre que les feuilles du groupe 2, issues de l'Arboretum d'Oued cherrat, contiennent le plus d'acides gras libres alors que les feuilles du groupe 1, issues de la forêt d'Admine, sont celles qui en contiennent le moins. Ceci signifie que les feuilles du groupe 1 contiennent des acides gras plus saturés, contrairement aux feuilles du groupe 2 qui contiennent le plus d'insaturation. Sur la base des résultats obtenus, il est évident que la spectroscopie moyen infrarouge à transformée de Fourier (IRTF) couplée à la chimiométrie est une technique

efficace, fiable, rapide et qui présente de larges perspectives d'application dans la détermination de paramètres chimiques et fournit des indications nouvelles sur la qualité des graines et des huiles d'arganier (Oussama *et al.*, 2012 ; El Orche *et al.*, 2020). Les résultats de la présente étude sont conformes aux résultats obtenus par Oussama *et al.* (2021) qui ont montré que la composition chimique de l'arganier (*Argania spinosa* (L.) Skeels) est fortement influencée par l'origine géographique des échantillons étudiés. Par ailleurs, les résultats obtenus par la spectroscopie MIR à transformée de Fourier ont révélé une supériorité de la qualité des fruits et des feuilles des clones de l'Arboretum d'Oued Cherrat par rapport à ceux de la forêt d'Admine. Ceci pourrait s'expliquer par plusieurs facteurs tels qu'un taux d'humidité élevé (proximité du littoral), une fréquence des précipitations plus importante, une meilleure fertilité du sol de l'Arboretum d'Oued Cherrat et principalement la succession de plusieurs années de sécheresse dans la région du Souss. Ainsi, en se basant sur ces résultats, l'étude de la multiplication végétative a été réalisée sur des boutures collectées uniquement sur des arbres adultes de l'Arboretum d'Oued Cherrat.

II. Effets du type d'auxine, de la concentration d'auxine et du clone sur la multiplication par bouturage de l'arganier (*Argania spinosa* (L.) Skeels).

II.1. Résultats

II.1.1. Effets du type d'auxine, de la concentration d'auxine et du clone sur le nombre et la longueur des pousses

D'après le tableau 10, on constate que l'analyse de la variance (ANOVA) a montré des effets significatifs ($P < 0,05$) du clone, du type d'auxine, de la concentration d'auxine et de leurs interactions sur le nombre de pousses et la longueur des pousses. Les résultats concernant le nombre de pousses et la longueur de pousses des boutures de l'arganier selon le clone, le type d'auxine et la concentration d'auxine sont présentés sur la figure 62, on remarque une supériorité du comportement des clones ASOC 1 et ASOC4 par rapport aux clones ASOC 2 et ASOC 3. Les boutures de tous les clones montrent une amélioration des pourcentages de débourrement en présence d'auxine comparativement au témoin. Le traitement des boutures du clone ASOC1 avec 3000 mg.l^{-1} d'AIB a augmenté le nombre et la longueur des pousses de 1,81 et 15,94 cm respectivement par rapport au témoin (figure 62). Par ailleurs, l'utilisation de l'ANA et l'AIA ont augmenté légèrement le nombre et la longueur des pousses par rapport à l'AIB. Le traitement avec l'ANA qui a donné les meilleurs résultats a été enregistré chez les boutures du clone ASOC1 traitées avec 1000 mg.l^{-1} produisant un nombre de 1,63 fois plus élevé et une longueur de 12,38 cm plus importante que le témoin. Concernant le traitement avec l'AIA, la formation des pousses a été plus importante (1,69 fois par rapport au témoin) chez les boutures du clone ASOC4 traitées avec 5000 mg.l^{-1} . Cependant, la longueur des pousses la plus élevée a été observée chez les boutures du clone ASOC1 traitées avec 5000 mg.l^{-1} (figure 62).

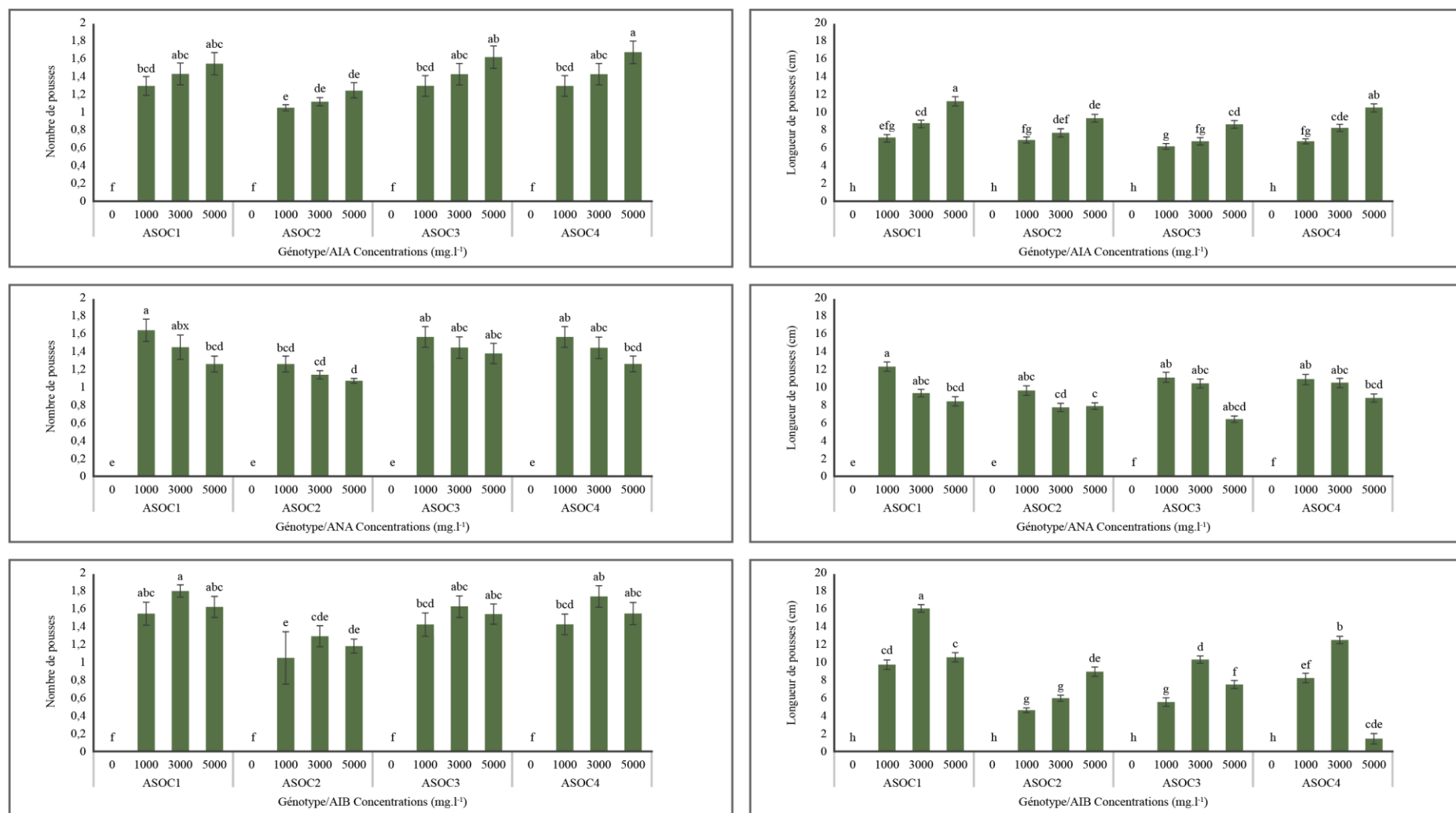


Figure 62. Effets du génotype (ASOC1, ASOC2, ASOC3 et ASOC4), du type d'auxine (AIA, ANA et AIB) et de la concentration d'auxine (0, 1000, 3000, 5000 mg.l⁻¹) sur le nombre de pousses et la longueur de pousses (cm) des boutures de l'arganier. Au sein de chaque traitement, les valeurs moyennes suivies de la même lettre ne sont pas significativement différentes à $P < 0,05$ du test de Duncan. Une valeur représente la moyenne $\pm$ erreur standard de la moyenne (SEM) ($n = 32$).

Tableau 10. Analyse de la variance (ANOVA) des effets du clone (ASOC1, ASOC2, ASOC3 et ASOC4), du type d'auxine (AIA, ANA et AIB), de la concentration d'auxine (0, 1000, 3000, 5000 mg.l⁻¹) et de leurs interactions sur le nombre de pousses et de la longueur des pousses (cm) des boutures semi-ligneuses de l'arganier. ddl : degré de liberté ; F-value : loi de Fisher-Snedecor ; P-value : niveau ou seuil de signification $P < 0,05$; $n = 32$; × : interaction entre les facteurs ; ns: non significatif ($P > 0,05$) ; *: Significatif ($P < 0,05$) ; **: Très significatif ($P < 0,01$) ; ***: Très hautement significatif ($P < 0,001$).

Source de variance	Variable dépendante	ddl	F-value	P-value
Clone	Nb. de pousses	3	18,402	<0.0001***
	Longueur des pousses (cm)	3	49,124	<0.0001***
Type d'auxine	Nb. de pousses	2	04,322	<0.0001***
	Longueur des pousses (cm)	2	20,394	<0.0001***
Concentration	Nb. de pousses	3	570,26	<0.0001***
	Longueur des pousses (cm)	3	1106,9	<0.0001***
Clone × Type d'auxine	Nb. de pousses	6	00,518	0,795 ^{ns}
	Longueur des pousses (cm)	6	12,343	<0.0001***
Clone × Concentration	Nb. de pousses	9	02,182	<0.0001***
	Longueur des pousses (cm)	9	10,447	<0.0001***
Type d'auxine × Concentration	Nb. de pousses	6	06,745	0,021*
	Longueur des pousses (cm)	6	51,128	<0.0001***
Clone × Type d'auxine × Concentration	Nb. de pousses	18	00,164	1,000 ^{ns}
	Longueur des pousses (cm)	18	05,795	<0.0001***

II.1.2. Effets du type d'auxine, de la concentration d'auxine et du clone sur le nombre et la longueur des racines

Le type d'auxine, la concentration d'auxine et le clone ont eu des effets très hautement significatifs ($P < 0,001$) sur le nombre et la longueur des racines des boutures d'Arganier. L'interaction double et triple entre les trois facteurs étudiés ont également influencé ($P < 0,05$) le nombre et la longueur des racines. Toutefois, aucune interaction entre les trois facteurs étudiés n'est observée sur la longueur des racines (tableau 11). La formation des racines et leur ramification ont été plus élevées chez les boutures traitées avec l'AIB et l'ANA. En effet, pour ces deux types d'auxine, l'émission des racines n'a commencé qu'à partir de la concentration 1000 mg.l^{-1} et a atteint une valeur maximale à 3000 mg.l^{-1} . Cependant, dès que la concentration dépasse 3000 mg.l^{-1} , le nombre et la longueur des racines commencent à diminuer progressivement (figure 63). D'après la figure 64, le nombre maximal de racines (41) et la longueur des racines la plus élevée (22,94 cm) ont été obtenus chez les boutures du clone ASOC1 traitées avec 3000 mg.l^{-1} d'AIB. Selon les résultats, le traitement des boutures à l'AIB a considérablement favorisé le nombre et la longueur des racines par rapport à l'ANA et l'AIA. Les clones ASOC2 et ASOC3 ont révélé une capacité d'enracinement relativement moins importante que les clones ASOC1 et ASOC4. Concernant le nombre et la longueur des racines, les boutures du témoin et celles traitées à 1000 mg.l^{-1} d'AIA ont été les plus défavorables (figure 64).



Figure 63. Effets du type d'auxine et de la concentration d'auxine sur la multiplication par bouturage de l'arganier (*Argania spinosa* (L.) Skeels). A : Boutures semi ligneuses de l'arganier ; B : Boutures semi-ligneuses traitées avec quatre concentrations d'AIA ; C : Boutures semi-ligneuses traitées avec quatre concentrations d'ANA ; D : Boutures semi-ligneuses traitées avec quatre concentrations d'AIB (12 semaines) ; E : Taux d'enracinement élevé des boutures semi-ligneuses feuillues traitées avec 3000 mg.l⁻¹ AIB (48 semaines) ; F : Jeunes plants d'arganier obtenus à partir de boutures transplantées dans des pots en polyéthylène sous des conditions de serre sans brouillard (3 ans). Barres d'échelle : 10 mm.

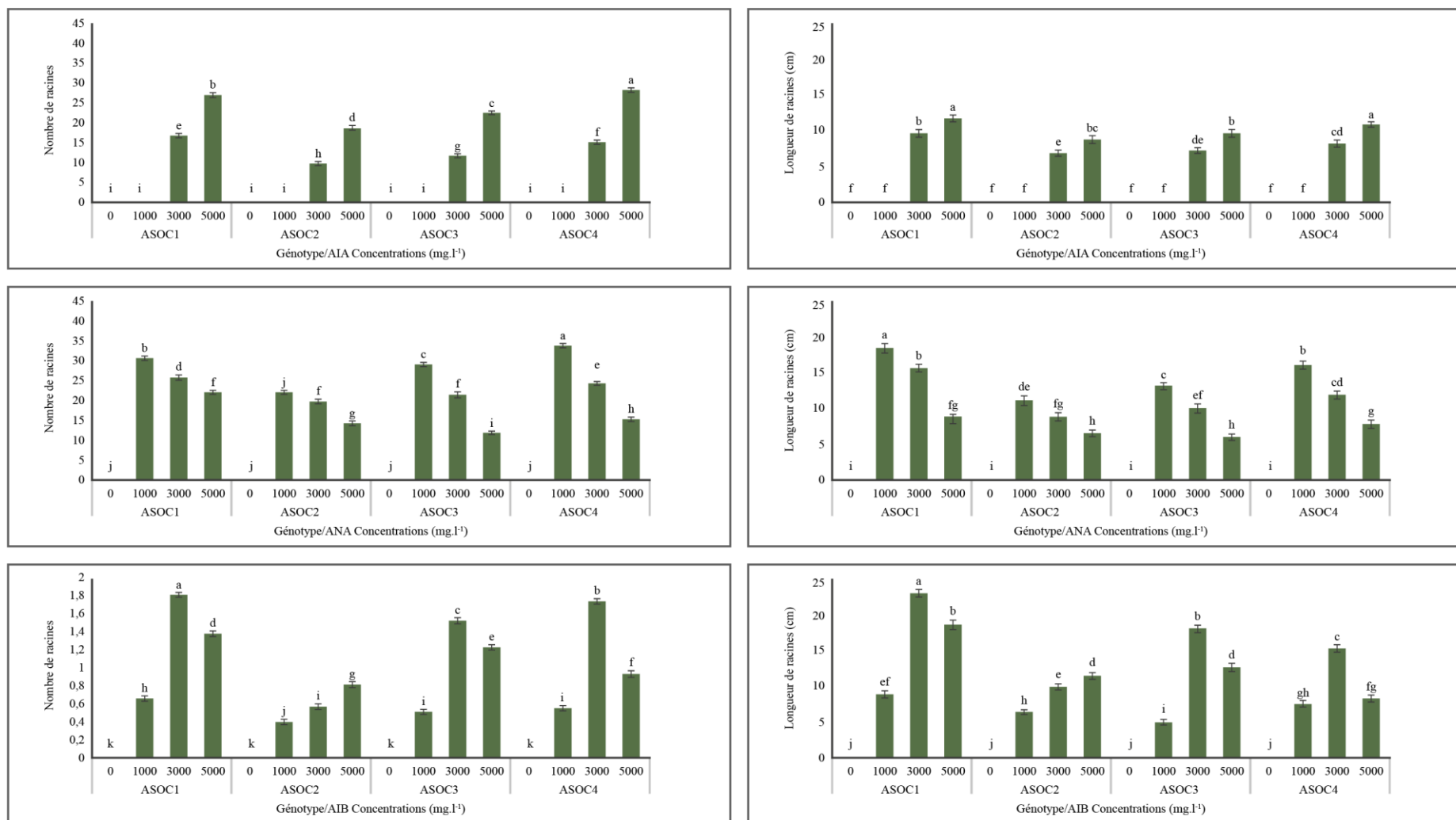


Figure 64. Effets du génotype (ASOC1, ASOC2, ASOC3 et ASOC4), du type d'auxine (AIA, ANA et AIB) et de la concentration d'auxine (0, 1000, 3000, 5000 mg.l⁻¹) sur le nombre de racines et la longueur de racines (cm) des boutures d'arganier. Au sein de chaque traitement, les valeurs moyennes suivies de la même lettre ne sont pas significativement différentes à $P < 0,05$ du test de Duncan. Une valeur représente la moyenne $\pm$ erreur standard de la moyenne (SEM) ($n = 32$).

Tableau 11. Analyse de la variance (ANOVA) des effets du clone (ASOC1, ASOC2, ASOC3 et ASOC4), du type d'auxine (AIA, ANA et AIB), de la concentration d'auxine (0, 1000, 3000, 5000 mg.l⁻¹) et de leurs interactions sur le nombre de racines et la longueur des racines (cm) des boutures semi-ligneuses d'arganier. ddl : degré de liberté ; F-value : loi de Fisher-Snedecor ; P-value : niveau ou seuil de signification $P < 0,05$; $n = 32$; × : interaction entre les facteurs ; ns: non significatif ($P > 0,05$) ; *: Significatif ($P < 0,05$) ; **: Très significatif ($P < 0,01$) ; ***: Très hautement significatif ($P < 0,001$).

Source de variance	Variable dépendante	ddl	F-value	P-value
Clone	Nb. de racines	3	454,22	<0.0001***
	Longueur des racines (cm)	3	151,66	<0.0001***
Type d'auxine	Nb. de racines	2	1263,3	<0.0001***
	Longueur des racines (cm)	2	457,84	<0.0001***
Concentration	Nb. de racines	3	5525,3	<0.0001***
	Longueur des racines (cm)	3	1664,1	<0.0001***
Clone × Type d'auxine	Nb. de racines	6	61,486	<0.0001***
	Longueur des racines (cm)	6	24,988	<0.0001***
Clone × Concentration	Nb. de racines	9	93,402	<0.0001***
	Longueur des racines (cm)	9	28,998	0,003**
Type d'auxine × Concentration	Nb. de racines	6	1356,7	<0.0001***
	Longueur des racines (cm)	6	380,18	0,002**
Clone × Type d'auxine × Concentration	Nb. de racines	18	57,646	<0.0001***
	Longueur des racines (cm)	18	14,281	0,247 ^{ns}

II.1.3. Effets du type d'auxine, de la concentration d'auxine et du clone sur le taux de débourrement, le taux d'enracinement et le taux de réussite du bouturage.

D'après le tableau 12, le taux de débourrement, d'enracinement et de réussite du bouturage de l'arganier ont été influencés significativement ($P < 0,05$) par le clone à partir duquel les boutures ont été prélevées ainsi que par le type et la concentration d'auxine appliqués. Concernant l'interaction entre le clone, le type et la concentration d'auxine, les effets de toutes les

interactions ont été significatives ($P < 0,05$) sur le pourcentage de débourrement, d'enracinement et de réussite des boutures. Toutefois, l'interaction entre le clone et le type d'auxine n'a pas eu un effet significatif sur le taux de réussite du bouturage (tableau 12). Par ailleurs, les résultats présentés dans la figure 65 indiquent que l'application de l'AIB, l'ANA et l'AIA a augmenté le pourcentage de débourrement, d'enracinement et de réussite par rapport au témoin. En distinguant les quatre clones étudiés, comme le montre les histogrammes de la figure 65, on constate que les boutures du clone ASOC1 traitées à une concentration de 3000 mg.l^{-1} d'AIB ont montré le pourcentage de débourrement le plus élevé (81,75%). Par contre, lorsque les concentrations d'AIB dépassent cette concentration, le pourcentage de débourrement commence à diminuer rapidement chez les quatre clones étudiés. Pour les boutures traitées avec l'ANA, le pourcentage de débourrement le plus important (71,5%) a été enregistré chez les boutures du clone ASOC1 pour une concentration de 1000 mg.l^{-1} . Cependant, le traitement des boutures avec l'AIA a été moins efficace sur le pourcentage de débourrement par rapport à l'AIB ou l'ANA. Le taux de débourrement le plus élevé (63,25%) a été enregistré chez les boutures du clone ASOC 1 traitées à 5000 mg.l^{-1} d'AIA. Concernant la rhizogenèse, les résultats obtenus indiquent que les boutures du clone ASOC1 traitées à 3000 mg.l^{-1} d'AIB ont montré le meilleur taux d'enracinement (60,75%). Pour les boutures traitées avec l'ANA, le pourcentage d'enracinement le plus important (46,5%) a été observé chez les boutures du clone ASOC1 traitées à 1000 mg.l^{-1} d'ANA. Les résultats ont révélé également que les traitements des boutures avec l'AIA ont donné le pourcentage d'enracinement le plus faible et que l'apport d'AIA doit être supérieur ou égale à 3000 mg.l^{-1} pour induire l'enracinement des boutures d'arganier. En effet, les boutures du clone ASOC 1 ont présenté le taux d'enracinement le plus important (27,75%) avec une forte concentration de 5000 mg.l^{-1} d'AIA. En ce qui concerne l'effet d'AIB, on remarque que les boutures du clone ASOC 1 traitées avec 3000 mg.l^{-1} d'AIB ont donné le meilleur pourcentage de réussite (96,25%). Parmi les différentes concentrations d'ANA utilisées, les meilleurs pourcentages de réussite (94,5%) ont été obtenus chez les boutures du clone ASOC1 traitées avec 1000 mg.l^{-1} d'ANA. Toutefois, pour les traitements par l'AIA, il semble que le taux de réussite augmente significativement en fonction de l'augmentation de la concentration. En effet, le pourcentage le plus important (94%) a été enregistré chez les boutures du clone ASOC 1 traitées avec 5000 mg.l^{-1} d'AIA. En absence d'auxine, aucun résultat n'a été observé pour le nombre ou la longueur des racines chez tous les clones confondus (figure 65).

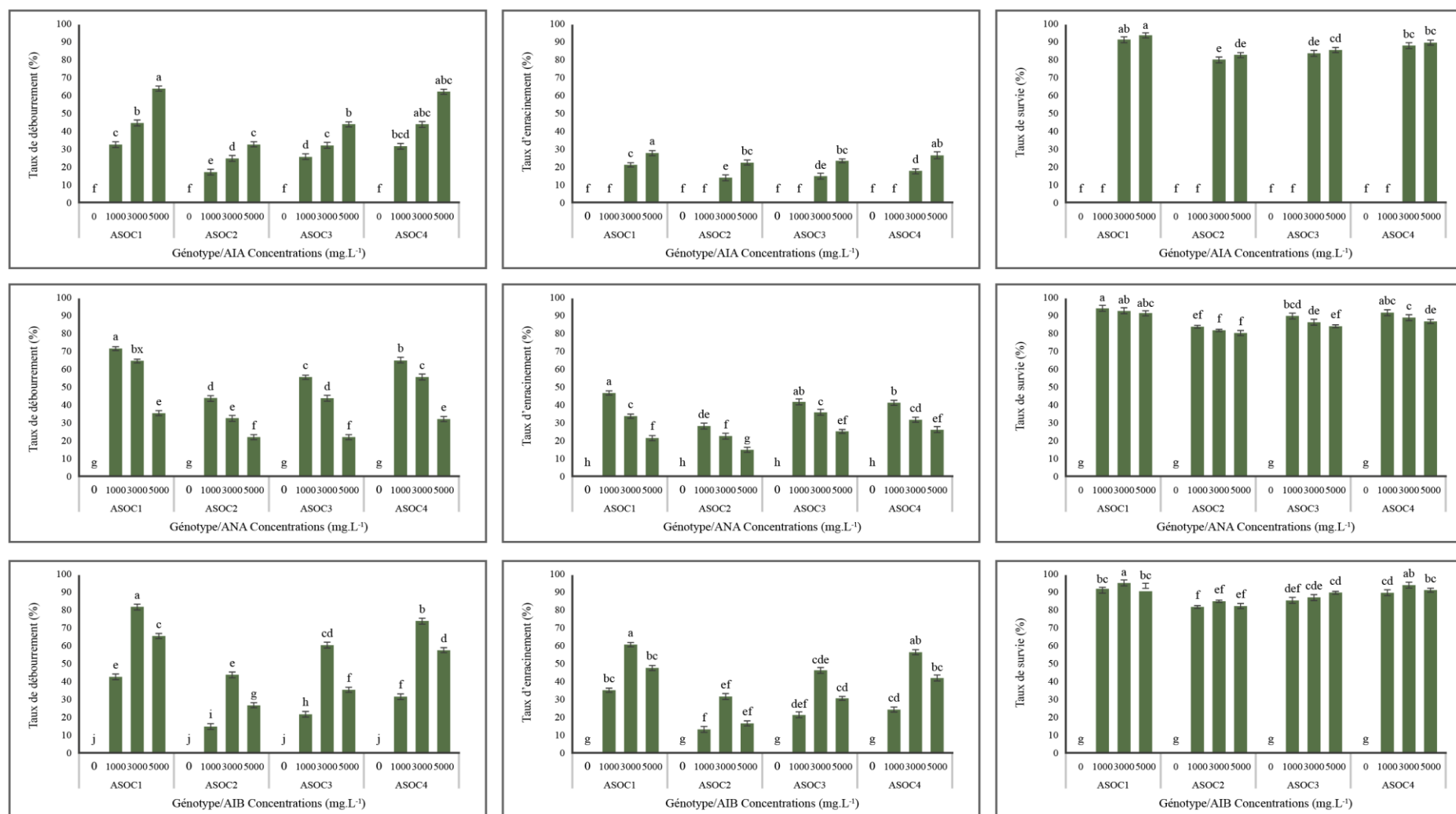


Figure 65. Effets du génotype (ASOC1, ASOC2, ASOC3 et ASOC4), du type d'auxine (AIA, ANA et AIB), de la concentration d'auxine (0, 1000, 3000, 5000 mg.l⁻¹) sur le taux de débourrement, taux d'enracinement et le taux de réussite des boutures d'arganier. Au sein de chaque traitement, les valeurs moyennes suivies de la même lettre ne sont pas significativement différentes à $P < 0,05$ du test de Duncan. Une valeur représente la moyenne $\pm$ erreur standard de la moyenne (SEM) ($n = 32$).

Tableau 12. Analyse de la variance (ANOVA) des effets du clone (ASOC1, ASOC2, ASOC3 et ASOC4), du type d'auxine (AIA, ANA et AIB), de la concentration d'auxine (0, 1000, 3000, 5000 mg.l⁻¹) et de leurs interactions sur le taux de débourrement, taux d'enracinement et le taux de réussite des boutures semi-ligneuses de l'arganier. ddl : degré de liberté ; F-value : loi de Fisher-Snedecor ; P-value : niveau ou seuil de signification $P < 0,05$; $n = 32$; × : interaction entre les facteurs ; ns : non significatif ($P > 0,05$) ; * : Significatif ($P < 0,05$) ; ** : Très significatif ($P < 0,01$) ; *** : Très hautement significatif ($P < 0,001$).

Source de variance	Variable dépendante	ddl	F-value	P-value
Clone	Taux de débourrement (%)	3	343,16	<0.0001***
	Taux d'enracinement (%)	3	109,75	<0.0001***
	Taux de réussite (%)	3	57,644	<0.0001***
Type d'auxine	Taux de débourrement (%)	2	65,203	<0.0001***
	Taux d'enracinement (%)	2	861,05	<0.0001***
	Taux de réussite (%)	2	1125,5	<0.0001***
Concentration	Taux de débourrement (%)	3	4638,9	<0.0001***
	Taux d'enracinement (%)	3	2830,6	<0.0001***
	Taux de réussite (%)	3	8245,3	<0.0001***
Clone × Type d'auxine	Taux de débourrement (%)	6	08,366	<0.0001***
	Taux d'enracinement (%)	6	25,417	<0.0001***
	Taux de réussite (%)	6	01,374	0,229 ^{ns}
Clone × Concentration	Taux de débourrement (%)	9	40,442	<0.0001***
	Taux d'enracinement (%)	9	13,623	<0.0001***
	Taux de réussite (%)	9	07,744	<0.0001***
Type d'auxine × Concentration	Taux de débourrement (%)	6	285,92	<0.0001***
	Taux d'enracinement (%)	6	407,35	<0.0001***
	Taux de réussite (%)	6	1036,2	<0.0001***
Clone × Type d'auxine × Concentration	Taux de débourrement (%)	18	03,681	<0.0001***
	Taux d'enracinement (%)	18	4,7153	<0.0001***
	Taux de réussite (%)	18	01,692	0,047*

II.2. Discussion

Les résultats de la présente étude indiquent que le comportement des différents clones étudiés apparaît globalement hétérogène avec une grande variabilité en termes de débourrement, d'enracinement et de réussite. Nos résultats concordent avec ceux obtenus par Nouaim *et al.* (2002) qui ont rapporté que l'enracinement des boutures d'*Argania spinosa* s'est avéré difficile et fortement dépendant du clone. Selon Prat *et al.*, (1998), la variation significative entre les clones pourrait être due à une variation génétique considérable. Ainsi, il est possible qu'une partie de la variation de la réponse racinaire résulte des différences d'âge ou d'états physiologiques des pieds mères. Il a également été signalé que la période de prélèvement des boutures pourrait également affecter le potentiel d'enracinement adventif. Par ailleurs, la différence observée entre les réponses des clones relativement aux différentes concentrations d'auxine utilisées pourrait être liée à des différences dans la quantité d'hormone endogène et aux co-promoteurs racinaires des tissus de la plante mère au moment de la séparation (Hartmann *et al.*, 2002). La diminution de la capacité d'enracinement pourrait être attribuée à une faible sensibilité des tissus à l'auxine ou à une accumulation de métabolites secondaires, provoquant l'oxydation et l'inactivation des enzymes et des phytohormones qui inhibent les potentialités de régénération des tissus (Husen et Pal, 2007a). Des résultats similaires ont été rapportés par Mabizela *et al.* (2017) qui ont conclu que les clones étudiés ont présenté des différences significatives dans l'activité rhizogène du *Cyclopia subternata*. En outre, d'après nos résultats obtenus, la capacité de débourrement, d'enracinement et de réussite des boutures d'*Argania spinosa* ont été significativement ($P < 0,05$) plus élevés chez les boutures traitées avec des auxines exogènes. En effet, l'application d'auxine exogène présente une amélioration du potentiel d'enracinement adventif ainsi qu'une croissance rapide des boutures pour différentes espèces végétales (Gehlot *et al.*, 2014). L'effet de l'auxine sur la croissance et le développement des racines adventives peut s'expliquer par son rôle dans la promotion de la cicatrisation des plaies par l'inhibition de l'activité d'AIA⁻ oxydase et l'activation du système de défense enzymatique antioxydant, qui aide à restaurer l'équilibre redox et à protéger les tissus des dommages oxydatifs, en particulier pendant les phases d'initiation et d'expression racinaires (Rout, 2006). Lors du contact avec les cellules des extrémités basales, le pool d'auxine peut avoir un effet indirect en favorisant l'hydrolyse enzymatique de l'amidon et en augmentant la vitesse de translocation des glucides vers la base des boutures (Aminah *et al.*, 1995). Ainsi, il fournit à la bouture l'énergie nécessaire pour accélérer la différenciation cellulaire du primordium racinaire, la croissance et le développement via la division cellulaire et l'élongation (Husen, 2008). L'auxine pourrait également agir par protéolyse sélective dû à un relâchement de la paroi cellulaire via les

protéines réceptrices ABP1 (Auxin-Binding Protein 1) et TIR1 (transport inhibitor response 1) (Schopfer, 2001). D'après les résultats obtenus, les boutures d'arganier irriguées avec de l'eau distillée et sans régulateurs de croissance n'ont montré aucune réponse en termes de débourrement et d'enracinement. Par ailleurs, il a été démontré que l'application d'AIB est plus efficace que l'ANA et l'AIA. En effet, la concentration de 3000 mg.l⁻¹ d'AIB a eu l'effet le plus efficace sur le débourrement, l'enracinement et la réussite du bouturage de pour tous les clones étudiés. Cette efficacité de l'AIB dans l'induction des racines adventives peut être expliquée par sa forte stabilité chimique contre le catabolisme et l'inactivation par conjugaison, sa non toxicité sur une large gamme de concentrations, sa faible mobilité et sa longue disponibilité dans les tissus du végétal (Hartmann *et al.*, 2002). Cependant, pour les boutures traitées avec l'AIA, l'augmentation de la concentration stimule la production d'éthylène dans les tissus du végétal, ce qui provoque l'inhibition de l'induction et de la croissance des racines (Mulkey *et al.*, 1982). Dans ce sens, Kesari *et al.* (2009) ont montré que l'enracinement adventif des boutures de *Pongamia pinnata* traitées avec l'AIA est relativement plus faible par rapport au traitement avec l'AIB. La différence en termes de débourrement et d'enracinement entre l'AIB et l'ANA peut être expliquée par le fait que l'ANA est très stable et plus persistante que les autres auxines et reste présent dans le tissu sous sa forme libre (Dunlap *et al.*, 1986). En effet, l'ANA diminue la mobilisation et la translocation des nutriments vers le primordium racinaire et bloque la croissance des racines (Husen et Pal, 2006). Pour la plupart des espèces, la réponse à l'auxine est dépendante de sa concentration et les tissus réagissent d'une manière différente en fonction de la concentration d'auxine exogène. Selon nos résultats, l'enracinement adventif des boutures semi-ligneuses d'arganier a été très faible pour des concentrations d'AIB inférieures à 1000 mg.l⁻¹ et a augmenté progressivement à partir de 1000 jusqu'à 3000 mg.l⁻¹. Cependant, le nombre et la longueur des racines ont diminué quand la concentration dépasse 3000 mg L⁻¹. Conformément à ces résultats, Akakpo *et al.* (2014) ont montré que le taux d'enracinement des boutures de *Vitellaria paradoxa* a diminué avec des concentrations d'AIB dépassant 3000 mg.l⁻¹. Cet effet confirme également les conclusions de Hartmann *et al.* (2002) qui ont démontré qu'une faible concentration d'AIB peut engendrer une diminution du taux d'enracinement et que des concentrations plus élevées que celles normalement présentes dans les tissus végétaux peuvent être inhibitrices, phytotoxiques ou même provoquer la mort cellulaire. Les résultats de cette étude sont en concordance avec des études précédentes qui ont indiqué que les concentrations optimales d'AIB pour l'enracinement adventif varient selon les espèces. A titre d'exemple, Singh et Rawat (2017) ont montré que les boutures semi-ligneuses de *Zanthoxylum armatum* traitées avec 3000 mg.l⁻¹ AIB donnent les taux de débourrement et d'enracinement les plus élevés. En outre, Tsipouridis *et al.* (2003) ont observé un taux d'enracinement maximal chez

les boutures du *Prunus persica* traitées avec 2000 mg.l⁻¹ d'AIB. Husen (2008) a rapporté que des boutures de *Dalbergia sissoo* traitées également avec 2000 mg.l⁻¹ d'AIB ont développé un système racinaire plus développé. Par ailleurs, pour *Aesculus indica*, le taux d'enracinement le plus élevé a été enregistré chez les boutures traitées avec 4000 mg.l⁻¹ d'AIB (Majeed *et al.*, 2009). Ainsi, le pourcentage d'enracinement maximal de *Tectona grandis* a été obtenu avec 4000 mg.l⁻¹ d'AIB par rapport aux autres traitements (Husen et Pal, 2007a). Cependant, pour les boutures de *Pongamia pinnata*, la concentration de 1000 mg.l⁻¹ d'AIB s'est avérée la concentration la plus efficace pour le nombre de racines, la longueur des racines et le pourcentage d'enracinement (Kesari *et al.*, 2009).

III. Effets de la solution nutritive, du type de bouture et de la position de prélèvement de boutures sur la multiplication par bouturage de l'arganier (*Argania spinosa* (L.) Skeels).

III.1. Résultats

III.1.1. Effets de la solution nutritive, du type de bouture et de la position de prélèvement de boutures sur le nombre et la longueur des pousses

L'analyse de la variance (ANOVA) a montré des effets significatifs ($P < 0,05$) du type de bouture, de la position de prélèvement des boutures et de leurs interactions sur le nombre de pousses et la longueur des pousses. Cependant, l'analyse de la variance a révélé l'absence d'effet de la solution nutritive et de l'interaction entre les 3 facteurs étudiés sur le nombre et la longueur des pousses des boutures de l'arganier (tableau 13). Les histogrammes de la figure 66 montrent les valeurs du nombre de pousses et de la longueur de pousses selon la solution nutritive, le type de bouture et la position de prélèvement de boutures. Inversement aux boutures ligneuses qui n'ont pas formé de pousses, les boutures semi-ligneuses et les boutures herbacées ont donné respectivement les plus grands nombres de pousses. Ainsi, les boutures prélevées de la position médiane et de la position basale ont produit les plus grands nombres de pousses par rapport aux boutures de la position apicale qui n'ont pas donné de pousses. L'analyse de la variance a révélé que les boutures semi-ligneuses prélevées de la position médiane et traitées avec la solution nutritive QL ont produit le nombre maximal de pousses ($01,81 \pm 0,13$), suivis de la solution nutritive WPM ($01,75 \pm 0,09$) puis les boutures semi-ligneuses de la position médiane traitées avec les solutions HA et MS ($01,31 \pm 0,11$ et $01,13 \pm 0,05$). Les résultats de la figure 66 ont révélé également que les pousses les plus longues ont été enregistrées chez les boutures semi-ligneuses prélevées de la position médiane et traitées avec les solutions nutritives QL ($16,88 \pm 0,6$ cm) et WPM ($16,13 \pm 0,66$ cm). Les boutures herbacées prélevées de la position basale et traitées avec la solution nutritive MS ont donné les pousses les plus courtes. Ainsi, les boutures traitées avec la solution WPM ont donné des pousses très minces et les boutures traitées avec la MS ont développé des nécroses apicales.

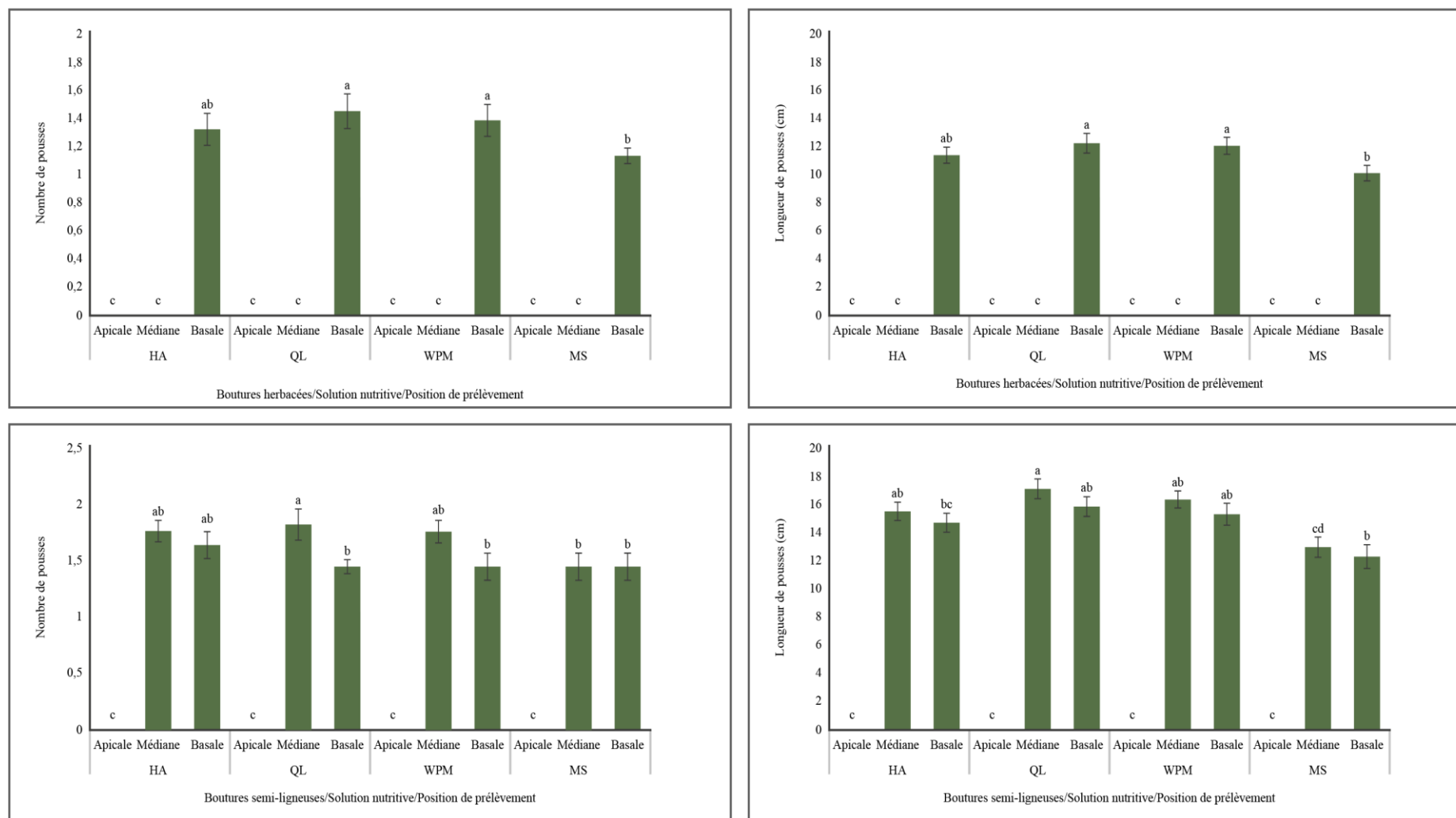


Figure 66. Effets de la solution nutritive (Hoagland et Arnon (HA), Quoirin et Lepoivre (QL), Murashige et Skoog (MS), et Woody Plant Medium (WPM)), du type de bouture (herbacées, semi-ligneuses et ligneuses) et de la position de prélèvement de boutures (apicale, médiane et basale) sur le nombre de pousses et la longueur de pousses (cm) des boutures de l'arganier. Au sein de chaque traitement, les valeurs moyennes suivies de la même lettre ne sont pas significativement différentes à $P < 0,05$ du test de Duncan. Une valeur représente la moyenne $\pm$ erreur standard de la moyenne (SEM) ($n = 32$).

Tableau 13. Analyse de la variance (ANOVA) des effets de la solution nutritive (Hoagland et Arnon (HA), Quoirin et Lepoivre (QL), Murashige et Skoog (MS), et Woody Plant Medium (WPM)), du type de bouture (herbacées, semi-ligneuses et ligneuses), de la position de prélèvement de boutures (apicale, médiane et basale) et de leurs interactions sur le nombre de pousses et la longueur des pousses des boutures de l'arganier. ddl : degré de liberté ; F-value : loi de Fisher-Snedecor ; P-value : niveau ou seuil de signification $P < 0,05$; $n = 32$; × : interaction entre les facteurs ; ns: non significatif ($P > 0,05$) ; *: Significatif ($P < 0,05$) ; **: Très significatif ($P < 0,01$) ; ***: Très hautement significatif ($P < 0,001$).

Source de variance	Variable dépendante	ddl	F-value	P-value
Type de bouture	Nb. de pousses	2	0652.9	<0.0001***
	Longueur de pousse (cm)	2	1235.1	<0.0001***
Position de prélèvement de boutures	Nb. de pousses	2	0509.9	<0.0001***
	Longueur de pousse (cm)	2	0922.0	<0.0001***
Solution nutritive	Nb. de pousses	3	02.308	0.075 ^{ns}
	Longueur de pousse (cm)	3	08.121	<0.0001***
Type de bouture × Position de prélèvement de boutures	Nb. de pousses	4	293.74	<0.0001***
	Longueur de pousse (cm)	4	500.60	<0.0001***
Type de bouture × Nutrient solution	Nb. de pousses	6	00.886	<0.0001***
	Longueur de pousse (cm)	6	03.944	<0.0001***
Cutting position × Solution nutritive	Nb. de pousses	6	00.635	0.703 ^{ns}
	Longueur de pousse (cm)	6	02.225	0.039
Type de bouture × Position de prélèvement de boutures × Solution nutritive	Nb. de pousses	12	01.346	0.188 ^{ns}
	Longueur de pousse (cm)	12	01.364	0.179 ^{ns}

III.1.2. Effets de la solution nutritive, du type de bouture et de la position de prélèvement de boutures sur le nombre et la longueur des racines

L'analyse de la variance a révélé des effets très significatifs ($P < 0,01$) de la solution nutritive, du type de bouture, de la position de prélèvement de boutures et de leurs interactions sur le nombre de racines et la longueur des racines. Cependant, l'interaction triple entre les trois facteurs étudiés semble ne pas avoir d'effets significatifs sur la longueur des racines (tableau 14). Les résultats concernant l'effet de la solution nutritive, du type de bouture et de la position de prélèvement de boutures sur le nombre de racines et la longueur des racines sont présentés sur les figures 67 et 68. Le plus grand nombre de racines a été enregistré chez les boutures semi-ligneuses, suivies de boutures herbacées, alors que les boutures ligneuses n'ont pas réussi à développer des racines. Par ailleurs, les boutures prélevées de la position basale ont révélé le plus grand nombre de racines, suivies des boutures de la position médiane. Cependant, les boutures de la position apicale n'ont pas donné de racines. Le nombre le plus élevé de racines a été enregistré chez les boutures semi-ligneuses prélevées de la position basale et traitées avec la solution nutritive HA ($44,63 \pm 0,69$) et QL ($40,63 \pm 0,88$). Toutefois, le nombre de racines le plus faible a été enregistré chez les boutures herbacées prélevées de la position basale et traitées avec la solution nutritive de MS et WPM ($31,06 \pm 0,89$ et $32,88 \pm 0,82$) respectivement. D'après la figure 68, on observe que la longueur des racines des boutures semi-ligneuses est plus élevée que celle des boutures herbacées, alors que les boutures ligneuses n'ont pas donné de racines. De plus, les boutures de la position basale ont présenté la longueur de racine la plus élevée, suivies des boutures de la position médiane. Cependant, les boutures de la position apicale n'ont pas donné de racines. D'après ces résultats, on constate donc que les boutures semi-ligneuses prélevées de la position basale et traitées avec les solutions nutritives de HA et de QL ont produit les racines les plus longues ($28,86 \pm 0,75$ cm et $26,19 \pm 0,68$ cm respectivement). Cependant, les boutures herbacées prélevées de la position basale et traitées avec la solution nutritive de MS ont produit les longueurs les plus faibles ($22,00 \pm 0,84$ cm) (figure 68).



Figure 67. Effets de la solution nutritive sur la multiplication par bouturage de l'arganier (*Argania spinosa* (L.) Skeels). A : Boutures semi ligneuses basales de l'arganier. B : Boutures semi-ligneuses traitées avec la solution nutritive MS (12 semaines). C : Boutures semi-ligneuses traitées avec la solution nutritive WPM. D : Boutures semi-ligneuses traitées avec la solution nutritive QL. E : Boutures semi-ligneuses traitées avec la solution nutritive HA. F : Plantules de l'arganier avec un système racinaire mature bien développé traitées avec la solution nutritive HA (72 semaines). Barres d'échelle : 10 mm.

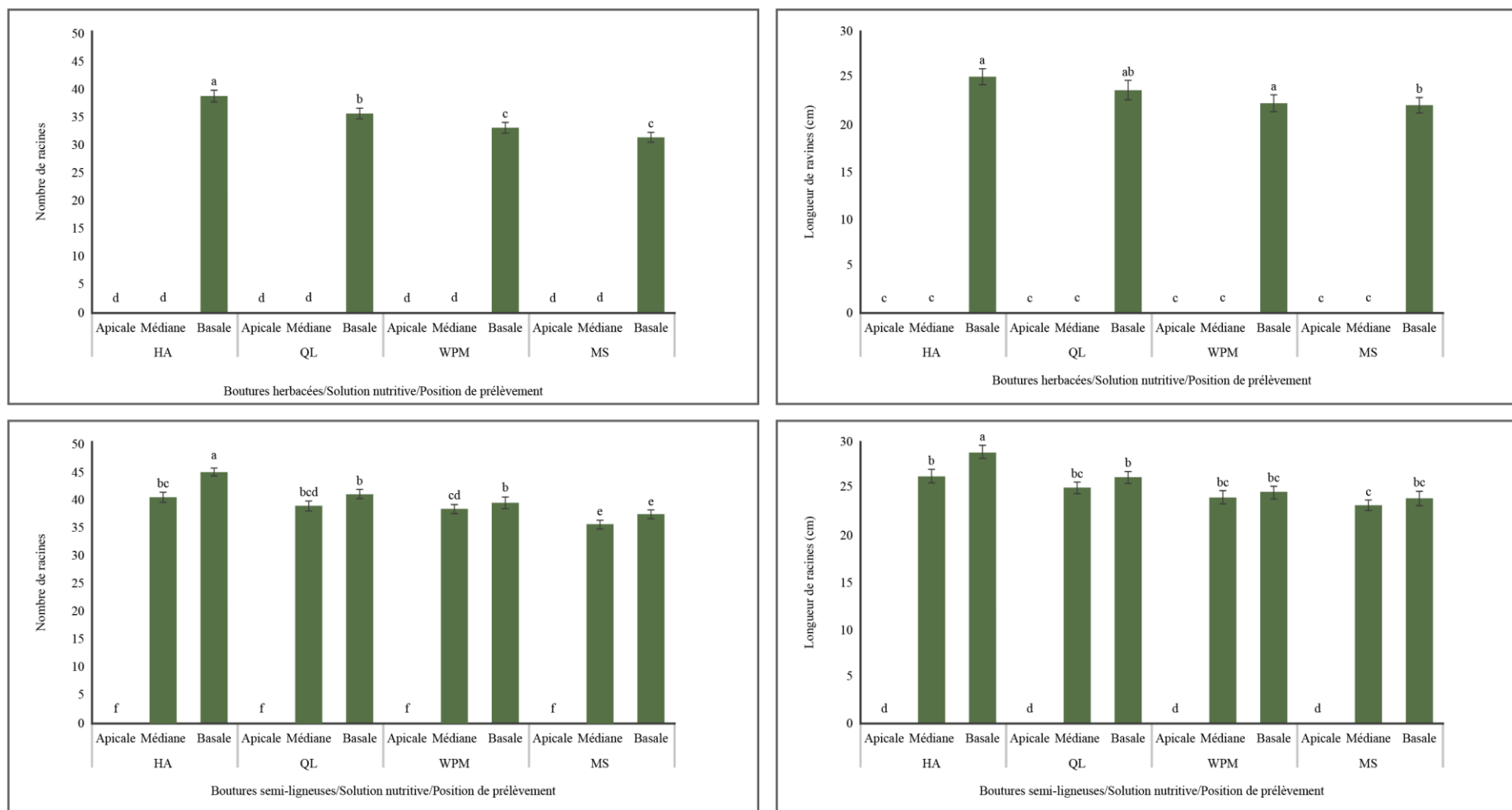


Figure 68. Effets de la solution nutritive (Hoagland et Arnon (HA), Quoirin et Lepoivre (QL), Murashige et Skoog (MS), et Woody Plant Medium (WPM)), du type de bouture (herbacées, semi-ligneuses et ligneuses) et de la position de prélèvement de boutures (apicale, médiane et basale) sur le nombre de racines et de la longueur de racines (cm) des boutures de l'arganier. Au sein de chaque traitement, les valeurs moyennes suivies de la même lettre ne sont pas significativement différentes à $P < 0,05$ du test de Duncan. Une valeur représente la moyenne $\pm$ erreur standard de la moyenne (SEM) ($n = 32$).

Tableau 14. Analyse de la variance (ANOVA) des effets de la solution nutritive (Hoagland et Arnon (HA), Quoirin et Lepoivre (QL), Murashige et Skoog (MS), et Woody Plant Medium (WPM)), du type de bouture (herbacées, semi-ligneuses et ligneuses) et de la position de prélèvement de boutures (apicale, médiane et basale) et de leurs interactions sur le nombre de racines et de la longueur des racines (cm) des boutures de l'arganier (*Agrania spinosa*). ddl : degré de liberté ; F-value : loi de Fisher-Snedecor ; P-value : niveau ou seuil de signification $P < 0,05$; $n = 32$; × : interaction entre les facteurs ; ns: non significatif ($P > 0,05$) ; *: Significatif ($P < 0.05$) ; **: Très significatif ($P < 0.01$) ; ***: Très hautement significatif ($P < 0.001$).

Source de variance	Variable dépendante	ddl	F-value	P-value
Type de bouture	Nb. de racines	2	6186.0	<0.0001***
	Longueur des racines (cm)	2	2732.4	<0.0001***
Position de prélèvement de boutures	Nb. de racines	2	5605.3	<0.0001***
	Longueur des racines (cm)	2	2582.0	<0.0001***
Solution nutritive	Nb. de racines	3	08.504	<0.0001***
	Longueur des racines (cm)	3	08.503	<0.0001***
Type de bouture × Position de prélèvement de boutures	Nb. de racines	4	2657.2	<0.0001***
	Longueur des racines (cm)	4	1231.3	<0.0001***
Type de bouture × Nutrient solution	Nb. de racines	6	06.727	<0.0001***
	Longueur des racines (cm)	6	03.337	<0.0001***
Cutting position × Solution nutritive	Nb. de racines	6	10.824	<0.0001***
	Longueur des racines (cm)	6	03.501	0.002**
Type de bouture × Position de prélèvement de boutures × Solution nutritive	Nb. de racines	12	03.852	<0.0001***
	Longueur des racines (cm)	12	01.246	0.247 ^{ns}

III.1.3. Effets de la solution nutritive, du type de bouture et de la position de prélèvement de boutures sur le taux de débourrement, le taux d'enracinement et le taux de réussite du bouturage.

L'analyse de la variance a révélé des effets très significatifs ($P < 0,01$) de la solution nutritive, du type de bouture, de la position de prélèvement des boutures et toutes les interactions sauf l'effet de l'interaction entre les trois facteurs étudiés sur la longueur des racines (tableau 15). Les résultats concernant l'effet de la solution nutritive, du type de bouture et de la position de prélèvement de boutures sur le taux de débourrement, le taux d'enracinement et le taux de réussite sont présentés sur la figure 69. L'influence du type de boutures sur le débourrement a clairement été mise en évidence. Le taux de débourrement maximal a été enregistré chez les boutures semi-ligneuses suivies des boutures herbacées, alors que les boutures ligneuses n'ont pas réussi à produire de pousses. Par ailleurs, les boutures prélevées de la position médiane ont révélé le meilleur taux de débourrement, suivies des boutures de la position basale. Le taux de débourrement le plus élevé a été enregistré chez les boutures semi-ligneuses prélevées de la position médiane et traitées avec la solution nutritive de QL ($85,69 \pm 01,07\%$). Toutefois, le taux de débourrement le plus faible a été enregistré chez les boutures herbacées prélevées de la position basale et traitées avec la solution nutritive de MS ($64,59 \pm 1,70\%$). D'après la figure 69, on observe que le taux d'enracinement des boutures semi-ligneuses est plus élevé que les boutures herbacées, alors que les boutures ligneuses n'ont pas donné de racine. Le succès de l'enracinement varie également en fonction de la position de prélèvement des boutures sur les pieds mères. En effet, on constate une baisse du taux d'enracinement en passant de la position basale à la position apicale qui ne donne pas de racines. Les boutures semi-ligneuses prélevées de la position basale et traitées avec les solutions nutritives de HA et de QL ont produit respectivement les taux d'enracinement les plus élevés ($63,81 \pm 1,89\%$ et $58,59 \pm 1,37\%$). Cependant, les boutures herbacées prélevées de la position basale et traitées avec la solution nutritive de MS ont produit le taux d'enracinement le plus faible ($46,09 \pm 0,68\%$). L'examen de la figure 69, montre que les boutures semi-ligneuses et les boutures herbacées ont présenté les taux de réussite les plus importants par rapport aux boutures herbacées qui ont présenté un taux de mortalité de 100%. Le taux de réussite des boutures enracinées a augmenté de manière significative en passant de la position apicale à la position basale. En effet, les boutures prélevées de la position basale et de la position médiane ont donné les taux de réussite les plus élevés par rapport aux boutures de la position apicale qui n'ont pas réussi à survivre. Les boutures semi-ligneuses prélevées de la position basale et traitées avec les solutions nutritives

de HA et de QL ont donné respectivement les taux de réussite les plus élevés ($96,09 \pm 0,29\%$ et $93,75 \pm 0,39\%$). Cependant, les boutures herbacées prélevées de la position basale et traitées avec la solution nutritive de MS ont présenté le taux de réussite le plus faible ($48,44 \pm 1,17$). Ainsi, les boutures herbacées traitées avec la solution nutritive de MS ont présenté une croissance ralentie et des symptômes de nécrose apicale.

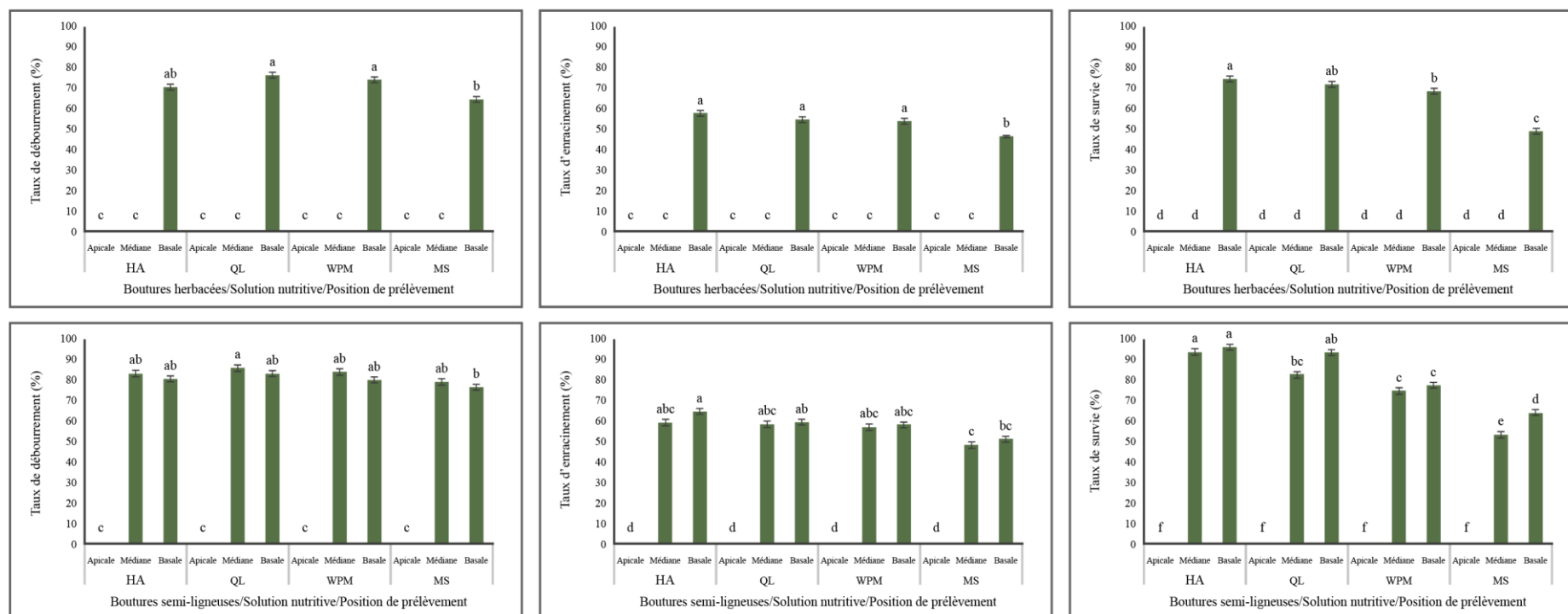


Figure 69. Effets de la solution nutritive (Hoagland et Arnon (HA), Quoirin et Lepoivre (QL), Murashige et Skoog (MS), et Woody Plant Medium (WPM)), du type de bouture (herbacées, semi-ligneuses et ligneuses) et de la position de prélèvement de boutures (apicale, médiane et basale) sur le taux de débournement, le taux d'enracinement et le taux de réussite des boutures d'arganier. Au sein de chaque traitement, les valeurs moyennes suivies de la même lettre ne sont pas significativement différentes à $P < 0,05$ du test de Duncan. Une valeur représente la moyenne $\pm$ erreur standard de la moyenne (SEM) ($n = 32$).

Tableau 15. Analyse de la variance (ANOVA) des effets de la solution nutritive (Hoagland et Arnon (HA), Quoirin et Lepoivre (QL), Murashige et Skoog (MS), et Woody Plant Medium (WPM)), du type de bouture (herbacées, semi-ligneuses et ligneuses) et de la position de prélèvement de boutures (apicale, médiane et basale) et de leurs interactions sur le taux de débourrement, taux d'enracinement et le taux de réussite des boutures de l'arganier (*Agrania spinosa*). ddl : degré de liberté ; F-value : loi de Fisher-Snedecor ; P-value : niveau ou seuil de signification $P < 0,05$; $n = 32$; $\times$: interaction entre les facteurs ; ns: non significatif ($P > 0,05$) ; *: Significatif ($P < 0.05$) ; **: Très significatif ($P < 0.01$) ; ***: Très hautement significatif ($P < 0.001$).

Source de variance	Variable dépendante	ddl	F-value	P-value
Type de bouture	Taux de débourrement (%)	2	2254.1	<0.0001***
	Taux d'enracinement (%)	2	0733.9	<0.0001***
	Taux de réussite (%)	2	2264.3	<0.0001***
Position de prélèvement de boutures	Taux de débourrement (%)	2	1954.2	<0.0001***
	Taux d'enracinement (%)	2	0708.0	<0.0001***
	Taux de réussite (%)	2	2058.4	<0.0001***
Solution nutritive	Taux de débourrement (%)	3	03.326	0.022*
	Taux d'enracinement (%)	3	04.601	0.005**
	Taux de réussite (%)	3	55.811	<0.0001***
Type de bouture $\times$ Position de prélèvement de boutures	Taux de débourrement (%)	4	1016.6	<0.0001***
	Taux d'enracinement (%)	4	334.35	<0.0001***
	Taux de réussite (%)	4	1016.4	<0.0001***
Type de bouture $\times$ Solution nutritive	Taux de débourrement (%)	6	00.901	0.497 ^{ns}
	Taux d'enracinement (%)	6	01.625	0.147 ^{ns}
	Taux de réussite (%)	6	40.354	<0.0001***
Position de prélèvement de boutures $\times$ Solution nutritive	Taux de débourrement (%)	6	01.353	0.240 ^{ns}
	Taux d'enracinement (%)	6	01.625	0.147 ^{ns}
	Taux de réussite (%)	6	15.689	<0.0001***
Type de bouture $\times$ Position de prélèvement de boutures $\times$ Solution nutritive	Taux de débourrement (%)	12	00.849	0.601 ^{ns}
	Taux d'enracinement (%)	12	00.746	0.703 ^{ns}
	Taux de réussite (%)	12	10.690	<0.0001***

III.2. Discussion

Les résultats obtenus lors de la présente étude révèlent des effets significatifs ($P < 0,05$) du type de bouture sur le débourrement, l'enracinement et la réussite du bouturage d'*Argania spinosa*. En effet, d'après Nouaim *et al.*, 2002, les meilleurs pourcentages de débourrement, d'enracinement et de réussite ont été enregistrés chez les boutures semi-ligneuses suivies des boutures herbacées, alors que le débourrement et l'enracinement des boutures ligneuses se sont avérés difficiles, ce qui concorde avec les résultats de notre étude. Il en est de même pour ceux obtenus par Antwi-Boasiako et Enninful (2011) qui ont rapporté que le débourrement des boutures semi-ligneuses de *Moringa oleifera* ont produit un nombre de pousses et une longueur de pousses plus importants que les boutures herbacées. De plus Okunlola (2013) a montré que les boutures semi-ligneuses de *Duranta repens* présentent un meilleur enracinement que les boutures herbacées avec un plus grand nombre de racines, une longueur de racine plus importante et un taux d'enracinement plus élevé. Des résultats similaires ont été rapportés par Abdullateef et Osman (2012), affirmant que le nombre de racines a été plus élevé chez les boutures semi-ligneuses que chez les boutures herbacées de la *Stevia rebaudiana*. Les boutures semi-ligneuses sont généralement considérées comme faciles à multiplier à cause de leur faible production en métabolites secondaires par rapport aux boutures ligneuses et herbacées (Hartmann *et al.*, 1997). En effet, l'augmentation du taux d'enracinement des boutures semi-ligneuses serait due à leur degré de lignification, ce qui augmente leur capacité à résister à des conditions sèches ou autres conditions défavorables. Par ailleurs, la présence de feuilles sur les boutures semi-ligneuses a influencé le débourrement et l'enracinement en raison de leur capacité de produire des auxines et des glucides (Hartmann *et al.*, 1990). Cependant, la récalcitrance des boutures ligneuses au débourrement et à l'enracinement peut s'expliquer par l'absence de feuilles, ce qui inhibe leur activité photosynthétique au début de la multiplication et engendre une diminution de leurs réserves. Ce manque de débourrement et d'enracinement des boutures ligneuses pourrait également être prononcé par l'apparition précoce de feuilles qui conduit à l'épuisement totale des ressources avant l'enracinement (Antwi-Boasiako et Enninful, 2011). Cependant, l'enracinement difficile des boutures herbacées peut être dû à leur dessèchement rapide, leur fragilité et leur contamination par diverses maladies fongiques (Longman, 1993). Compte tenu des résultats ci-dessus, la capacité de débourrement, d'enracinement et de réussite des boutures d'*Argania spinosa* a été également significativement ($P < 0,05$) influencée par la position de prélèvement des boutures. En effet, l'analyse de la variance a révélé que le nombre de racines, la longueur des racines, le taux d'enracinement et

le taux de réussite les plus élevés ont été observés chez les boutures prélevées de la position basale, suivies de celles prises à partir de la position médiane. Cependant, les boutures prélevées à partir de la position apicale n'ont pas formé de racines. Ces résultats sont conformes avec les résultats obtenus précédemment chez d'autres espèces ligneuses telles que *Azadirachta indica* (Palanisamy et Kumar, 1997), *Dalbergia sissoo* (Husen, 2004), *Ulmus villosa* (Bhardwaj et Mishra, 2005) et *Tectona grandis* (Husen et Pal, 2007b), *Dalbergia melanoxylon* (Amri *et al.*, 2010), *Pterocarpus santalinoides* (Ky-Dembele *et al.*, 2016) et *Rosa hybrida* (Otiende *et al.*, 2017). La diminution de la capacité d'enracinement des boutures en passant de la position basale à la position apicale peut être associée à certains facteurs environnementaux tels que l'intensité lumineuse, photopériode, thermopériode... ou par des changements dans le degré de lignification et le diamètre des boutures le long de la tige (Hartmann *et al.*, 1997). Il existe également des facteurs anatomiques et physiologiques qui peuvent influencer la performance des boutures de différentes positions de la tige tels que la structure du bois des vaisseaux conducteurs du xylème, le potentiel hydrique, l'âge des feuilles et la distribution des stomates (Hartmann et Kester, 1990). Ces facteurs pourraient influencer la distribution des éléments minéraux disponibles, des régulateurs de croissance endogènes et des glucides dans les boutures prélevées (Leakey et Coutts, 1989). Leakey (1983) a déclaré que le faible taux d'enracinement des boutures apicales serait dû à une sensibilité accrue au stress hydrique chez les jeunes boutures. Ainsi, cela s'expliquerait soit par un effet inhibiteur des auxines produits lors de l'initiation des racines (Smith et Wareing, 1972) soit par de faibles concentrations de glucides dans la partie apicale (Palanisamy et Kumar, 1997). Notre étude a également montré qu'il existe une différence significative entre les quatre solutions nutritives étudiées en termes de débourrement, d'enracinement et de réussite. En effet, le nombre de pousses, la longueur des pousses et le taux de débourrement les plus élevés ont été enregistrés chez les boutures semi-ligneuses traitées avec les solutions QL et WPM successivement. Par ailleurs, le nombre de racines, la longueur des racines, le taux d'enracinement et le taux de réussite les plus élevés ont été observés chez les boutures semi-ligneuses traitées avec les solutions nutritives HA et QL successivement. Un certain nombre d'études ont souligné que l'absorption des éléments nutritifs est étroitement liée au débourrement et à l'enracinement des boutures. Blomstedt *et al.* (1991) ont constaté que la prolifération des racines d'*Eucalyptus regnans* était plus importante par utilisation des solutions HA ou WPM que par MS. Wang (1991) a observé un degré plus élevé de formation de boutures de *Prunus communis* avec les solutions WPM et QL que la solution MS. De plus, Abousalim et Mantell (1994) ont indiqué que la nécrose de la partie apicale des pousses est un problème fréquent et persistant dans les boutures de *Pistacia vera*

après traitement avec une solution standard de MS. Pérez-Tornero et Burgos (2000) ont attiré l'attention sur le fait que l'apport d'une solution WPM provoque des chloroses foliaires de *Prunus armeniaca*. Les différences observées entre ces solutions nutritives pourraient s'expliquer par leur concentration ionique totale. En effet, la solution HA a une concentration ionique totale inférieure de 32% par rapport à la solution MS et 45% par rapport à la solution WPM, alors que la solution QL est 73% inférieure à MS. En effet, les plantes qui ont été traitées avec des solutions nutritives concentrées n'ont pas produit de systèmes racinaires (poids, volume et nombre de racine) bien développés, tandis que les plantes qui ont été traitées avec des solutions nutritives diluées, leurs racines ont été bien développées et le rapport pondéral (racine/partie aérienne) augmente (Forde et Lorenzo, 2001). En effet, après le prélèvement des boutures du pied mère, les tissus contiennent une concentration déterminée d'éléments minéraux. Avant l'émission des racines, ce stock d'éléments nutritifs de la bouture diminue progressivement au fur et à mesure de l'avancement de la multiplication (Blazich *et al.*, 1983). Par conséquent, le faible taux d'enracinement et de réussite de la solution standard de MS peut s'expliquer par sa teneur excessive en azote, tandis que la chlorose des feuilles de la solution WPM pourrait être due à sa faible teneur en azote. La solution MS comporte des concentrations élevées en ammonium (20,6 mM) et en nitrates (39,4 mM), suivie des solutions QL et WPM (5 mM), alors que la solution HA contient la concentration en ammonium la plus faible (2 mM). Ainsi, les macronutriments de la solution HA contiennent un rapport $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$ (7) beaucoup plus élevé que les autres solutions nutritives, alors que la solution MS présente le rapport $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$ (1,9) le plus faible. Les niveaux élevés d'azote endogène dans les boutures semblent augmenter la croissance des pousses si le niveau d'azote dépasse l'optimum pour l'initiation et le développement du primordium racinaire (Brouwer, 1962). Par ailleurs, la diminution du potentiel d'enracinement des boutures de l'arganier en fonction de l'augmentation de la concentration de l'azote de la solution MS serait attribuée à une diminution des processus d'assimilation du carbone (Druege *et al.*, 2000). Basu et Ghosh (1974) ont signalé que l'activité des cofacteurs intervenant dans le processus d'enracinement était inversement liée à l'apport d'azote. Un rapport massique carbone sur azote (C/N) et un rapport phosphore/azote (P/N) forts sont très intéressants dans la mesure où ils induisent une augmentation dans la concentration de l'anthocyanine et l'activité des cofacteurs racinaires dans les tissus des boutures. Nos résultats ont indiqué également que les solutions nutritives MS et WPM ont provoqué des nécroses de la partie apicale des pousses et ont produit les taux de réussite les plus faibles. Ceci est dû également à une teneur légèrement faible en calcium des solutions WPM et MS (3 mg) par rapport à la solution HA (4 mg) et la solution QL (5 mg). En effet, le manque de disponibilité

du calcium peut influencer l'enracinement car le flux endogène de cet élément est mal transporté et distribué à travers le phloème (Eliasson, 1978). Ainsi, plusieurs chercheurs ont démontré que le calcium peut être impliqué dans la division cellulaire et le processus d'allongement du primordium racinaire en agissant comme cofacteur dans les voies de perception et de signalisation de l'auxine lors de la formation des racines adventives (Lanteri *et al.*, 2006).

IV. Effets du type de substrat, du diamètre des boutures et du nombre de feuilles sur la multiplication par bouturage de l'arganier (*Argania spinosa* (L.) Skeels).

IV.1. Résultats

IV.1.1. Effets du type de substrat, du diamètre des boutures et du nombre de feuilles sur le nombre et la longueur des pousses

D'après l'analyse de la variance (ANOVA), le type de substrat (sable fin, tourbe et sable fin/tourbe) et le diamètre des boutures (0,1-0,3 cm ; 0,3-0,6 cm et 0,6-0,9 cm) ont montré des effets significatifs ($P < 0,05$) sur le nombre de pousses et la longueur des pousses, alors que le nombre de feuilles (sans feuilles, 2, 4 et 8 feuilles) n'a pas d'effet significatif sur le nombre de pousses et la longueur des pousses. Cependant, aucune interaction entre les trois facteurs étudiés n'est observée ($P > 0,05$) sur le nombre de pousses et la longueur des pousses (tableau 17). Le nombre de pousses a montré une augmentation progressive en fonction de l'augmentation du diamètre des boutures ($R = 0,56^{***}$). Une tendance similaire a également été observée pour la longueur des pousses ($R = 0,58^{***}$) (tableau 16).

Tableau 16. Régression linéaire simple entre le diamètre des boutures et le nombre de pousses ou de la longueur de pousses (cm) des boutures semi-ligneuses de l'arganier ; $n = 32$; *** : Très significatif ($P < 0.001$).

Variable dépendante (Y)	Variable indépendante (X)	Coefficient de corrélation (R)	Équation de régression	Valeur P
Nombre de pousses	Diamètre des boutures (cm)	0,56	$Y = 0,59 X - 0,44$	0,000***
Longueur des pousses (cm)	Diamètre des boutures (cm)	0,58	$Y = 5,42 X - 4,32$	0,000***

Comme le montre la figure 70, la tourbe ainsi que le mélange sable fin/tourbe ont donné les nombres de pousses les plus élevés par rapport au sable fin. Les boutures plantées dans un mélange de sable fin/tourbe ont donné les pousses les plus longues, suivies de celles plantées dans la tourbe, alors que les boutures plantées dans le sable fin ont présenté les pousses les plus courtes. Concernant le diamètre des boutures, les boutures de diamètre 0,3 à 0,6 cm et 0,6 à 0,9 cm ont présenté les nombres de pousses et les longueurs de pousses les plus élevés. Ainsi, concernant le nombre de feuilles, les boutures à 4 feuilles ont produit le nombre de pousses le plus élevé et les pousses les plus longues comparativement aux boutures à 2 et 8 feuilles. Les boutures de diamètre de 0,6 à 0,9 cm, à 4 feuilles et plantées dans un mélange de sable fin/tourbe

ont montré le meilleur nombre de pousses et les pousses les plus longues ($1,81 \pm 0,10$ et $17,25 \pm 0,96$ cm respectivement), alors que le nombre le plus faible de pousses et la longueur de pousse la plus courte ont été enregistrés chez les boutures de diamètre de 0,3 à 0,6 cm, à 8 feuilles et plantées dans un substrat de sable fin ($1,06 \pm 0,09$ et $8,19 \pm 1,11$ cm respectivement). Toutefois, les boutures de diamètre de 0,1-0,3 cm et les boutures sans feuilles n'ont pas formé de pousses (figure 70).

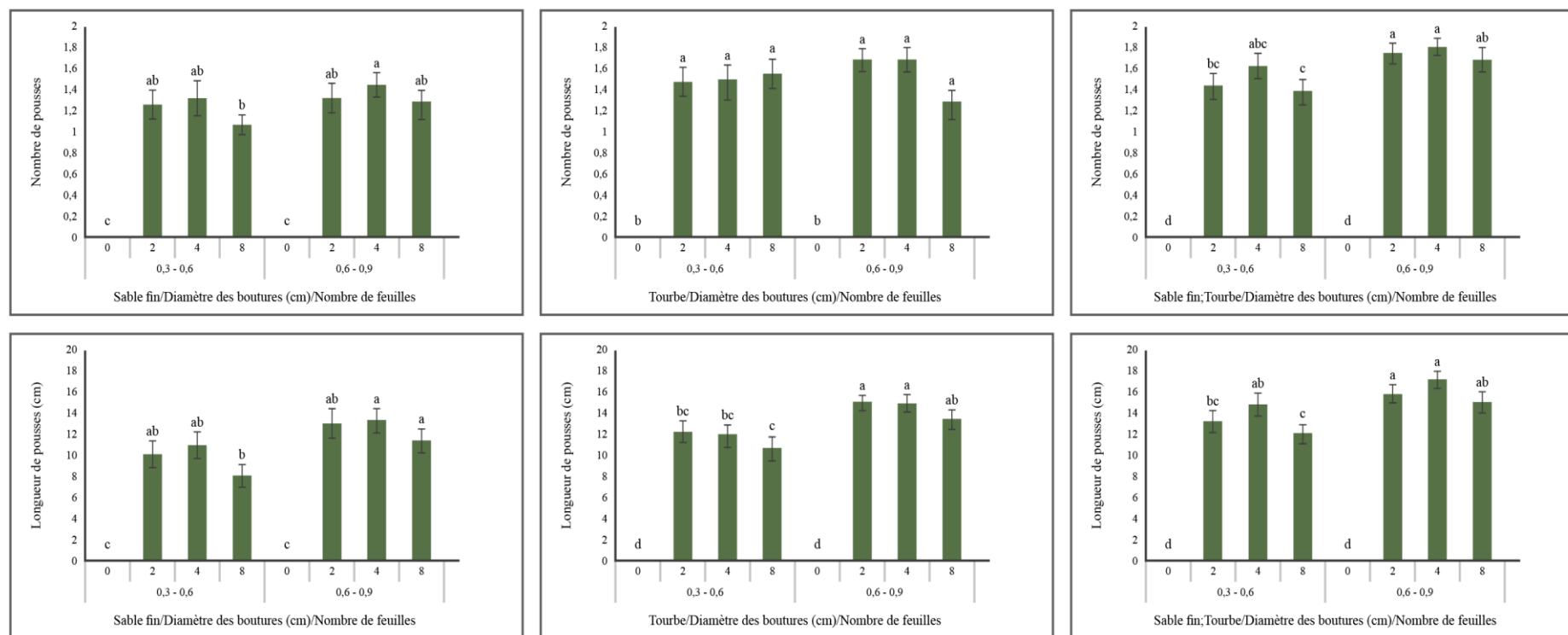


Figure 70. Effets du type de substrat (sable fin, tourbe et sable fin / tourbe), du diamètre des boutures (0,1-0,3 cm ; 0,3-0,6 cm et 0,6-0,9 cm) et du nombre de feuilles (sans feuilles ; 2 ; 4 et 8 feuilles) sur le nombre de pousses et de la longueur des pousses (cm) des boutures semi-ligneuses de l'arganier (*Agrania spinosa*). Au sein de chaque traitement, les valeurs moyennes suivies de la même lettre ne sont pas significativement différentes à $P < 0,05$ du test de Duncan. Une valeur représente la moyenne $\pm$ erreur standard de la moyenne (SEM) ($n = 32$).

Tableau 17. Analyse de la variance (ANOVA) des effets du type de substrat (sable fin, tourbe et sable fin/tourbe), du diamètre des boutures (0,1-0,3 cm ; 0,3-0,6 cm et 0,6-0,9 cm) et du nombre de feuilles (sans feuilles, 2, 4 et 8 feuilles) et de leurs interactions sur le nombre de pousses et de la longueur des pousses (cm) des boutures semi-ligneuses de l'arganier. ddl : degré de liberté ; F-value : loi de Fisher-Snedecor ; P-value : niveau ou seuil de signification $P < 0,05$; $n = 32$; × : interaction entre les facteurs ; ns: non significatif ($P > 0,05$) ; *: Significatif ($P < 0,05$) ; **: Très significatif ($P < 0,01$) ; ***: Très hautement significatif ($P < 0,001$).

Source de variance	Variable dépendante	ddl	F-value	P-value
Diamètre de boutures	Nb. de pousses	2	7,36	0,0071*
	Longueur des pousses (cm)	2	20,36	<0,0001***
Nombre de feuilles	Nb. de pousses	3	1,30	0,2736 ^{ns}
	Longueur des pousses (cm)	3	4,08	0,0179*
Type de substrat	Nb. de pousses	2	10,08	<0,0001***
	Longueur des pousses (cm)	2	10,15	<0,0001***
Diamètre de boutures × Nombre de feuilles	Nb. de pousses	6	0,03	0,9702 ^{ns}
	Longueur des pousses (cm)	6	0,9559	0,9559 ^{ns}
Diamètre de boutures × Type de substrat	Nb. de pousses	4	0,39	0,6750 ^{ns}
	Longueur des pousses (cm)	4	0,01	0,9896 ^{ns}
Nombre de feuilles × Type de substrat	Nb. de pousses	6	0,35	0,8451 ^{ns}
	Longueur des pousses (cm)	6	0,23	0,9232 ^{ns}
Diamètre de boutures × Nombre de feuilles × Type de substrat	Nb. de pousses	12	0,20	0,9399 ^{ns}
	Longueur des pousses (cm)	12	0,03	0,9983 ^{ns}

IV.1.2. Effets du type de substrat, du diamètre des boutures et du nombre de feuilles sur le nombre et la longueur des racines

L'analyse de la variance (ANOVA) a montré l'existence d'un effet très significatif ($P < 0,01$) du type de substrat, du diamètre des boutures et du nombre de feuilles sur le nombre et la longueur des racines. Toutefois, à l'exception de l'interaction entre le diamètre des boutures et le type de substrat, les résultats ont révélé l'absence de l'effet de l'interaction entre les trois facteurs étudiés (tableau 18). Le nombre de racines et la longueur des racines les plus élevés a été enregistrés chez les boutures à 2 et 4 feuilles. Cependant, le nombre de racines et la longueur des racines les plus faibles ont été observés chez les boutures à 8 feuilles (figure 71). D'après la figure 72, on constate que les boutures plantées dans les substrats de sable fin et dans un mélange de sable fin/tourbe ont donné le nombre et la longueur des racines les plus élevés, alors que le plus faible nombre et longueur des racines adventives par bouture a été enregistré chez les boutures plantées dans la tourbe. Par ailleurs, les boutures de diamètre 0,3-0,6 cm ont présenté le plus grand nombre de racines et les racines les plus longues, suivies du diamètre 0,6-0,9 cm, alors que les boutures de diamètre 0,1-0,3 cm n'ont pas produit de racines. Les meilleures réponses en termes de nombre de racines ont été obtenues chez les boutures plantées dans un substrat de sable fin à 4 feuilles et pour des diamètres de 0,3-0,6 cm ($45,06 \pm 1,14$) et 0,6-0,9 cm ($44,13 \pm 1,21$) respectivement. Ainsi, la longueur des racines la plus élevée a été enregistrée chez les boutures cultivées dans le substrat de sable fin à 4 feuilles et un diamètre 0,3-0,6 cm ($33,63 \pm 2,12$), alors que les boutures plantées dans un substrat de tourbe n'ont pas dépassé 23 cm. Toutefois, les boutures sans feuilles et les boutures de diamètre 0,1-0,3 cm n'ont pas formé de racines et ne sont pas représentées sur les graphes (figure 72).



Figure 71. Effets du type de substrat sur la multiplication par bouturage de l'arganier (*Argania spinosa* (L.) Skeels). A : Boutures semi-ligneuses plantées dans un substrat de sable fin (24 semaines). B : Boutures semi-ligneuses plantées dans un substrat de tourbe (24 semaines). C : Boutures semi-ligneuses plantées dans un mélange de sable fin et de tourbe (1:1 v/v) (24 semaines). D : Système racinaire des plantules installées dans un substrat de sable fin (2 ans). E : Système racinaire très bien développé des plantules installées dans un mélange de sable fin et de tourbe (1:1 v/v) (2 ans). F : Fructification précoce des plantules installées dans un mélange de sable fin et de tourbe (1:1 v/v) (3 ans). Barres d'échelle : 10 mm.

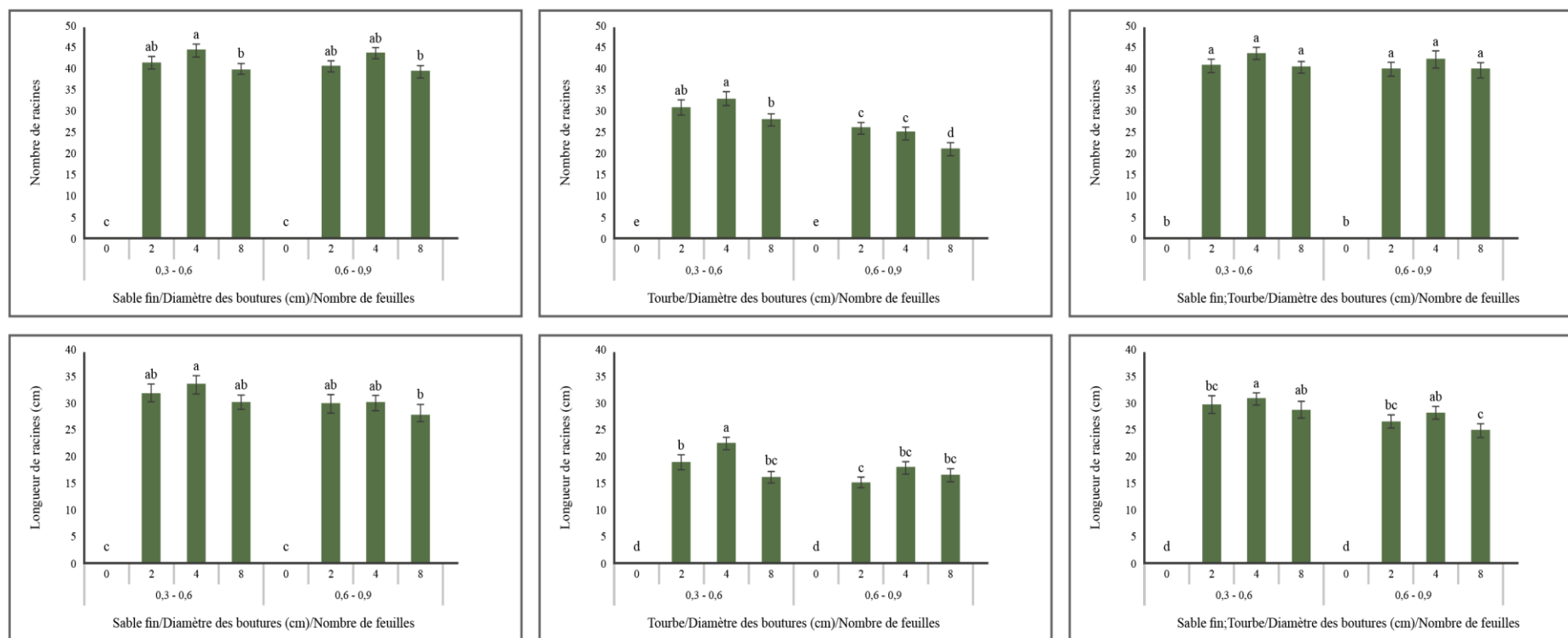


Figure 72. Effets du type de substrat (sable fin, tourbe et sable fin/tourbe), du diamètre des boutures (0,1-0,3 cm ; 0,3-0,6 cm et 0,6-0,9 cm) et du nombre de feuilles (sans feuilles, 2, 4 et 8 feuilles) sur le nombre de racines et la longueur des racines (cm) des boutures d'arganier (*Argania spinosa*). Au sein de chaque traitement, les valeurs moyennes suivies de la même lettre ne sont pas significativement différentes à $P < 0,05$ du test de Duncan. Une valeur représente la moyenne $\pm$ erreur standard de la moyenne (SEM) ($n = 32$).

Tableau 18. Analyse de la variance (ANOVA) des effets du type de substrat (sable fin, tourbe et sable fin/tourbe), du diamètre des boutures (0,1-0,3 cm ; 0,3-0,6 cm et 0,6-0,9 cm) et du nombre de feuilles (sans feuilles, 2, 4 et 8 feuilles) et de leurs interactions sur le nombre de racines et la longueur des racines (cm) des boutures de l'arganier (*Argania spinosa*). ddl : degré de liberté ; F-value : loi de Fisher-Snedecor ; P-value : niveau ou seuil de signification $P < 0,05$; $n = 32$; × : interaction entre les facteurs ; ns: non significatif ($P > 0,05$) ; *: Significatif ($P < 0,05$) ; **: Très significatif ($P < 0,01$) ; ***: Très hautement significatif ($P < 0,001$).

Source de variance	Variable dépendante	ddl	F-value	P-value
Diamètre de boutures	Nb. de raciness	2	11,27	0.0009***
	Longueur des racines (cm)	2	13,29	0.0003***
Nombre de feuilles	Nb. de raciness	3	7,43	0.0007***
	Longueur des racines (cm)	3	5,42	0.0049*
Type de substrat	Nb. de raciness	2	134,30	<0.0001***
	Longueur des racines (cm)	2	98,88	<0.0001***
Diamètre de boutures × Nombre de feuilles	Nb. de raciness	6	0.18	0,8318 ^{ns}
	Longueur des racines (cm)	6	0.46	0,6345 ^{ns}
Diamètre de boutures × Type de substrat	Nb. de raciness	4	5.81	0.0034*
	Longueur des racines (cm)	4	0.11	0,8990 ^{ns}
Nombre de feuilles × Type de substrat	Nb. de raciness	6	0.72	0,5809 ^{ns}
	Longueur des racines (cm)	6	0.30	0,8766 ^{ns}
Diamètre de boutures × Nombre de feuilles × Type de substrat	Nb. de raciness	12	0.14	0,9657 ^{ns}
	Longueur des racines (cm)	12	0.58	0,6775 ^{ns}

IV.1.3. Effets du type de substrat, du diamètre des boutures et du nombre de feuilles sur le pourcentage de débourrement, le taux d'enracinement et le taux de réussite du bouturage d'arganier

L'analyse de la variance (ANOVA) a montré des effets significatifs ($P < 0,05$) du type de substrat (sable fin, tourbe et sable fin/tourbe) sur le taux de débourrement, le taux d'enracinement et le taux de réussite des boutures enracinées. Cependant, les résultats ont révélé un effet non significatif ($P > 0,05$) du diamètre des boutures, du nombre de feuilles et des interactions entre les trois facteurs sur les trois paramètres étudiés (tableau 19). D'après la figure 73, le meilleur taux de débourrement ($85,00 \pm 3,76\%$) a été enregistré chez les boutures plantées dans un mélange de sable fin/tourbe à 4 feuilles et un diamètre de 0,6 à 0,9 cm. Cependant, les boutures installées dans un substrat de sable fin à 8 feuilles et de diamètre de 0,3-0,6 cm ont présenté le taux de débourrement le plus faible ($61,50 \pm 5,68\%$). Par ailleurs, les taux d'enracinement les plus élevés ont été obtenus chez les boutures installées dans un substrat de sable fin, suivis du substrat sable fin/tourbe, alors que les boutures plantées dans la tourbe ont présenté le taux d'enracinement le plus faible. En effet, les résultats ont montré que les boutures plantées dans un substrat de sable fin à 2 et 4 feuilles et un diamètre de 0,3 à 0,6 cm ont donné respectivement les taux d'enracinement les plus élevés ($65,00 \pm 5,15\%$ et $65,00 \pm 5,87\%$). Ainsi, le taux d'enracinement diminue lorsque le nombre de feuilles dépasse 4 feuilles. Ainsi, en se basant sur l'ensemble des résultats, on remarque que le meilleur taux de réussite ($92,50 \pm 1,94\%$), a été enregistré chez les boutures plantées dans un substrat contenant un mélange de sable fin et de tourbe à 4 feuilles et un diamètre de 0,3 à 0,6 cm, alors que les boutures plantées dans un substrat de sable fin à 8 feuilles et un diamètre de 0,6 à 0,9 cm ont donné le taux de réussite le plus faible ($57,00 \pm 4,53\%$). Par ailleurs, le taux de mortalité le plus élevé (100%) a été enregistré chez les boutures sans feuilles à un diamètre de 0,1-0,3 cm. Durant la phase d'endurcissement, les plantules installées dans un substrat contenant un mélange de sable fin et de tourbe ont montré une bonne croissance et un meilleur développement par rapport celles qui sont dans un substrat de tourbe ou de sable fin (figure 73).

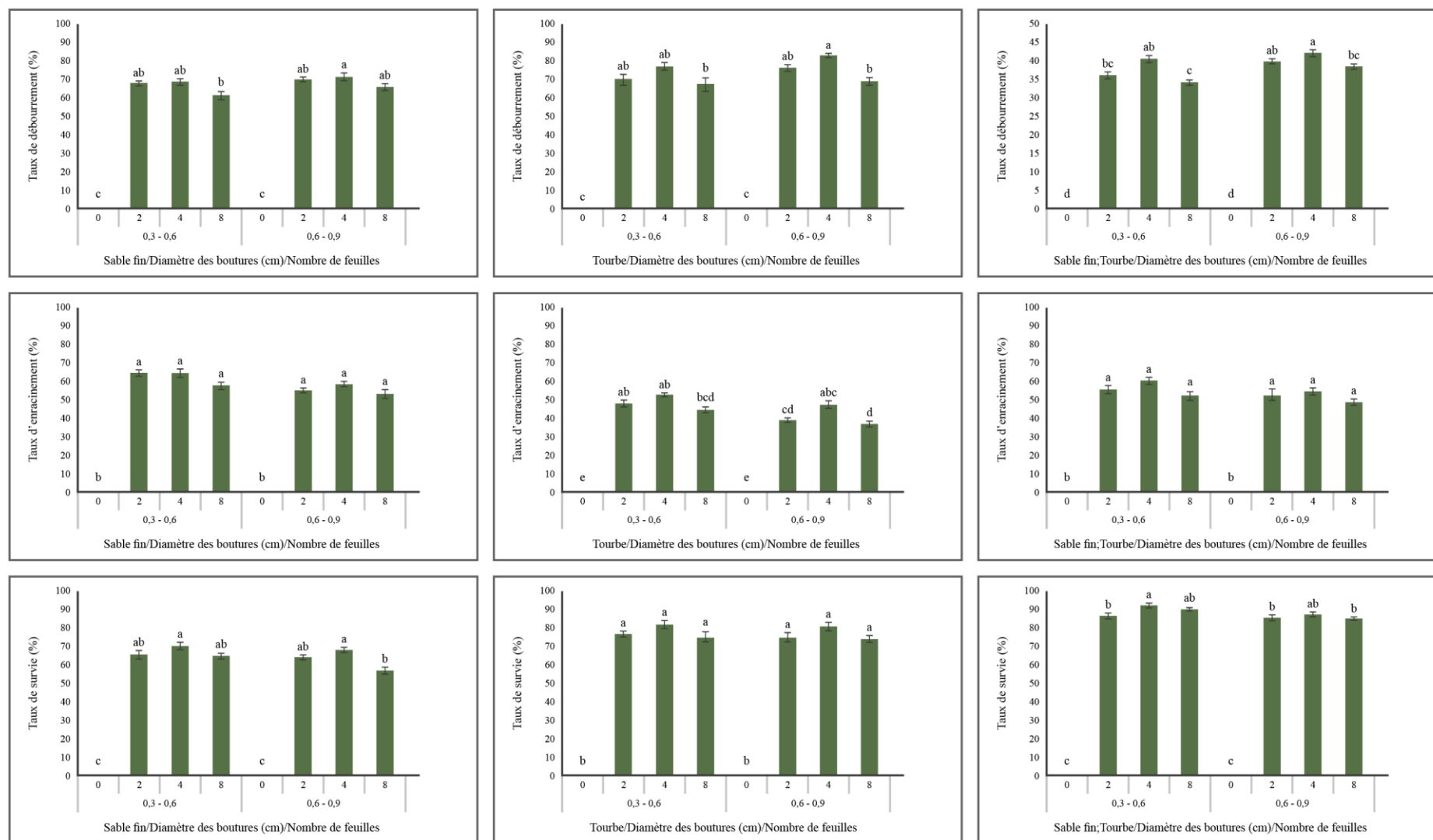


Figure 73. Effets du type de substrat (sable fin, tourbe et sable fin/tourbe), du diamètre des boutures (0,1-0,3 cm ; 0,3-0,6 cm et 0,6-0,9 cm) et du nombre de feuilles (sans feuilles, 2, 4 et 8 feuilles) sur le taux de débourrement, le taux d'enracinement et le taux de réussite des boutures de l'arganier (*Argania spinosa*). Au sein de chaque traitement, les valeurs moyennes suivies de la même lettre ne sont pas significativement différentes à $P < 0,05$ du test de Duncan. Une valeur représente la moyenne $\pm$ écart type des moyens ($n = 32$).

Tableau 19. Analyse de la variance (ANOVA) des effets du type de substrat (sable fin, tourbe et sable fin/tourbe), du diamètre des boutures (0,1-0,3 cm ; 0,3-0,6 cm et 0,6-0,9 cm), du nombre de feuilles (sans feuilles, 2, 4 et 8 feuilles) et de leurs interactions sur le taux de débourrement, taux d'enracinement et le taux de réussite des boutures de l'arganier (*Argania spinosa*). ddl : degré de liberté ; F-value : loi de Fisher-Snedecor ; P-value : niveau ou seuil de signification $P < 0,05$; $n = 32$; × : interaction entre les facteurs ; ns: non significatif ($P > 0,05$) ; *: Significatif ($P < 0,05$) ; **: Très significatif ($P < 0,01$) ; ***: Très hautement significatif ($P < 0,001$).

Source de variance	Variable dépendante	ddl	F-value	P-value
Diamètre des boutures	Taux de débourrement (%)	2	4.28	0,0434*
	Taux d'enracinement (%)	2	6.70	0,0124*
	Taux de réussite (%)	2	1.96	0,1668 ^{ns}
Nombre de feuilles	Taux de débourrement (%)	3	5.93	0,0047*
	Taux d'enracinement (%)	3	3.53	0,0363*
	Taux de réussite (%)	3	2.80	0,0694 ^{ns}
Type de substrat	Taux de débourrement (%)	2	6.60	0,0027*
	Taux d'enracinement (%)	2	13.98	<0.0001***
	Taux de réussite (%)	2	41.37	<0.0001***
Diamètre des boutures × Nombre de feuilles	Taux de débourrement (%)	6	0.02	0,9849 ^{ns}
	Taux d'enracinement (%)	6	0.06	0,9444 ^{ns}
	Taux de réussite (%)	6	0.23	0,7918 ^{ns}
Diamètre des boutures × Type de substrat	Taux de débourrement (%)	4	0.22	0,8072 ^{ns}
	Taux d'enracinement (%)	4	0.17	0,8411 ^{ns}
	Taux de réussite (%)	4	0.13	0,8775 ^{ns}
Nombre de feuilles × Type de substrat	Taux de débourrement (%)	6	0.27	0,8937 ^{ns}
	Taux d'enracinement (%)	6	0.12	0,9745 ^{ns}
	Taux de réussite (%)	6	0.29	0,8855 ^{ns}
Diamètre des boutures × Nombre de feuilles × Type de substrat	Taux de débourrement (%)	12	0.15	0,9633 ^{ns}
	Taux d'enracinement (%)	12	0.09	0,9860 ^{ns}
	Taux de réussite (%)	12	0.14	0,9655 ^{ns}

IV.2. Discussion

Les résultats obtenus à partir de la présente étude ont révélé des effets très hautement significatifs ($P < 0,05$) du type de substrat (sable fin, tourbe et sable fin/tourbe), du diamètre des boutures (0,1-0,3 cm ; 0,3-0,6 cm et 0,6-0,9 cm) et du nombre de feuilles (sans feuilles, 2, 4 et 8 feuilles) sur le débourrement, l'enracinement et la réussite du bouturage semi-ligneux de l'arganier (*Argania spinosa* (L.) Skeels). Parmi les différents diamètres testés, les boutures de 0,3 à 0,6 cm ont développé le plus grand nombre de racines ainsi que les racines les plus longues et ont présenté le taux d'enracinement le plus élevé. D'autre part, les boutures de diamètre 0,6-0,9 cm ont montré les meilleures capacités de débourrement, mais n'ont pas permis une amélioration de l'enracinement. Cependant, les boutures de diamètre de 0,1-0,3 cm ont développé une nécrose entraînant l'échec du bouturage. Cet effet significatif des diamètres de 0,3 à 0,6 cm sur l'induction de l'enracinement adventif serait dû à leur bonne capacité de stockage des glucides et d'autres réserves indispensables pour la formation des racines (Leakey *et al.*, 1992 ; Tchoundjeu et Leakey, 1996). La réussite du débourrement serait également due à la présence de réserves de sucre adéquates tels que le fructose, le glucose et le saccharose dans les tissus de la bouture (Gehlot *et al.*, 2015). De plus, la quantité d'auxines endogènes et celle d'autres cofacteurs d'enracinement pourraient être plus faible dans les boutures ayant un petit diamètre, ce qui réduit le pourcentage d'enracinement, voire même l'absence des racines (Wilson et Staden, 1990). L'efficacité de l'enracinement de ces boutures pourrait également être due à la faible teneur en éléments minéraux, en particulier l'azote qui est positivement corrélé avec l'enracinement (Budiarto *et al.*, 2006). Par ailleurs, l'effet du diamètre de bouture sur l'aptitude d'enracinement pourrait également être attribué à la position de prélèvement à partir du pied mère (Leakey, 2004). En effet, les boutures de diamètre de 0,1-0,3 cm prélevées à partir des positions apicales des plantes mères, contiennent une faible quantité d'auxine, poussent lentement, s'arrêtent à se développer rapidement et ne parviennent pas à produire des racines (Howard et Ridout, 1991). La faible capacité d'enracinement des boutures de diamètre 0,6 à 0,9 cm peut probablement être due à leur degré de lignification (Hartmann *et al.*, 1990). Nos résultats correspondent en parti à ceux rapportés par d'autres études précédentes qui ont révélé un effet positif du diamètre de bouture sur le débourrement, l'enracinement et la réussite du bouturage. Palanisamy et Kumar (1997) ainsi que OuYang *et al.*, (2015) ont montré que chez *Picea abies* le pourcentage d'enracinement le plus élevé a été obtenu par des boutures de diamètre de 0,3 à 0,4 cm. En outre, Foster *et al.*, (2000) ont observé que les boutures de *Pinus taeda* d'un diamètre moyen de 0,2 à 0,3 cm s'enracinent mieux et développent davantage de

racines. Notre étude a également montré que les capacités de débourrement, d'enracinement et de réussite des boutures d'*Argania spinosa* ont été significativement ($P < 0,05$) plus élevées chez les boutures feuillées en comparaison avec les boutures défoliées (sans feuilles) qui ont montré un taux de mortalité de 100%. Ces différences d'aptitude au débourrement due à l'absence de feuilles sur les boutures pourraient s'expliquer par la non disponibilité des assimilats et le déséquilibre hydrique de la bouture. La présence des feuilles et leur nombre sur la bouture pourrait également exercer une forte influence sur l'initiation et le développement des racines (Leakey et Coutts, 1989 ; Thomas et Schiefelbein, 2004). Les boutures feuillées fournissent un approvisionnement continu en photoassimilats après leur mise en place dans le substrat (Tchoundjeu *et al.*, 2002 ; Leakey, 2004). Par ailleurs, le nombre de feuilles sur la bouture pourrait également influencer la concentration des auxines endogènes dans les tissus de la bouture. L'enracinement étant stimulé par la quantité d'auxines disponibles, la réponse d'enracinement d'une bouture serait donc proportionnelle au nombre de feuilles présentes (Tchoundjeu et Leakey, 1996). Toutefois, nos résultats ont montré que la capacité des boutures à développer des racines adventives a diminué lorsque le nombre de feuilles dépasse 4 feuilles. Cela pourrait s'expliquer par l'équilibre entre l'effet positif de l'assimilation du CO₂ permettant une photosynthèse suffisante et l'effet négatif de la perte d'eau par transpiration à travers le nombre élevé de stomates (Leakey et Coutts, 1989). En effet, les boutures avec un nombre élevé de feuilles semblent souffrir d'un déficit hydrique à cause d'un taux de transpiration plus élevé par rapport aux boutures avec un nombre optimal de feuilles (Aminah *et al.*, 1997). Ainsi, l'absence de feuilles a été associée à l'épuisement rapide des sucres stockés dans les tissus de la bouture (Druege *et al.*, 2000). Par conséquent, la recherche d'un équilibre entre la photosynthèse, la transpiration et le transport des nutriments reste un facteur primordial pour favoriser l'enracinement et améliorer le taux de réussite du bouturage (Leakey et Coutts, 1989). L'effet positif du nombre de feuilles sur le succès du bouturage a été rapporté chez plusieurs espèces comme *triplochiton scleroxylon* (Leakey et Coutts, 1989), *Vitis vinifera* (Thomas et Schiefelbein, 2004), *Eucalyptus hybrides* (Trueman et Adkins, 2013) et *Santalum austrocaledonicum* (Tate et Page, 2018). Concernant l'effet du substrat sur le bouturage de l'arganier, l'analyse de la variance a mis en évidence des différences significatives ($P < 0,05$) entre les trois substrats étudiés sur le débourrement, l'enracinement et la capacité de réussite. En effet, le nombre de racines, la longueur des racines et le pourcentage d'enracinement les plus élevés ont été enregistrés chez les boutures plantées dans un substrat de sable fin par rapport au substrat de tourbe et au mélange du sable fin et de la tourbe. Cette efficacité d'enracinement adventif chez les boutures enracinées dans le substrat de sable fin pourrait être

liée à sa porosité et son drainage optimal, ce qui permet de créer un équilibre entre la transpiration et la respiration et par conséquent une formation des racines adventives maximale. Par ailleurs, le sable est un substrat poreux qui limite le développement des agents pathogènes et dans lequel les racines peuvent se développer facilement sans dommage (Tchinda *et al.*, 2013). Contrairement à l'effet très prononcé du substrat du sable fin sur l'enracinement des boutures, les caractéristiques physico-chimiques de la tourbe ont été considérées comme un problème fondamental pour la formation des racines adventives de l'arganier. En effet, la teneur en eau élevée de ce substrat augmente le taux de contamination et provoque la pourriture du collet des boutures (Schmitz *et al.*, 2013). Ainsi, la présence d'eau en excès dans ce substrat inhibe la diffusion d'oxygène, induit l'anoxie, provoque la toxicité des cellules, engendre la mort des tissus, la défoliation sévère et le flétrissement des boutures. Ceci étant dû à l'accumulation de substances toxiques tels que : le bicarbonate et le dioxyde de carbone (Mesén *et al.*, 1997). Les résultats ont également montré que les boutures plantées dans un mélange de sable et de tourbe ont obtenu les meilleurs taux de débourrement et de réussite par rapport à celles plantées dans un substrat de sable fin ou de tourbe. En effet, l'ajout de la tourbe au substrat de sable fin améliore la capacité de rétention d'eau et favorise la capacité d'échange cationique, ce qui permet d'améliorer le taux de réussite tout en réduisant les déficits en eau, l'abscission des feuilles et la nécrose des boutures (Leakey *et al.*, 1990). Des études comparatives réalisées entre différents substrats ont indiqué que les boutures plantées dans un substrat de sable fin ont obtenu les meilleurs résultats en termes de débourrement, d'enracinement et de capacité de réussite. Atangana *et al.* (2006) ont souligné que les pourcentages d'enracinement les plus élevés ont été observés chez les boutures de *Allanblackia floribunda* plantées dans le substrat de sable fin. Gehlot *et al.* (2014) ont également recommandé la plantation des boutures d'*Azadirachta indica* dans un substrat de sable fin pour améliorer le nombre de racines, la longueur racinaire et favoriser l'enracinement. Et enfin, d'après Adugna *et al.*, 2015, les boutures de *Vanilla planifolia* plantées dans le sable fin ont elles aussi, présenté le meilleur pourcentage d'enracinement. Dans le but d'améliorer l'efficacité de la technique de bouturage, notamment la capacité d'enracinement des boutures et pour mieux comprendre les mécanismes de la rhizogenèse adventive, une étude bio-informatique est nécessaire pour identifier les principaux gènes intervenant dans l'homéostasie de l'auxine.

V. Conception *in silico* d'amorces oligonucléotidiques de six principaux gènes impliqués dans la formation des racines

V.1. Résultats

V.1.1. Conception *in silico* d'amorces oligonucléotidiques du gène PIN1 (The auxin efflux carrier protein PIN-FORMED 1)

V.1.1.1. Recherche *in silico* et choix des séquences du gène PIN1 dans les banques de données de séquences nucléiques (d'ADN)

La recherche *in silico* de séquences nucléotidiques pour la conception des amorces PIN1 a été effectuée dans les banques de données génomiques GenBank-NCBI, EMBL- EBI et DDBJ-NIG. La méthode de recherche heuristique BLAST (Basic Local Alignment Search Tool) a été utilisée pour chercher l'homologie entre les séquences nucléotidiques et la séquence cible du gène PIN1. Les quatre séquences nucléotidiques suivantes ont présenté les pourcentages d'homologie les plus élevés : *Malus x domestica* (EF406255.1 ; Dal Cin *et al.*, 2009), *Populus tremula x Populus tremuloides* (AF190881.1 ; Schrader *et al.*, 2003), *Rosa canina* (KF543362.1 ; Dai *et al.*, 2012) et *Rosa hybrida* (KJ933386.1 ; Barbier *et al.*, 2003) (tableau 20).

Tableau 20. Liste des gènes sélectionnés en fonction des espèces et du numéro d'accension pour la conception des amorces sens et antisens PIN1.

Nom du gène	Espèce	Numéro d'accension
MDPIN1	<i>Malus x domestica</i>	EF406255.1
PTPIN1	<i>Populus tremula x Populus tremuloides</i>	AF190881.1
RCPIN1	<i>Rosa canina</i>	KF543362.1
RHPIN1	<i>Rosa hybrida</i>	KJ933386.1

V.1.1.2. Alignement multiple des séquences MDPIN1, PTPIN1, RCPIN1 et RHPIN1 pour la sélection des amorces du gène PIN1

Après avoir choisi les séquences nucléotidiques, un alignement multiple des quatre séquences MDPIN1, PTPIN1, RCPIN1 et RHPIN1 a été effectué sous format FASTA en utilisant le programme Vector NTI afin d'élaborer un couple d'amorces optimales pour la séquence cible

du gène PIN1. Les données suivantes montrent les résultats de l'alignement multiple des quatre séquences sélectionnées du gène PIN 1 sur le programme Primer 3.

		1951	2000
MDPIN1	(1150)	GGT T TGTT T ATGGCTTT G CAG CCAAAGATCATAGCATGTGGAAC TCCAT	
PTPIN1	(1892)	GGTCTGTT C ATGGCTTT G CA CCAAGGATCATAGCATGTGGA AAT T TCCAT	
RCPIN1	(1614)	GGT T TGTT T ATGGCTTT A CA CCAAGGATCATAGCATGTGGA AAT T TCCAT	
RHPIN1	(1655)	GGT T TGTT T ATGGCTTT A CA CCAAGGATCATAGCATGTGGA AAT T TCCAT	
Consensus	(1951)	GGTCTGTTTATGGCTTTGCA CCAAGGATCATAGCATGTGGA AATTCAT	
		2001	2050
MDPIN	(1200)	TGCAGCTTTT A C C ATGGCTGTGAGATTCCT C ACAGG C CCAGCT G TCATGG	
PTPIN1	(1942)	TGCA A CTTTT T CTATGGCTGTGAGATTCCT T ACAGG T CCAGCT A TCATGG	
RCPIN1	(1664)	TGCAGCTTTT A C T ATGGCTGTGAGATTCCT C ACAGG T CCAGCT G TCATGG	
RHPIN1	(1705)	TGCAGCTTTT A C T ATGGCTGTGAGATTCCT T ACAGG T CCAGCT G TCATGG	
Consensus	(2001)	TGCAGCTTTTACTATGGCTGTGAGATTCCTTACAGGTCCAGCTGTCATGG	
		2051	2100
MDPIN	(1250)	CAGCTGCTTCCATTGCTGTTGG C T T AGAGGCAC T CTCTT G CAT G TGCC	
PTPIN1	(1992)	CAGCTGCTTCTATTGCTGTTGG T AT T AGAGGCAG G CTCTT A CAT C GCC	
RCPIN1	(1714)	CAGCTGCTTCCATTGCTGTTGG C CTAGGGGCAC T CTCTT A CAT G TGCC	
RHPIN1	(1755)	CAGCTGCTTCCATTGCTGTTGG C CTAGGGGCAC T CTCTT A CAT G TGCC	
Consensus	(2051)	CAGCTGCTTCCATTGCTGTTGGCCTTAGGGGCACCTCTTACATGTGGCC	
		2101	2150
MDPIN1	(1300)	ATTGT A CAGGCAG C CTACCC CAAGGAAT TGTCCCCTTTGTCTTTGCC A	
PTPIN1	(2042)	ATTGT T CAGGCAG C CTACCA CAAGGAAT AGTCCCCTTTGTCTTTGCC A	
RCPIN1	(1764)	ATTGT C CAGGCAG C CTACCC CAAGGAAT TGTCCCCTTTGTCTTTGCC A	
RHPIN1	(1805)	ATTGT C CAGGCAG C CTACCC CAAGGAAT TGTCCCCTTTGTCTTTGCC A	
Consensus	(2101)	ATTGTCCAGGCAGCTCTACCCCAAGGA TTGTCCCCTTTGTCTTTGCCA	

V.1.1.3. Sélection, validation et conception des amorces oligonucléotidiques du gène PIN1

a) Sélection du couple d'amorces sens et antisens du gène PIN1

En se basant sur les résultats de l'alignement multiple, les deux amorces sens et antisens du gène PIN 1 ont été choisies en fonction de la stabilité, la spécificité et l'efficacité de l'amplification de la qPCR (tableau 21). La longueur de la séquence cible du gène PIN1 choisie est de 188 pb.

Tableau 21. Amorces sens et antisens du gène PIN4 choisies à partir de l'alignement multiple des séquences nucléotidiques sur les programmes Vector NTI et Primer 3.

Amorce sens 5' à 3' (Forward) PIN1			Amorce antisens 3' à 5' (Reverse) PIN1		
	1972	1992		2129	2148
MDPIN1 (1171)	CCAAAGATCATAGCATGTGGA		MDPIN1 (1328)	TTGTCCCCTTTGTCTTTGCC	
PTPIN1 (1913)	CCAAGGATCATAGCATGTGGA		PTPIN1 (2070)	TAGTCCCCTTTGTCTTTGCC	
RCPIN1 (1635)	CCAAGGATCATAGCATGTGGA		RCPIN1 (1792)	TTGTCCCCTTTGTCTTTGCC	
RHPIN1 (1676)	CCAAGGATCATAGCATGTGGA		RHPIN1 (1833)	TTGTCCCCTTTGTCTTTGCC	
Consen (1972)	CCAAGGATCATAGCATGTGGA		Consen (2129)	TTGTCCCCTTTGTCTTTGCC	

b) Validation de la qualité des amorces oligonucléotides du gène PIN1

Les résultats du programme Primer 3 concernant les critères de sélection des amorces sens et antisens du gène PIN1 sont présentés dans le tableau 22, on remarque que les longueurs et les températures de fusion obtenues (21 pb et 50,57 °C ; 20 pb et 58,59 °C) sont optimales pour les deux amorces sens et antisens du gène PIN1 respectivement. Par ailleurs, on observe l'absence de structures de dimères et de boucles en épingle à cheveux. Concernant la teneur en GC, on note que les pourcentages sont optimaux 47,62 % et 50,00 % pour les deux amorces sens et antisens respectivement.

Tableau 22. Critères de sélection des amorces sens et antisens du gène PIN1 sur les programmes Vector NTI et Primer 3. L: longueur des amorces ; Tm: température de fusion (Tf en °C) ; GC%: teneur en GC ; Any_th: structures de dimères d'amorce ; 3'_th: extrémité 3'-OH (contient G ou C) ; Harpin: boucles en épingle à cheveux.

Amorces	Séquences nucléotidiques	Start	Len	Tm	GC%	Any_th	3'_th	Hairpin
Sens	CCAAGGATCATAGCATGTGGA	1	21	50,57	47,62	0,00	0,00	0,00
Antisens	GGCAAAGACAAAGGGGACAA	177	20	58,59	50,00	0,00	0,00	0,00

c) Synthèse des oligo-nucléotides dégénérés des amorces sens et antisens du gène PIN1

- **L'amorce sens 5' à 3' (Forward) :** L'amorce sens sélectionnée du gène PIN1 comporte une seule position dégénérée au niveau de la cinquième position. Cette position contient deux bases azotées purines G (Guanine) et A (Adénine). De ce fait, selon la nomenclature internationale des oligo-nucléotides dégénérés, ces deux bases azotées seront remplacées par la base dégénérée R (tableau 23) ;

- **L'amorce antisens 3' à 5' (Reverse) :** L'amorce antisens sélectionnée du gène PIN1 comporte une seule position dégénérée au niveau de la 19^{ème} position. Cette position contient la base azotée purine A (adénine) et la base azotée pyrimidine T (thymine). De ce fait, selon la nomenclature internationale des oligo-nucléotides dégénérés ces deux bases azotées seront remplacées par la base dégénérée W (tableau 23).

Tableau 23. Couple d'amorces sens et antisens oligonucléotides du gène PIN1 après remplacement des positions des bases dégénérées par leurs correspondants dans la nomenclature internationale des oligonucléotides.

Amorce sens (Forward) PIN1 dégénérée	Amorce antisens (Reverse) PIN1 dégénérée
CCAA(G/A)GATCATAGCATGTGGA	GGCAAAGACAAAGGGGAC(A/T)A
CCAARGATCATAGCATGTGGA	GGCAAAGACAAAGGGGACWA

V.1.2. Conception *in silico* d'amorces oligonucléotidiques du gène PIN4 (The auxin efflux carrier protein PIN-FORMED 4)

V.1.2.1. Recherche *in silico* et choix des séquences du gène PIN4 dans les banques de données de séquences nucléiques (d'ADN)

La recherche *in silico* des séquences nucléotidiques pour la conception des amorces TIR1 a été effectuée dans les banques de données génomiques GenBank-NCBI, EMBL- EBI et DDBJ-NIG. La méthode de recherche heuristique BLAST (Basic Local Alignment Search Tool) a été utilisée pour chercher l'homologie entre les séquences nucléotidiques et la séquence cible du gène PIN4. Les quatre séquences nucléotidiques suivantes ont présenté les pourcentages d'homologie les plus élevés : *Solanum lycopersicum* (NM_001247255.1 ; Aoki *et al.*, 2010), *Arabidopsis lyrata* (XM_002876702.1 ; Hu *et al.*, 2011), *Arabidopsis thaliana* (NM_126203.2 ; Lin *et al.*, 1999) et *Glycine max* (KC344366.1 ; Peng *et al.*, 2013) (tableau 24).

Tableau 24. Liste des gènes sélectionnés en fonction des espèces et du numéro d'accension pour la conception des amorces sens et antisens PIN4.

Nom du gène	Espèce	Numéro d'accension
SLPIN4	<i>Solanum lycopersicum</i>	NM_001247255.1
ALPIN4	<i>Arabidopsis lyrata</i>	XM_002876702.1
ATPIN4	<i>Arabidopsis thaliana</i>	NM_126203.2
GmPIN4	<i>Glycine max</i>	KC344366.1

V.1.2.2. Alignement multiple des séquences SLPIN4, ALPIN4, ATPIN4 et GmPIN4 pour la sélection des amorces du gène PIN4

Après avoir choisi les séquences nucléotidiques, un alignement multiple des quatre séquences SLPIN4, ALPIN4, ATPIN4 et GmPIN4 a été effectué sous format FASTA en utilisant le programme Primer3 et le logiciel Vector NTI afin d'élaborer un couple d'amorces optimales pour la séquence cible du gène PIN4. Les données suivantes montrent les résultats de l'alignement multiple des quatre séquences sélectionnées du gène PIN 4 sur les programmes Vector NTI et Primer 3.

		251	300
SLPIN4	(122)	GGATCAACAGATTTCGTAGCTATTTTGCAGTTCCTTTGTTGTCTTTCCAT	
ALPIN4	(182)	GCATCAATCGCTTCGTGCGCATTTTCGCCGTCCCTCTCCTCTCCTTCCAC	
ATPIN4	(251)	GCATCAACCGCTTCGTGCGTATCTTCGCCGTCCCTCTCCTCTCCTTCCAC	
GmPIN4	(122)	GCATCAACCGTTTGTGACCTTTGCAGTGCTCTTCTCTCCTTCCAC	
Consensus	(251)	GCATCAACCGCTTCGTGCGTATTTTTCGCCGTCCCTCTCCTCTCCTTCCAC	
		301	350
SLPIN4	(172)	TTCATAGCTATGAACAATCCATATGAGATGAATTCCGTTTCATTGCGGC	
ALPIN4	(232)	TTCATCTCCACCAACGATCCTTACGCCATGAATTCGCTTCGTCGCCGC	
ATPIN4	(301)	TTCATCTCCACCAACGATCCTTACGCCATGAATTCGCTTCGTCGCCGC	
GmPIN4	(172)	TTCATAGCTCCAAACAACCTTATGAGATGAACCAGAGTTCTAGCTGC	
Consensus	(301)	TTCATCTCCACCAACGATCCTTATGCGATGAATTTCCGCTTCGTCGCCGC	
		351	400
SLPIN4	(222)	GGATTTCGCTGCAGAAAGTGATTATGCTTGTGTACTTTCAATTATGGGCTA	
ALPIN4	(282)	CGACACGCTTCAAAAGATCATCATGCTCGTCTTGCTTGGTTTATGGGCTA	
ATPIN4	(351)	CGACACGCTTCAAAAATCATCATGCTCGTCTTACTTGCTTATGGGCTA	
GmPIN4	(222)	TGACACCCTTCAAAAGATCATAATACTAGTCTCCTTGCAGTTTGGAGCA	
Consensus	(351)	CGACACGCTTCAAAAGATCATCATGCTCGTCTTACTTGCTTTATGGGCTA	
		401	450
SLPIN4	(272)	ATTTAACATAAAATGGTAGCTTGAATGGAAGTATTACCATTTTTCACCT	
ALPIN4	(332)	ATCTAACCAAGAACGGTAGCTTGAATGGATGATCACCATCTTCTCTCTC	
ATPIN4	(401)	ACCTAACCAAGAACGGTAGCTTGGAGTGGATGATCACAACTTCTCTCTC	
GmPIN4	(272)	ACATCACCAAAAGGGGTGTGTTGGAATGGGCCATAACCTTGTCTCTCTC	
Consensus	(401)	ATCTAACCAAGAACGGTAGCTTGAATGGATGATCACCATCTTCTCTCTC	

		451	500
SLPIN4	(322)	TCAACACTACCAAAACATTTGGTGATGGGTATTCTTTGTTAATTGCTAT	
ALPIN4	(382)	AGCACTCTCCCAAACACTCTTGTTCATGGGAATCCCTTTGTTGATCGCCAT	
ATPIN4	(451)	AGCACTCTCCCAAACACTCTTGTTCATGGGAATCCCTCTGTTGATCGCCAT	
GmPIN4	(322)	TCACCTCTCCCAAACACTTTGGTTATGGGCATCCCTTTGCTCAAGGGAT	
Consensus	(451)	TGCACTCTCCCAAACACTTTTGTTCATGGG ATCCCTTTGTTGATCGCCAT	
		501	550
SLPIN4	(372)	GTATGGTGAGTACTCTGGTAGTCTCATGGTACAAGTAGTGGTGTGTCAGT	
ALPIN4	(432)	GTACGGAACCTACGCTGGCTCTCTCATGGTTCAAGTCGTTGTTCTTCAGT	
ATPIN4	(501)	GTACGGAACCTACGAGGTTCTCTAATGGTCAAGTCGTTGTTCTTCAGT	
GmPIN4	(372)	GTATGGTGACTTCTCAGGAGCCTCATGGTGCAAAATTGTGGTCTTCAGT	
Consensus	(501)	GTATGGTGCCTACTCTGGTTGTCTCATGGT CAAGTCGTTGTTCTTCAGT	
		551	600
SLPIN4	(422)	GTATCATTTGGTACACACTTTTGCTTTTGTTCGAATATCGCGGTGCG	
ALPIN4	(482)	GTATCATTTGGTACACTCTCCTTCTCTTTCCTTCGAGTACCGTGGCGCT	
ATPIN4	(551)	GTATCATTTGGTACACTCTCCTTCTCTTCCCTTCGAGTACCGTGGCGCT	
GmPIN4	(422)	GCATCATTTGGTACACCTTGATGCTCTTCTGTTTGAAGTTAGAGGTGCG	
Consensus	(551)	GTATCATTTGGTACACTCTCCTTCTCTTTTGTTCGAGTATCGTGGTGCT	
		601	650
SLPIN4	(472)	AAAAATGCTTATAATGGAGCAATTCCTGAGAACTGCTGCTTCCATTGTTTC	
ALPIN4	(532)	AAGCTTTTGATTATGGAGCAGTTCCCTGAGACTGGTGCCTCCATTGTTCT	
ATPIN4	(601)	AAGCTTCTTATTATGGAGCAGTTCCCGGAGACTGGTGCCTCTATTGTTTC	
GmPIN4	(472)	AGAAATGCTCATCTCTGAGCAGTTCCCTGACACTGCTGCCTCCATTGTTCT	
Consensus	(601)	AAGCTTCTTATTATGGAGCAGTTCCCTGAGACTGGTGCCTCCATTGTTTC	

V.1.2.3. Sélection, validation et conception des amorces oligonucléotidiques du gène PIN4

a) Sélection du couple d'amorces sens et antisens du gène PIN4

En se basant sur les résultats de l'alignement multiple, les deux amorces sens et antisens du gène PIN 4 ont été choisies en fonction de la stabilité, la spécificité et l'efficacité de l'amplification de la qPCR (tableau 25). La longueur de la séquence cible du gène PIN4 choisie est de 191 pb.

Tableau 25. Amorces sens et antisens du gène *PIN4* choisies à partir de l'alignement multiple des séquences nucléotidiques sur les programmes Vector NTI et Primer 3.

Amorce sens 5' à 3' (Forward) <i>PIN4</i>			Amorce antisens 3' à 5' (Reverse) <i>PIN4</i>		
	625	642		823	842
SLPIN4 (496)	CCAGAACTGC	TGCTTCC	SLPIN4 (667)	TCGAATCTC	ACCGGAGCTGA
ALPIN4 (556)	CCTGAGACTGG	TGCGTCC	ALPIN4 (727)	TCTAATCTC	ACCGGAGCTGA
ATPIN4 (625)	CCGAGACTGGT	TGCGTCT	ATPIN4 (796)	TCGAATCTT	ACCGGAGCTGA
GmPIN4 (496)	CCTGACACTGC	TGCTCC	GmPIN4 (694)	TCCAACCTT	ACCAATGCTGA
Consen (625)	CCTGAGACTGGT	TGCGTCC	Consen (823)	TCGAATCTT	ACCGGAGCTGA

b) Validation de la qualité des amorces oligonucléotides du gène *PIN4*

Les résultats du programme Primer 3 concernant les critères de sélection des amorces sens et antisens du gène *PIN4* sont présentés dans le tableau 26. On constate que les longueurs et les températures de fusion obtenues (18 pb et 59,74 °C ; 20 pb et 58,24 °C) sont optimales pour les deux amorces sens et antisens du gène *PIN4* respectivement. Par ailleurs, on observe l'absence des structures de dimères et les boucles en épingle à cheveux. Concernant la teneur en GC, on note également que les pourcentages sont optimaux 66,67% et 50,00% pour les deux amorces sens et antisens respectivement.

Tableau 26. Critères de sélection des amorces sens et antisens du gène *PIN4* sur les programmes Vector NTI et Primer 3. *L*: longueur des amorces ; *T_m*: température de fusion (*T_f* en °C) ; *GC%*: teneur en GC ; *Any_{th}*: structures de dimères d'amorce ; *3'_{th}*: extrémité 3'-OH (contient G ou C) ; *Harpin*: boucles en épingle à cheveux.

Amorces	Séquences nucléotidiques	Start	Len	T _m	GC%	Any _{th}	3' _{th}	Hairpin
Sens	CCTGAGACTGGTGCCTCC	551	18	59,74	66,67	0,00	0,00	0,00
Antisens	TCAGCTCCGGTAAGATTCGA	741	20	58,24	50,00	0,00	0,00	0,00

c) Synthèse des oligonucléotides dégénérés des amorces sens et antisens du gène *PIN 4*

- **L'amorce sens 5' à 3' (Forward) :** L'amorce sens sélectionnée du gène *PIN4* comporte cinq positions dégénérées. Les trois bases azotées T, G et A de la troisième position, les trois bases G, A et C de la sixième position, les deux bases G et C de la onzième position et les deux bases C et T de la dix-huitième position sont remplacées respectivement par D, V, S, K, Y selon la nomenclature internationale des oligonucléotides dégénérés (tableau 27) ;

- **L'amorce antisens 3' à 5' (Reverse) :** L'amorce antisens sélectionnée du gène PIN4 comporte six positions dégénérées. Les deux bases azotées T et A de la sixième position, les deux bases C et T de la septième position, les deux bases C et T de la huitième position, les deux bases A et G de la douzième position, les deux bases de la A et G quinzième position et les trois bases C, G et A de la dix-huitième position sont remplacées respectivement par W, Y, Y, R, R et V selon la nomenclature internationale des oligonucléotides dégénérés (tableau 27).

Tableau 27. Couple d'amorces sens et antisens oligonucléotides du gène PIN4 après remplacement des positions des bases dégénérées par leurs correspondants dans la nomenclature internationale des oligonucléotides.

Amorce sens (Forward) PIN4 dégénérée	Amorce antisens (Reverse) PIN4 dégénérée
CC(T/A/G)GA(G/A/C)ACTG(G/C)TGC(G/T)TC(C/T)	TCAGC(T/A)(C/T)(C/T)GGT(A/G)AG(A/G)TT(C/G/A)GA
CCDGAVACTGSTGCKTCY	TCAGCWYYGGTRAGRRTTVGA

V.1.3. Conception *in silico* d'amorces oligonucléotidiques du gène PIN7 (The auxin efflux carrier protein PIN-FORMED 7)

V.1.3.1. Recherche *in silico* et choix des séquences du gène PIN7 dans les banques de données de séquences nucléiques (d'ADN)

La recherche *in silico* des séquences nucléotidiques pour la conception des amorces TIR1 a été effectuée dans les banques de données génomiques GenBank-NCBI, EMBL- EBI et DDBJ-NIG. La méthode de recherche heuristique BLAST (Basic Local Alignment Search Tool) a été utilisée afin de chercher l'homologie entre les séquences nucléotidiques et la séquence cible du gène PIN7. Les quatre séquences nucléotidiques suivantes ont présenté les pourcentages d'homologie les plus élevés : *Arabidopsis thaliana* (XM_002893214.1 ; Friml *et al.*, 2002), *Malus x domestica* (EF406258.1 ; Dal *et al.*, 2009), *Arabidopsis lyrata* (XM_002893214.1 ; Hu *et al.*, 2011) et *Capsella bursa-pastoris* (JQ686225.1 ; Peng *et al.*, 2013) (tableau 28).

Tableau 28. Liste des gènes sélectionnés en fonction des espèces et du numéro d'accension pour la conception des amorces sens et antisens PIN7.

Nom du gène	Espèce	Numéro d'accension
ATPIN7	<i>Arabidopsis thaliana</i>	AF087820.1
MDPIN7	<i>Malus x domestica</i>	EF406258.1
ALPIN7	<i>Arabidopsis lyrata subsp. Lyrata</i>	XM_002893214.1
CBPIN7	<i>Capsella bursa-pastoris</i>	JQ686225.1

V.1.3.2. Alignement multiple des séquences ATPIN7, MDPIN7, ALPIN7 et CBPIN7 pour la sélection des amorces du gène PIN7

Après avoir choisi les séquences nucléotidiques, un alignement multiple des quatre séquences ATPIN7, MDPIN7, ALPIN7 et CBPIN7 a été effectué sous format FASTA en utilisant le programme Vector NTI afin d'élaborer un couple d'amorces optimales pour la séquence cible du gène PIN7. Les données suivantes montrent les résultats de l'alignement multiple des quatre séquences sélectionnées du gène PIN 7 sur les programmes Vector NTI et Primer 3.

		551	600
ATPIN7	(426)	GGCTCACTCATGGTTCAGATCGTTGTTCTTCAGTGTATAA	TCTGGTACAC
MDPIN7	(1)	-----CAGAGTATT	A
ALPIN7	(549)	GGTTC	CACTCATGGTTCAGATCGTTGTTCTTCAGTGTATAA
CBPIN7	(388)	GGCTC	CCTTATGGTTCAGATCGTTCAGTGTATAA
Consensus	(551)	GGCTCACTCATGGTTCAGATCGTTGTTCTTCAGTGTATAA	TCTGGTACAC
		601	650
ATPIN7	(476)	GCTTCTTCTCTT	TTCTTTTCGAATACAGAGGAGCTAAGATCTTGATCATGG
MDPIN7	(21)	TCTCCTCCTCTT	CTCTTCGAGTACCGTGGCGCAAGCTTC
ALPIN7	(599)	GCTTCTTCTCTT	TTCTTTTCGAATACAGAGGAGCTAAGATCTTGATCATGG
CBPIN7	(438)	GCTTCTTCTCTT	CTCTTCGAAATACAGAGGAGCTAAGATCTTGATCATGG
Consensus	(601)	GCTTCTTCTCTTTCTTTTCGAATACAGAGGAGCTAAGATCTTGATCATGG	
		651	700
ATPIN7	(526)	AACAGTTTCCAGAGACTGGTGCTTCGATTGTATCGTTCAAAGTTGAGTCC	
MDPIN7	(71)	AGCAGTTCCCGGAGACCGCCGCTCCATCGTCTC	TTCAAAGTCCGACTCC
ALPIN7	(649)	AACAGTTCCAGAGACTGGTGCTTCGATTGTATCA	TTCAAAGTTGAGTCC
CBPIN7	(488)	AGCAGTTTCCAGAGACTGGTGCTTCGATTGTTC	GTTCAAAGTTGAGTCC
Consensus	(651)	AGCAGTTTCCAGAGACTGGTGCTTCGATTGTATCGTTCAAAGTTGAGTCC	
		701	750
ATPIN7	(576)	GATGTTGTTTCTTTAGATGGACATGATTTTCTTGAACTGATGCTCAAAT	
MDPIN7	(121)	GACGTCTGCTCGCTCGACGGTCTGC	GATTTTCTCGAGACCGACGCGGAAAT

ALPIN7	(699)	GATGTTGTTTCTTTAGACGGACATGATTTTCTTGAAACTGATGCTCAAAT
CBPIN7	(538)	GATGTTGTTTCTTTAGATGGACATGATTTTCTTGAAACTGATGCTCAAAT
Consensus	(701)	GATGTTGTTTCTTTAGATGGACATGATTTTCTTGAAACTGATGCTCAAAT
		751 800
ATPIN7	(626)	CGGTGACGATGGTAAGCTTCATGTTACGGTGAGAAATCAAACGCTTCTC
MDPIN7	(171)	CGGCGACGACGGAAGCTCCACGTCAGGTCCGGAAGTCCAAACGCACTAA
ALPIN7	(749)	CGGTGACGATGGTAAGCTTCATGTTACGGTGAGGAAATCAAACGCTTCTC
CBPIN7	(588)	CGGAACGATGGTAAGCTTCATGTTACGGTGAGGACATCAAACGCTTCTAC
Consensus	(751)	CGGTGACGATGGTAAGCTTCATGTTACGGTGAGGAAATCAAACGCTTCTC

V.1.3.3. Sélection, validation et conception des amorces oligonucléotidiques du gène PIN7

a) Sélection du couple d'amorces sens et antisens du gène PIN7

D'après les résultats de l'alignement multiple, les deux amorces sens et antisens du gène PIN7 ont été choisies en fonction de la stabilité, la spécificité et l'efficacité de l'amplification de la qPCR (tableau 29). La longueur de la séquence cible du gène PIN7 choisie est de 180 pb.

Tableau 29. Amorces sens et antisens du gène PIN7 choisies à partir de l'alignement multiple des séquences nucléotidiques sur les programmes Vector NTI et Primer 3.

Amorce sens 5' à 3' (Forward) PIN7		Amorce antisens 3' à 5' (Reverse) PIN7	
	591 611		751 770
ATPIN7 (466)	TCTGGTACACGCTTCTTCTCT	ATPIN7 (626)	CGGTGACGATGGTAAGCTTC
MDPIN7 (11)	TCTGGTACACTCTCTCTCTCT	MDPIN7 (171)	CGGCGACGACGGAAGCTCC
ALPIN7 (589)	TCTGGTACACGCTTCTTCTCT	ALPIN7 (749)	CGGTGACGATGGTAAGCTTC
CBPIN7 (428)	TCTGGTACACGCTTCTTCTCT	CBPIN7 (588)	CGGAACGATGGTAAGCTTC
Consen (591)	TCTGGTACACGCTTCTTCTCT	Consen (751)	CGGTGACGATGGTAAGCTTC

b) Validation de la qualité des amorces oligonucléotides du gène PIN7

Comme le montre le tableau 30, on observe que les longueurs et les températures de fusion obtenues (21 pb et 58,48 °C ; 20 pb et 58,72 °C) sont optimales pour les deux amorces sens et antisens du gène PIN7 respectivement. On note également l'absence des structures de dimères et les boucles en épingle à cheveux. Concernant la teneur en GC, les pourcentages sont optimaux 47,62% et 55,00% pour les deux amorces sens et antisens respectivement.

Tableau 30. Critères de sélection des amorces sens et antisens du gène PIN7 sur les programmes Vector NTI et Primer 3. *L*: longueur des amorces ; *T_m*: température de fusion (*T_f* en °C) ; *GC%*: teneur en GC ; *Any_{th}*: structures de dimères d'amorce ; *3'_{th}*: extrémité 3'-OH (contient G ou C) ; *Harpin*: boucles en épingle à cheveux.

Amorces	Séquences nucléotidiques	Start	Len	T _m	GC%	Any _{th}	3' _{th}	Hairpin
Sens	CCTGAGACTGGTGCGTCC	11	21	58,48	47,62	0,00	0,00	0,00
Antisens	TCAGCTCCGGTAAGATTCGA	190	20	58,72	55,00	0,00	0,00	0,00

c) Synthèse des oligonucléotides dégénérés des amorces sens et antisens du gène PIN7

- **L'amorce sens 5' à 3' (Forward) :** L'amorce sens sélectionnée du gène PIN7 comporte trois positions dégénérées. Les deux bases azotées G et T de la onzième position, les deux bases T et C de la quatorzième position et les deux bases T et C de la dix-septième position sont remplacées respectivement par K, Y, Y selon la nomenclature internationale des oligonucléotides dégénérés (tableau 31) ;
- **L'amorce antisens 3' à 5' (Reverse) :** L'amorce antisens sélectionnée du gène PIN4 comporte d'autres positions dégénérées. Les deux bases azotées A et G de la deuxième position, les deux bases A et T de la huitième position, les deux bases A et G de la onzième position et les trois bases A, G et T de la dix-septième position sont remplacées respectivement par R, W, R et D selon la nomenclature internationale des oligonucléotides dégénérés (tableau 31).

Tableau 31. Couple d'amorces sens et antisens oligonucléotides du gène PIN7 après remplacement des positions des bases dégénérées par leurs correspondants dans la nomenclature internationale des oligonucléotides.

Amorce sens (Forward) PIN7 dégénérée	Amorce antisens (Reverse) PIN7 dégénérée
TCTGGTACAC(G/T)CT(T/C)CT(T/C)CTCT	G(A/G)AGCTT(A/T)CC(A/G)TCGTC(A/G/T)CCG
TCTGGTACACKCTYCTYCTCT	GRAGCTTWCCRTCCTCDCCG

V.1.4. Conception *in silico* d'amorces oligonucléotidiques du gène AUX1 (The auxin influx carrier protein AUXIN-RESISTANT1)

V.1.4.1. Recherche *in silico* et choix des séquences du gène AUX1 dans les banques de données de séquences nucléiques (d'ADN)

La recherche *in silico* des séquences nucléotidiques pour la conception des amorces TIR1 a été effectuée dans les banques de données génomiques GenBank-NCBI, EMBL- EBI et DDBJ-NIG. La méthode de recherche heuristique BLAST (Basic Local Alignment Search Tool) a été utilisée pour chercher l'homologie entre les séquences nucléotidiques et la séquence cible du gène AUX1. Les quatre séquences nucléotidiques suivantes ont présenté les pourcentages d'homologie les plus élevés : *Mangifera indica* (JQ279702.1 ; Li *et al.*, 2012), *Lupinus albus* (AM235387.2 ; Oliveros-Valenzuela *et al.*, 2007), *Dianthus caryophyllus* (AM235386.1 ; Del Rocio Oliveros-Valenzuela *et al.*, 2008) et *Pisum sativum* (AB107919.1 ; Hitotsubashi, 2003) (tableau 32).

Tableau 32. Liste des gènes sélectionnés en fonction des espèces et du numéro d'accension pour la conception des amorces sens et antisens AUX1.

Nom du gène	Espèce	Numéro d'accension
MIAUX1	<i>Mangifera indica</i> cultivar Zihua	JQ279702.1
LAAUX1	<i>Lupinus albus</i>	AM235387.2
DCAUX1	<i>Dianthus caryophyllus</i>	AM235386.1
PSAUX1	<i>Pisum sativum</i>	AB107919.1

V.1.4.2. Alignement multiple des séquences MIAUX1, LAAUX1, DCAUX1 et PSAUX1 pour la sélection des amorces du gène AUX1

Après avoir choisi les séquences nucléotidiques, un alignement multiple des quatre séquences MIAUX1, LAAUX1, DCAUX1 et PSAUX1 a été effectué sous format FASTA en utilisant le programme Vector NTI afin d'établir un couple d'amorces optimales pour la séquence cible du gène AUX1. Les données suivantes montrent les résultats de l'alignement multiple des quatre séquences sélectionnées du gène AUX1 sur les programmes Vector NTI et Primer 3.

		501	550
MIAUX1	(476)	GAACTCAGCTTCAAGAACCATGTAATTCAGTGGTTCGAAGTGCCTTGATG	
LAAUX1	(388)	AAAAGTTGATTTCAGGAACCATGTAATTCAGTGGTTGAAGTCTTGATG	
DCAUX1	(353)	AGGTGTCAACTTCAAAACCATGTTATTCAGTGGTTTGAGGTATGGACG	
PSAUX1	(492)	AAATGTTAATTTCAGAACCATGTTATTCAGTGGTTGAAGTGCCTTGATG	
Consensus	(501)	AAATGTTAATTTCAAGAACCATGTTATTCAGTGGTTTGAAGTGCCTTGATG	
		551	600
MIAUX1	(526)	GGTTACTGGGTCCATATTGGAAAGCTGTTGGCCTTGCATTCAACTGTACT	
LAAUX1	(438)	GACTTTTAGGCAAAACCTGGAGGAATCTTGGTCTATTTTCAATTGTACT	
DCAUX1	(403)	GATTATTGGGACCATACCTGGAAAGCAGCGGTTTAGCTTCAACTGTACT	
PSAUX1	(542)	GATTACTGGGTCCATTTTGGAAAGCATTGGTCTAGCTTTCAACTGTACT	
Consensus	(551)	GATTATTGGGTCCATATTGGAAAGCTGTTGGTCTAGCTTTCAACTGTACT	
		601	650
MIAUX1	(576)	TTCTCTCTGTTTGGATCTGTAATCAACTGATAGCCGTGCAAGTAACAT	
LAAUX1	(488)	TTCTCTCTATTTGGATCAGTAATTCAACTAATTGCCGTGCAAGTAACAT	
DCAUX1	(453)	TTTCTGCTGTTTGGATCTGTGATTCAACTCATTGCTTGCACAAGCAACAT	
PSAUX1	(592)	TTCTCTCTCTTTGGATCTGTGATTCAAGCTTATAGCTGTGCAAGCAACAT	
Consensus	(601)	TTCTCTCTGTTTGGATCTGTAATTCAACTATTGCTTGTGCAAGTAACAT	
		651	700
MIAUX1	(626)	TTACTACATCAACGACCGATTGGATAAGCGAACAAGGACTTATATTTTG	
LAAUX1	(538)	TTATTACGTAAATGACAATCTGGACAAGAGAAGCTGGACTTACATCTTTG	
DCAUX1	(503)	ATACTACATAAATGATCATTGGACAAGCGGACAAGGACTTACATATTTG	
PSAUX1	(642)	CTACTACATAAATGACAATCTGGACAAGAAGCTGGACTTACATATTTG	
Consensus	(651)	TTACTACATAAATGACCATTGGACAAGCGAAGCTGGACTTACATATTTG	

		701		750
MIAUX1	(676)	GTGCTTGC	TGTGCCAC	ACTGTGTTTCATCCCTTCCTTTCATAACTACCGA
LAAUX1	(588)	GTGCC	TGTGTGCAACT	ACAGTTTTCATCCCTTCTTTTCACAAATTATAGA
DCAUX1	(553)	GAGCATGC	TGCGGACAACA	GTGTTTCATACCATCCTTTCATAACTACAGA
PSAUX1	(692)	GAGCATGT	TGTGCGACAAC	TGTGTTTCATACCATCGTTTCATAATTATCGT
Consensus	(701)	GTGCATGTTGTGCGACA	ACTGTGTTTCATCCCTTCCTTTCATAATTATCGA	

		751		800	
MIAUX1	(726)	ATCTGGTCTTTTCT	CGGCCTCGGCATGACCACTTACAC	CGCTGGTATAT	
LAAUX1	(638)	ATCTGGTCA	TTCTTGGGACTCAT	TATGACCACTTACACTGCA	TGGTATAT
DCAUX1	(603)	ATTGGTCTTTTCT	TGGCCTTTTATGACCACTTAT	ACCGCTTGGTATAT	
PSAUX1	(742)	ATTGGTCTTTTCT	TGGACTTGGAA	TGACCACTTACACTGCTTGGTATCT	
Consensus	(751)	ATTTGGTCTTTTCT	TGGCCTTGTTATGACCACTTACACTGCTTGGTATAT		

V.1.4.3. Sélection, validation et conception des amorces oligonucléotidiques du gène AUX1

a) Sélection du couple d'amorces sens et antisens du gène AUX1

En se basant sur les résultats de l'alignement multiple, les deux amorces sens et antisens du gène AUX1 ont été choisies en fonction de la stabilité, la spécificité et l'efficacité de l'amplification de la qPCR (tableau 33). La longueur de la séquence cible du gène AUX1 choisie est de 191pb.

Tableau 33. Amorces sens et antisens du gène AUX1 choisies à partir de l'alignement multiple des séquences nucléotidiques sur les programmes Vector NTI et Primer 3.

Amorce sens 5' à 3' (Forward) AUX1		Amorce antisens 3' à 5' (Reverse) AUX1	
	593	615	
MIAUX1 (568)	ACTGTACTTTCTCTGTTTGGA		MIAUX1 (740) CGGCCTCGGCATGACCACTT
LAAUX1 (480)	ATGTGTACTTTCTCTATTGGA		LAAUX1 (652) GGGACTCATATGACCACTT
DCAUX1 (445)	ACTGTACTTTTCTGCTGTTTGGA		DCAUX1 (617) TGGCCTTTTATGACCACTT
PSAUX1 (584)	ACTGTACTTTCTCTCTTTGGA		PSAUX1 (756) TGGACTTGGAATGACCACTT
Consen (593)	ACTGTACTTTCTCTGTTTGGA		Consen (765) TGGCCTTGTTATGACCACTT

b) Validation de la qualité des amorces oligonucléotides du gène AUX1

D'après le tableau 34, on constate que les longueurs et les températures de fusion obtenues (23 pb et 57,63 °C ; 20 pb et 57,03 °C) sont optimales pour les deux amorces sens et antisens du gène AUX1 respectivement. Pour l'amorce sens, on observe l'absence de structures de dimères et de boucles en épingle à cheveux, alors que l'amorce antisens présente une faible possibilité (5,01) de formation de dimères. Concernant la teneur en GC, on observe que les pourcentages sont légèrement inférieurs (39,13% et 45,00 %) par rapport aux valeurs optimales comprises entre 50 et 60 % pour les deux amorces sens et antisens respectivement.

Tableau 34. Critères de sélection des amorces sens et antisens du gène AUX1 sur les programmes Vector NTI et Primer 3. L: longueur des amorces ; Tm: température de fusion (Tf en °C) ; GC%: teneur en GC ; Any_th: structures de dimères d'amorce ; 3'_th: extrémité 3'-OH (contient G ou C) ; Harpin: boucles en épingle à cheveux.

Amorces	Séquences nucléotidiques	Start	L	Tm	GC%	Any_th	3'_th	Hairpin
Sens	ACTGTACTTTCTTCTGTTTGGA	89	23	57,63	39,13	0,00	0,00	0,00
Antisens	AAGTGGTCATAACAAGGCCA	279	20	57,03	45,00	5,01	0,00	0,00

c) Synthèse des oligonucléotides dégénérés des amorces sens et antisens du gène AUX1

- **L'amorce sens 5' à 3' (Forward) :** L'amorce sens sélectionnée du gène AUX1 comporte quatre positions dégénérées. Les deux bases azotées C et T de la deuxième position, les deux bases C et T de la onzième position, les trois bases de la quatorzième position et les trois bases G, A et C de la dix-septième position qui sont remplacées respectivement par Y, Y, B et V selon la nomenclature internationale des oligonucléotides dégénérés (tableau 35) ;
- **L'amorce antisens 3' à 5' (Reverse) :** L'amorce antisens sélectionnée du gène AUX1 comporte six positions dégénérées. Les trois bases azotées A, Tet G de la onzième position, les deux bases A et C de la douzième position, les trois bases C, A et T de la treizième position, les deux bases A et G de la quatorzième position, les deux bases G et T de la dix-septième position et les trois bases de la vingtième position qui sont remplacées respectivement par D, M, H, R, K et V selon la nomenclature internationale des oligonucléotides dégénérés (tableau 35).

Tableau 35. Couple d'amorces sens et antisens oligonucléotides du gène AUX1 remplacement des positions des bases dégénérées par leurs correspondants dans la nomenclature internationale des oligonucléotides.

Amorce sens (Forward) AUX1 dégénérée	Amorce antisens (Reverse) AUX1 dégénérée
A(C/T)IGTACTTT(C/T)CT(T/G/C)CT(G/A/C)TTTGGA	AAGTGGTCAT(A/T/G)(A/C)(C/A/T)(A/G)AG(G/T)CC(A/G/C)
AYTGTACTTTYCTBCTVTTTGGA	AAGTGGTCATDMHRAGKCCV

V.1.5. Conception *in silico* d'amorces oligonucléotidiques du gène TIR1 (The Transport inhibitor response 1)

V.1.5.1. Recherche *in silico* et choix des séquences du gène TIR1 dans les banques de données de séquences nucléiques (d'ADN)

La recherche *in silico* des séquences nucléotidiques pour la conception des amorces TIR1 a été effectuée dans les banques de données génomiques GenBank-NCBI, EMBL- EBI et DDBJ-NIG. La méthode de recherche heuristique BLAST (Basic Local Alignment Search Tool) a été utilisée pour chercher l'homologie entre les séquences nucléotidiques et la séquence cible du gène TIR1. Les quatre séquences nucléotidiques suivantes ont présenté les pourcentages d'homologie les plus élevés : *Dimocarpus longan* (GQ870264.2 ; Chen *et al.*, 2018), *Prunus salicina* (KJ018741.1 ; El-Sharkawy *et al.*, 2014), *Fragaria x ananassa* (JX292971.1 ; Estrada-Johnson *et al.*, 2017) et *Morus alba* (KJ787017.1 ; Lin *et al.*, 2016) (tableau 36).

Tableau 36. Liste des gènes sélectionnés en fonction des espèces et du numéro d'accession pour la conception des amorces sens et antisens TIR1.

Nom du gène	Espèce	Numéro d'accession
DLTIR1	<i>Dimocarpus longan</i>	GQ870264.2
PSTIR1	<i>Prunus salicina</i>	KJ018741.1
FATIR1	<i>Fragaria x ananassa</i>	JX292971.1
MATIR1	<i>Morus alba</i> var. <i>multicaulis</i>	KJ787017.1

V.1.5.2. Alignement multiple des séquences DLTIR1, PSTIR1, FATIR1 et MATIR1 pour la sélection des amorces du gène TIR1

Après avoir choisi les séquences nucléotidiques, un alignement multiple des quatre séquences DLTIR1, PSTIR1, FATIR1 et MATIR1 a été effectué sous format FASTA en utilisant le programme Vector NTI afin d'élaborer un couple d'amorces optimales pour la séquence cible du gène TIR1. Les données suivantes montrent les résultats de l'alignement multiple des quatre séquences sélectionnées du gène TIR1 sur les programmes Vector NTI et Primer 3.

		301		350	
DLTIR1	(203)	AACGCGATA	TCGC	TGGTGTGCAAGTCGTGGTACGAGATCGAGAGGTGGTG	
PSTIR1	(139)	AACTCGATCTCGA		TGGTGTGCAAGTCGTGGTACGAGATCGAGCGATGGTG	
FATIR1	(70)	AACTCGATCTCGC		TGGTGTGCAAGTCGTGGTACGAGATCGAACGGTGGTG	
MATIR1	(295)	AACTCGATCTCGA		TGGTGTGCAAGTCGTGGTACGAGATCGAGCGGTGGTG	
Consensus	(301)	AACTCGATCTCGCTGGTGTGCAAGTCGTGGTACGAGATCGAGCGGTGGTG			
		351		400	
DLTIR1	(253)	CAGGAGGAGGATATTCGT	G	GGGA	ACTGCTACGCCGTGAGCCCTAGGATGG
PSTIR1	(189)	CAGGAGGAGAA	TATTCAT	TCGG	AACTGCTACGCCGTGAGCCCTAGGATGA
FATIR1	(120)	CAGGAGGAGGATATTCGT	CGGG	AACTGCTACGCTGT	CAGCCCTAGGATTA
MATIR1	(345)	CCGGAGGAGGATC	TTCGTCGGC	AACTGCTACGCTGT	GAGCCCTAGAAATGG
Consensus	(351)	CAGGAGGAGGATATTCGTGCGGAACTGCTACGCTGTGAGCCCTAGGATGG			
		401		450	
DLTIR1	(303)	TGATCAGGCGGTTCCCGAGGT	GAGGTCGGT	GAGAT	TGAAAGGGAAGCCT
PSTIR1	(239)	TGATCAGACCGGTTCCCA	GACAT	TAGATCCATCGAGCT	CAAAGGGAAGCCT
FATIR1	(170)	TGATCAGACCGGTTCCCA	GACGT	TAGATCCATCACGCT	CAAAGGGAAGCCT
MATIR1	(395)	TGATCAGGAGGTTCCCGAGGT	GAGATCCATCGAGCT	GAA	GGAAGCCG
Consensus	(401)	TGATCAGGCGGTTCCCGAGGTTAGATCCATCGAGCTGAAAGGGAAGCCT			
		451		500	
DLTIR1	(353)	CACTTCG	CCGACTTCAATTGGTCCCT	GACGGTTGGGGA	GGCTACGTCTA
PSTIR1	(289)	CACTTTG	CCGACTTTAATCTGGTCCCT	GAAAGGC	TGGGGTGGCTATGTCCA
FATIR1	(220)	CACTTCG	CCGACTTCAATCTGGTCCCG	GAGGGC	TGGGGTGGCTATGTGTA
MATIR1	(445)	CACTTCG	CCGACTTCAATCTGGTGCCG	GAGGGT	TGGGGTGGCTATGTCTGA
Consensus	(451)	CACTTCG			CCGACTTCAATCTGGTCCCTGAGGGTTGGGGTGGCTATGTCTA

V.1.5.3. Sélection, validation et conception des amorces oligonucléotidiques du gène TIR1

a) Sélection du couple d'amorces sens et antisens du gène TIR1

En se basant sur les résultats de l'alignement multiple, les deux amorces sens et antisens du gène TIR1 ont été choisies en fonction de la stabilité, la spécificité et l'efficacité de l'amplification de la qPCR (tableau 37). La longueur de la séquence cible du gène TIR1 choisie est de 164 pb.

Tableau 37. Amorces sens et antisens du gène TIR1 choisies à partir de l'alignement multiple des séquences nucléotidiques sur les programmes Vector NTI et Primer 3.

Amorce sens 5' à 3' (Forward) TIR1			Amorce antisens 3' à 5' (Reverse) TIR1		
	314	332		458	477
DLTIR1 (216)	TGGTGTGCAAGTCGTGGTA		DLTIR1 (360)	CCGACTTCAATTTGGTCCCT	
PSTIR1 (152)	TGGTGTGCAAGTCGTGGTA		PSTIR1 (296)	CCGACTTTAATCTGGTCCCT	
FATIR1 (83)	TGGTGTGCAAGTCGTGGTA		FATIR1 (227)	CCGACTTCAATCTGGTCCCG	
MATIR1 (308)	TGGTGTGCAAGTCGTGGTA		MATIR1 (452)	CCGACTTCAATCTGGTGCCG	
Consen (314)	TGGTGTGCAAGTCGTGGTA		Consen (458)	CCGACTTCAATCTGGTCCCT	

b) Validation de la qualité des amorces oligonucléotides du gène TIR1

Le tableau 38 montre les critères de sélection des amorces sens et antisens du gène TIR1. Il en ressort que les longueurs et les températures de fusion obtenues (19 pb et 59,18 °C ; 20 pb et 59,09 °C) sont optimales pour les amorces sens et antisens respectivement. Ainsi, on remarque l'absence de structures de dimères et de boucles en épingle à cheveux. Concernant la teneur en GC, on note que les pourcentages sont optimaux et de même valeur 52,63% pour les deux amorces sens et antisens (tableau 38).

Tableau 38. Critères de sélection des amorces sens et antisens du gène TIR1 sur les programmes Vector NTI et Primer 3. L: longueur des amorces ; Tm: température de fusion (Tf en °C) ; GC%: teneur en GC ; Any_th: structures de dimères d'amorce ; 3'_th: extrémité 3'-OH (contient G ou C) ; Harpin: boucles en épingle à cheveux.

Amorces	Séquences nucléotidiques	Start	Len	Tm	GC%	Any_th	3'_th	Hairpin
Sens	TGGTGTGCAAGTCGTGGTA	20	19	59,18	52,63	0,00	0,00	0,00
Antisens	AGGGACCAGATTGAAGTCGG	183	20	59,09	52,63	0,00	0,00	0,00

c) Synthèse des oligonucléotides dégénérés des amorces sens et antisens du gène TIR1

- **L'amorce sens 5' à 3' (Forward) :** L'amorce sens sélectionnée du gène TIR1 ne comporte aucune position dégénérée (tableau 39) ;
- **L'amorce antisens 3' à 5' (Reverse) :** L'amorce antisens sélectionnée du gène TIR1 comporte quatre positions dégénérées. Les deux bases azotées A et C de la première position, les deux bases G et C de la quatrième position, les deux bases G et A de la neuvième position et les deux bases G et A de la treizième position qui sont remplacées respectivement par M, S, R et R selon la nomenclature internationale des oligonucléotides dégénérés (tableau 39).

Tableau 39. Couple d'amorces sens et antisens oligonucléotides du gène TIR1 après remplacement des positions des bases dégénérées par leurs correspondants dans la nomenclature internationale des oligonucléotides.

Amorce sens (Forward) TIR1 dégénérée	Amorce antisens (Reverse) TIR1 dégénérée
TGGTGTGCAAGTCGTGGTA	(A/C)GG(G/C)ACCA(G/A)ATT(G/A)AAGTCGG
TGGTGTGCAAGTCGTGGTA	MGGSACCARATTRAAGTCGG

V.1.6. Conception *in silico* d'amorces oligonucléotidiques du gène ABP1 (The Auxin-Binding Protein 1)

V.1.6.1. Recherche *in silico* et choix des séquences du gène ABP1 dans les banques de données de séquences nucléiques (d'ADN)

La recherche *in silico* des séquences nucléotidiques pour la conception des amorces TIR1 a été effectuée dans les banques de données génomiques GenBank-NCBI, EMBL- EBI et DDBJ-NIG. La méthode de recherche heuristique BLAST (Basic Local Alignment Search Tool) a été utilisée pour chercher l'homologie entre les séquences nucléotidiques et la séquence cible du gène ABP1. Les quatre séquences nucléotidiques suivantes ont présenté les pourcentages d'homologie les plus élevés : *Prunus salicina* (JN176136.1 ; El-Sharkawy *et al.*, 2012), *Vitis vinifera* (NM_001281097.1 ; Da Silva *et al.*, 2013), *Zea mays* (NM_001111842.1 ; Dahlke *et al.*, 2009) et *Gossypium hirsutum* (EF189197.1 ; Hu *et al.*, 2006) (tableau 40).

Tableau 40. Liste des gènes sélectionnés en fonction des espèces et du numéro d'accension pour la conception des amorces sens et antisens ABP1.

Nom du gène	Espèce	Numéro d'accension
PSABP1	<i>Prunus salicina</i>	JN176136.1
VVABP1	<i>Vitis vinifera</i>	NM_001281097.1
ZMABP1	<i>Zea mays</i>	NM_001111842.1
GHABP1	<i>Gossypium hirsutum</i>	EF189197.1

V.1.6.2. Alignement multiple des séquences PSABP1, VVABP1, ZMABP1 et GHABP1 pour la sélection des amorces du gène ABP1

Après avoir choisi les séquences nucléotidiques, un alignement multiple des quatre séquences PSABP1, VVABP1, ZMABP1 et GHABP1 a été effectué sous format FASTA en utilisant le programme Vector NTI afin d'établir un couple d'amorces optimales pour la séquence cible du gène ABP1. Les données suivantes montrent les résultats de l'alignement multiple des quatre séquences sélectionnées du gène ABP1 sur les programmes Vector NTI et Primer 3.

		201	250
PSABP1	(194)	CTGTTGCTGGTTC	ACTCTTGCATGGGTGAAAGAGGTAGAGGTTGGCTG
VVABP1	(155)	CTGTTGCA	GGTTCACCTCATGCATGGGATGAAAGAGGTTGAGGTTGGCTT
ZMABP1	(176)	CAGTTGCTGGTGC	CTCAATCATGGGATGAAGGAGGTGGAAGTGTGGCTT
GHABP1	(173)	CTGTTGCTGGTTC	TCTCTTGCATGGGTGAAAGAGGTTGAGGTTGGCTT
Consensus	(201)	CTGTTGCTGGTTC	ACTCTTGCATGGGTGAAAGAGGTTGAGGTTGGCTT
		251	300
PSABP1	(244)	CAAAACATTTTCT	CCAGGATCAGGCACCAATACACAGGCATTCCTGTGA
VVABP1	(205)	CAAAACATTTTCC	CCAGGATCACACACGCCAATCCATAGGCATTCATGTGA
ZMABP1	(226)	CAGACAATAAG	TCCAGGTCAAGGACGCCAATCCACAGGCATTCCTGTGA
GHABP1	(223)	CAAAACATTTG	CAACAGGATCGCGCACGCCGATCCATAGGCACCTCTGTGA
Consensus	(251)	CAAAACATTTTCT	CCAGGATCACGCACGCCAATCCATAGGCATTCCTGTGA
		301	350
PSABP1	(294)	AGAAGTTTTTGT	TGTCCTAAAGGGGAGTGGAACTCTCTACCTTGACCAA
VVABP1	(255)	AGAAGTTTTTGT	TGTCCTAAAGGGGAGCGGCACA
ZMABP1	(276)	AGAAGTTTTT	CACGTGTCCTCAAGGGAAGGGTACGCTCTTGATGGGATCAA
GHABP1	(273)	AGAAGTTTTTGT	TGTTCTCAAGGGCAGTGGCACTCTATATCTCGCCTCGA
Consensus	(301)	AGAAGTTTTTGT	TGTCCTCAAGGGGAGTGGCACTCTCTATCTTGCCTCAA
		351	400
PSABP1	(344)	AC	TCACACGAGAAGTCCCTGGAAAACCACAGAAATCTCTGTCTTTGCA
VVABP1	(305)	GT	TCACATGAGAAGCATCCAGGAAAACCCCAAGAGTATCCATCGTTTCA
ZMABP1	(326)	GCTCAC	TA---AAGTACCCAGGGCAGCCACAGGAATTCTTCTTTTTCAG
GHABP1	(323)	GTTCTA	AT---AAGTACCCCTGGAAAACCCGGAGGAGCACATTATATTTTCG
Consensus	(351)	GTTACATGAGAAGT	ACCCTGGAAAACCACAGGAGTTTTCTATCTTTTCG

		401		450
PSABP1	(394)	AATAGCACATTTCACATACC	TGTTAACGATGCTCACCAGGTCC	GGAATAC
VVABP1	(355)	AATAGCATATTTTCATATCCCT	TGTTAATGATGTTTACCAGGTCT	GGAATAC
ZMABP1	(373)	AATACCACATTTTCAATCCCT	TGTAAGTGATCCACACCAGGTTT	GGAATTC
GHABP1	(370)	AATAGCACGC	TTTCATATCCCTGTCAATGATGTTTACCAGGTCT	GGAATAC
Consensus	(401)	AATAGCACATTTTCATATCCCT	TGTTAATGATGTTTACCAGGTCT	GGAATAC

V.1.6.3. Sélection, validation et conception des amorces oligonucléotidiques du gène ABP1

a) Sélection du couple d'amorces sens et antisens du gène ABP1

D'après les résultats de l'alignement multiple, les deux amorces sens et antisens du gène ABP1 ont été choisies en fonction de la stabilité, la spécificité et l'efficacité de l'amplification de la qPCR (tableau 41). La longueur de la séquence cible du gène ABP1 choisie est de 167 pb.

Tableau 41. Amorces sens et antisens du gène ABP1 choisies à partir de l'alignement multiple des séquences nucléotidiques sur les programmes Vector NTI et Primer 3.

Amorce sens 5' à 3' (Forward) ABP1		Amorce antisens 3' à 5' (Reverse) ABP1	
	233		421
PSABP1 (226)	GAGGTA	GAGGTT	TGGCTGCA
VVABP1 (187)	GAGGTG	GAGGTG	TGGCTTCA
ZMABP1 (208)	GAGGTG	GAGGTG	TGGCTTCA
GHABP1 (205)	GAGGTG	GAGGTG	TGGCTTCA
Consen (233)	GAGGTTGAGGTTT	TGGCTTCA	
			421
PSABP1 (414)	TGTTAAC	GATGCT	CACCAGGTCC
VVABP1 (375)	TGTTAAT	GATGTT	CACCAGGTCT
ZMABP1 (393)	TGTTAAG	TGATCCA	CACCAGGTTT
GHABP1 (390)	TGTTCAAT	GATGTT	CACCAGGTCT
Consen (421)	TGTTAATGATGTT	CACCAGGTCT	

b) Validation de la qualité des amorces oligonucléotides du gène ABP1

D'après le tableau 42, on remarque que les longueurs et les températures de fusion obtenues (20 pb et 58,02 °C ; 23 pb et 57,76 °C) sont optimales pour les amorces sens et antisens du gène ABP1 respectivement. Par ailleurs, on note l'absence de structures de dimères et de boucles en épingle à cheveux. Concernant la teneur en GC, on constate que ce pourcentage est optimal pour l'amorce sens (50,00%), alors que celui de l'amorce antisens est légèrement inférieur (39,13%).

Tableau 42. Critères de sélection des amorces sens et antisens du gène ABP1 sur les programmes Vector NTI et Primer 3. L: longueur des amorces ; Tm: température de fusion (Tf en °C) ; GC%: teneur en GC ; Any_th: structures de dimères d'amorce ; 3'_th: extrémité 3'-OH (contient G ou C) ; Harpin: boucles en épingle à cheveux.

Amorces	Séquences nucléotidiques	Start	L	Tm	GC%	Any_th	3'_th	Hairpin
Sens	GAGGTTGAGGTTTGGCTTCA	34	20	58,02	50,00	0,00	0,00	0,00
Antisens	AGACCTGGTGAACATCATTAACA	200	23	57,76	39,13	000	0,00	0,00

c) Synthèse des oligonucléotides dégénérés des amorces sens et antisens du gène ABP1

- **L'amorce sens 5' à 3' (Forward) :** L'amorce sens sélectionnée du gène ABP1 comporte cinq positions dégénérées. Les deux bases azotées G et A de la troisième position, les trois bases T, A et G de la sixième position, les deux bases azotées G et A de la neuvième position, les deux bases azotées T et G de la douzième position et les deux bases azotées T et G de la dix-huitième position sont remplacées respectivement par R, D, R, K et K selon la nomenclature internationale des oligonucléotides dégénérés (tableau 43).
- **L'amorce antisens 3' à 5' (Reverse) :** L'amorce antisens sélectionnée du gène ABP1 comporte huit positions dégénérées. Les deux bases azotées A et G de la première position, les deux bases G et A de la deuxième position, les deux bases A et T de la onzième position, les deux bases A et G de la douzième position, les deux bases C et G de la treizième position, les deux bases A et G de la dix-septième position, les deux bases T et C de la dix-neuvième position et les trois bases A, T et G de la vingtième position qui sont remplacées respectivement par R, R, W, R, S, R, Y et D selon la nomenclature internationale des oligonucléotides dégénérés (tableau 43).

Tableau 43. Couple d'amorces sens et antisens oligonucléotides du gène ABP1 après remplacement des positions des bases dégénérées par leurs correspondants dans la nomenclature internationale des oligonucléotides.

Amorce sens (Forward) ABP1 dégénérée	Amorce antisens (Reverse) ABP1 dégénérée
GA(G/A)GT(T/A/G)GA(G/A)GT(T/G)TGGCT(T/G)CA	(A/G)(G/A)ACCTGGTG(A/T)(A/G)(C/G)ATC(A/G)(T/C)T(A/T/G)ACA
GARGTDGARGTKTGGCTKCA	RRACCTGGTGWRSATCRYTDACA

V.1.7. Modalités d'acquisition des amorces oligonucléotidiques

Après la validation de la qualité des amorces oligonucléotides, un kit des amorces sens et antisens des gènes PIN1, PIN4, PIN7, AUX1, ABP1 et TIR1 a été commandé pour étudier l'expression de ces gènes et leurs rôles dans le transport et la perception de l'auxine dans les boutures et les racines adventives de l'arganier. Les amorces oligonucléotides dégénérées ont été obtenues par synthèse chimique selon les séquences conçues précédemment par la présente étude. La figure suivante présente le Kit des amorces oligonucléotides des gènes PIN1, PIN4, PIN7, AUX1, ABP1 et TIR1.



Figure 74. Amorces oligonucléotidiques des principaux gènes étudiés intervenants dans l'homéostasie de l'auxine (PIN1, PIN4, PIN7, AUX1, ABP1 et TIR1). A : réception des amorces oligonucléotides ; B : kit des amorces concentrées sous forme liquide ; C : dilution des amorces pour l'amplification par la qPCR ; D : conservation à - 80°C des cupules des amorces sens et antisens des six gènes étudiés après dilution.

V.2. Discussion

La présente étude vise l'identification et la conception *in silico* d'amorces oligonucléotidiques de six principaux gènes intervenant dans l'influx (AUX1), l'efflux (PIN1, PIN4 et PIN7) et la perception (ABP1 et TIR1) de l'auxine qui est l'hormone impliquée dans la formation des racines. La conception d'amorces oligonucléotidiques est l'aspect le plus important de la qPCR, un outil spécifique, efficace et rentable pour la *sélection* de clones dotés d'une grande capacité d'enracinement et une meilleure aptitude à la multiplication. En effet, l'amplification sélective des acides nucléiques, initialement présents en faibles quantités dans les échantillons testés, fournit un outil puissant pour l'analyse de ces acides nucléiques (Van Pelt-Verkuil *et al.*, 2008). L'amplification en chaîne par polymérase (ACP) ou réaction de polymérisation en chaîne, généralement siglé PCR de l'anglais (polymerase chain reaction) est une réaction enzymatique qui suit des principes mathématiques relativement simples. Cependant, les scientifiques s'appuient souvent sur leur intuition afin d'optimiser la réaction. Ainsi, pour que la PCR soit efficace et rentable, certains substrats sont nécessaires tels que l'ADN polymérase thermostable Taq, le tampon de la réaction, les quatre désoxyribonucléotides triphosphates (NTP : dATP, dCTP, dGTP, dTTP), les agents stabilisants (MgCl₂) et les amorces oligonucléotidiques (petite séquence d'acide nucléique plus courte que le brin matrice) (Bhat et Rao, 2020). L'efficacité et la sensibilité de la PCR dépendent largement de l'efficacité des amorces. La capacité d'un oligonucléotide à servir d'amorce pour la PCR dépend de plusieurs critères tels que la longueur de l'amorce, la température de fusion, le pourcentage de GC, la spécificité de l'extrémité 3', les dimères d'amorces, les structures secondaires, etc (Abd-Elsalam, 2003 ; Singh et Kumar, 2001). D'après les résultats obtenus, les longueurs des séquences cibles des six gènes d'intérêt étudiés (PIN1, PIN4, PIN7, AUX1, TIR1 et ABP1) n'ont pas déplacé 200 pb. Des résultats similaires ont déjà été approuvés par plusieurs chercheurs qui ont démontré que la longueur de la séquence cible est directement proportionnelle à l'efficacité d'amplification de la PCR (Wu *et al.*, 2021). En principe, la distance entre les deux amorces peut se situer entre moins de 0,1 et quelques kilobases. En effet, on observe une réduction substantielle du rendement de l'amplification de l'ADN lorsque les amorces sont distantes de plus de 3 Kb environ (Wang et Seed, 2003). Les résultats obtenus ont montré également que les amorces des six gènes étudiés ont des longueurs optimales comprises entre 18 et 23 pb. En effet, selon Wu *et al.* (2021) la longueur d'une amorce est un paramètre critique de la spécificité et l'efficacité de l'amplification de la PCR. D'une façon générale, des amorces d'une longueur comprise entre 15-30 nucléotides améliorent fortement le rendement et sont considérés comme étant les meilleurs. Les amorces de longueur

inférieure à 16 pb ne sont généralement pas spécifiques de la séquence d'ADN cible. En revanche, des amorces de 20 pb sont habituellement très efficaces et n'ont qu'une très faible probabilité d'exister de façon fortuite dans le génome (Kapley *et al.*, 2000). Ainsi, des amorces plus longues (28-35 pb) sont utilisées pour rechercher les homologues génétiques entre les différentes espèces ou lorsque la complémentarité entre le complexe amorces-séquence cible est très faible. Par ailleurs, les résultats de la présente étude ont montré que toutes les amorces conçues ont des températures de fusion comprises entre 50,57 et 59,74 °C. Les recherches précédentes ont montré que les températures de fusion optimales (T_m ou T_f) pour les amorces se situent entre 52-58 °C, bien que la gamme serait étendue à 45-65 °C. Les données montrent également que la différence de température entre les deux amorces de chaque couple d'oligonucléotides ne dépasse pas 2 °C sauf pour les amorces du gène PIN1. Ces résultats concordent avec ceux de Singh et Kumar (2001) qui ont montré que les deux amorces d'oligonucléotides doivent être conçues de sorte que les températures de fusion ne diffèrent pas de plus de 5 °C. En effet, plus les amorces diffèrent en termes de T_f , plus l'amplification serait moins efficace et le rendement plus faible. Ainsi, d'après les résultats obtenus, le pourcentage de GC des amorces de tous les gènes étudiés a été compris entre 39,13 et 66,67%. Ces résultats sont similaires à ceux obtenus par Hube *et al.* (2005) qui ont montré que les amorces composées de 50 à 60% de GC sont fortement recommandées. En effet, le pourcentage de GC réduit la formation de structures secondaires et contrôle strictement la température de fusion (Li *et al.*, 2011). Concernant la qualité des amorces, on constate l'absence de structures secondaires, de structures de dimères d'amorce et de boucles en épingle à cheveux dans toutes les amorces conçues. Plusieurs études ont montré également que les séquences complémentaires entre l'extrémité 3' d'une molécule d'amorce et l'extrémité 5' d'une autre molécule d'amorce devraient être évitées afin d'empêcher l'hybridation entre amorces ou la formation de dimères d'amorce. En effet, plus la formation de dimères d'amorce augmente, plus la spécificité d'amplification est réduite de manière significative (Hecker *et al.*, 1996). Par ailleurs, les nucléotides de la position terminale 3' des amorces PCR jouent un rôle essentiel dans le blocage du mauvais amorçage (Hwang *et al.*, 2003). Par conséquent, l'extrémité 3' doit contenir les nucléotides G ou C pour une liaison efficace entre l'amorce et la séquence matrice cible. Ce « crampon GC » au niveau de l'extrémité 3' contribue à la stabilité de l'amorce et à la réduction de la « respiration » à cause de la liaison hydrogène triple entre les résidus G/C (Singh *et al.*, 2001). Un autre facteur important à prendre en compte lors de la conception d'une amorce est la présence de structures secondaires. Cela réduit considérablement le nombre de molécules d'amorces disponibles pour l'amplification dans la réaction PCR. En effet, la

présence de boucles en épingle à cheveux réduit l'efficacité de la réaction en limitant la capacité de se lier à la séquence cible (Singh *et al.*, 2001).

Conclusion

La présente étude a traité divers aspects relatifs à la caractérisation de la composition chimique des graines et feuilles d'arganier, l'analyse de la croissance et la physiologie des boutures semi-ligneuses et l'identification *in silico* des gènes contrôlant le transport et l'homéostasie de l'auxine ainsi que la rhizogenèse adventive des boutures d'arganier. La première partie de cette étude a porté sur l'analyse du potentiel de la spectroscopie moyen infrarouge (MIR) à transformée de Fourier couplée à la chimiométrie dans la caractérisation de la composition chimique des graines et feuilles d'arganier (*Argania spinosa* (L.) Skeels) en fonction de l'origine géographique (« la forêt d'Admine » et « l'Arboretum de Oued Cherrat »). Les résultats obtenus ont permis de mettre en évidence le pouvoir discriminant de la spectroscopie MIR pour l'analyse quantitative et qualitative des graines et feuilles d'arganier en traitant un grand nombre d'échantillons et sans préparation, ou avec une préparation minimale. Cette méthode est très préconisée en tant que technique préliminaire aux méthodes séparatives ou pour caractériser les substances naturelles organiques. En effet, la région spectrale de la spectroscopie MIR offre l'accès aux vibrations des molécules chimiques présentes chez les espèces oléagineuses et différentes bandes d'absorption correspondant à des spectres caractéristiques d'acides gras. Les zones spectrales de nombres d'ondes ($4000\text{--}3200\text{ cm}^{-1}$; $2600\text{--}1800\text{ cm}^{-1}$; $1690\text{--}1470\text{ cm}^{-1}$; $700\text{--}600\text{ cm}^{-1}$) n'ont pas révélé d'informations sur les acides gras et sont susceptibles de provoquer des interférences avec la vapeur d'eau, le CO_2 et les signaux bruyants. Les zones spectrales de nombres d'onde sélectionnées ($3200\text{--}2600\text{ cm}^{-1}$, $1800\text{--}1690\text{ cm}^{-1}$ et $1470\text{--}700\text{ cm}^{-1}$) ont été utilisées pour comparer les échantillons des graines et feuilles d'arganier. Les résultats ont montré que la composition chimique est fortement influencée par l'origine géographique des échantillons étudiés. Ces résultats montrent que la spectroscopie moyen infrarouge à transformée de Fourier est une technique analytique rapide, efficace, fiable et qui présente de larges perspectives d'application dans la détermination de paramètres chimiques des graines ou de feuilles d'arganier.

Les résultats de la deuxième partie nous ont permis de déduire que l'arganier a une grande aptitude à la multiplication végétative par bouturage semi-ligneux et que cette technique pourrait être adoptée pour promouvoir les programmes de sélection, la restauration des forêts d'arganier et la multiplication en masse de l'arganier pour les vergers modernes. Les résultats obtenus ont clairement montré que la croissance et le développement des racines adventives et des pousses des boutures semi-ligneuses d'*Argania spinosa* ont été significativement influencés par le type et la concentration d'auxine, ainsi que le clone. Lors de cette même étude, les résultats ont révélé une variation entre les différents clones étudiés. En effet, les boutures

prélevées sur les clones ASOC1 et ASOC4 ont montré un débourrement et un enracinement plus importants que celles des clones ASOC2 et ASOC3. Par ailleurs, il a été observé que tous les traitements, à l'exception du témoin, ont induit le débourrement et l'enracinement des boutures et que l'application d'AIB a été plus efficace que celle de l'ANA et de l'AIA. Ainsi, l'application d'une concentration de 3000 mg.l⁻¹ d'AIB sur les boutures du clone ASOC1 a été le meilleur traitement en termes de nombre de pousses (1,81), longueur des pousses (15,94 cm), nombre de racines (41), longueur des racines (22,94 cm), débourrement (81,75%), enracinement (60,75%) et survie (96,25%). Cette étude a aussi révélé que la réussite du débourrement et de l'enracinement des boutures d'arganier a été significativement influencée par la solution nutritive, le type de bouture et la position de prélèvement. Les boutures semi-ligneuses prélevées à partir de la position médiane et irriguées avec une solution QL ont donné le nombre de pousses (1,81), la longueur des pousses (16,88 cm) et le pourcentage de débourrement (85,69%) les plus élevés suivies des boutures semi-ligneuses prélevées de la position médiane et traitées avec une solution WPM ($1,75 \pm 0,09$; $16,13 \pm 0,66$ cm ; $79,54 \pm 1,17$ respectivement). Les boutures semi-ligneuses prélevées de la position basale et irriguées avec la solution Hoagland ont produit les meilleurs résultats en termes de nombre de racines (44,63), de longueur de racines (28,86 cm), de pourcentage d'enracinement et de taux de réussite les plus élevés avec 63,81% et 96,09%, respectivement. Concernant les effets du type de substrat, du diamètre des boutures et du nombre de feuilles sur les boutures de l'arganier, les résultats indiquent clairement que les boutures de diamètres de 0,1-0,3 cm et les boutures défoliées n'ont pas produit de pousses ou de racines et ont montré un taux de mortalité de 100%. Les meilleurs résultats en termes de nombre de pousses, de longueur des pousses, de capacité de débourrement ainsi que de taux de réussite ont été obtenus chez les boutures de 0,3-0,6 cm de diamètre avec 4 feuilles et plantées dans un mélange de sable et de tourbe. Le nombre de racines, la longueur des racines et le taux d'enracinement les plus élevés ont été enregistrés chez les boutures de 0,3-0,6 cm de diamètre avec 4 feuilles et plantées dans un substrat de sable fin. Cette étude a révélé également que la multiplication clonale de l'arganier dans un substrat de sable fin serait une technique prometteuse pour la multiplication de cette espèce endémique. En outre, cette technique de multiplication pourrait grandement faciliter la domestication d'un matériel végétal génétiquement homogène pour les vergers d'arganier.

La troisième partie de cette étude a permis l'identification et la conception *in silico* d'amorces oligonucléotidiques de six principaux gènes intervenant dans l'influx (AUX1), l'efflux (PIN1, PIN4 et PIN7) et la perception (ABP1 et TIR1) de l'auxine et impliqués dans la formation des racines. Après avoir effectué une recherche d'homologie entre les séquences nucléotidiques par

la méthode BLAST à partir des banques de données génomiques GenBank-NCBI, EMBL- EBI et DDBJ-NIG, la conception des amorces oligonucléotidiques par les programmes Vector NTI et Primer 3 nous a permis de désigner six paires d'amorces sens et antisens optimales en fonction de leurs tailles (100 et 200 pb), longueurs des amorces (18 et 23 pb), température de fusion (50,57 et 59,74 °C), pourcentage de GC (39,13 et 66,67%), ainsi que les paramètres de qualité des amorces comme l'absence de structures secondaires et de structures de dimères d'amorce ou formes de boucles en épingle à cheveux. Les résultats obtenus ont permis de conclure que les amorces oligonucléotidiques conçues par l'outil bio-informatique ont l'avantage d'être stables et de posséder des propriétés adaptées à l'amplification et à la détection par la qPCR, ce qui permet de contribuer à la sélection de clones d'arganier dotés d'une grande capacité d'enracinement et une meilleure aptitude à la multiplication.

Perspectives

En perspective de notre travail, nous recommandons les points suivants :

- Approfondir les études scientifiques sur les techniques spectroscopiques alternatives ou complémentaires à la MIR comme la spectroscopie proche infrarouge, la spectroscopie Raman ou l'imagerie hyper-spectrale afin de fournir des indications nouvelles sur la qualité des graines et feuilles d'arganier ;
- Compléter les recherches par les différentes techniques de séparation analytique, principalement la chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (GC-MS) et la chromatographie en phase liquide couplée à la spectrométrie de masse (LC-MS) pour une quantification précise des molécules biochimiques et une confirmation des analyses spectrales ;
- Mener des essais en fonction des saisons pour déterminer les périodes les plus favorables pour le prélèvement des boutures en vue d'une propagation clonale réussie ;
- Planifier des études sur la volumétrie et le type du conteneur afin d'améliorer la croissance racinaire des plants d'arganier ;
- Approfondir les recherches sur les mécanismes anatomiques, histologiques et physiologiques pour mieux comprendre la croissance et le développement des plants l'arganier ;
- Elargir les recherches sur les gènes de la biosynthèse de l'auxine et son interaction avec les cytokinines dans les tissus des boutures de l'arganier pour déterminer un équilibre optimal auxine/cytokinine ;
- Appliquer les amorces oligonucléotides conçues *in silico* en biologie moléculaire pour identifier les gènes impliqués dans l'enracinement des boutures de l'arganier et étudier leur expression.

Références Bibliographiques

- Abd-Elsalam, K. A. (2003). Bioinformatic tools and guideline for PCR primer design. *African Journal of biotechnology*, 2(5), 91-95. doi: 10.5897/ajb2003.000-1019.
- Abdullateef, R. A., and Osman, M. (2011). Effects of stem cutting types, position and hormonal factors on rooting in *Stevia rebaudiana* Bertoni. *Journal of Agricultural Science*, 4(1), 49. doi: 10.5539/jas.v4n1p49.
- Abousalim, A., and Mantell, S. H. (1994). A practical method for alleviating shoot-tip necrosis symptoms in *in vitro* shoot cultures of *Pistacia vera* cv. Mateur. *Journal of Horticultural Science*, 69(2), 357-365. doi: 10.1080/14620316.1994.11516465.
- Aboutayeb, H. (2014). La réserve de biosphère de l'arganeraie : un nouvel Eco-territoire touristique au sud du Maroc. *Revista de Turismo y Patrimonio Cultural*, 12(4), 915-922. doi: 10.25145/j.pasos.2014.12.068.
- Adlouni, A. (2010). L'huile d'argan, de la nutrition à la santé. *Phytothérapie*, 8(2), 89-97. doi: 10.1007/s10298-010-0538-9.
- Adlouni, A., Christon, R., Cherki, M., Khalil, A., and El Messal, M. (2008). The nutritional benefits of argane oil in obesity risk prevention. *Atherosclerosis Supplements*, 9(1), 137-138. doi: 10.1016/s1567-5688(08)70554-3.
- Adugna, M., Belew, D., and Tilahun, D. (2015). Influence of rooting media and number of nodes per stem cutting on nursery performance of vanilla (*Vanilla planifolia* Andr. syn. *Vanilla fragrans*). *Journal of Horticulture and Forestry*, 7(3), 48-56. doi: 10.5897/jhf2014.0376.
- AFNOR., (1982). Norme française NF X 31-106. Qualité des sols. Méthodes chimiques. Détermination du calcaire actif. *Association Française de Normalisation*, Paris, 55-58.
- AFNOR., (1983a). Norme française NF X 31-107. Qualité des sols. Analyse granulométrique par sédimentation. Méthode de la pipette. *Association Française de Normalisation*, Paris, 15 p.
- AFNOR., (1983b). Norme française NF X 31-111. Qualité des sols. Méthodes chimiques. Détermination de l'azote total, méthode Kjeldahl. *Association Française de Normalisation*, Paris, 7 p.
- AFNOR., (1988). Norme française NF X 31-104. Qualité du sol. Détermination du pH. *Association Française de Normalisation*, Paris, 5 p.
- AFNOR., (1992a). Norme française NF X 31-101. Qualité des sols. Préparation d'un échantillon de sol pour analyses physico-chimiques. *Association Française de Normalisation*, Paris, 15-21.
- AFNOR., (1992b). Norme française NF X 31-108. Qualité des sols. Méthodes chimiques. Détermination potassium extractible, méthode d'acétate d'ammonium. *Association Française de Normalisation*, Paris, 8 p.
- AFNOR., (1992c). Norme française NF X 31-116. Qualité des sols. Méthodes chimiques. Détermination phosphore assimilable, méthode Olsen. *Association Française de Normalisation*, Paris, 6 p.
- AFNOR., (1993a). Norme française NF X 31-109. Qualité des sols. Méthodes chimiques. Détermination du carbone organique par oxidation sulfochromique. *Association Française de Normalisation*, Paris, 7 p.
- AFNOR., (1993b). Norme française NF X 31-130. Qualité des sols. Méthodes chimiques. Détermination de la capacité d'échange cationique (CEC) et des cations extractibles. *Association Française de Normalisation*, Paris, 14 p.
- Aghdaei, M., Nemati, S. H., Samiee, L., and Sharifi, A. (2019). Effect of rooting medium, cutting type and auxin on rooting of pepino (*Solanum muricatum* Aiton) cutting. *Applied Ecology and Environmental Research*, 17(5), 10357-10369.
- Ahkami, A. H., Lischewski, S., Haensch, K. T., Porfirova, S., Hofmann, J., Rolletschek, H., ... and Hajirezaei, M. R. (2009). Molecular physiology of adventitious root formation in

- Petunia hybrida* cuttings: involvement of wound response and primary metabolism. *New Phytologist*, 181(3), 613-625. doi:10.1111/j.1469-8137.2008.02704.x.
- Akakpo, D. B., Amissah, N., Yeboah, J., and Blay, E. (2014). Effect of indole 3-butyric acid and media type on adventitious root formation in sheanut tree (*Vitellaria paradoxa* C. F. Gaertn.) stem cuttings. *American Journal of Plant Sciences*, 5(3), 313-318. doi: 10.12691/wjar-3-4-4.
- Alados, C. L., and El Aich, A. (2008). Stress assessment of argane (*Argania spinosa* (L.) Skeels) in response to land uses across an aridity gradient: translational asymmetry and branch fractal dimension. *Journal of Arid Environments*, 72(4), 338-349. doi: 10.1016/j.jaridenv.2007.06.015.
- Alba-Sánchez, F., López-Sáez, J. A., Nieto-Lugilde, D., and Svenning, J. C. (2015). Long-term climate forcings to assess vulnerability in North Africa dry argan woodlands. *Applied vegetation science*, 18(2), 283-296. doi: 10.1111/avsc.12133.
- Alouani, M., and Bani-Aameur, F. (2014). Viabilité et vieillissement des semences d'arganier (*Argania spinosa* (L.) Skeels). *Afrique Science : Revue Internationale des Sciences et Technologie*, 10(1), 245-255.
- Altman, A., and Waisel, Y. (2012). Biology of root formation and development. *Springer Science and Business Media*, 1st edition, 65, 390 p. ISBN: 978-0306457067.
- Álvarez-Fernández, R. (2013). Explanatory chapter: PCR primer design. *Methods in Enzymology*, 529, 1-21. doi: 10.1016/b978-0-12-418687-3.00001-x.
- Amghar, I., Ibriz, M., Ibrahim, M., Boudra, A., Gaboun, F., Meziani, R., ... and Abdelwahd, R. (2021). *In vitro* Root Induction from Argan (*Argania spinosa* (L.) Skeels) Adventitious Shoots: Influence of Ammonium Nitrate, Auxins, Silver Nitrate and Putrescine, and Evaluation of Plantlet Acclimatization. *Plants*, 10(6), 1062. doi: 10.3390/plants10061062.
- Aminah, H., Dick, J. M., and Grace, J. (1997). Rooting of *Shorea leprosula* stem cuttings decreases with increasing leaf area. *Forest Ecology and Management*, 91(2-3), 247-254. doi: 10.1016/s0378-1127(96)03857-1.
- Aminah, H., Dick, J. M., Leakey, R. R. B., Grace, J., and Smith, R. I. (1995). Effect of indole butyric acid (AIB) on stem cuttings of *Shoreale prosula*. *Forest Ecology and Management*, 72(2-3), 199-206.
- Amri, E., Lyaruu, H. V. M., Nyomora, A. S., and Kanyeka, Z. L. (2010). Vegetative propagation of African Blackwood (*Dalbergia melanoxylon* Guill. and Perr.): effects of age of donor plant, IBA treatment and cutting position on rooting ability of stem cuttings. *New Forests*, 39(2), 183-194. doi: 10.1007/s11056-009-9163-6.
- Ansart, S., Artis, A., and Monvoisin, V. (2016). Les cooperatives: nouvelles pratiques, nouvelles analyses. Éditions Campus ouvert, 120 p. ISBN: 979-1090293281.
- Antwi-Boasiako, C., and Enninful, R. (2011). Effects of growth medium, a hormone, and stem-cutting maturity and length on sprouting in *Moringa oleifera* Lam. *The Journal of Horticultural Science and Biotechnology*, 86(6), 619-625. doi: 10.1080/14620316.2011.11512813.
- Aoki, K., Yano, K., Suzuki, A., Kawamura, S., Sakurai, N., Suda, K., ... and Shibata, D. (2010). Large-scale analysis of full-length cDNAs from the tomato (*Solanum lycopersicum*) cultivar Micro-Tom, a reference system for the Solanaceae genomics. *BMC genomics*, 11(1), 1-16. doi: 10.1186/1471-2164-11-210.
- Apte, A., and Daniel, S. (2009). PCR primer design. *Cold Spring Harbor Protocols*, (3), pdb-ip65. doi: 1101/pdb.ip 65.
- Atangana, A. R., Tchoundjeu, Z., Asaah, E. K., Simons, A. J., and Khasa, D. P. (2006). Domestication of *Allanblackia floribunda*: amenability to vegetative propagation. *Forest Ecology and Management*, 237(1-3), 246-251. doi: 10.1016/j.foreco.2006.09.081.

- Auclair, L., Simenel, R., Alifriqui, M., and Michon, G. (2010). Agdal. Les voies imazighen de la patrimonialisation du territoire. *Hespéris Tamuda*, 45, 129-150. ISSN: 0018-1005.
- Badescu, G. O., and Napier, R. M. (2006). Receptors for auxin: will it all end in TIRs?. *Trends in plant science*, 11(5), 217-223. doi: 10.1016/j.tplants.2006.03.001.
- Bainbridge, K., Guyomarc'h, S., Bayer, E., Swarup, R., Bennett, M., Mandel, T., and Kuhlemeier, C. (2008). Auxin influx carriers stabilize phyllotactic patterning. *Genes and development*, 22(6), 810-823. doi: 10.1101/gad.462608.
- Baize, D. (2018). Guide des analyses en pédologie : 3^{ème} édition revue et augmentée. *Editions Quae*, 326 p. ISBN: 978-2759228362.
- Bajguz, A., and Piotrowska, A. (2009). Conjugates of auxin and cytokinin. *Phytochemistry*, 70(8), 957-969. doi: 10.1016/j.phytochem.2009.05.006.
- Ballester, A., SAN-JOSÉ, M. C., Vidal, N., Fernández-Lorenzo, J. L., and Vieitez, A. M. (1999). Anatomical and biochemical events during *in vitro* rooting of microcuttings from juvenile and mature phases of chestnut. *Annals of Botany*, 83(6), 619-629. doi: 10.1006/anbo.1999.0865.
- Bani-Aameur, F. (2000). Phenological phases of *Argania spinosa* (L.) Skeels flower. *Forest Genetics*, 7(4), 329-334. ISSN: 1335-048x.
- Bani-Aameur, F. (2002). *Argania spinosa* (L.) Skeels flowering phenology. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 49(1), 11-19. doi: 10.1023/a:1013831015120.
- Bani-Aameur, F. (2004). Morphological diversity of argan (*Argania spinosa* (L.) Skeels) populations in Morocco. *International Journal of Forest Genetics*. ISSN: 1335-048x.
- Bani-Aameur, F., and Alouani, M. (1999). Viabilité et dormance des semences d'Arganier (*Argania spinosa* (L.) Skeels). *Ecologia mediterranea*, 25(1), 75-86. doi:10.3406/ecmed.1999.1872.
- Bani-Aameur, F., Louali, L., and Dupuis, P. (1998). Maturation et chute des fruits de l'arganier. *Revue Marocaine des Sciences Agronomiques et Vétérinaires*, 18(3), 151-158.
- Bani-Aameur, F., and Zahidi, A. (2005). Variability of leaf stomatal density of adult trees of *Argania spinosa* (L.) Skeels in the field. *Acta botanica gallica*, 152(3), 281-288. doi: 10.1080/12538078.2005.10515490.
- Banwell, C. D., and McCash, E. M. (1983). Infra-red Spectroscopy. *Fundamentals of molecular spectroscopy*, 3rd edition, 72-123. ISBN: 978-0070841390.
- Baranska, M. (2013). Optical spectroscopy and computational methods in biology and medicine. *Springer Science and Business Media*, 1st edition, 14, 552 p. ISBN: 978-9402400113.
- Barbez, E., Kubeš, M., Rolčík, J., Béziat, C., Pěňčík, A., Wang, B., ... and Kleine-Vehn, J. (2012). A novel putative auxin carrier family regulates intracellular auxin homeostasis in plants. *Nature*, 485(7396), 119-122. doi: 10.1038/nature11001.
- Barbier, F., Péron, T., Lecerf, M., Perez-Garcia, M. D., Barrière, Q., Rolčík, J., ... and Sakr, S. (2015). Sucrose is an early modulator of the key hormonal mechanisms controlling bud outgrowth in *Rosa hybrida*. *Journal of Experimental Botany*, 66(9), 2569-2582. doi: 10.1093/jxb/erv047.
- Barbosa, I. C., Hammes, U. Z., and Schwechheimer, C. (2018). Activation and polarity control of PIN-FORMED auxin transporters by phosphorylation. *Trends in plant science*, 23(6), 523-538. doi: 10.1016/j.tplants.2018.03.009.
- Barlier, I., Kowalczyk, M., Marchant, A., Ljung, K., Bhalerao, R., Bennett, M., ... and Bellini, C. (2000). The SUR2 gene of *Arabidopsis thaliana* encodes the cytochrome P450 CYP83B1, a modulator of auxin homeostasis. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 97(26), 14819-14824. doi: 10.1073/pnas.260502697.

- Barnes, R. J., Dhanoa, M. S., and Lister, S. J. (1989). Standard normal variate transformation and de-trending of near-infrared diffuse reflectance spectra. *Applied spectroscopy*, 43(5), 772-777. doi: 10.1366/0003702894202201.
- Barnes, R. J., Dhanoa, M. S., and Lister, S. J. (1994). Correction to the description of standard normal variate (SNV) and de-trend (DT) transformations in practical spectroscopy with applications in food and beverage analysis. *NIR news*, 2nd edition, 5(3), 6-6. doi: 10.1255/nirn.248.
- Basu, C. (2015). PCR primer design. *Humana Press*, New York, 2nd edition, 228 p. ISBN: 978-1493923649.
- Basu, R. N., and Ghosh, S. K. (1974). Effect of nitrogen nutrition of stock plants of *Justicia gendarussa* L. on the rooting of cuttings. *Journal of Horticultural Science*, 49(3), 245-252. doi: 10.1080/00221589.1974.11514576.
- Baul, T. K., Mezbahuddin, M., and Mohiuddin, M. (2009). Vegetative propagation and initial growth performance of *Stereospermum suaveolens* DC., a wild tropical tree species of medicinal value. *New Forests*, 37(3), 275-283. doi: 10.1007/s11056-008-9123-6.
- Baul, J. M., Sealy, I. M., Macdonald, H., Brearley, J., Dröge, S., Hillmer, S., ... and Napier, R. M. (2000). Overexpression of auxin-binding protein enhances the sensitivity of guard cells to auxin. *Plant Physiology*, 124(3), 1229-1238. doi: 10.1104/pp.124.3.1229.
- Beck, C. B. (2010). An introduction to plant structure and development: plant anatomy for the twenty-first century. *Cambridge University Press*, 459 p. ISBN: 978-0521518055.
- Beck-Pay, S. L., and Laing, M. D. (2019). Optimizing the physical and chemical properties of growing media for the rooting of cuttings of *Acacia mearnsii* (de Wild). *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 50(5), 549-558. doi: 10.1080/00103624.2019.1573246.
- Bellefontaine, R. (2010). De la domestication à l'amélioration variétale de l'arganier (*Argania spinosa* (L.) Skeels)? *Science et changements planétaires/Sécheresse*, 21(1), 42-53. doi: 10.1684/sec.2010.0226.
- Bellefontaine, R. (2018). La régénération par graines et par multiplication végétative à faible coût (drageons et boutures de segments de racine). *CIRAD*, Montpellier, France, 204 p. ISSN: 587606.
- Bellefontaine, R., Ferradous, A., Alifriqui, M., and Monteuiis, O. (2010). Multiplication végétative de l'arganier, *Argania spinosa*, au Maroc : le projet John Goelet. *Bois et forêts des tropiques*, 304, 47-59.
- Bellefontaine, R., Meunier, Q., Aboubacar, I., and Bouler, H. L. (2015). Multiplication végétative à faible coût au profit des paysans et éleveurs des zones tropicales et méditerranéennes. *Vertigo*. doi: 10.4000/vertigo.16516.
- Bellefontaine, R., Pioch, D., and Palu, S. (2012). Un nouveau départ pour la recherche relative à l'arganier. *Science et changements planétaires/Sécheresse*, 23(1), 57-61.
- Bellini, C., Pacurar, D. I., and Perrone, I. (2014). Adventitious roots and lateral roots: similarities and differences. *Annual review of plant biology*, 65, 639-666. doi: 10.1146/annurev-arplant-050213-035645.
- Benabid, A. (2000). Flore et écosystèmes du Maroc : Evaluation et préservation de la biodiversité. *Ibis Press*, Paris, 360 p. ISBN: 978-2910728137.
- Benbya, A., Alaoui, M. M., Gaboun, F., Delporte, F., and Cherkaoui, S. (2018). Vegetative propagation of *Argania spinosa* (L.) Skeels cuttings: Effects of Nutrient Solution. *International Journal of Environment, Agriculture and Biotechnology*, 3(4), 1369-1381. doi: 10.22161/ijeab/3.4.31.
- Benbya, A., Alaoui, M. M., Gaboun, F., Delporte, F., Chlyah, O., and Cherkaoui, S. (2019). Vegetative propagation of *Argania spinosa* (L.) Skeels cuttings: Effects of auxins and genotype. *Advances in Horticultural Science*, 33(4). doi: 10.13128/ahsc-8131.

- Benbya, A., Cherkaoui, S., Gaboun, F., Chlyah, O., Delporte, F., and Mdarhri Alaoui M. (2021). Clonal propagation of *Argania spinosa* (L.) skeels: effects of leaf retention, substrate and cutting diameter. *Advances in Horticultural Science*, 35(1). 61-72. doi: 10.36253/ahsc-9212.
- Benlahbil, S., and Bani-Aameur, F. (2002). At what phenological phase is the stigma of argan (*Argania spinosa* (L.) Skeels) flower receptive to pollen adhesion and germination?. *Forest Genetics*, 9(4), 257-262.
- Benlahbil, S., Zahidi, A., Bani-Aameur, F., and El Mousadik, A. (2015). Duration of blossoming, longevity of argan flower and assessment of pollen fertility by staining. *International Journal of Agriculture and Forestry*, 5(6), 291-304. doi: 10.5923/j.ijaf.20150506.01.
- Benzyane, M. (1989). Estimation de la biomasse et étude de la croissance de l'arganier (*Argania spinosa* L. skeels) dans le plateau de haha (Essaouirra). Doctoral dissertation, *Institut agronomique et vétérinaire Hassan II*. Rabat, 224 p.
- Bertrand, D. (2006). Les méthodes d'analyse rapides dans les industries agroalimentaires. In D. Bertrand and E. Dufour, *La spectroscopie infrarouge et ses applications analytiques*. Paris, France: *Lavoisier*, 2^{ème} édition, 4-28.
- Beyl, C. A., and Trigiano, R. N. (2016). Plant propagation concepts and laboratory exercises. *CRC press*, 520 p. ISBN: 978-1466503878.
- Bhardwaj, D. R., and Mishra, V. K. (2005). Vegetative propagation of *Ulmus villosa*: effects of plant growth regulators, collection time, type of donor and position of shoot on adventitious root formation in stem cuttings. *New Forests*, 29(2), 105-116. doi: 10.1007/s11056-005-0240-1.
- Bhat, A. I., and Rao, G. P. (2020). Polymerase chain reaction. In *Characterization of Plant Viruses. Humana*, New York, NY. 323-345. doi: 10.1038/jid.2013.1.
- Bhat, D. M., and Swamy, V. S. (2004). Nursery Manual for Forest Tree Species. *Universities Press*, 329 p. ISBN: 978-8173714559.
- Bhojwani S.S., and Razdan M.K. (1996). Plant Tissue Culture: Theory and Practice. *Elsevier Science*, 5, 779 p. ISBN: 9780444816238.
- Biémont, E. (2015). Spectroscopie moléculaire: Structures moléculaires et analyse spectrale. *De Boeck Supérieur*. 427 p. ISBN: 978-2804150655.
- Bird, C. (2014). The Fundamentals of Horticulture: Theory and Practice. *Cambridge University Press*, 473 p. ISBN: 978-0521707398.
- Bispo, A., Guellier, C., Martin, E., Sapijanskas, J., Soubelet, H., and Chenu, C. (2016). Les sols : Intégrer leur multifonctionnalité pour une gestion durable. *Quae GIE*, 304 p. ISBN: 978-2759223923.
- Blazich, F. A., Wright, R. D., and Schaffer, H. E. (1983). Mineral nutrient status of *Convexa holly* cuttings during intermittent mist propagation as influenced by exogenous auxin application. *Journal-American Society for Horticultural Science*, 108, 425-429. ISSN: 0003-1062.
- Blok, C., Jackson, B. E., Guo, X., De Visser, P. H., and Marcelis, L. F. (2017). Maximum plant uptakes for water, nutrients, and oxygen are not always met by irrigation rate and distribution in water-based cultivation systems. *Frontiers in plant science*, 11(8), 562 p. doi: 10.3389/fpls.2017.00562.
- Blomstedt, C., Cameron, J., Whiteman, P., and Chandler, S. F. (1991). Micropropagation of juvenile *Eucalyptus regnans* (mountain ash). *Australian Journal of Botany*, 39(2), 179-186. doi: 10.1071/bt9910179.
- Blythe, E. K., Sibley, J. L., Tilt, K. M., and Ruter, J. M. (2004). Rooting of rose cuttings in response to foliar applications of auxin and surfactant. *HortTechnology*, 14(4), 479-483. doi: 10.21273/horttech.14.4.0479.

- Boudy, P. (1950). Monographie et traitement de l'arganier. Monographie et traitements des essences forestières. *Larose*, Paris, France, 2, 382-416.
- Bourbouze, A., and El Aïch, A. (2005). L'élevage caprin dans l'arganeraie : l'utilisation conflictuelle d'un espace. *Cahiers Agricultures*, 14(5), 447-453. ISSN: 83644781.
- Bousselmane, F., kenny, L., and Achouri, M. (2002). Effet des mycorhizes à vésicules et arbuscules sur la croissance et la nutrition de l'arganier (*Argania spinosa* L.). *Revue Marocaine des Sciences Agronomiques et Vétérinaires*, 22(4), 193-198.
- Bousselmane, F., Kenny, L., and Chlyah, H. (2001). Optimization of culture conditions for *in vitro* rooting of argan (*Argania spinosa* L.). *Comptes rendus de l'Académie des sciences. Serie III, Sciences de la vie*, 324(11), 995-1000. doi : 10.1016/S0764-4469(01)01364-6.
- Boutherin, D., and Bron, G. (2013). Multiplication des plantes horticoles. Technique et Documentation Lavoisier, 3^{ème} édition, 276 p. ISBN: 978-2743015305.
- Bouzoubaâ, Z., and El Mousadik, A. (2003). Effet de la température, du déficit hydrique et de la salinité sur la germination de l'Arganier, *Argania spinosa* (L.) Skeels. *Acta Botanica Gallica*, 150(3), 321-330. doi: 10.1080/12538078.2003.10515999.
- Bowes, B. G., and Mauseth, J. D. (2008). Plant structure. *CRC Press*, 2nd edition, 288 p. ISBN: 978-1840760927.
- Bremner, J. M. (1960). Determination of nitrogen in soil by the Kjeldahl method. *The Journal of Agricultural Science*, 55(1), 11-33. doi: 10.1017/s0021859600021572.
- Brickell, C. (2003). Royal Horticultural Society AZ encyclopedia of garden plants. *Dorling Kindersley*, 1st edition, 1120 p. ISBN: 978-0241239124.
- Brooker, L. G. S., and Simpson, W. T. (1951). Spectroscopy. *Annual Review of Physical Chemistry*, 2(1), 121-150. doi: 10.1146/annurev.pc.02.100151.001005.
- Brouwer, R. (1962). Nutritive influences on the distribution of dry matter in the plant. Nutritive influences on the distribution of dry matter in the plant. *Instituut Voor Biologisch en Scheikundig Onderzoek Van Land Bouwgewassen*, (205), 20. doi: 10.18174/njas.v10i5.17581.
- Brown, S. G., and Klett, J. E. (2020). Impacts of growth substrate and container size on cutting production from 'Snow Angel' coral bells stock plants. *Hort Technology*, 30(2), 185-192. doi: 10.21273/horttech04495-19.
- Budiarto, K., Sulyo, Y., SN, E. D., and Maaswinkel, R. H. M. (2006). Effects of types of media and NPK fertilizer on the rooting capacity of *chrysanthemum* cuttings. *Indonesian Journal of Agricultural Science*, 7(2), 67-70. doi: 10.21082/ijas.v7n2.2006.67-70.
- Bustillo-Avendaño, E., Ibáñez, S., Sanz, O., Barros, J. A. S., Gude, I., Perianez-Rodriguez, J., ... and Pérez-Pérez, J. M. (2018). Regulation of hormonal control, cell reprogramming, and patterning during de novo root organogenesis. *Plant physiology*, 176(2), 1709-1727. doi: 10.1104/pp.17.00980.
- Bustin, S. A., Mueller, R., and Nolan, T. (2020). Parameters for successful PCR primer design. In *Quantitative Real-Time PCR. Humana*, New York, 5-22. doi: 10.1007/978-1-4939-9833-3_2.
- Büyüktiryaki, S., Keçili, R., and Hussain, C. M. (2020). Modern age of analytical chemistry: nanomaterials. In *Handbook of Nanomaterials in Analytical Chemistry. Elsevier*, 29-40. doi: 10.1016/b978-0-12-816699-4.00002-5.
- Callis, J. (2005). Auxin action. *Nature*, 435(7041), 436-437. doi: 10.1038/435436b.
- Calvet, R. (2003). Le sol: propriétés et fonctions. Phénomènes physiques et chimiques, applications agronomiques et environnementales (Vol. 2). *France Agricole Editions*, 511, ISBN: 9782855570846.
- Campos, H., and Caligari, P. D. (2017). Genetic Improvement of Tropical Crops. *Springer International Publishing*, 1st edition, 337 p. ISBN: 978-3319598178.

- Caplan, D., Stemeroff, J., Dixon, M., and Zheng, Y. (2018). Vegetative propagation of *cannabis* by stem cuttings: effects of leaf number, cutting position, rooting hormone, and leaf tip removal. *Canadian Journal of Plant Science*, 98(5), 1126-1132. doi: 10.1139/cjps-2018-0038.
- Charrouf, Z., and Guillaume, D. (2008). Argan oil: Occurrence, composition and impact on human health. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 110(7), 632-636. doi: 10.1002/ejlt.200700220.
- Charrouf, Z., and Guillaume, D. (2009). Sustainable development in Northern Africa: The argan forest case. *Sustainability*, 1(4), 1012-1022. doi:10.3390/su1041012.
- Charrouf, Z., and Guillaume, D. (2010). Should the amazigh diet (regular and moderate argan-oil consumption) have a beneficial impact on human health?. *Critical reviews in food science and nutrition*, 50(5), 473-477. doi: 10.1080/10408390802544520.
- Chaussod, R., Adlouni, A., and Christon, R. (2005). L'arganier et l'huile d'argane au Maroc : vers la mutation d'un système agroforestier traditionnel?. *Cahiers Agricultures*, 14(4), 351-356.
- Chen, J. G., Shimomura, S., Sitbon, F., Sandberg, G., and Jones, A. M. (2001). The role of auxin-binding protein 1 in the expansion of tobacco leaf cells. *The Plant Journal*, 28(6), 607-617. doi: 10.1046/j.1365-313x.2001.01152.x.
- Chen, Y., Li, X., Su, L., Chen, X., Zhang, S., Xu, X., ... and Lai, Z. (2018). Genome-wide identification and characterization of long non-coding RNAs involved in the early somatic embryogenesis in *Dimocarpus longan* Lour. *BMC genomics*, 19(1), 1-19. doi: 10.1186/s12864-018-5158-z.
- Cheng, Y., Dai, X., and Zhao, Y. (2006). Auxin biosynthesis by the YUCCA flavin monooxygenases controls the formation of floral organs and vascular tissues in *Arabidopsis*. *Genes and development*, 20(13), 1790-1799. doi: 10.1101/gad.1415106.
- Cheng, Z. M., Dai, W., Bosela, M. J., and Osburn, L. D. (2006). Genetic engineering approach to enhance adventitious root formation of hardwood cuttings. *Journal of Crop Improvement*, 17(1-2), 211-225. 10.1300/J411v17n01_07.
- Chevalier, A. (1943). Les Sapotacées à graines oléagineuses et leur avenir en culture. *Journal d'agriculture traditionnelle et de botanique appliquée*, 23(260), 97-159.
- Choukr-Allah, R., Ragab, R., Bouchaou, L., and Barceló, D. (2017). The Souss-Massa River Basin, Morocco. *Springer International Publishing*, 53. ISBN: 978-3-319-51129-0.
- Chrispeels, M. J., and Sadava, D. E. (2003). Plants, genes, and crop biotechnology. *Jones and Bartlett Learning*, 2nd edition, 567 p. ISBN: 978-0763715861.
- Corrêa, L. D. R., and Fett-Neto, A. G. (2004). Effects of temperature on adventitious root development in microcuttings of *Eucalyptus saligna* Smith and *Eucalyptus globulus* Labill. *Journal of Thermal Biology*, 29(6), 315-324. doi: 10.1016/j.jtherbio.2004.05.006.
- Čovanová, M., Sauer, M., Rychtář, J., Friml, J., Petrášek, J., and Zažímalová, E. (2013). Overexpression of the auxin binding protein1 modulates PIN-dependent auxin transport in tobacco cells. *PLoS One*, 8(7), e70050. doi: 10.1371/journal.pone.0070050.
- Crang, R., Lyons-Sobaski, S., and Wise, R. (2018). Plant anatomy: a concept-based approach to the structure of seed plants. *Springer*, 1st edition, 741 p. ISBN: 978-3319772080.
- Crews, P., Rodríguez, J., and Jaspars, M. (2010). Organic structure analysis. *New York: Oxford University Press*, 2nd edition, 636, 656 p. ISBN: 978-0195336047.
- Cundy, A. S., and Shin, G. (2017). Découvrir la biologie. *De Boeck Supérieur*. 728 p. ISBN: 978-2804146276.
- Da Costa, C. T., De Almeida, M. R., Ruedell, C. M., Schwambach, J., Maraschin, F. D. S., and Fett-Neto, A. G. (2013). When stress and development go hand in hand: main hormonal controls of adventitious rooting in cuttings. *Frontiers in plant science*, 4, 133. doi: 10.3389/fpls.2013.00133/full.

- Da Silva, C., Zamperin, G., Ferrarini, A., Minio, A., Dal Molin, A., Venturini, L., ... and Delledonne, M. (2013). The high polyphenol content of grapevine cultivar tannat berries is conferred primarily by genes that are not shared with the reference genome. *The Plant Cell*, 25(12), 4777-4788. doi: 10.1105/tpc.113.118810.
- Dag, A., Erel, R., Ben-Gal, A., Zipori, I., and Yermiyahu, U. (2012). The effect of olive tree stock plant nutritional status on propagation rates. *HortScience*, 47(2), 307-310. doi: 10.21273/hortsci.47.2.307.
- Dahlke, R. I., Lüthen, H., and Steffens, B. (2009). The auxin-binding pocket of auxin-binding protein 1 comprises the highly conserved boxes a and c. *Planta*, 230(5), 917-924. doi: 10.1007/s00425-009-0995-2.
- Dahuja, A., Kumar, R. R., Sakhare, A., Watts, A., Singh, B., Goswami, S., ... and Praveen, S. (2021). Role of ATP-binding cassette transporters in maintaining plant homeostasis under abiotic and biotic stresses. *Physiologia Plantarum*, 171(4), 785-801. doi: 10.1111/pp.13302.
- Dai, F., Zhang, C., Jiang, X., Kang, M., Yin, X., Lü, P., ... and Gao, J. (2012). RhNAC2 and RhEXPA4 are involved in the regulation of dehydration tolerance during the expansion of rose petals. *Plant physiology*, 160(4), 2064-2082. doi: 10.1104/pp.112.207720.
- Dai, W., Cheng, Z. M., and Sargent, W. A. (2004). Expression of the rol B gene enhances adventitious root formation in hardwood cuttings of aspen. *In vitro Cellular and Developmental Biology-Plant*, 40(4), 366-370. doi: 10.1079/ivp2004556.
- Dal Cin, V., Velasco, R., and Ramina, A. (2009). Dominance induction of fruitlet shedding in *Malus domestica* (L. Borkh): molecular changes associated with polar auxin transport. *BMC plant biology*, 9(1), 1-14. doi: 10.1186/1471-2229-9-139.
- Dalibart, M., and Servant, S. (2000). Spectroscopie dans l'infrarouge. *Techniques de l'Ingénieur*, 2845, 1-26.
- Davies Jr, F. T., Geneve, R. L., Wilson, S. B., Hartmann, H. T., and Kester, D. E. (2017). Hartmann and Kester's plant propagation: Principles and Practices. 9th edition. Pearson, 1024 p. ISBN: 9780134480893.
- Davies, P. J. (2010). The plant hormones: their nature, occurrence, and functions. In *Plant hormones*. Springer, Dordrecht, 4th edition, 1-15. doi: 10.1007/978-1-4020-2686-7_1.
- Davis, T. D., and Haissig, B. E. (2013). Biology of adventitious root formation. *Springer Science and Business Media*, 4th Edition, (62), 358 p. ISBN: 978-0306446276.
- Davis, T. D., and Potter, J. R. (1989). Relations between carbohydrate, water status and adventitious root formation in leafy pea cuttings rooted under various levels of atmospheric CO₂ and relative humidity. *Physiologia Plantarum*, 77(2), 185-190. doi: 10.1111/j.1399-3054.1989.tb04967.x.
- De Almeida, M. R., Aumond, M., Da Costa, C. T., Schwambach, J., Ruedell, C. M., Correa, L. R., and Fett-Neto, A. G. (2017). Environmental control of adventitious rooting in *Eucalyptus* and *Populus* cuttings. *Trees*, 31(5), 1377-1390. doi: 10.1007/s00468-017-1550-6.
- De Klerk, G. J., Guan, H., Huisman, P., and Marinova, S. (2011). Effects of phenolic compounds on adventitious root formation and oxidative decarboxylation of applied indoleacetic acid in *Malus* "Jork 9". *Plant Growth Regulation*, 63(2), 175-185. doi: 10.1007/s10725-010-9555-9.
- De Klerk, G. J., van der Krieken, W., and de Jong, J. C. (1999). Review the formation of adventitious roots: new concepts, new possibilities. *In vitro Cellular and Developmental Biology-Plant*, 35(3), 189-199. doi: 10.1007/s11627-999-0076-z.
- De Waroux, Y. L. P. (2013a). Dégradation environnementale et développement économique dans l'arganeraie d'Aoulouz (Maroc). *Science et changements planétaires/Sécheresse*, 24(1), 29-38. doi: 10.1684/sec.2013.0373.

- De Waroux, Y. L. P. (2013b). The social and environmental context of argan oil production. *Natural Product Communications*, 8(1). doi: 10.1177/1934578x1300800101.
- De Waroux, Y. L. P., and Lambin, E. F. (2012). Monitoring degradation in arid and semi-arid forests and woodlands: the case of the argan woodlands (Morocco). *Applied Geography*, 32(2), 777-786. doi: 10.1016/j.apgeog.2011.08.005.
- Del Rocio Oliveros-Valenzuela, M., Reyes, D., Sanchez-Bravo, J., Acosta, M., and Nicolas, C. (2008). Isolation and characterization of a cDNA clone encoding an auxin influx carrier in carnation cuttings. Expression in different organs and cultivars and its relationship with cold storage. *Plant Physiology and Biochemistry*, 46(12), 1071-1076. doi: 10.1016/j.plaphy.2008.07.009.
- Delaire, J., Piard, J., Méallet-Renault, R., and Clavier, G. (2016). Photophysique et photochimie: Des fondements aux applications. *EDP Sciences*, 810 p. ISBN: 978-2759819140.
- Demoule, J.P. (2013). La révolution néolithique. *Le pommier*, 192 p. ISBN: 978-2746506787.
- Deng, D. H., Xu, L., Ye, Z. H., Cui, H. F., Cai, C. B., and Yu, X. P. (2012). FTIR spectroscopy and chemometric class modeling techniques for authentication of Chinese sesame oil. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 89(6), 1003-1009. doi: 10.1007/s11746-011-2004-8.
- Dharmasiri, N., Dharmasiri, S., and Estelle, M. (2005). The F-box protein TIR1 is an auxin receptor. *Nature*, 435(7041), 441-445. doi: 10.1038/nature03543.
- Dharmasiri, N., Dharmasiri, S., Weijers, D., Lechner, E., Yamada, M., Hobbie, L., ... and Estelle, M. (2005). Plant development is regulated by a family of auxin receptor F box proteins. *Developmental cell*, 9(1), 109-119. doi: 10.1016/j.devcel.2005.05.014.
- Díaz-Barradas, M. C., Zunzunegui, M., Ain-Lhout, F., Jáuregui, J., Boutaleb, S., Álvarez-Cansino, L., and Esquivias, M. P. (2010). Seasonal physiological responses of *Argania spinosa* tree from Mediterranean to semi-arid climate. *Plant and soil*, 337(1-2), 217-231. doi: 10.1007/s11104-010-0518-8.
- Díaz-Sala, C., Hutchison, K. W., Goldfarb, B., and Greenwood, M. S. (1996). Maturation-related loss in rooting competence by loblolly pine stem cuttings: The role of auxin transport, metabolism and tissue sensitivity. *Physiologia Plantarum*, 97(3), 481-490. doi: 10.1111/j.1399-3054.1996.tb00507.x.
- Dieffenbach, C. W., Lowe, T. M., and Dveksler, G. S. (1993). General concepts for PCR primer design. *PCR methods appl*, 3(3), 30-37. doi: 10.1101/gr.3.3.s30.
- Dohrmann, U., Hertel, R., and Kowalik, H. (1978). Properties of auxin binding sites in different subcellular fractions from maize coleoptiles. *Planta*, 140(2), 97-106. doi: 10.1007/bf00384907.
- Drénou, C. (2006). Les racines : face cachée des arbres. Forêt privée française. *Institut pour le Développement Forestier*. 336 p. ISBN: 978-2904740923.
- Druege, U., Hilo, A., Pérez-Pérez, J. M., Klopotek, Y., Acosta, M., Shahinnia, F., ... and Hajirezaei, M. R. (2019). Molecular and physiological control of adventitious rooting in cuttings: phytohormone action meets resource allocation. *Annals of Botany*, 123(6), 929-949. doi: 10.1093/aob/mcy234.
- Druege, U., Zerche, S., Kadner, R., and Ernst, M. (2000). Relation between nitrogen status, carbohydrate distribution and subsequent rooting of *chrysanthemum* cuttings as affected by pre-harvest nitrogen supply and cold-storage. *Annals of Botany*, 85(5), 687-701. doi: 10.1006/anbo.2000.1132.
- Dumroese, R.K., Luna, T., and Landis, T. D. (2009). Nursery manual for native plants: A guide for tribal nurseries - Volume 1: Nursery management. Agriculture Handbook 730. Washington, D.C.: U.S. Department of Agriculture, Forest Service. *Books Express Publishing*, 302 p. ISBN: 978-1782662068.

- Dunlap, J. R., Kresovich, S., and McGee, R. E. (1986). The effect of salt concentration on auxin stability in culture media. *Plant Physiology*, 81(3), 934-936. doi: 10.1104/pp.81.3.934.
- Dupraz, C., and Liagre, F. (2008). Agroforesterie : des arbres et des cultures. *France Agricole Editions*, 416 p. ISBN: 978-2855571508.
- Eckardt, N. A. (2001). New insights into auxin biosynthesis. *The Plant Cell*, 13 (1) 1-3. doi: 10.1105/tpc.13.1.1.
- Egbe, EA, E., Chuyong, G. B., Fonge, A. B., Tata, B. L., and Tabot, P. T. (2012). The effects of different concentrations of indole-3-butyric acid (IBA) on leafy stem cuttings of four tropical timber species. *Journal of Horticulture and Forestry*, 4(5), 85-91. doi: 10.5897/jhf11.069.
- Ehrig, F. R. (1974). The Argan tree. Character, ecology and economic importance of a Tertiary relict in Morocco. *Petermanns Geographische Mitteilungen*, 118(2), 117-125. ISSN: 0031-6229.
- El Aboudi, A. (1990). Typologie des arganeraies inframéditerranéennes et écophysiologie de l'arganier (*Argania spinosa* (L.) Skeels) dans le Sous (Maroc). Thèse de doctorat, Université de Joseph Fourier, Grenoble I, France, 133 p.
- El Aboudi, A., Carlier, G., and Peltier, J. P. (1991). Régime hydrique de l'arganier (*Argania spinosa* (L.) Skeels) dans le Sous (Maroc). *Physiologie des arbres et arbustes en zones arides et semi-arides*, 389-403. ISBN: 2-7420-0019-4.
- El Aboudi, A., Peltier, J. P., and Doche, B. (1992). La carte de la végétation des Aït-Baha (Anti-Atlas occidental, Maroc) et son intérêt pour l'édaphologie. *Feddes Repertorium*, 103(1-2), 121-126. doi: 10.1002/fedr.19921030121.
- Eliasson, L. (1978). Effects of nutrients and light on growth and root formation in *Pisum sativum* cuttings. *Physiologia Plantarum*, 43(1), 13-18. doi: 10.1111/j.1399-3054.1978.tb01560.x.
- Ellis, C. M., Nagpal, P., Young, J. C., Hagen, G., Guilfoyle, T. J., and Reed, J. W. (2005). Auxin response factor1 and auxin response factor2 regulate senescence and floral organ abscission in *Arabidopsis thaliana*. *Development*, 132(20), 4563-4574. doi: 10.1242/dev.02012.
- El Maati, Y., Msanda, F., El Mousadik, A., El Hamdaoui, A., El Mrabet, S., and Ouahmane, L. (2015). Contribution to the characterization of mycorrhizae in the southwest of Morocco and their effect on growth parameters of *Argania spinosa*. *The American Journal of Innovative Research and Applied Sciences*, 1(7), 235-243. ISSN: 2429-5396.
- El Orche, A., Bouatia, M., Labjar, H., Maaouni, M., and Mbarki, M. (2020). Coupling Mid Infrared Spectroscopy to mathematical and statistical tools for automatic classification, qualification and quantification of Argan oil adulteration. In: 2020 IEEE 6th International Conference on Optimization and Applications. *IEEE*, 1-4. doi: 10.1109/icoa49421.2020.9094456.
- El Sharkawy, I., Sherif, S. M., Jones, B., Mila, I., Kumar, P. P., Bouzayen, M., and Jayasankar, S. (2014). TIR1-like auxin-receptors are involved in the regulation of plum fruit development. *Journal of Experimental Botany*, 65(18), 5205-5215. doi: 10.1093/jxb/eru279.
- El Sharkawy, I., Sherif, S., Mahboob, A., Abubaker, K., Bouzayen, M., and Jayasankar, S. (2012). Expression of auxin-binding protein1 during plum fruit ontogeny supports the potential role of auxin in initiating and enhancing climacteric ripening. *Plant Cell Reports*, 31(10), 1911-1921. doi: 10.1007/s00299-012-1304-2.
- Emberger, L. (1925). Le domaine naturel de l'arganier. *Bulletin de la Société Botanique de France*, 72(4), 770-774. doi: 10.1080/00378941.1925.10832788.

- Ersoy, N., Kalyoncu, I. H., Aydin, M., and Yilmaz, M. (2010). Effects of some humidity and IBA hormone dose applications on rooting of M9 apple clonal rootstock Softwood top cuttings. *African Journal of Biotechnology*, 9(17), 2510-2514. ISSN: 1684-5315.
- Eshel, A., and Beeckman, T. (2013). Plant roots: the hidden half. *CRC Press*, 848 p. ISBN: 978-1439846483.
- Estrada-Johnson, E., Csukasi, F., Pizarro, C. M., Vallarino, J. G., Kiryakova, Y., Vioque, A., ... and Valpuesta, V. (2017). Corrigendum: Transcriptomic Analysis in Strawberry Fruits Reveals Active Auxin Biosynthesis and Signaling in the Ripe Receptacle. *Frontiers in Plant Science*, 8, 1305. doi: 10.3389/fpls.2017.01305.
- Ezekiel, A. (2010). Low-cost vegetative propagation of tropical trees. *International Journal of Botany*, 6(2), 187-193.
- Fabbri, A., Bartolini, G., Lambardi, M., and Kailis, S. (2004). Olive propagation manual. *Landlinks Press*, 158 p. ISBN: 978-0643066762.
- Fan, M., Dai, D., and Huang, B. (2012). Fourier transform infrared spectroscopy for natural fibres. *Fourier Transform-Materials Analysis*, 3, 45-68. doi: 10.5772/35482.
- Faouzi, H. (2012). Impact des coopératives féminines sur la préservation et la valorisation de l'arganeraie : cas de la coopérative Tafioucht (confédération des Ait Baâmrane, Anti-Atlas, Maroc). *Confins. Revue franco-brésilienne de géographie/Revista franco-brasilera de geografia*, 14 p. doi: 10.4000/confins.7521.
- Faouzi, H. (2013). L'agdal dans la dynamique des systèmes agraires des arganeraies des Haha (Haut-Atlas Occidental, Maroc). *Études Caribéennes*, (20). doi: 10.4000/etudescaribeennes.5569.
- Feraru, E., and Friml, J. (2008). PIN polar targeting. *Plant Physiology*, 147(4), 1553-1559. doi: 10.1104/pp.108.121756.
- Fett-Neto, A. G., Fett, J. P., Goulart, L. W. V., Pasquali, G., Termignoni, R. R., and Ferreira, A. G. (2001). Distinct effects of auxin and light on adventitious root development in *Eucalyptus saligna* and *Eucalyptus globulus*. *Tree Physiology*, 21(7), 457-464. doi: 10.1093/treephys/21.7.457.
- Fogaça, C. M., and Fett-Neto, A. G. (2005). Role of auxin and its modulators in the adventitious rooting of *Eucalyptus* species differing in recalcitrance. *Plant Growth Regulation*, 45(1), 1-10. doi: 10.1007/s10725-004-6547-7.
- Forde, B., and Lorenzo, H. (2001). The nutritional control of root development. *Plant and Soil*, 232(1-2), 51-68. doi: 10.1023/a:1010329902165.
- Fortin, J. A., Plenchette, C., and Piché, Y. (2016). Les mycorhizes : l'essor de la nouvelle révolution verte. *Quae GIE*, 164 p. ISBN: 978-2759224333.
- Foster, G. S., Stelzer, H. E., and McRae, J. B. (2000). Loblolly pine cutting morphological traits: effects on rooting and field performance. *New Forests*, 19(3), 291-306. doi: 10.1023/A:100669180.
- Friml, J., Benková, E., Blilou, I., Wisniewska, J., Hamann, T., Ljung, K., ... and Palme, K. (2002). AtPIN4 mediates sink-driven auxin gradients and root patterning in *Arabidopsis*. *Cell*, 108(5), 661-673. doi: 10.1016/s0092-8674(02)00656-6.
- Friml, J., Vieten, A., Sauer, M., Weijers, D., Schwarz, H., Hamann, T., ... and Jürgens, G. (2003). Efflux-dependent auxin gradients establish the apical-basal axis of *Arabidopsis*. *Nature*, 426(6963), 147-153. doi: 10.1038/nature02085.
- Friml, J., Wiśniewska, J., Benková, E., Mendgen, K., and Palme, K. (2002). Lateral relocation of auxin efflux regulator PIN3 mediates tropism in *Arabidopsis*. *Nature*, 415(6873), 806-809. doi: 10.1038/415806a.
- Ganoudi, M., Calonne-Salmon, M., Ibriz, M., and Declerck, S. (2021). *In vitro* mycorrhization of *Argania spinosa* L. using germinated seeds. *Symbiosis*, 1-12. doi: 10.1007/s13199-021-00790-4.

- Garside, P., and Wyeth, P. (2003). Identification of cellulosic fibres by FTIR spectroscopy-thread and single fibre analysis by attenuated total reflectance. *Studies in Conservation*, 48(4), 269-275. doi: 10.1179/sic.2003.48.4.269.
- Ge, Y., Thomasson, J. A., and Morgan, C. L. (2014). Mid-infrared attenuated total reflectance spectroscopy for soil carbon and particle size determination. *Geoderma*, 213, 57-63. doi: 10.1016/j.geoderma.2013.07.017.
- Gehlot, A., Gupta, R. K., Tripathi, A., Arya, I. D., and Arya, S. (2014). Vegetative propagation of *Azadirachta indica*: effect of auxin and rooting media on adventitious root induction in mini-cuttings. *Advances in Forestry Science*, 1(1), 1-9. doi: 10.34062/afs.v1i1.1357.
- Gehlot, A., Tripathi, A., Arya, I. D., and Arya, S. (2015). Influence of cutting diameter, auxin and rooting substrate on adventitious rooting from hardwood cuttings of *Azadirachta indica* A. Juss (Neem). *Advances in Forestry Science*, 2(3), 49-61. doi: 10.34062/afs.v2i3.2383.
- Geiss, G., Gutierrez, L., and Bellini, C. (2018). Adventitious root formation: new insights and perspectives. *Annual Plant Reviews online*, 127-156. doi: 10.1002/9781119312994.apr0400.
- Girard, M. C., Schwartz, C., and Jabiol, B. (2011). Etude des sols: description, cartographie, utilisation. *Dunod*, 432 p. ISBN: 978-2100540211.
- Gomes, E. N., Machado, M. P., Miola, J., and Deschamps, C. (2018). Leaf area and intermittent misting on hop plants propagation by stem cuttings. *Revista Colombiana de Ciencias Hortícolas*, 12(2), 508-513. doi: 10.17584/rcch.2018v12i2.7652.
- Gorelenkov, V., Antipov, A., Lejnine, S., Daraselia, N., and Yuryev, A. (2001). Set of novel tools for PCR primer design. *Biotechniques*, 31(6), 1326-1330. doi: 10.2144/01316bc04.
- Greenwood, M. S., Hopper, C. A., and Hutchison, K. W. (1989). Maturation in larch: I. Effect of age on shoot growth, foliar characteristics, and DNA methylation. *Plant Physiology*, 90(2), 406-412. doi: 10.1104/pp.90.2.406.
- Guillaume, D., and Charrouf, Z. (2011). Argan oil. *Alternative Medicine Review*, 16(3), 275-279. ISSN: 21951028.
- Hansen, J. (1989). Influence of cutting position and temperature during rooting on adventitious root formation and axillary bud break of *Stephanotis floribunda*. *Scientia Horticulturae*, 40(4), 345-354. doi: 10.1016/0304-4238(89)90108-8.
- Hartmann, H. T., Kester, D. E., Davies, F. T., and Geneve, R. L. (1997). Plant propagation: principles and practices. *Prentice-Hall Incorporated*. New Jersey, 6th edition, 770 p. ISBN: 978-0135014493.
- Hartmann, H. T., Kester, D. E., Davies, F. T., and Geneve, R. L. (2002). Principles of propagation by cuttings. Plant propagation, principles and practices. *Prentice Hall*, Upper Saddle River, New Jersey, 278-291.
- Hecker, K. H., and Roux, K. H. (1996). High and low annealing temperatures increase both specificity and yield in touchdown and stepdown PCR. *Biotechniques*, 20(3), 478-485. doi: 10.2144/19962003478.
- Heidstra, R., Welch, D., and Scheres, B. (2004). Mosaic analyses using marked activation and deletion clones dissect *Arabidopsis* Scarecrow action in asymmetric cell division. *Genes and Development*, 18(16), 1964-1969. doi: 10.1101/gad.305504.
- Hilo, A., Shahinnia, F., Druege, U., Franken, P., Melzer, M., Rutten, T., ... and Hajirezaei, M. R. (2017). A specific role of iron in promoting meristematic cell division during adventitious root formation. *Journal of experimental botany*, 68(15), 4233-4247. doi: 10.1093/jxb/erx248.
- Hitotsubashi, R., Miyamoto, K., Hoshino, T., Tanimoto, E. and Ueda, J. (2003). PsAUX1, putative auxin influx carrier protein. Junichi Ueda, Osaka Prefecture University, College of Integrated Arts and Sciences, *Gakuen-cho, Sakai, Osaka*, 1(1), 599-831.

- Hofmann, N. (2014). Getting to the root of regeneration: Adventitious rooting and callus formation. *Plant Cell*, 26(3), 845. doi: 10.1105/tpc.114.125096.
- Holbrook, N. M., and Zwieniecki, M. A. (2011). Vascular transport in plants. *Academic Press*, 1st edition, 592 p. ISBN: 978-0120884575.
- Hollas, J. M. (2004). Modern spectroscopy. *Wiley-Blackwell*, 4th edition, 482 p. ISBN: 978-0470844168.
- Hopkins, W. G. (2003). Physiologie végétale. *De Boeck Supérieur*, 514 p. ISBN: 978-2744500893.
- Howard, B. H., and Ridout, M. S. (1991). Rooting potential in plum hardwood cuttings: I. Relationship with shoot diameter. *Journal of horticultural science*, 66(6), 673-680. doi: 10.1080/00221589.1991.11516198.
- Hrideek, T. K., Geethu, P. D., Jijeesh, C. M., Raghu, A. V., and Muraleekrishnan, K. (2019). Standardization of adventitious root induction in stem cuttings of *Cynometra travancorica* Bedd Willd., an endangered tree species of Western Ghats. *Vegetos*, 32(1), 11-18. doi:10.1007/s42535-019-00002-x.
- Hu, H., Chai, N., Zhu, H., Li, R., Huang, R., Wang, X., ... and Sui, S. (2020). Factors Affecting Vegetative Propagation of Wintersweet (*Chimonanthus praecox*) by Softwood Cuttings. *HortScience*, 1(aop), 1-8. doi: 10.21273/hortsci15289-20.
- Hu, M.Y., Luo, M., and Pei, Y. (2006). The cloning and characterization of auxin binding protein 1 (ABP1) gene from cotton. *Biotechnology Research Center*, Southwest University, Beibei, Chongqing, China.
- Hu, T. T., Pattyn, P., Bakker, E. G., Cao, J., Cheng, J. F., Clark, R. M., ... and Guo, Y. L. (2011). The *Arabidopsis lyrata* genome sequence and the basis of rapid genome size change. *Nature genetics*, 43(5), 476-481. doi: 10.1038/ng.807.
- Huang, F., Zago, M. K., Abas, L., van Marion, A., Galván-Ampudia, C. S., and Offringa, R. (2010). Phosphorylation of conserved PIN motifs directs Arabidopsis PIN1 polarity and auxin transport. *The Plant Cell*, 22(4), 1129-1142. doi: 10.1105/tpc.109.072678.
- Hube, F., Reverdiau, P., Iochmann, S., and Gruel, Y. (2005). Improved PCR method for amplification of GC-rich DNA sequences. *Molecular biotechnology*, 31(1), 81-84. doi: 10.1385/mb:31:1:081.
- Husen, A. (2004). Clonal propagation of *Dalbergia sissoo* Roxb. by softwood nodal cuttings: effects of genotypes, application of IBA and position of cuttings on shoots. *Silvae Genetica*, 53(2), 50-54. doi: 10.1515/sg-2004-0009.
- Husen, A. (2008). Clonal propagation of *Dalbergia sissoo* Roxb. and associated metabolic changes during adventitious root primordium development. *New Forests*, 36(1), 13-27. doi: 10.1007/s11056-007-9079-y.
- Husen, A. (2013). Clonal multiplication of Teak (*Tectona grandis*) by using moderately hard stem cuttings: effect of genotypes (FG1 and FG11 Clones) and IBA treatment. *Advances in Forestry Letters*, 2(2), 14-19.
- Husen, A., and Pal, M. (2006). Variation in shoot anatomy and rooting behaviour of stem cuttings in relation to age of donor plants in teak (*Tectona grandis* Linn. f.). *New Forests*, 31(1), 57-73. doi: 10.1007/s11056-004-6794-5.
- Husen, A., and Pal, M. (2007a). Metabolic changes during adventitious root primordium development in *Tectona grandis* Linn. f. (teak) cuttings as affected by age of donor plants and auxin (AIB and ANA) treatment. *New Forests*, 33(3), 309-323. doi: 10.1007/s11056-006-9030-7.
- Husen, A., and Pal, M. (2007b). Effect of branch position and auxin treatment on clonal propagation of *Tectona grandis* Linn. f. *New Forests*, 34(3), 223-233. ISSN: 0169-4286.

- Hwang, I. T., Kim, Y. J., Kim, S. H., Kwak, C. I., Gu, Y. Y., and Chun, J. Y. (2003). Annealing control primer system for improving specificity of PCR amplification. *Biotechniques*, 35(6), 1180-1184. doi: 10.2144/03356st03.
- Hyndman, D. L., and Mitsuhashi, M. (2003). PCR primer design. In PCR protocols. *Humana Press*, 81-88. doi: 10.1385/1-59259-384-4:81.
- Imin, N., Nizamudin, M., Wu, T., and Rolfe, B. G. (2007). Factors involved in root formation in *Medicago truncatula*. *Journal of Experimental Botany*, 58(3), 439-451. doi: 10.1093/jxb/erl224.
- Inukai, Y., Sakamoto, T., Ueguchi-Tanaka, M., Shibata, Y., Gomi, K., Umemura, I., ... and Matsuoka, M. (2005). Crown rootless1, which is essential for crown root formation in rice, is a target of an auxin response factor in auxin signaling. *The Plant Cell*, 17(5), 1387-1396. doi: 10.1105/tpc.105.030981.
- Jackson, M.B. (1986). New root formation in plants and cuttings. *Kluwer Academic Publishers*, 265 p. ISBN: 978-9024732609.
- Jackson, M.B. (2012). New root formation in plants and cuttings (Vol. 20). *Springer Science and Business Media*, 284 p. ISBN: 978-9024732609.
- Jaenicke, H. (2006). Bonnes pratiques de culture en pépinière forestière: directives pratiques pour les pépinières de recherche. World Agroforestry Centre. *Majestic Printing Works*, Nairobi, 93 p. ISBN: 9290592028.
- Jaggi, N., and Vij, D. R. (2006). Fourier transform infrared spectroscopy. In Handbook of Applied Solid State Spectroscopy. *Springer*, Boston, MA. 411-450. doi: 10.1007/0-387-37590-2_9.
- Johnson, E. P., Preece, J. E., Aradhya, M., and Gradziel, T. (2020). Rooting response of *Prunus* wild relative semi-hardwood cuttings to indole-3-butyric acid potassium salt (KIBA). *Scientia Horticulturae*, 263, 109-144. ISSN: 0304-4238.
- Johnson, G. B., Losos, J. B., Raven, P. H., and Singer, S. R. (2011). Biologie-Version luxe. De Boeck Supérieur, 2nd edition, 544 p. ISBN: 978-2804163334.
- Jones Jr, J. B. (1999). Soil analysis handbook of reference methods. *CRC Press*. 264 p. ISBN: 978-0849302053.
- Jones, A. R., Kramer, E. M., Knox, K., Swarup, R., Bennett, M. J., Lazarus, C. M., ... and Grierson, C. S. (2009). Auxin transport through non-hair cells sustains root-hair development. *Nature Cell Biology*, 11(1), 78-84. doi: 10.1038/ncb1815.
- Jönsson, H., Heisler, M. G., Shapiro, B. E., Meyerowitz, E. M., and Mjolsness, E. (2006). An auxin-driven polarized transport model for phyllotaxis. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 103(5), 1633-1638. doi: 10.1073/pnas.0509839103.
- Kalsi, P. S. (2007). Spectroscopy of organic compounds. *New Age International*, 6th edition. ISBN: 978-8122415438.
- Kalyoncu, I. H., Ersoy, N., Yılmaz, M., and Aydın, M. (2009). Effects of humidity level and IBA dose application on the softwood top cuttings of white mulberry (*Morus alba* L.) and black mulberry (*Morus nigra* L.) types. *African Journal of Biotechnology*, 8(16), 3754-3760. ISSN: 1684-5315.
- Kapley, A., Lampel, K., and Purohit, H. J. (2000). Thermocycling steps and optimization of multiplex PCR. *Biotechnology Letters*, 22(24), 1913-1918.
- Kareem, A., Radhakrishnan, D., Sondhi, Y., Aiyaz, M., Roy, M. V., Sugimoto, K., and Prasad, K. (2016). De novo assembly of plant body plan: a step ahead of Deadpool. *Regeneration*, 3(4), 182-197. doi: 10.1002/reg2.68.
- Karoui, R., Downey, G., and Blecker, C. (2010). Mid-infrared spectroscopy coupled with chemometrics: a tool for the analysis of intact food systems and the exploration of their molecular structure-quality relationships-a review. *Chemical Reviews*, 110(10), 6144-6168. doi: 10.1021/cr100090k.

- Karoui, R., Dufour, É., Pillonel, L., Schaller, E., Picque, D., Cattenoz, T., and Bosset, J. O. (2005). The potential of combined infrared and fluorescence spectroscopies as a method of determination of the geographic origin of Emmental cheeses. *International Dairy Journal*, 15(3), 287-298. doi: 10.1016/j.idairyj.2004.07.005.
- Kemp, W. (2017). Organic spectroscopy. *Macmillan International Higher Education*, 2nd edition. 416 p. ISBN: 978-1403906847.
- Kemsley, E. K., Defernez, M., and Marini, F. (2019). Multivariate statistics: Considerations and confidences in food authenticity problems. *Food Control*, 105, 102-112. doi: 10.1016/j.foodcont.2019.05.021.
- Kenny, L., and De Zborowski, I. (2007). Atlas de l'arganier et de l'arganeraie, *Institut Agronomique et Vétérinaire Hassan II*, Rabat, 190 p. ISBN: 978-2909613000.
- Kepinski, S., and Leyser, O. (2005). The *Arabidopsis* F-box protein TIR1 is an auxin receptor. *Nature*, 435(7041), 446-451. doi: 10.1038/nature03542.
- Kerk, N. M., Jiang, K., and Feldman, L. J. (2000). Auxin metabolism in the root apical meristem. *Plant Physiology*, 122(3), 925-932. doi: 10.1104/pp.122.3.925.
- Kesari, V., Krishnamachari, A., and Rangan, L. (2009). Effect of auxins on adventitious rooting from stem cuttings of candidate plus tree *Pongamia pinnata* (L.), a potential biodiesel plant. *Trees*, 23(3), 597-604. doi: 10.1007/s00468-008-0304-x.
- Khallouki, F., Spiegelhalter, B., Bartsch, H., and Owen, R. W. (2005). Secondary metabolites of the argan tree (Morocco) may have disease prevention properties. *African Journal of Biotechnology*, 4(5), 381-388. ISSN: 1684-5315.
- Kim, H. J. (2017). Plant Propagation Concepts and Laboratory Exercises. *HortScience*, 52(7), 1034-1034. 520 p. ISBN: 978-1466503878.
- Kim, T. D. (2000). PCR primer design: an inquiry-based introduction to bioinformatics on the World Wide Web. *Biochemistry and Molecular Biology Education*, 28(5), 274-276. doi: 10.1111/j.1539-3429.2000.tb00169.x.
- Kirchhoff, M., Romes, T., Marzolff, I., Seeger, M., Ait Hssaine, A., and Ries, J. B. (2021). Spatial distribution of argan tree influence on soil properties in southern Morocco. *Soil*, 7(2), 511-524. doi: 10.5194/soil-7-511-2021.
- Kleine-Vehn, J., Dhonukshe, P., Swarup, R., Bennett, M., and Friml, J. (2006). Subcellular trafficking of the *Arabidopsis* auxin influx carrier AUX1 uses a novel pathway distinct from PIN1. *The Plant Cell*, 18(11), 3171-3181. doi: 10.1105/tpc.106.042770.
- Kleinschmit, J., Muller, W., Schmidt, J., and Racz, J. (1973). Development of a large-scale method for vegetative propagation of Norway spruce (*Picea abies* Karst.) by cuttings. *Silvae Genetica*, 22(1/2), 4-15.
- Konishi, M., and Sugiyama, M. (2003). Genetic analysis of adventitious root formation with a novel series of temperature-sensitive mutants of *Arabidopsis thaliana*. *Development*, 130(23), 5637-5647. doi: 10.1242/dev.00794.
- Kortüm, G. (2012). Reflectance spectroscopy: principles, methods, applications. *Springer Science and Business Media*, 376 p. ISBN: 978-3642880728.
- Koufan, M., Belkoura, I., Mazri, M. A., Amarraque, A., Essatte, A., Elhorri, H., ... and Alaoui, T. (2020). Determination of antioxidant activity, total phenolics and fatty acids in essential oils and other extracts from callus culture, seeds and leaves of *Argania spinosa* (L.) Skeels. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)*, 141(1), 217-227.
- Kowalczyk, M., and Sandberg, G. (2001). Quantitative analysis of indole-3-acetic acid metabolites in *Arabidopsis*. *Plant physiology*, 127(4), 1845-1853. doi: 10.1104/pp.010525.
- Kreen, S., Svensson, M., and Rumpunen, K. (2002). Rooting of *clematis* microshoots and stem cuttings in different substrates. *Scientia Horticulturae*, 96(1-4), 351-357. doi: 10.1016/S0304-4238(02)00126-7.

- Kumar, A., and Chordia, N. (2015). *In silico* PCR primer designing and validation. In *PCR primer design*. Humana Press, New York, 143-151. doi: 10.1007/978-1-4939-2365-6_10.
- Kutschera, L., Lichtenegger, E., and Sobotik, M. (2009). Wurzelatlas der Kulturpflanzen gemäßigter gebiete mit Arten des Feldgemüsebaues. *DLG-Verlag*, 1st edition, 550 p. ISBN: 978-3769007084.
- Ky-Dembele, C., Bayala, J., Kalinganire, A., Traoré, F. T., Koné, B., and Olivier, A. (2016). Clonal propagation of *Pterocarpus santalinoides* L'Hér. ex DC.: the effect of substrate, cutting type, genotype and auxin. *Southern Forests: A Journal of Forest Science*, 78(3), 193-199. doi: 10.2989/20702620.2016.1150696.
- Lam, L. M., Dufresne, P. J., Longtin, J., Sedman, J., and Ismail, A. A. (2019). Reagent-free identification of clinical yeasts by use of attenuated total reflectance Fourier transform infrared spectroscopy. *Journal of Clinical Microbiology*, 57(5). doi: 10.1128/jcm.01739-18.
- Lambers, H., and Colmer, T. D. (2005). Root Physiology: from gene to function. *Springer Science and Business Media*, 4, 286 p. ISBN: 978-1402040986.
- Lambert, J. B., Gronert, S., Shurvell, H. F., Lightner, D. A., and Cooks, R. G. (2014). Organic structural spectroscopy. *Pearson*, 2nd edition, 462 p. ISBN: 978-1292039565.
- Lanteri, M. L., Pagnussat, G. C., and Lamattina, L. (2006). Calcium and calcium-dependent protein kinases are involved in nitric oxide-and auxin-induced adventitious root formation in cucumber. *Journal of Experimental Botany*, 57(6), 1341-1351. doi: 10.1093/jxb/erj109.
- Lavine, B. K., and Workman Jr, J. (2013). Chemometrics. *Analytical chemistry*, 85(2), 705-714. doi: 10.1021/ac303193j.
- Leakey, R. R. (2004). Physiology of vegetative reproduction. In: Burley J, Evans J, Youngquist JA. Encyclopaedia of Forest Sciences. *Academic Press*, London, UK, 1655-1668. doi: 10.1016/b0-12-145160-7/00108-3.
- Leakey, R. R. B., and Coutts, M. P. (1989). The dynamics of rooting in *Triplochiton scleroxylon* cuttings: their relation to leaf area, node position, dry weight accumulation, leaf water potential and carbohydrate composition. *Tree Physiology*, 5(1), 135-146. doi: 10.1093/treephys/5.1.135.
- Leakey, R. R. B., and Storeton-West, R. (1992). The rooting ability of *Triplochiton scleroxylon* cuttings: the interactions between stockplant irradiance, light quality and nutrients. *Forest Ecology and Management*, 49(1-2), 133-150. doi: 10.1016/0378-1127(92)90166-7.
- Leakey, R. R., Mesen, J. F. T., Tchoundjeu, Z., Longman, K. A., Dick, J. M., Newton, A., ... and Muthoka, P. N. (1990). Low-technology techniques for the vegetative propagation of tropical trees. *The Commonwealth Forestry Review*, 247-257. ISSN: 0010-3381.
- LeBude, A. V., Goldfarb, B., Blazich, F. A., Wise, F. C., and Frampton, J. (2004). Mist, substrate water potential and cutting water potential influence rooting of stem cuttings of loblolly pine. *Tree Physiology*, 24(7), 823-831. doi: 10.1093/treephys/24.7.823.
- LeBude, A. V., Goldfarb, B., Blazich, F. A., Wright, J. A., Cazell, B., Wise, F. C., and Frampton, J. (2006). Container type and volume influences adventitious rooting and subsequent field growth of stem cuttings of loblolly pine. *Southern Journal of Applied Forestry*, 30(3), 123-131. doi: 10.1093/sjaf/30.3.123.
- Lefhaili, A. (2010). FAO forest resources assessment: Morocco country report. Rome: FAO.
- Lerma-García, M. J., Ramis-Ramos, G., Herrero-Martínez, J. M., and Simó-Alfonso, E. F. (2010). Authentication of extra virgin olive oils by Fourier-transform infrared spectroscopy. *Food Chemistry*, 118(1), 78-83. doi: 10.1016/j.foodchem.2009.04.092.
- Li, L. Y., Li, Q., Yu, Y. H., Zhong, M., Yang, L., Wu, Q. H., ... and Luo, S. Q. (2011). A primer design strategy for PCR amplification of GC-rich DNA sequences. *Clinical Biochemistry*, 44(8-9), 692-698. doi: 10.1016/j.clinbiochem.2011.02.001.

- Li, S. W., Xue, L., Xu, S., Feng, H., and An, L. (2009). Mediators, genes and signaling in adventitious rooting. *The Botanical Review*, 75(2), 230-247. doi: 10.1007/s12229-009-9029-9.
- Li, Y. H., Zou, M. H., Feng, B. H., Huang, X., Zhang, Z., and Sun, G. M. (2012). Molecular cloning and characterization of the genes encoding an auxin efflux carrier and the auxin influx carriers associated with the adventitious root formation in mango (*Mangifera indica* L.) cotyledon segments. *Plant Physiology and Biochemistry*, 55, 33-42. doi: 10.1016/j.plaphy.2012.03.012.
- Lin, C. K., Lee, N. Y., Huang, P. L., and Do, Y. Y. (2016). Gene structure and expression characteristics of the auxin receptor TIR1 ortholog in *Momordica charantia* and developmental analysis of its promoter in transgenic plants. *Journal of Plant Biochemistry and Biotechnology*, 25(3), 253-262. ISSN: 0971-7811.
- Lin, X., Kaul, S., Rounsley, S., Shea, T. P., Benito, M. I., Town, C. D., ... and Venter, J. C. (1999). Sequence and analysis of chromosome 2 of the plant *Arabidopsis thaliana*. *Nature*, 402(6763), 761-768. doi: 10.1038/45471.
- Linhart, C., and Shamir, R. (2007). Degenerate Primer Design. *PCR Primer Design*, 220-244. doi: 10.1007/978-1-59745-528-2_11.
- Liu, X., Zhang, H., Zhao, Y., Feng, Z., Li, Q., Yang, H. Q., ... and He, Z. H. (2013). Auxin controls seed dormancy through stimulation of abscisic acid signaling by inducing ARF-mediated ABI3 activation in Arabidopsis. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 110(38), 15485-15490. doi: 10.1073/pnas.1304651110.
- Ljung, K. (2013). Auxin metabolism and homeostasis during plant development. *Development*, 140(5), 943-950. doi: 10.1242/dev.086363.
- Ljung, K., Bhalerao, R. P., and Sandberg, G. (2002). Sites and homeostatic control of auxin biosynthesis in Arabidopsis during vegetative growth. *The Plant Journal*, 28(4), 465-474. doi: 10.1046/j.1365-3113x.2001.01173.x.
- Ljung, K., Hull, A. K., Celenza, J., Yamada, M., Estelle, M., Normanly, J., and Sandberg, G. (2005). Sites and regulation of auxin biosynthesis in *Arabidopsis* roots. *The Plant Cell*, 17(4), 1090-1104. doi: 10.1105/tpc.104.029272.
- Loio, R. D., Linhares, F. S., Scacchi, E., Casamitjana-Martinez, E., Heidstra, R., Costantino, P., and Sabatini, S. (2007). Cytokinins determine *Arabidopsis* root-meristem size by controlling cell differentiation. *Current biology*, 17(8), 678-682. doi: 10.1016/j.cub.2007.02.047.
- Longman, K. A. (1993). Tropical trees: propagation and planting manuals. In Rooting cuttings of tropical trees. *Commonwealth Science Council*. 1, 137 p. ISBN: 0850923948.
- López Sáez, J. A., and Alba Sánchez, F. (2009). Ecología, etnobotánica y etnofarmacología del argán (*Argania spinosa*). *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas*, 8(5), 323 – 341. ISSN: 0717 7917.
- Lopez, R. G., and Runkle, E. S. (2008). Photosynthetic daily light integral during propagation influences rooting and growth of cuttings and subsequent development of New Guinea impatiens and petunia. *HortScience*, 43(7), 2052-2059. doi: 10.21273/hortsci.43.7.2052.
- Ludwig-Müller, J., Vertocnik, A., and Town, C. D. (2005). Analysis of indole-3-butyric acid-induced adventitious root formation on Arabidopsis stem segments. *Journal of Experimental Botany*, 56(418), 2095-2105. doi: 10.1093/jxb/eri208.
- Lüttge, U., and Pitman, M. G. (2012). Transport in Plants II: Part B Tissues and Organs. *Springer-Verlag Berlin Heidelberg*, 2, 456 p. ISBN: 978-3642662324.
- Lüttge, U., Beyschlag, W., and Cushman, J. (2014). Progress in Botany, *Springer*, 75, 412 p. ISBN: 978-3662523025.
- Lux, A., and Rost, T. L. (2012). Plant root research: the past, the present and the future. *Annals of botany*, 110(2), 201-204. doi: 10.1093/aob/mcs156.

- Lybbert, T. J., Aboudrare, A., Chaloud, D., Magnan, N., and Nash, M. (2011). Booming markets for Moroccan argan oil appear to benefit some rural households while threatening the endemic argan forest. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 108(34), 13963-13968. doi: 10.1073/pnas.1106382108.
- Lybbert, T. J., Barrett, C. B., and Narjisse, H. (2002). Market-based conservation and local benefits: the case of argan oil in Morocco. *Ecological Economics*, 41(1), 125-144. doi: 10.1016/S0921-8009(02)00020-4.
- M'Hirit, O., Benzyane, M., Benchekroum, F., El Yousfi, S. M., and Bendaanoun, M. (1998). L'arganier : une espèce forestière à usages multiples. *Editions Mardaga*, Sprimont, Belgique, 150 p. ISBN: 978-2870096840.
- Mabberley, D. J. (2008). Mabberley's plant-book: a portable dictionary of plants, their classifications and uses. *Cambridge University Press*, 3rd edition, 1040 p. ISBN: 978-0521820714.
- Mabizela, G. S., Slabbert, M. M., and Bester, C. (2017). The effect of rooting media, plant growth regulators and clone on rooting potential of honeybush (*Cyclopia subternata*) stem cuttings at different planting dates. *South African Journal of Botany*, 110, 75-79. doi: 10.1016/j.sajb.2016.02.200.
- Majeed, M., Khan, M. A., and Mughal, A. H. (2009). Vegetative propagation of *Aesculus indica* through stem cuttings treated with plant growth regulators. *Journal of Forestry Research*, 20(2), 171-173. doi: 10.1007/s11676-009-0031-1.
- Makouanzi, G., Bouvet, J. M., Denis, M., Saya, A., Mankessi, F., and Vigneron, P. (2014). Assessing the additive and dominance genetic effects of vegetative propagation ability in Eucalyptus-influence of modeling on genetic gain. *Tree Genetics and Genomes*, 10(5), 1243-1256. doi: 10.1007/s11295-014-0757-6.
- Mankessi, F., Saya, A. R., Toto, M., and Monteuiis, O. (2010). Propagation of *Eucalyptus urophylla* × *Eucalyptus grandis* clones by rooted cuttings: Influence of genotype and cutting type on rooting ability. *Propagation of Ornamental Plants*, 10(1), 42-49. ISSN: 556145.
- MAPM. (2013). Arrêté du ministre de l'agriculture et de la pêche maritime n°2940-13 du 17 hijra 1434 (23 octobre 2013) portant homologation du règlement technique relatif à la production et au contrôle des plants standards d'arganier. 6 p.
- Marchant, A., Bhalerao, R., Casimiro, I., Eklöf, J., Casero, P. J., Bennett, M., and Sandberg, G. (2002). AUX1 promotes lateral root formation by facilitating indole-3-acetic acid distribution between sink and source tissues in the *Arabidopsis* seedling. *The Plant Cell*, 14(3), 589-597. doi: 10.1105/tpc.010354.
- Markovic, S. J., Brown, S. G., and Klett, J. E. (2020). Effects of growth substrate and container size on cutting production from mojave sage stock plants. *HortTechnology*, 30(4), 528-531. doi: 10.21273/horttech04620-20.
- Martin, B. (1976). Le bouturage des arbres forestiers. *Revue Forestière Française*, 29(4), 245-262. doi: 10.4267/2042/21142.
- Martinka, M., Dolan, L., Pernas, M., Abe, J., and Lux, A. (2012). Endodermal cell-cell contact is required for the spatial control of Casparian band development in *Arabidopsis thaliana*. *Annals of botany*, 110(2), 361-371. doi: 10.1093/aob/mcs110.
- Marzen, M., Kirchhoff, M., Marzloff, I., Aït Hssaine, A., and Ries, J. B. (2020). Relative quantification of wind erosion in argan woodlands in the Souss Basin, Morocco. *Earth Surface Processes and Landforms*, 45(15), 3808-3823. doi: 10.1002/esp.5002.
- Mason, J. (2004). Nursery management. *CSIRO Publishing*, 2nd edition, 320 p. ISBN: 978-0643090248.
- Mateo-Bonmatí, E., Casanova-Sáez, R., and Ljung, K. (2019). Epigenetic regulation of auxin homeostasis. *Biomolecules*, 9(10), 623. doi: 10.3390/biom9100623.

- Mayer, N. A., Ueno, B., Rickes, T. B., and de Resende, M. V. L. A. (2020). Cloning of rootstock selections and *Prunus* spp. cultivars by softwood cuttings. *Scientia Horticulturae*, 273, 109609. doi: 10.1016/j.scienta.2020.109609.
- McAtee, P., Karim, S., Schaffer, R. J., and David, K. (2013). A dynamic interplay between phytohormones is required for fruit development, maturation, and ripening. *Frontiers in Plant Science*, 4, 79. doi: 10.3389/fpls.2013.00079.
- McGroarty, M. J. (2006). Easy Plant Propagation. *AuthorHouse*, 116 p. ISBN: 978-1425985684.
- Médail, F., and Quézel, P. (1999). The phytogeographical significance of SW Morocco compared to the Canary Islands. *Plant Ecology*, 140(2), 221-244. doi: 10.1023/a:1009775327616.
- Médail, F., Quezel, P., Besnard, G., and Khadari, B. (2001). Systematics, ecology and phylogeographic significance of *Olea europaea* L. ssp. *maroccana* (Greuter & Burdet) P. Vargas et al., a relictual olive tree in south-west Morocco. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 137(3), 249-266. doi: 10.1111/j.1095-8339.2001.tb01121.x.
- Mellado, J. (1989). SOS Souss: argan forest destruction in Morocco. *Oryx*, 23(2), 87-93. doi: 10.1017/s0030605300022754.
- Meng, D., Walsh, M., and Fricke, W. (2016). Rapid changes in root hydraulic conductivity and aquaporin expression in rice (*Oryza sativa* L.) in response to shoot removal-xylem tension as a possible signal. *Annals of botany*, 118(4), 809-819. doi: 10.1093/aob/mcw150.
- Mesén, F., Newton, A. C., and Leakey, R. R. B. (1997). Vegetative propagation of *Cordia alliodora* (Ruiz and Pavon) Oken: the effects of IBA concentration, propagation medium and cutting origin. *Forest Ecology and Management*, 92(1-3), 45-54. doi: 10.1016/S0378-1127(96)03960-6.
- Mesplède, J. (2013). Chimie organique PC. *Editions Bréal*, 413 p. ISBN: 978-2749504094.
- Meunier, Q., R. Bellefontaine, J.M. Boffa et N. Bitahwa, (2006). Low-cost vegetative propagation of trees and shrubs. Technical Handbook for Ugandan rural communities. *Cirad - Agritrop*, 67 p. ISSN: 536234.
- Michniewicz, M., Brewer, P. B., and Friml, J. (2007). Polar auxin transport and asymmetric auxin distribution. *The Arabidopsis Book/American Society of Plant Biologists*, 5. doi: 10.1199/tab.0108.
- Mikkelsen, M. D., Naur, P., and Halkier, B. A. (2004). Arabidopsis mutants in the C-S lyase of glucosinolate biosynthesis establish a critical role for indole-3-acetaldoxime in auxin homeostasis. *The Plant Journal*, 37(5), 770-777. doi: 10.1111/j.1365-313x.2004.02002.x.
- Miller, C. R., Ochoa, I., Nielsen, K. L., Beck, D., and Lynch, J. P. (2003). Genetic variation for adventitious rooting in response to low phosphorus availability: potential utility for phosphorus acquisition from stratified soils. *Functional Plant Biology*, 30(9), 973-985. doi: 10.1071/fp03078.
- Mirghani, M. E. S., Man, Y. C., Jinap, S., Baharin, B. S., and Bakar, J. (2003). Application of FTIR spectroscopy in determining sesamol in sesame seed oil. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 80(1), 1-4. doi: 10.1007/s11746-003-0640-1.
- Mockaitis, K., and Estelle, M. (2008). Auxin receptors and plant development: a new signaling paradigm. *Annual Review of Cell and Developmental Biology*, 24, 55-80. doi: 10.1146/annurev.cellbio.23.090506.123214.
- Monfalouti, H. E., Guillaume, D., Denhez, C., and Charrouf, Z. (2010). Therapeutic potential of argan oil: a review. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 62(12), 1669-1675. doi: 10.1111/j.2042-7158.2010.01190.x.
- Montera, L., and Nicoletti, M. C. (2008). The PCR primer design as a metaheuristic search process. In *International Conference on Artificial Intelligence and Soft Computing*. Springer, Berlin, Heidelberg, 963-973. doi: 10.1007/978-3-540-69731-2_91.

- Monteuuis, O. (1989). Méristèmes, vieillissement et clonage d'arbres forestiers. *Annales de Recherches Sylvicoles*, 7-40.
- Morris, M. D., Berger, A. J., and Mahadevan-Jansen, A. (2005). Infrared and Raman spectroscopy. *Journal of biomedical optics*, 10(3), 031101. doi: 10.1117/1.1906246.
- Morte, A., and Varma, A. (2014). Root engineering. *Springer*, London, UK, 2020(10), 2411 p. ISBN: 978-3642542756.
- Morton, J. F., and Voss, G. L. (1987). The argan tree (*Argania sideroxylon*, Sapotaceae), a desert source of edible oil. *Economic Botany*, 41(2), 221-233. doi: 10.1007/BF02858970.
- Moukal, A. (2004). L'arganier, *Argania spinosa* L.(skeels), usage thérapeutique, cosmétique et alimentaire. *Phytothérapie*, 2(5), 135-141. doi: 10.1007%2fs10298-004-0041-2.
- Moukrim, S., Lahssini, S., Mharzi Alaoui, H., Rifai, N., Arahou, M., and Rhazi, L. (2018). Modélisation de la distribution spatiale des espèces endémiques pour leur conservation : cas de l'*Argania spinosa* (L.) Skeels. *Revue d'écologie*. ISSN: 2429-6422.
- Movasaghi, Z., Rehman, S., and Rehman, D. I. (2008). Fourier transform infrared (FTIR) spectroscopy of biological tissues. *Applied Spectroscopy Reviews*, 43(2), 134-179. doi: 10.1080/05704920701829043.
- Mravec, J., Skůpa, P., Bailly, A., Hoyerová, K., Křeček, P., Bielach, A., ... and Friml, J. (2009). Subcellular homeostasis of phytohormone auxin is mediated by the ER-localized PIN5 transporter. *Nature*, 459(7250), 1136-1140. doi: 10.1038/nature08066.
- Msanda F. (1993). Écologie et cartographie des groupements végétaux d'Anzi (Anti-Atlas occidental, Maroc) et contribution à l'étude de la diversité génétique de l'arganier. Thèse de doctorat, Université de Joseph Fourier, Grenoble I, France, 116 p.
- Msanda, F., El Aboudi, A., and Peltier, J. P. (2002). "Originalité de la flore et de la végétation de l'Anti-Atlas sud-occidental (Maroc)." *Feddes Repertorium: Zeitschrift für botanische Taxonomie und Geobotanik*, 113.7-8, 603-615. doi: 10.1002/fedr.200290008.
- Msanda, F., El Aboudi, A., and Peltier, J. P. (2005). Biodiversité et biogéographie de l'arganeraie marocaine. *Cahiers Agricultures*, 14(4), 357-364.
- Msanda, F., Mayad, E.H. and Furze, J.N. (2021). Floristic biodiversity, biogeographical significance, and importance of Morocco's Arganeraie Biosphere Reserve. *Environmental Science and Pollution Research*. 1-10. doi: 10.1007/s11356-020-11936-0.
- Mulkey, T. J., Kuzmanoff, K. M., and Evans, M. L. (1982). Promotion of growth and hydrogen ion efflux by auxin in roots of maize pretreated with ethylene biosynthesis inhibitors. *Plant Physiology*, 70(1), 186-188. doi: 10.1104/pp.70.1.186.
- Muñoz-Gutiérrez, L., Vargas-Hernández, J. J., López-Upton, J., and Soto-Hernández, M. (2009). Effect of cutting age and substrate temperature on rooting of *Taxus globosa*. *New forests*, 38(2), 187-196. doi:10.1007/s11056-009-9139-6.
- Murphy, D. (2011). Plants, biotechnology and agriculture. *CABI Publishing*, 320 p. ISBN: 978-1845939137.
- Naija, S., Elloumi, N., Jbir, N., Ammar, S., and Kevers, C. (2008). Anatomical and biochemical changes during adventitious rooting of apple rootstocks MM 106 cultured *in vitro*. *Comptes Rendus Biologies*, 331(7), 518-525. doi: 10.1016/j.crv.2008.04.002.
- Nandiyanto, A. B. D., Oktiani, R., and Ragadhita, R. (2019). How to read and interpret FTIR spectroscopy of organic material. *Indonesian Journal of Science and Technology*, 4(1), 97-118. doi: 10.17509/ijost.v4i1.15806.
- Napier, R. M. (2005). TIRs of joy: new receptors for auxin. *Bioessays*, 27(12), 1213-1217. doi: 10.1002/bies.20329.
- Nelson, W. (2003). Propagating plantation trees from cuttings in containers, *Managment LTD*, 888, 36 p.

- Newton, A. C., and Jones, A. C. (1993). The water status of leafy cuttings of four tropical tree species in mist and non-mist propagation systems. *Journal of Horticultural Science*, 68(5), 653-663. doi: 10.1080/00221589.1993.11516397.
- Nouaïm, R. (1994). Ecologie microbienne des sols d'arganeraies : Activités microbiologiques des sols et rôle des endomycorhizes dans la croissance et la nutrition de l'arganier (*Argania spinosa* (L.) Skeels). ES Sciences Thesis, *Université Ibnou Zohr, Agdir*. tel-02852006.
- Nouaïm, R. (2005). L'Arganier au Maroc : entre mythes et réalités : une civilisation née d'un arbre. *Harmattan*. 230 p. ISBN: 978-2747584531.
- Nouaïm, R., and Chaussod, R. (1994). Mycorrhizal dependency of micropropagated argan tree (*Argania spinosa*): I. Growth and biomass production. *Agroforestry Systems*, 27(1), 53-65. doi: 10.1007/bf00704834.
- Nouaïm, R., and Chaussod, R. (1997). Effet de la mycorhization contrôlée sur la croissance de l'arganier (*Argania spinosa*) après sa transplantation en sol non désinfecté. *Al Awamia*, 96, 65-76. ISSN: 0572-2721.
- Nouaïm, R., and Chaussod, R. (2007). L'arganier et ses champignons. *Pour la Science*, 360, 76-80.
- Nouaïm, R., Chaussod, R., El Aboudi, A., Schnabel, C., and Peltier, J. P. (1991). L'arganier. Essai de synthèse des connaissances sur cet arbre. Groupe d'étude de l'arbre, editor. *Physiologie des arbres et arbustes en zones arides et semi arides*, 373-388.
- Nouaïm, R., Echairi, A., Kaaya, M., and Chaussod, R. (2007). Contribution à la domestication de l'arganier pour la production d'huile. *Cahiers Agricultures*, 16(3), 199-204. doi: 10.1684/agr.2007.0098.
- Nouaïm, R., Mangin, G., Breuil, M. C., and Chaussod, R. (2002). The argan tree (*Argania spinosa*) in Morocco: Propagation by seeds, cuttings and *in-vitro* techniques. *Agroforestry Systems*, 54(1), 71-81. doi: 10.1023/a:1014236025396.
- Okunlola, A. I. (2013). The effects of cutting types and length on rooting of *Duranta Repens* in the nursery. *Global Journal of Human-Social Science Research*, 13(3), 1-4. doi: 10.5897/ajps2019.1851.
- Oliveros-Valenzuela, M. R., Reyes, D., Sánchez-Bravo, J., Acosta, M., and Nicolás, C. (2007). The expression of genes coding for auxin carriers in different tissues and along the organ can explain variations in auxin transport and the growth pattern in etiolated lupin hypocotyls. *Planta*, 227(1), 133-142. doi: 10.1007/s00425-007-0601-4.
- Olsen, S. R. (1954). Estimation of available phosphorus in soils by extraction with sodium bicarbonate (No. 939). US Department of Agriculture, *Forgotten Books*, 24 p. ISBN: 978-1391307107.
- Otiende, M. A., Nyabundi, J. O., Ngamau, K., and Opala, P. (2017). Effects of cutting position of rose rootstock cultivars on rooting and its relationship with mineral nutrient content and endogenous carbohydrates. *Scientia Horticulturae*, 225(1), 204-212. doi: 10.1016/j.scienta.2017.07.009.
- Oussama, A., Elabadi, F., and Devos, O. (2012). Analysis of argan oil adulteration using infrared spectroscopy. *Spectroscopy Letters*, 45(6), 458-463. doi: 10.1080/00387010.2011.639121.
- Oussama, A., Elabadi, F., Barka, N., Mahjoubi, F. Z., and Kzaiber, F. (2021). Classification of the geographical origin of argan kernels by infrared spectroscopy and chemometrics. *Egyptian Journal of Chemistry*. 64(6), 2-3. doi: 10.21608/ejchem.2021.54218.3125.
- Ouyang, F., Wang, J., and Li, Y. (2015). Effects of cutting size and exogenous hormone treatment on rooting of shoot cuttings in Norway spruce (*Picea abies* (L.) Karst.). *New Forests*, 46(1), 91-105. doi: 10.1007/s11056-014-9449-1.

- Ouyang, J., Shao, X., and Li, J. (2000). Indole-3-glycerol phosphate, a branchpoint of indole-3-acetic acid biosynthesis from the tryptophan biosynthetic pathway in *Arabidopsis thaliana*. *The Plant Journal*, 24(3), 327-334. doi: 10.1046/j.1365-313x.2000.00883.x.
- Owusu, S. A., Opuni-Frimpong, E., and Antwi-Boasiako, C. (2014). Improving regeneration of mahogany: techniques for vegetative propagation of four African mahogany species using leafy stem cuttings. *New forests*, 45(5), 687-697. doi: 10.1007/s11056-014-9431-y.
- Paciorek, T., and Friml, J. (2006). Auxin signaling. *Journal of Cell Science*, 119(7), 1199-1202. doi: 10.1242/jcs.02910.
- Palanisamy, K., and Kumar, P. (1997). Effect of position, size of cuttings and environmental factors on adventitious rooting in neem (*Azadirachta indica* A. Juss). *Forest Ecology and Management*, 98(3), 277-280. doi: 10.1016/s0378-1127(97)00116-3.
- Pansu, M., Gautheyrou, J., Aventurier, A., Feller, C., and Bottner, P. (2003). L'analyse du sol: minéralogique, organique et minérale. *Springler-Verlag, France*, 993 p. ISBN: 978-2287597749.
- Parker, R. (2009). Plant and soil science: Fundamentals and applications. *Cengage Learning*, 480 p. ISBN: 978-1428334809.
- Peer, K. R., and Greenwood, M. S. (2001). Maturation, topophysis and other factors in relation to rooting in *Larix*. *Tree physiology*, 21(4), 267-272. doi: 10.1093/treephys/21.4.267.
- Peltier, J. P. (1983). Ecologie de quelques espèces climatiques dans le Souss (Maroc Occidental). *Documents de cartographie Grenoble*, 26, 61-82.
- Pěňčík, A., Simonovik, B., Petersson, S. V., Henyková, E., Simon, S., Greenham, K., ... and Ljung, K. (2013). Regulation of auxin homeostasis and gradients in *Arabidopsis* roots through the formation of the indole-3-acetic acid catabolite 2-oxindole-3-acetic acid. *The Plant Cell*, 25(10), 3858-3870. doi: 10.1105/tpc.113.114421.
- Peng, J., Ge, L., Wang, Y., and Chen, R. (2013). Signaling and transport of auxin and plant development. *Polar Auxin Transport*, 239-258. doi: 10.1007/978-3-642-35299-7.
- Penner, M.H. (2010) Basic Principles of Spectroscopy. In: Food Analysis. *Springer*, Boston, MA, 375-385. doi: 10.1007/978-1-4419-1478-1_21.
- Péret, B., De Rybel, B., Casimiro, I., Benková, E., Swarup, R., Laplaze, L., ... and Bennett, M. J. (2009). *Arabidopsis* lateral root development: an emerging story. *Trends in Plant Science*, 14(7), 399-408. doi: 10.1016/j.tplants.2009.05.002.
- Pérez-Tornero, O., and Burgos, L. (2000). Different media requirements for micropropagation of apricot cultivars. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 63(2), 133. doi: 10.1023/a:1006430718024.
- Perry, W. (2020). Social sustainability and the argan boom as green development in Morocco. *World Development Perspectives*, 20, 100238. doi: 10.1016/j.wdp.2020.100238.
- Petersson, S. V., Johansson, A. I., Kowalczyk, M., Makoveychuk, A., Wang, J. Y., Moritz, T., ... and Ljung, K. (2009). An auxin gradient and maximum in the *Arabidopsis* root apex shown by high-resolution cell-specific analysis of IAA distribution and synthesis. *The Plant Cell*, 21(6), 1659-1668. doi: 10.1105/tpc.109.066480.
- Petrášek, J., and Friml, J. (2009). Auxin transport routes in plant development. *Development*, 136(16), 2675-2688. doi: 10.1242/dev.030353.
- Platteborze, A. (1977). Le bouturage des arbres forestiers au Maroc. Bilan des essais réalisés en 1975 et 1976. *Annales de la Recherche Forestière au Maroc*. 17, 145-190.
- Poitras, E., and Houde, A. (2002). La PCR en temps réel : principes et applications. *Reviews in Biology and Biotechnology*, 2(2), 2-11.
- Prabucki, A., Serek, M., and Andersen, A. S. (1999). Influence of salt stress on stock plant growth and cutting performance of *Chrysanthemum morifolium* Ramat. *The Journal of Horticultural Science and Biotechnology*, 74(1), 132-134. doi: 10.1080/14620316.1999.11511085.

- Prat, L., Botti, C., and Palzkill, D. (1998). Rooting of *jojoba* cuttings: the effect of clone, substrate composition and temperature. *Industrial Crops and Products*, 9(1), 47-52. doi: 10.1016/S0926-6690(98)00013-2.
- Pumareda, L., Henry, F., Charrouf, Z., Pauly, G., and Falconnet, G. (2006). Valorisation des feuilles d'arganier : impacto ambiental. *Bois and Forêts des Tropiques*, 287(287), 35-44. doi: 10.19182/bft2006.287.a20321.
- Puri, S., and Thompson, F. B. (2003). Relationship of water to adventitious rooting in stem cuttings of *Populus* species. *Agroforestry Systems*, 58(1), 1-9. doi: 10.1023/a:1025494221846.
- Ragonezi, C., Klimaszewska, K., Castro, M. R., Lima, M., de Oliveira, P., and Zavattieri, M. A. (2010). Adventitious rooting of conifers: influence of physical and chemical factors. *Trees*, 24(6), 975-992. doi: 10.1007/s00468-010-0488-8.
- Ramirez-Carvajal, G. A., and Davis, J. M. (2010). Cutting to the base: Identifying regulators of adventitious rooting. *Plant Signaling and Behavior*, 5(3), 281-283. doi: 10.4161/psb.5.3.10705.
- Rammal, H., Bouayed, J., Younos, C., and Soulimani, R. (2009). Notes ethnobotanique et phytopharmacologique d'*Argania spinosa* L. *Phytothérapie*, 7(3), 157-160. doi: 10.1007/s10298-009-0386-7.
- Rampey, R. A., LeClere, S., Kowalczyk, M., Ljung, K., Sandberg, G., and Bartel, B. (2004). A family of auxin-conjugate hydrolases that contributes to free indole-3-acetic acid levels during *Arabidopsis* germination. *Plant Physiology*, 135(2), 978-988. doi: 10.1104/pp.104.03.9677.
- Rapaka, V. K., Bessler, B., Schreiner, M., and Druge, U. (2005). Interplay between initial carbohydrate availability, current photosynthesis, and adventitious root formation in *Pelargonium* cuttings. *Plant Science*, 168(6), 1547-1560. doi: 10.1016/j.plantsci.2005.02.006.
- Rasmussen, A., and Hunt, M. A. (2010). Ageing delays the cellular stages of adventitious root formation in pine. *Australian Forestry*, 73(1), 41-46. doi: 10.1080/00049158.2010.10676308
- Riaublanc, A., Bertrand, D., and Dufour, E. (2006). Lipides. In : La spectroscopie infrarouge et ses applications analytiques. *Lavoisier*, Paris, France, 2nd edition, 142-171660 p. ISBN-13 : 978-2743008093.
- Richard, D., Barbe, L., Morel, L., Nattier, R., Prat, R., and Vergnaud, A. (2019). Mémo visuel de biologie végétale. *Dunod*. 216 p. ISBN: 978-2100780280.
- Robertson, J. M., and Walsh-Weller, J. (1998). An introduction to PCR primer design and optimization of amplification reactions. In: Forensic DNA profiling protocols. *Humana Press*, 121-154. doi: 10.1385/0-89603-443-7:121.
- Rodriguez-Saona, L. E., Koca, N. U. R. C. A. N., Harper, W. J., and Alvarez, V. B. (2006). Rapid determination of Swiss cheese composition by Fourier transform infrared/attenuated total reflectance spectroscopy. *Journal of Dairy Science*, 89(5), 1407-1412. doi: 10.3168/jds.S0022-0302(06)72209-3.
- Romagny, B., Boujrout, S., Ait Errays, N., and Benkhallouk, M. (2016). La filière" huile d'argan" au Maroc: construction, enjeux et perspectives. In : Berriane M. (dir.), Michon Geneviève (dir.). Les terroirs au Sud, vers un nouveau modèle ? : une expérience marocaine. *Faculté des Lettres et des Sciences Humaines*, Rabat, 271-289. ISBN: 978-2-7099-2243-2.
- Roosjen, M., Paque, S., and Weijers, D. (2018). Auxin response factors: output control in auxin biology. *Journal of experimental botany*, 69(2), 179-188. doi: 10.1093/jxb/erx237.
- Rosquete, M. R., Barbez, E., and Kleine-Vehn, J. (2012). Cellular auxin homeostasis: gatekeeping is housekeeping. *Molecular plant*, 5(4), 772-786. doi: 10.1093/mp/ssr109.

- Rout, G. R. (2006). Effect of auxins on adventitious root development from single node cuttings of *Camellia sinensis* (L.) Kuntze and associated biochemical changes. *Plant Growth Regulation*, 48(2), 111-117. doi: 10.1007/s10725-005-5665-1.
- Ruedell, C. M., de Almeida, M. R., Schwambach, J., Posenato, C. F., and Fett-Neto, A. G. (2013). Pre and post-severance effects of light quality on carbohydrate dynamics and microcutting adventitious rooting of two *Eucalyptus* species of contrasting recalcitrance. *Plant Growth Regulation*, 69(3), 235-245. doi: 10.1007/s10725-012-9766-3.
- Ryan, P. R., Delhaize, E., Watt, M., and Richardson, A. E. (2016). Plant roots: understanding structure and function in an ocean of complexity. *Annals of Botany*, 118(4), 555–559. doi: 10.1093/aob/mcw192.
- Rychlik, W. (1995). Selection of primers for polymerase chain reaction. *Molecular Biotechnology*, 3(2), 129-134. doi: 10.1007/BF02789108.
- Sadhu, M.K. (1994). Plant Propagation. *John Wiley and Sons*, 296 p. ISBN: 978-8122400656.
- Saiki, R. K. (1989). The design and optimization of the PCR. In : *PCR Technology*. Palgrave Macmillan, London, UK, 7-16. doi: 10.1007/978-1-349-20235-5_1.
- Sairanen, I., Novák, O., Pěnčík, A., Ikeda, Y., Jones, B., Sandberg, G., and Ljung, K. (2012). Soluble carbohydrates regulate auxin biosynthesis via PIF proteins in *Arabidopsis*. *The Plant Cell*, 24(12), 4907-4916. doi: 10.1105/tpc.112.104794.
- Sánchez-García, A. B., Ibáñez, S., Cano, A., Acosta, M., and Pérez-Pérez, J. M. (2018). A comprehensive phylogeny of auxin homeostasis genes involved in adventitious root formation in carnation stem cuttings. *PloS One*, 13(4). doi: 10.1371/journal.pone.0196663.
- Sarkar, A. (2009). Plant stem cells. *Discovery Publishing House*, 324 p. ISBN: 978-8183564076.
- Sarmiento, A., Pérez-Alonso, M., Olivares, M., Castro, K., Martínez-Arkarazo, I., Fernández, L. A., and Madariaga, J. M. (2011). Classification and identification of organic binding media in artworks by means of Fourier transform infrared spectroscopy and principal component analysis. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 399(10), 3601-3611. doi: 10.1007/s00216-011-4677-0.
- Sauer, M., and Kleine-Vehn, J. (2011). Auxin binding protein1: the outsider. *The Plant Cell*, 23(6), 2033-2043. doi: 10.1105/tpc.111.087064.
- Sauer, M., Robert, S., and Kleine-Vehn, J. (2013). Auxin: simply complicated. *Journal of Experimental Botany*, 64(9), 2565-2577. doi: 10.1093/jxb/ert139.
- Sbay, H. and Lamhamedi, M.S. (2015). Guide pratique de multiplication végétative des espèces forestières et agroforestières : Techniques de valorisation et de conservation des espèces à usages multiples face aux changements climatiques en Afrique du Nord. *Centre de Recherche Forestière*, 124 p. ISBN: 978-9954-36-767-4.
- Schmidt, W. (2014). Root systems biology. *Frontiers in Plant Science*, 5, 215. doi: 10.3389/fpls.2014.00215.
- Schmitz, D., Anlauf, R., and Rehrmann, P. (2013). Effect of air content on the oxygen diffusion coefficient of growing media. *American Journal of Plant Sciences*, 4(05), 955. doi: 10.4236/ajps.2013.45118 P.
- Schopfer, P. (2001). Hydroxyl radical-induced cell-wall loosening *in vitro* and *in vivo*: implications for the control of elongation growth. *The Plant Journal*, 28(6), 679-688. doi: 10.1046/j.1365-313x.2001.01187.x.
- Schrader, J., Baba, K., May, S. T., Palme, K., Bennett, M., Bhalerao, R. P., and Sandberg, G. (2003). Polar auxin transport in the wood-forming tissues of hybrid aspen is under simultaneous control of developmental and environmental signals. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 100(17). doi: 10096-10101.

- Schvartz, C., Decroux, J., and Muller, J. C. (2005). Guide de la fertilisation raisonnée : grandes cultures et prairies. *France Agricole Editions*, 416 p. ISBN: 978-2855571201.
- Schwambach, J., Fadanelli, C., and Fett-Neto, A. G. (2005). Mineral nutrition and adventitious rooting in microcuttings of *Eucalyptus globulus*. *Tree Physiology*, 25(4), 487-494. doi: 10.1093/treephys/25.4.487.
- Sellal, Z., Mouden, N., Selmaoui, K., Dahmani, J., Benkirane, R., and Douira, A. (2017). Effect of an endomycorrhizal inoculum on the growth of Argan tree. *International Journal of Environment, Agriculture and Biotechnology*, 2(2), 238749. doi: 10.22161/ijeab/2.2.47.
- Seo, P. J., and Park, C. M. (2009). Auxin homeostasis during lateral root development under drought condition. *Plant Signaling and Behavior*, 4(10), 1002-1004. doi: 10.4161/psb.4.10. 9716.
- Servant, L., Le Bourdon, G., and Buffeteau, T. (2011). Comprendre la spectroscopie infrarouge: principes et mise en oeuvre. *Photoniques*, (53), 68-73. doi: 10.1051/photon/20115368.
- Shah M, Khattak A.M., and Amin, N. (2006). Effect of different growing media on the rooting of *Ficus binnendijkii* 'Amstel Queen' cuttings. *Journal of Agricultural and Biological Science*, 1(3), 15-17. ISSN: 1990-6145.
- Sharma, Y. R. (2007). Elementary organic spectroscopy. *Chand Publishing*. 356 p. ISBN: 9788121928847.
- Shepherd, M., Mellick, R., Toon, P., Dale, G., and Dieters, M. (2005). Genetic control of adventitious rooting on stem cuttings in two *Pinus elliottii* × *Pinus caribaea* hybrid families. *Annals of Forest Science*, 62(5), 403-412. doi: 10.1051/forest:2005036.
- Shry, C., and Reiley, E. (2016). Introductory horticulture. *Cengage Learning*, 9th edition, 800 p. ISBN: 978-1285424729.
- Siesler, H. W., Ozaki, Y., Kawata, S., and Heise, H. M. (2008). Near-infrared spectroscopy: principles, instruments, applications. *John Wiley and Sons*, 361 p. ISBN: 978-3527301492.
- Singh, B., and Rawat, J. M. S. (2017). Effects of cutting types and hormonal concentration on vegetative propagation of *Zanthoxylum armatum* in Garhwal Himalaya, India. *Journal of Forestry Research*, 28(2), 419-423. doi: 10.1007/s11676-016-0286-2.
- Singh, V. K., and Kumar, A. (2001). PCR primer design. *Molecular Biology Today*, 2(2), 27-32.
- Sinsin, T. E., Aboudi, A. E., and Mounir, F. (2020). Conservation, valuation and sustainable development issues of the Argan Tree Biosphere Reserve in Morocco. *Environmental and Socio-economic Studies*, 8(1), 28-35. doi: 10.2478/environ-2020-0004.
- Skalický, V., Kubeš, M., Napier, R., and Novák, O. (2018). Auxins and cytokinins the role of subcellular organization on homeostasis. *International Journal of Molecular Sciences*, 19(10), 3115. doi: 10.3390/ijms19103115.
- Skoog, D. A., Holler, F. J., et Nieman, T. A. (2015). Principes d'analyse instrumentale. *De Boeck Supérieur*, 956 p. ISBN: 978-2744501128.
- Skoog, D. A., West, D. M., Holler, F. J., and Crouch, S. R. (2013). Fundamentals of analytical chemistry. *Cengage Learning*, 9th edition, 1072 p. ISBN: 978-0495558286.
- Smith, N. G., and Wareing, P. F. (1972). The distribution of latent root primordia in stems of *Populus robusta*, and factors affecting the emergence of preformed roots from cuttings. *Forestry: An International Journal of Forest Research*, 45(2), 197-209. doi: 10.1093/forestry/45.2.197.
- Smith, R. S., and Bayer, E. M. (2009). Auxin transport-feedback models of patterning in plants. *Plant, Cell and Environment*, 32(9), 1258-1271. doi: 10.1111/j.1365-3040.2009.01997.x.
- Soh, W. Y., and Bhojwani, S. S. (2013). Morphogenesis in plant tissue cultures. *Springer Science and Business Media*, 520 p. ISBN: 978-0792356820.

- Sorin, C., Bussell, J. D., Camus, I., Ljung, K., Kowalczyk, M., Geiss, G., ... and Bellini, C. (2005). Auxin and light control of adventitious rooting in *Arabidopsis* require Argonaute1. *The Plant Cell*, 17(5), 1343-1359. doi: 10.1105/tpc.105.031625.
- Staswick, P. E., Serban, B., Rowe, M., Tiriyaki, I., Maldonado, M. T., Maldonado, M. C., and Suza, W. (2005). Characterization of an *Arabidopsis* enzyme family that conjugates amino acids to indole-3-acetic acid. *The Plant Cell*, 17(2), 616-627. doi: 10.1105/tpc.104.026690.
- Steffens, B., and Rasmussen, A. (2016). The physiology of adventitious roots. *Plant Physiology*, 170(2), 603-617. doi: 10.1104/pp.15.01360.
- Steffens, B., Wang, J., and Sauter, M. (2006). Interactions between ethylene, gibberellin and abscisic acid regulate emergence and growth rate of adventitious roots in deep water rice. *Planta*, 223(3), 604-612. doi: 10.1007/s00425-005-0111-1.
- Stenvall, N., Haapala, T., and Pulkkinen, P. (2004). Effect of genotype, age and treatment of stock plants on propagation of hybrid aspen (*Populus tremula* × *Populus tremuloides*) by root cuttings. *Scandinavian Journal of Forest Research*, 19(4), 303-311. doi: 10.1080/02827580410024115.
- Steward, F. C. (2012). Plant Physiology. A Treatise: Water and Solutes in Plants. *Academic Press*, 9, 611 p. ISBN: 978-0126686098.
- Stewart, A. (2012). Let's Propagate: A plant propagation manual for Australia. *Allen and Unwin*, 336 p. ISBN: 978-1742375816.
- Stone, S. L., Braybrook, S. A., Paula, S. L., Kwong, L. W., Meuser, J., Pelletier, J., ... and Harada, J. J. (2008). *Arabidopsis* leafy cotyledon induces maturation traits and auxin activity: implications for somatic embryogenesis. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 105(8), 3151-3156. doi: 10.1073/pnas.0712364105.
- Stuart, B. H. (2006). Infrared spectroscopy of biological applications. *Encyclopedia of Analytical Chemistry: Applications, Theory and Instrumentation*. doi: 10.1002/9780470027318.a0208.
- Suggs, S. V., Hirose, T., Miyake, E. H., Kawashima, M. J., Johnson, K. I. and Wallace, R. B. (1981). In DD Brown, ICN-UCLA Symp. Dev. Biol. Using Purified Genes. *Academic Press Inc*, New York, 23, 683-693. doi: 10.1385/0-89603-443-7:121.
- Sugimoto, K., Gordon, S. P., and Meyerowitz, E. M. (2011). Regeneration in plants and animals: dedifferentiation, transdifferentiation, or just differentiation?. *Trends in Cell Biology*, 21(4), 212-218. doi: 10.1016/j.tcb.2010.12.004.
- Sulusoglu, M. E. L. E. K. B. E. R., and Cavusoglu, A. (2010). Vegetative propagation of Cherry laurel (*Prunus laurocerasus* L.) using semi-hardwood cuttings. *African Journal of Agricultural Research*, 5(23), 3196-3202. doi: 10.5897/ajar10.554.
- Svendsen, C. N., and Ebert, A. D. (2008). *Encyclopedia of stem cell research*. *Sage Publications*, 952 p. ISBN: 978-1412959087.
- Swarts, A., Matsiliza-Mlathi, B., and Kleynhans, R. (2018). Rooting and survival of *Lobostemon fruticosus* (L) H. Buek stem cuttings as affected by season, media and cutting position. *South African Journal of Botany*, 119, 80-85. doi: 10.1016/j.sajb.2018.08.019.
- Szymanowska-Pułka, J., Potocka, I., Karczewski, J., Jiang, K., Nakielski, J., and Feldman, L. J. (2012). Principal growth directions in development of the lateral root in *Arabidopsis thaliana*. *Annals of Botany*, 110(2), 491-501. doi: 10.1093/aob/mcs129.
- Taiz, L., and Zeiger, E. (2010). Plant Physiology, 5th edition, *Sinauer Associates Inc.*, *Sunderland*, 782 p. ISBN: 978-0878938667.
- Tam, Y. Y., Epstein, E., and Normanly, J. (2000). Characterization of auxin conjugates in *Arabidopsis*. Low steady-state levels of indole-3-acetyl-aspartate, indole-3-acetyl-glutamate, and indole-3-acetyl-glucose. *Plant Physiology*, 123(2), 589-596. doi: 10.1104/pp.123.2.589.

- Tarragó, J., Sansberro, P., Filip, R., López, P., González, A., Luna, C., and Mroginski, L. (2005). Effect of leaf retention and flavonoids on rooting of *Ilex paraguariensis* cuttings. *Scientia Horticulturae*, 103(4), 479-488. doi: 10.1016/j.scienta.2004.07.004.
- Tate, H. T., and Page, T. (2018). Cutting propagation of *Santalum austrocaledonicum*: the effect of genotype, cutting source, cutting size, propagation medium, IBA and irradiance. *New Forests*, 1-20. doi: 10.1007/s11056-018-9638-4.
- Tchinda, N. D., Messi, H. J. C. M., Nzweundji, G., Tsabang, N., Dongmo, B., Oumar, D., ... and Ndoumou, D. O. (2013). Improving propagation methods of *Ricinodendron heudelotti* Baill. from cuttings. *South African Journal of Botany*, 88, 3-9. doi: 10.1016/j.sajb.2013.04.015.
- Tchoundjeu, Z., and Leakey, R. R. B. (1996). Vegetative propagation of African mahogany: effects of auxin, node position, leaf area and cutting length. *New Forests*, 11(2), 125-136. doi: 10.1007/bf00033408.
- Tchoundjeu, Z., Avana, M. L., Leakey, R. R. B., Simons, A. J., Assah, E., Duguma, B., and Bell, J. M. (2002). Vegetative propagation of *Prunus africana*: effects of rooting medium, auxin concentrations and leaf area. *Agroforestry Systems*, 54(3), 183-192. doi: 10.1023/a:1016049004139.
- Teklehaimanot, Z., Mwang'Ingo, P. L., Mugasha, A. G., and Ruffo, C. K. (2004). Influence of the origin of stem cutting, season of collection and auxin application on the vegetative propagation of African Sandalwood (*Osyris lanceolata*) in Tanzania. *The Southern African Forestry Journal*, 201(1), 13-24. doi: 10.1080/20702620.2004.10431770.
- Tenenbaum, F. (2003). Taylor's encyclopedia of garden plants. *Houghton Mifflin Harcourt*, 1st edition, 464 p. ISBN: 978-0618226443.
- Teyssède, B. (2003). La vie invisible : les trois premiers milliards d'années de l'histoire de la vie sur terre. *Harmattan*, 482 p. ISBN: 978-2747532761.
- Thomas, P., and Schiefelbein, J. W. (2004). Roles of leaf in regulation of root and shoot growth from single node softwood cuttings of grape (*Vitis vinifera*). *Annals of Applied Biology*, 144(1), 27-37. doi: 10.1111/j.1744-7348.2004.tb00313.x.
- Thornton, B., and Basu, C. (2015). Rapid and simple method of qPCR primer design. In PCR Primer Design. Methods in Molecular Biology, *Humana Press*, New York, 1275, 173-179. doi: 10.1007/978-1-4939-2365-613.
- Thorup-Kristensen, K., and Kirkegaard, J. (2016). Root system-based limits to agricultural productivity and efficiency: the farming systems context. *Annals of Botany*, 118(4), 573-592. doi: 10.1093/aob/mcw122.
- Tian, H., Jia, Y., Niu, T., Yu, Q., and Ding, Z. (2014). The key players of the primary root growth and development also function in lateral roots in *Arabidopsis*. *Plant Cell Reports*, 33(5), 745-753. doi: 10.1007/s00299-014-1575-x.
- Tran, L. S. P., and Pal, S. (2014). Phytohormones: a window to metabolism, signaling and biotechnological applications. *Springer*, New York, 372 p. ISBN: 978-1493904907.
- Trigiano, R. N., and Gray, D. J. (2004). Plant development and biotechnology. *CRC Press*, 376 p. ISBN: 978-0849316142.
- Tromas, A., and Perrot-Rechenmann, C. (2010). Recent progress in auxin biology. *Comptes Rendus Biologies*, 333(4), 297-306. doi: 10.1016/j.crv.2010.01.005.
- Tromas, A., Paponov, I., and Perrot-Rechenmann, C. (2010). Auxin Binding Protein 1: functional and evolutionary aspects. *Trends in Plant Science*, 15(8), 436-446. doi: 10.1016/j.tplants.2010.05.001.
- Trueman, S. J., and Adkins, M. F. (2013). Effect of aminoethoxyvinylglycine and 1-methylcyclopropene on leaf abscission and root formation in *Corymbia* and *Eucalyptus* cuttings. *Scientia Horticulturae*, 161, 1-7. doi: 10.1016/j.scienta.2013.06.048.

- Tsipouridis, C., Thomidis, T., and Isaakidis, A. (2003). Rooting of peach hardwood and semi-hardwood cuttings. *Australian Journal of Experimental Agriculture*, 43(11), 1363-1368. doi: 10.1071/ea02153.
- Tural'chuk, P. A., Vendik, O. G., and Vendik, I. B. (2015). Propagation of electromagnetic waves in biological media: Refraction at interfaces. *Technical Physics Letters*, 41(3), 270-272. doi: 10.1134/s1063785015030281.
- Turner, B. (2021). Legal Pluralism in Infrastructural Designs: Alternative Supply Chains in the Moroccan Argan Oil Export. *Science, Technology, and Human Values*, 1-25. doi: 10.1177/01622439211042666.
- Valentine, T. A., Hallett, P. D., Binnie, K., Young, M. W., Squire, G. R., Hawes, C., and Bengough, A. G. (2012). Soil strength and macropore volume limit root elongation rates in many UK agricultural soils. *Annals of botany*, 110(2), 259-270. doi: 10.1093/aob/mcs118.
- Vanneste, S., and Friml, J. (2009). Auxin: a trigger for change in plant development. *Cell*, 136(6), 1005-1016. doi: 10.1016/j.cell.2009.03.001.
- Varma, A. (2008). Mycorrhiza: state of the art, genetics and molecular biology, eco-function, biotechnology, eco-physiology, structure and systematics. *Springer Science and Business Media*, 3rd edition, 832 p. ISBN: 978-3540788249.
- Vidal, N., Arellano, G., San-José, M. C., Vieitez, A. M., and Ballester, A. (2003). Developmental stages during the rooting of in-vitro-cultured *Quercus robur* shoots from material of juvenile and mature origin. *Tree physiology*, 23(18), 1247-1254. doi: 10.1093/treephys/23.18.1247.
- Villacorta-Martín, C., Sánchez-García, A. B., Villanova, J., Cano, A., van de Rhee, M., de Haan, J., ... and Pérez-Pérez, J. M. (2015). Gene expression profiling during adventitious root formation in carnation stem cuttings. *BMC Genomics*, 16(1), 789. doi: 10.1186/s12864-015-2003-5.
- Vlahov, G., Giuliani, A. A., and Del Re, P. (2010). ¹³C NMR spectroscopy for determining the acylglycerol positional composition of lampante olive oils. Chemical shift assignments and their dependence on sample concentration. *Analytical Methods*, 2(7), 916-923. doi: 10.1039/c0ay00028k.
- Wabnik, K., Kleine-Vehn, J., Govaerts, W., and Friml, J. (2011). Prototype cell-to-cell auxin transport mechanism by intracellular auxin compartmentalization. *Trends in Plant Science*, 16(9), 468-475. doi: 10.1016/j.tplants.2011.05.002.
- Walkley, A., and Black, I. A. (1934). Prüfung der Degtjareffschen Methode zur Bestimmung der organischen Substanz im Boden und ein Vorschlag zur Abänderung der Chromsäure-Titrationsmethode. *Soil Sci*, 37, 29-37. doi: 10.1097/00010694-193401000-00003.
- Wang, Q. (1991). Shoot multiplication of pear in double-phase medium culture. In: International Symposium on Plant Biotechnology and its Contribution to Plant Development, *Multiplication and Improvement*, 289, 349-350. doi: 10.17660/actahortic.1991.289.90.
- Wang, X., and Seed, B. (2003). A PCR primer bank for quantitative gene expression analysis. *Nucleic acids research*, 31(24), 154-154. doi: 10.1093/nar/gng154.
- Wei, G. L., and Zeng, E. Y. (2011). Gas chromatography-mass spectrometry and high-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry in quantifying fatty acids. *Trends in Analytical Chemistry*, 30(9), 1429-1436. doi: 10.1016/j.trac.2011.05.005.
- Weijers, D., and Friml, J. (2009). Snap Shot: auxin signaling and transport. *Cell*, 136(6), 1172-1172. doi: 10.1016/j.cell.2009.03.009.
- Wilson, P., and Staden, J. V. (1990). Rhizocaline, rooting co-factors, and the concept of promoters and inhibitors of adventitious rooting-a review. *Annals of Botany*, 66(4), 479-490. doi: 10.1093/oxfordjournals.aob.a088051.

- Wold, S., Esbensen, K., and Geladi, P. (1987). Principal component analysis. *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems*, 2(1-3), 37-52. doi: 10.1016/0169-7439(87)80084-9.
- Woodward, A. W., and Bartel, B. (2005a). A receptor for auxin. *The Plant Cell*, 17(9), 2425-2429. doi: 10.1105/tpc.105.036236.
- Woodward, A. W., and Bartel, B. (2005b). Auxin: regulation, action, and interaction. *Annals of Botany*, 95(5), 707-735. doi: 10.1093/aob/mci083.
- Workman JR, J. J., Mobley, P. R., Kowalski, B. R., and Bro, R. (1996). Review of chemometrics applied to spectroscopy. *Applied Spectroscopy Reviews*, 31(1-2), 73-124. doi: 10.1080/05704929608000565.
- Wu, Y., Ming, H., Xu, J., Bing, J., Chen, Q., Wang, Q., ... and Zhang, G. (2021). Cloning and functional characterization of auxin receptor TIR1 in *Gossypium hirsutum*. *Acta Physiologiae Plantarum*, 43(3), 1-11. ISSN: 0137-5881.
- Xue, Y., Zhang, W., Zhou, J., Ma, C., and Ma, L. (2013). Effects of stump diameter, stump height, and cutting season on *Quercus variabilis* stump sprouting. *Scandinavian Journal of Forest Research*, 28(3), 223-231. doi: 10.1080/02827581.2012.723742.
- Yadav, L. D. S. (2013). Organic spectroscopy. *Springer Science and Business Media*. 334 p. ISBN: 978-1-4020-2574-7.
- Yang, Y., Hammes, U. Z., Taylor, C. G., Schachtman, D. P., and Nielsen, E. (2006). High-affinity auxin transport by the AUX1 influx carrier protein. *Current Biology*, 16(11), 1123-1127. doi: 10.1016/j.cub.2006.04.029.
- Yookyung, K., David, S. H., and Sandra, E. K. (2007). ATR-Fourier Transform Midinfrared Spectroscopy for Determination of Trans Fatty Acids in Ground Cereal Products without Oil Extraction. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55, 4327-4333. doi: 10.1021/jf063729l.
- Yuryev, A. (2007). PCR primer design. *Springer Science and Business Media. Publisher*, 1st edition, 402, 446 p. ISBN: 978-1617377433.
- Zahidi, A., Bani-Aameur, F., and Mousadik, E. (2013). Morphological variability of the fruiting branches in *Argania spinosa*: Effects of seasonal variations, locality and genotype. *Journal of Horticulture and Forestry*, 5(10), 168-182. doi: 10.5897/jhf2013.0311.
- Zarebanadkouki, M., Meunier, F., Couvreur, V., Cesar, J., Javaux, M., and Carminati, A. (2016). Estimation of the hydraulic conductivities of lupine roots by inverse modelling of high-resolution measurements of root water uptake. *Annals of botany*, 118(4), 853-864. doi: 10.1093/aob/mcw154.
- Zažímalová, E., Murphy, A. S., Yang, H., Hoyerová, K., and Hošek, P. (2010). Auxin transporters-why so many?. *Cold Spring Harbor perspectives in biology*, 2(3), a001552. doi: 10.1101/cshperspect.a001552.
- Zažímalová, E., Petrášek, J., and Benková, E. (2014). Auxin and its role in plant development. *Springer*, Vienna, 452 p. ISBN: 978-3709115251.
- Zhang, Q., Liu, C., Sun, Z., Hu, X., Shen, Q., and Wu, J. (2012). Authentication of edible vegetable oils adulterated with used frying oil by Fourier Transform Infrared Spectroscopy. *Food Chemistry*, 132(3), 1607-1613. doi: 10.1016/j.foodchem.2011.11.129.
- Zhao, X., Dong, D., Zheng, W., Jiao, L., and Lang, Y. (2015). Discrimination of adulterated sesame oil using mid-infrared spectroscopy and chemometrics. *Food Analytical Methods*, 8(9), 2308-2314. doi: 10.1007/s12161-015-0125-7.
- Zhao, X., Dupont, L., Cheddadi, R., Kölling, M., Reddad, H., Groeneveld, J., ... and Bouimetarhan, I. (2019). Recent climatic and anthropogenic impacts on endemic species in southwestern Morocco. *Quaternary Science Reviews*, 221, 105889. doi: 10.1016/j.quascirev.2019.105889.

- Zhao, Y. (2010). Auxin biosynthesis and its role in plant development. *Annual Review of Plant Biology*, 61, 49-64. doi: 10.1146/annurev-arplant-042809-112308.
- Zhao, Y., Hull, A. K., Gupta, N. R., Goss, K. A., Alonso, J., Ecker, J. R., ... and Celenza, J. L. (2002). Trp-dependent auxin biosynthesis in *Arabidopsis*: involvement of cytochrome P450s CYP79B2 and CYP79B3. *Genes and development*, 16(23), 3100-3112. doi: 10.1101/gad.1035402.
- Zheng, L., Xiao, Z., and Song, W. (2020). Effects of Substrate and Exogenous Auxin on the Adventitious Rooting of *Dianthus caryophyllus* L. *HortScience*, 55(2), 170-173. doi: 10.21273/hortsci14334-19.
- Zhou, J. J., and Luo, J. (2018). The PIN-FORMED auxin efflux carriers in plants. *International journal of molecular sciences*, 19(9), 2759. doi: 10.3390/ijms19092759.

Résumé

Le travail de cette thèse consiste à optimiser les techniques de la multiplication végétative de l'arganier (*Argania spinosa* (L.) Skeels) afin de contribuer à sa domestication et favoriser la création de vergers modernes « Arganiculture », ainsi que la restauration de l'arganeraie. A cet effet, nous nous sommes intéressés à l'analyse de la composition chimique des graines et des feuilles, des mécanismes de croissance, de la physiologie des boutures semi-ligneuses ainsi qu'à l'identification *in silico* des principaux gènes contrôlant l'homéostasie de l'auxine. Dans un premier temps, nous avons démontré que l'analyse moyen infrarouge à transformée de Fourier couplée à la chimométrie a permis une caractérisation rapide de la composition chimique des graines et des feuilles d'arganier. L'étude physiologique de différents facteurs endogènes et exogènes a montré que les boutures semi-ligneuses plantées dans un substrat de sable fin, traitées avec 3000 mg.l⁻¹ d'AIB et irriguées avec la solution nutritive Hoagland ont présenté une amélioration qualitative et quantitative du système racinaire des plants d'arganier : le nombre de racines, la longueur des racines et le pourcentage d'enracinement ont été respectivement de 45,06, 33,63 cm et 65%. Enfin, dans le but d'améliorer l'efficacité du bouturage et pour mieux comprendre les mécanismes de la rhizogenèse, nous avons réalisé une étude bio-informatique qui a permis initialement l'identification de six principaux gènes intervenant dans l'influx (AUX1), l'efflux (PIN1, PIN4 et PIN7), la perception (ABP1 et TIR1) de l'auxine et par la suite la conception *in silico* d'amorces oligonucléotidiques efficaces favorisant une meilleure spécificité de la PCR quantitative (qPCR).

Mots-clés : *Argania spinosa*, domestication, multiplication végétative, bouturage, rhizogenèse adventive, spectroscopie, amorces oligonucléotides.

Abstract

This study consists in optimizing the vegetative propagation techniques of the argan tree (*Argania spinosa* (L.) Skeels) in order to contribute to its domestication and promote the creation of modern orchards "Arganiculture", as well as the restoration of the argan grove. We are indeed interested in the analysis of the chemical composition of seeds and leaves, growth mechanisms, the physiology of semi-woody cuttings as well as the *in silico* identification of the main genes controlling auxin homeostasis. First, we demonstrated that the analysis of the Fourier-Transform Mid-Infrared spectroscopy coupled with chemometrics enables a fast characterization of the composition of argan tree seeds and leaves. The physiological study of various endogenous and exogenous factors has shown that the semi-woody cuttings planted in a fine sand substrate, treated with 3000 mg.l⁻¹ of IBA and irrigated with Hoagland nutrient solution reveal a qualitative as well as quantitative improvement of argan plants' rooting system. Hence, the number of roots, root length and rooting rate of the cuttings were respectively 45,06, 33,63 cm and 65%. Finally, in order to improve the efficiency of the stem cutting technique and to better understand the mechanism of adventitious root formation, we carried out a bioinformatics study which initially allowed the identification of six main genes involved in the influx (AUX1), the efflux (PIN1, PIN4 and PIN7) and the perception (ABP1 and TIR1) of auxin and subsequently the *in silico* design of efficient oligonucleotide primers promoting a better specificity of the Real-Time PCR (qPCR).

Keywords : *Argania spinosa*, domestication, vegetative propagation, cuttings, adventitious rooting, spectroscopy, oligonucleotide primers.