

***ATRIPLEX HALIMUS* (AMARANTACEES) CALLOGENESIS INDUCTION
FROM DIFFERENT EXPLANT TYPE**

Y. Halfaoui*, A. Kadiri, Z. Ighilhariz

Laboratoire de biologie végétale, Département de biologie, Faculté des sciences de la Nature
et la Vie, Université Oran 1 Ahmed Ben Bella, Oran, Algérie

Received: 09 January 2017 / Accepted: 15 September 2017 / Published online: 01 January 2018

ABSTRACT

For *Atriplex halimus* valorization by *in vitro* tissue culture, a callogenesis protocol is initiated in order to study the different factors that influence cell proliferation in this species. For this purpose, different explants (leaves, cut stems, cotyledonary leaves, hypocotyls and apices) are cultured on MS [1] and B5 medium [2], with half strength macroelements and added with different concentrations of 2,4-D and kinetin. The results evaluation shows that callogenesis depends on the culture medium mineral composition, the hormones concentration and the explant type. The B5 medium with half strength macroelements (B5/2) seems to be the most favorable for callogenesis induction compared to MS medium with half strength macroelements (MS/2). The results also show that the stem and hypocotyl explants are the most reactive and that the use of 0.5 mg / l 2,4-D + 0.5mg / l Kin gives the best callogenesis rates.

Keywords: halophyte; MS medium; B5 medium; tissue culture

Author Correspondence, e-mail: civatriplex@gmail.com

doi: <http://dx.doi.org/10.4314/jfas.v10i1.2>



1. INTRODUCTION

La progression de la salinité et la sécheresse enregistrée depuis longtemps dans les zones arides et semi arides ont abouti à une perte considérable des sols fertiles [3] aggravée par les fortes évaporations et l'insuffisance pluviométrique qui caractérisent ces régions [4], ainsi que les mauvais systèmes d'irrigation [5]. D'après [6], plus de 20% des sols irrigués, en Algérie, sont concernés par le problème de la salinité. Cette situation exige l'introduction d'une végétation résistante adaptée à ces nouvelles conditions pour la réhabilitation des sols dégradés [7]. Ainsi une grande importance doit être attribuée aux espèces du genre *Atriplex* qui, grâce à leur caractère xérohalophytique, supportent les conditions climatiques et pédologiques des régions arides et semi-arides [8] et possèdent des capacités pour maintenir un potentiel hydrique interne bas sous la contrainte saline du milieu [9]. Elles sont caractérisées également par un système végétatif développé apprécié par le bétail [10,11] et ont fait l'objet de plusieurs travaux de recherche qui ont porté sur l'aspect fourrager et la nutrition minérale [12], la résistance et la tolérance à la salinité et à la sécheresse [8], [13].

Cependant, suite au surpâturage, les aires de répartition des *Atriplex* se réduisent [14] et leur régénération naturelle par semis est insuffisante pour la reconstitution de la couverture végétale [15]. Il s'avère donc indispensable d'explorer d'autres méthodes de multiplication plus efficaces et plus rapides telle que l'utilisation de la culture des tissus *in vitro* qui permet d'obtenir rapidement un grand nombre de plantes génétiquement homogènes [16]. Plusieurs travaux montrent la possibilité de multiplier des espèces du genre *Atriplex* par la culture des tissus *in vitro* [17,18] en Tunisie et en Algérie [15,19,20]. Ces différents travaux ouvrent une voie prometteuse pour la micropropagation des *Atriplex* notamment *Atriplex halimus*, ce qui offre une bonne démarche quant à son utilisation dans les programmes de réhabilitation des sols dégradés d'où l'intérêt de cette étude où un protocole de callogenèse est initié en étudiant l'influence de plusieurs facteurs sur l'induction de la callogenèse chez *Atriplex halimus*, notamment le milieu de culture et le type de l'explant.

2. MATERIEL ET METHODES

2.1 Matériel biologique

Les graines de *Atriplex halimus* L. utilisées sont récoltées en 2015 dans la région d'Es-Senia au sud d'Oran.

2.2 Méthodes

2.2.1 Induction de la callogenèse

Les graines de *A. halimus* sont décortiquées et divisées en deux lots. Le premier lot subi une désinfection par immersion dans l'éthanol 70° pendant 10 min, suivie par un trempage dans une solution d'hypochlorite de sodium à 5% pendant 20 min puis rincées 5 fois avec l'eau distillée stérile. Les graines sont alors séchées avec du papier filtre stérile et mises à germer dans des boîtes de Petri contenant le milieu MS sans hormones sous une photopériode de 16 heures et une température de 23±1°C, l'opération se déroule sous hotte dans des conditions d'asepsie rigoureuse. En parallèle les graines du second lot sont semées dans des pots (21x17cm) contenant un mélange terreau/sable (1/3 terreau + 2/3 sable), la culture est menée sous serre et les pots ainsi préparés sont arrosés trois fois par semaine avec de l'eau courante. A partir des vitroplants âgés de 15 jours, les feuilles cotylédonaires, les hypocotyles et les apex d'environ 1mm sont prélevés. Les explants de feuilles de 25 mm² et de tiges de 5 mm sont prélevés à partir de plantes âgées de 3 à 4 mois obtenues sous serre puis désinfectés selon le protocole précédent sous des conditions d'asepsie rigoureuse.

Pour l'induction de la callogenèse, deux milieux de base sont testés, le milieu MS (Murashige et Skoog) [1] et le milieu B5 (Gamborg) [2] dont les macroéléments sont dilués de moitié soit MS/2 et B5/2. Ces deux milieux sont additionnés de 2,4-D (acide 2,4-dichlorophénoxyacétique, hormone à effet auxinique) et Kinétine (une cytokinine) à différentes concentrations (Tableau 1).

Les différents explants sont répartis à raison de 6 explants de feuilles cotylédonaires par boîte et 4 explants pour les hypocotyles et les apex. Les explants foliaires et les explants de tige, sont mis en culture à raison de 10 explants par boîte de Petri. Les différentes opérations sont répétées 4 fois pour chaque milieu et pour chaque explant. Les boîtes de Petri sont ensuite placées dans une chambre de culture sous une photopériode de 16 heures et une température

de $23 \pm 1^\circ\text{C}$.

Tableau 1. Les concentrations hormonales testées

		Hormones	2,4-D (mg/l)	Kin (mg/l)
		Milieux		
MS/2	M1		0.5	0.5
	M2		1	1
	M3		1,5	1,5
	M4		1	0,5
B5/2	G1		0.5	0.5
	G2		1	1
	G3		1,5	1,5
	G4		1	0,5

M1, M2, M3, M4 correspondent aux différents milieux à base du milieu MS dilué de moitié (MS/2) avec différentes balances hormonales ; G1, G2, G3 et G4, correspondent aux différents milieux à base du milieu Gamborg dilué de moitié (B5/2) avec différentes balances hormonales.

2.2.2 Analyse statistique

Après un mois de culture le pourcentage de cals obtenus est calculé par rapport au nombre total des explants mis en culture. Les résultats sont analysés par une analyse de variance (ANOVA) pour évaluer la significativité de l'effet des différents facteurs sur l'induction de la callogenèse. Les moyennes sont ensuite classées par le test de Tukey (HSD) à l'aide du logiciel Statistica (version 5) au seuil de 5 %.

3. RESULTATS

Le suivi du comportement des différents explants mis en culture montre qu'il y a une variabilité dans la précocité de l'expression du pouvoir callogène. Après 5 jours de culture, les explants de tige initient une callogenèse, quel que soit le milieu de culture testé. Cette réaction se manifeste par un gonflement des explants accompagné parfois par une déchirure de l'épiderme résultat d'un début d'activité cellulaire interne. Après 8 jours de culture, ce sont les explants de feuilles qui commencent à réagir par la formation de petits amas cellulaires observés surtout au niveau des zones d'excision et au niveau de la nervure principale alors que les explants originaires des vitroplants manifestent des réactions plus tardives, 12 jours après leur mise en culture.

Après un mois, les différents milieux de culture testés permettent aux explants d'évoluer en cals. L'examen macroscopique des cals formés montre que la morphologie ainsi que la prolifération de ces derniers varient selon le milieu de culture et le type d'explant (Figure 1). L'évaluation de ces résultats par les tests statistiques (Tableau 2) révèle que le développement des cals chez *Atriplex halimus* est conditionné par la composition minérale du milieu de culture, la concentration des hormones exogènes et le type d'explant. L'analyse de la variance montre que les trois facteurs étudiés ont un effet hautement significatif sur l'induction de la callogenèse ainsi que leurs effets interactifs.

Tableau 2. Analyse de la variance de l'effet du milieu de culture et de la concentration hormonale sur l'induction de la callogenèse à partir des différents explants chez *Atriplex halimus* L.

Effet	ddl	Carré moyen	F	P
Milieu de base (M)	1	15788,64	35,85110	0,000000**
Concentration hormonale (C)	3	4522,58	10,26937	0,000003**
Explant (E)	4	10517,38	23,88169	0,000000**
M*C*E	12	820,73	1,86361	0,042571*

** : hautement significatif

* : significatif

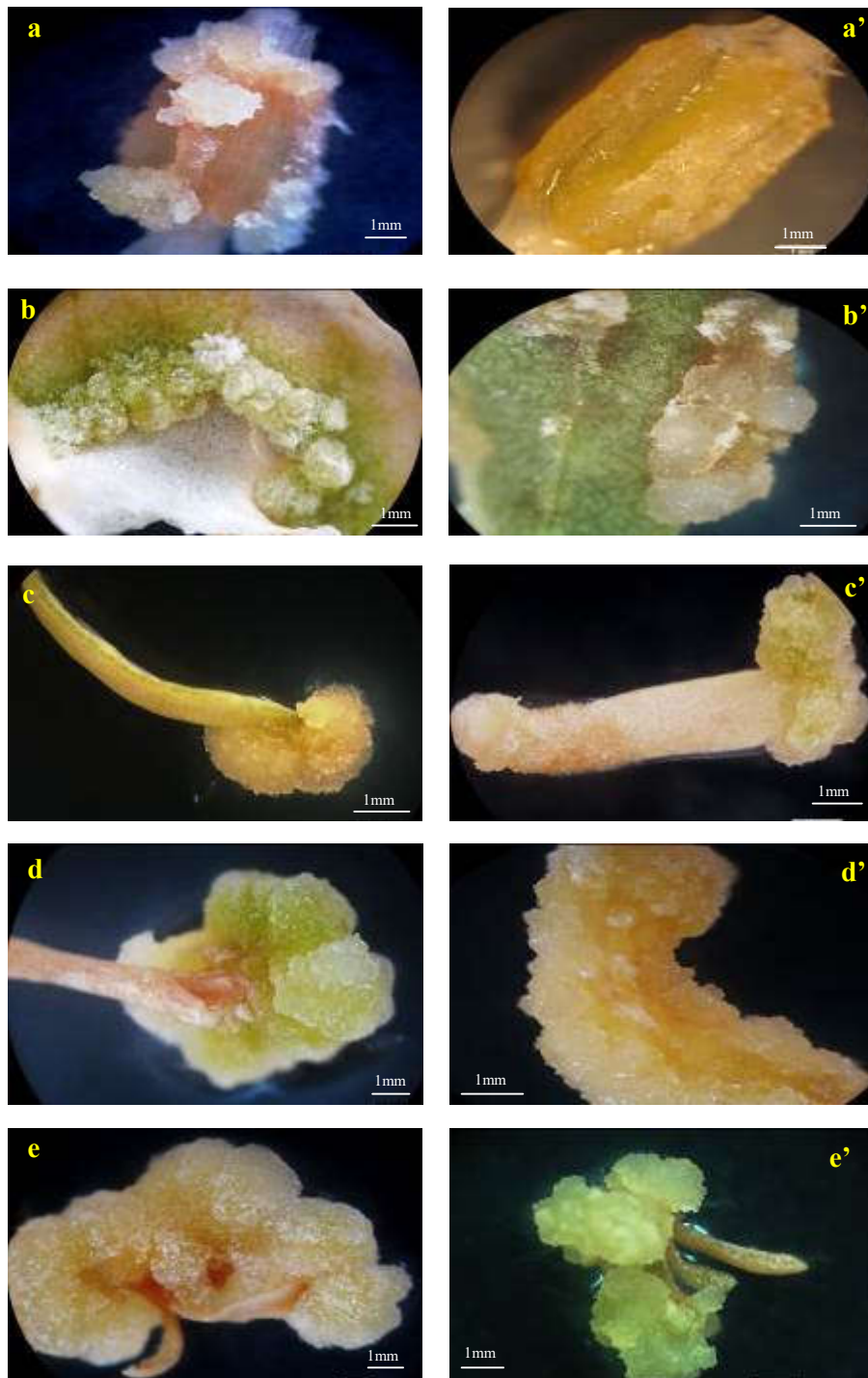


Fig.1. Aspect des cals obtenus à partir de différents explants chez *Atriplex halimus* après 1 mois de culture sous une photoperiode de 16h et $T^{\circ}= 23 \pm 1^{\circ}\text{C}$.

(a : tige sur milieu M1 ; a' : tige sur milieu G1 ; b : feuilles sur milieu M3, b' : feuille sur milieu G3 ; c : feuille cotyledonaire sur milieu M4 ; c' : feuille cotyledonaire sur milieu G4 ; d : hypocotyle sur milieu M1, d' : hypocotyle sur milieu G1 ; e : apex sur milieu M1 ;e' : apex sur milieu G1)

3.1 Effet de la composition minérale du milieu sur l'induction de la callogénèse

L'induction de la callogénèse est observée sur les deux milieux testés quelle que soit la concentration hormonale ajoutée et à partir de tous les explants utilisés. Les résultats montrent que ces derniers expriment un pouvoir callogène plus important sur le milieu B5/2. En effet, ce milieu a permis à tous les explants d'induire les taux de callogénèse les plus élevés par rapport à ceux cultivés sur milieu MS/2 (Figure 2) avec une différence significative observée dans le cas des explants de feuilles, tiges et apex. L'analyse statistique montre que la composition minérale du milieu de culture exerce un effet hautement significatif sur l'induction de la callogénèse chez *Atriplex halimus* (Tableau 2).

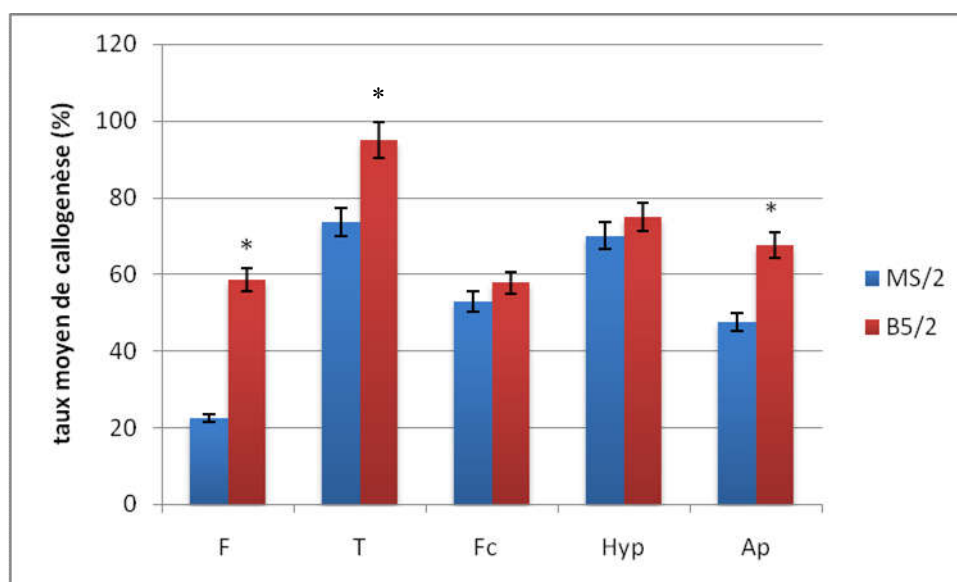


Fig .2. Effet du milieu sur l'induction de la callogénèse à partir des différents explants chez *Atriplex halimus* après 30 jours de culture sous une photopériode de 16h, $T= 23\pm 1C^{\circ}$ (* : Différence significative à $\alpha < 0,05$).

F : Feuille ; **T** : Tige ; **FC** : Feuilles Cotylédonaires ; **Hyp** : Hypocotyle ; **Ap**: Apex

3.2 Effet de la concentration de 2,4-D et Kin sur l'induction de la callogénèse

L'utilisation de la balance hormonale 2,4-D / Kin induit une callogénèse avec une réponse qui varie selon le milieu de base et le type d'explant. Le taux de callogénèse obtenu à partir des différents explants oscille entre 6 et 100% ce qui montre que la callogénèse chez *Atriplex*

halimus est sous l'influence de la concentration des hormones exogènes ajoutée au milieu de culture avec un effet hautement significatif (Tableau 2). Cependant les milieux M1 et G1 renfermant chacun 0,5mg/l 2,4-D + 0,5mg/l Kin, diffèrent significativement des autres milieux et donnent les taux moyens de réactivité les plus élevés avec respectivement 63,72% et 87,56% de calcs formés (Tableau 3).

Tableau 3. Taux moyens de callogenèse obtenus sur les différents milieux testés à partir des différents explants chez *Atriplex halimus*

Milieu de culture	M1	M2	M3	M4	G1	G2	G3	G4
Taux moyen de callogenèse	63,72 a	52,32 b	53,44 b	43,68c	87,56 A	71,76 B	59,12 C	65,80 B

Les valeurs suivies de la même lettre ne sont pas significativement différentes selon le test HSD de Tukey à $p \leq 0,05$

3.3 Effet de l'explant sur l'induction de la callogenèse

Les différents explants testés expriment un pouvoir callogène très variable en fonction du milieu de base et de la concentration de 2,4-D et de Kin dans le milieu de culture. L'analyse de la variance montre que la nature de l'explant exerce un effet hautement significatif sur l'induction de la callogenèse chez *Atriplex halimus*. Les explants de tige et d'hypocotyles expriment un pouvoir callogène plus important avec respectivement 79,75% et 76,87% de réactivité formant ainsi un groupe homogène (Tableau 4) alors que les explants foliaires manifestent les plus faibles réponses (40,5%).

Tableau 4. Taux moyens de callogenèse obtenus à partir des différents explants testés chez *Atriplex halimus*

Explant	F	T	Fc	Hyp	Ap
MOY	40,50 c	79,75 a	56,25 b	76,87a	57,50b

Les valeurs suivies de la même lettre ne sont pas significativement différentes selon le test HSD de Tukey à $p \leq 0,05$

(F : Feuille ; T : Tige ; FC : Feuilles Cotyledonaires ; Hyp : Hypocotyle ; Ap : Apex)

L'initiation de la callogenèse à partir des explants de tige commence par un gonflement qui évolue, après un mois, en calcs de couleur beige, nodulaire et de texture friable (Figure 1).

Chez les explants foliaires l'initiation commence par la formation de petits amas cellulaires au niveau des zones d'excision et de la nervure principale qui évoluent après un mois de culture en cals de couleur qui varie du vert clair au beige clair avec une texture nodulaire à plus ou moins compacte. Chez les feuilles cotylédonaire, des cals de petite taille qui sont formés au niveau de la zone d'excision seulement sont verts à vert clair et d'une consistance compacte, quant aux hypocotyles, les cals formés à partir des zones d'excision sont plus importants par rapport aux feuilles cotylédonaire dont la couleur varie, du vert au vert clair, beige clair et de consistance nodulaire friable. Enfin, les apex initient des cals compacts de couleur verte claire à beige. Il est à noter qu'aucun milieu n'a permis le débourrement des méristèmes préexistants au niveau des apex.

4. DISCUSSION

Des explants de tige, de feuille, d'hypocotyle, des feuilles cotylédonaire et d'apex d'*Atriplex halimus* sont mis en culture sur milieu MS et milieu B5 qui diffèrent par leur composition minérale et dont les macroéléments sont dilués de moitié. Ces deux milieux sont additionnés de 2,4-D et de Kinétine à différentes concentrations. Les différents explants manifestent des réponses variables et le taux de callogenèse dépend du milieu de culture, de la concentration des hormones ajoutées et de la nature de l'explant.

Les résultats montrent que tous les explants testés expriment un pouvoir callogène plus important sur le milieu B5/2 comparé au milieu MS/2. Cette variabilité de réponse pourrait être expliquée par la différence de la composition minérale de chaque milieu et pour la réussite de la culture des tissus *in vitro*, le choix du milieu de culture en est une étape très importante [21]. En faisant une comparaison entre la composition minérale des deux milieux, le milieu B5 est moins concentré en sels minéraux par rapport au milieu MS [22], plus riche, et généralement plus utilisé pour le développement d'une organogénèse [22-24].

Plusieurs auteurs montrent que l'utilisation du milieu B5 est favorable à la callogenèse par rapport au milieu MS [23-25]. Les travaux de [25] sur *Atriplex halimus* montrent que le milieu B5 (non modifié) initie une callogenèse plus importante par rapport au milieu MS qui induit beaucoup plus une organogénèse ce qui n'est pas observé dans notre cas. Des résultats similaires sur *Taxus baccata* sont révélés par [26] ainsi que ceux obtenus par [27] sur

Barringtonia racemosa qui montrent que la richesse du milieu MS en ammonium (élément signalé comme un inhibiteur de croissance *in vitro* de certaines plantes) fait de lui un milieu défavorable à la prolifération cellulaire.

L'utilisation de la balance hormonale 2,4-D/Kin induit chez *Atriplex halimus* des réponses variables des différents explants. Plusieurs travaux montrent que la combinaison entre une hormone à effet auxinique et une cytokinine joue un rôle important dans l'initiation de la callogenèse chez plusieurs espèces végétales : *Atriplex halimus* [20,25], *Atriplex canescens* [20,28], *Phoenix dactylifera* [29,30], *Jurians regia* [31], *Gerbera jamesonii* [32] *Ricinus communis* [33], *Beta vulgaris* [34], *Cicer arietinum* [35]. D'après [30] et [20], sous l'effet des hormones, certaines cellules appelées «cellules cibles» ou cellules «compétentes», subissent une dédifférenciation, retrouvent leur état méristématique et se divisent pour former un cal. En outre, les modifications dans les concentrations de la balance 2,4-D/Kin induisent une action significative sur le taux de la callogenèse qui est obtenue lorsque le rapport cytokinine /auxine est égale à l'unité [16,21,23,24,36]. Aussi, tous les milieux de culture testés lors de ce travail et dont le rapport cytokinine / auxine est égal à 1 initient une callogenèse. [25] montre que l'utilisation de cette balance à 0,5mg/l/0,5mg/l induit les meilleures proliférations chez *Atriplex halimus* ce qui est confirmé par nos résultats. Cependant, [37] montrent que l'utilisation de faibles concentrations en 2,4-D combinées avec de fortes concentrations en Kinétine sont plus favorables à la prolifération cellulaire chez le cotonnier.

Par ailleurs, [38] rapportent que le 2,4-D est indispensable à la callogenèse de *Baillonella toxisperma* et *Vitellaria paradoxa* et que les cals sont plus abondants sur des explants de folioles et d'entre-nœuds ayant subi une exposition plus longue au 2.4-D dans le cas d'*Actinidia chinensis* PL[39]. Les mêmes observations sont notées par [40] sur *Plantago ovata* et par [41] sur la canne à sucre (*Saccharum officinarum*). Cependant [42] montrent que l'utilisation de 2,4-D seule dans le milieu de culture induit de faibles proliférations des explants foliaires de *Luffa cylindrica* (Cucurbitacées), par contre la combinaison de cette hormone avec la Kinétine à raison de 2 mg/l 2,4-D et 0,5mg/l Kin améliore nettement le taux de la callogenèse chez cette espèce. De plus, chez *Atriplex halimus*, l'utilisation d'AIA/Kin n'est pas favorable à l'induction de la callogenèse alors que le remplacement d'AIA par le

2,4-D induit la formation de cal embryogène à partir des explants d'entre nœuds [25]. Selon le même auteur, les cals de couleur beige avec une texture friable sont des cals embryogènes. Ce type de cal a été observé au cours de notre travail et a fait l'objet d'une étude histologique préalable.

La callogenèse chez *Atriplex halimus* est également influencée par le type d'explant et ce sont les explants de tige et d'hypocotyle qui expriment un pouvoir callogène important. Toutefois les différents milieux de culture testés, permettent aux explants de tige d'exprimer une réponse précoce par rapport aux autres explants, qui se manifeste par un gonflement de l'explant suite à des divisions cellulaires internes. La tension exercée par ces cellules néoformées provoque la déchirure de l'épiderme et des assises externes de l'explant [20]. Les travaux de [19] sur *Atriplex halimus* L. et *Atriplex canescens* Purch Nutt. montrent une prolifération importante des explants foliaires et de tige dans le milieu MS additionné de 2,4-D et Kin. [43] observent aussi que les explants de tiges chez *Gymnema sylvestris* R. BR. (Asclepiadacées) sont plus réactives par leur gonflement avec la persistance de la couleur verte. Des observations similaires sont rapportées dans le cas de *Cicer arietinum* par [35] et chez de nombreuses dicotylédones [44]. Par ailleurs, chez *Atriplex halimus* une prolifération importante est également obtenue à partir d'explants d'hypocotyles. [37] montrent également que les hypocotyles donnent les meilleures proliférations chez le cotonnier. Cette différence de réactivité entre les explants est probablement due à la différence anatomique entre ces organes et les différences de concentrations des hormones endogènes [20], ainsi que leur réaction avec les différentes compositions du milieu de culture [37].

Enfin l'initiation de la callogenèse chez *Atriplex halimus* L. dépend de plusieurs facteurs à savoir, la composition minérale du milieu de culture, la nature de l'explant et la concentration des hormones ajoutées. Les différents explants sont plus réactifs sur le milieu B5/2 par rapport au milieu MS/2. L'utilisation de la balance hormonale 2,4-D/ Kin à une concentration de (0,5/0,5 mg/l) permet une meilleure initiation à la callogenèse. Cette dernière est beaucoup plus importante dans le cas des explants de tige et d'hypocotyle.

5. REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

-
- [1] Murashige T., Skoog F. *Physiol. Plant.*, 15, 1962, 473-497, doi: 10.1111/j.1399-3054.1962.tb08052.x
- [2] Gamborg O., Miller R., Ojima K. *Exp. Cell Res.*, 50, 1968, 151-158, doi:10.1016/0014-4827(68)90403-5
- [3] Abbad A., El-Hadrami A. et Benchaabane A. *Pak. J. Biol. Sci.*, 2004, 7 (6), 1085-1093, doi: 10.3923/pjbs.2004.1085.1093
- [4] Kaci S., Bissati S. et Djerroudi O. *Revue des BioRessources*, 2012, 2(2), 48-58
- [5] Bradaï A., Douaoui A., Marlet S. Qualité des eaux souterraines utilisées en irrigation et risques de dégradation des sols dans la plaine du Bas-Cheliff, Algérie. Actes du quatrième atelier régional du projet Sima. Mostaganem. Algérie, 2008
- [6] Douaoui A., Hartani T. Impact de l'irrigation par les eaux souterraines sur la dégradation des sols de la plaine du Bas-Cheliff. Actes du troisième atelier régional du projet Sima. Nabeule. Tunisie, 2007
- [7] Belkhodja M., Bidai Y. Réponse des graines d'*Atriplex halimus* L. à la salinité au stade de la germination. *Sécheresse*, 2004, 4(15), 331-335
- [8] Le Houérou H. N. *Agroforest. Syst.*, 18, 1992, 107-148. DOI: 10.1007/BF00115408
- [9] Pujol. J. A., Calvo J. F. and Ramírez-Díaz. L. *Wetlands*, 2001, 21(2), 256-264 doi: 10.1672/0277-5212(2001)021[0256:SGGAOA]2.0.CO;2
- [10] El Shatnawi M. J., Mohawesh Y. M. Seasonal chemical composition of saltbush *in* semiarid grasslands of Jordan. *J. range Manag.* 53, 2000, 211–214
- [11] Rahmoune C., Maâlem S., Bennaceur M. Effets comparés de la fertilisation phosphatée sur l'*Atriplex* cultivé en zone semi-aride du Nord-Est algérien. *In* : Cantero-Martínez C. (ed.), Gabiña D. (ed.). *Mediterranean rainfed agriculture: Strategies for sustainability* . Zaragoza : CIHEAM, 2004. 213-217. (Options Méditerranéennes : Série A. Séminaires Méditerranéens; n. 60). Final Seminar of the Regional Action Programme on Rainfed Agriculture (RAP-RAG), 2003/06/02-03, Zaragoza (Spain)
- [12] Van Niekerk W.A., Sparks C.F., Rethman N.F.G. Coertze R.J. Mineral composition of certain *Atriplex* species and *Cassia sturtii*, *S. Afr. J. Anim. Sci*, 2004, 34(Supplement 1), 108- 110

-
- [13] Nedjimi B. Acta Bot. Gallica, 2010, 157 (4), 787-791 doi: 10.1080/12538078.2010.10516247
- [14] Benchabaane A. Biotechnologie et sécurité alimentaire cas de *Atriplex halimus* dans la production de viande de camelins et de carpins dans la vallée du Draa (Maroc) dans : actualité scientifique : biotechnologie, amélioration des plantes et sécurité alimentaire. Collection universités francophones. Ed. ESTEM, 1997, Paris, pp 169
- [15] Chaouch F.Z., Abdul Hussain M.S. Callogenèse de *L'Atriplex halimus* à partir de différents explants, en vue d'une régénération. Agricultura – StiinŃă si practică, 2008, 1(2), 65-66
- [16] Boxus P., Bercetche J., Bollon H., Ducos J. P., Jemmali A., Pâques M., Petiard V., Pieron S. Multiplication végétative: micropropagation et embryogenèse somatique in biotechnologies végétales. BV 93, Ed CNED. AUPELF- UREF, 1995, p 191.
- [17] Souayah N., Khouja M.L., Rejeb M.N., Bouzid S. Micropropagation d'un arbuste sylvo-pastoral, *Atriplex halimus* L. (Chénopodiacées).CIHEAM. Options Méditerranéennes, 62, 2004, 131-135
- [18] El Ferchichi O., H. Effect of mineral concentration of culture media without growth substances on callogenesis of *Atriplex halimus*, Afr. J. Biotechnol., 2005, 4(9), 960-962.
- [19] Ighilhariz Z., Bouabdallah L., Belkhodja M. Influence Hormonale sur l'Induction de la Callogenèse Chez *Atriplex halimus* L.et *Atriplex canescens* (Pursch. Nutt.). Euro. J. Sci. Resea., 2008, 24(2), 211-218
- [20] Ighilhariz- Henna Z. Contribution à la valorisation d'*Atriplex halimus* .L et *Atriplex canescens* (Pursh) Nutt par la culture *in vitro*. Thèse de doctorat d'état. Université d'Oran Es-senia, 2008, p143
- [21] Gautheret R. J. La culture des tissus végétaux. Techniques et réalisation. Ed. Masson et Cie. Paris, 1959, p 849.
- [22] Chawla H.S. Introduction to Plant Biotechnology. 2002. Science Publishers, Inc. Second edition. pp14-22
- [23] Zrÿd. J. P. Cultures de cellules, tissus et organes végétaux : fondement théorique et utilisation pratique. Ed. Presses Polytechniques Romandes. Suisse, 1988, 308p

-
- [24] Margara F. Bases de multiplication végétative: les méristèmes et l'organogénèse. Ed INRA Paris, 1984, 262p
- [25] Benrebaha F. Etude de différents milieux de culture, de substances de croissance et de salinité sur la morphogénèse de l'*Atriplex halimus*. Thèse de Doctorat d'Etat en Sciences Agronomiques. INA El Harrach. Algérie, 2005, p139
- [26] Toualbi S.B., Moieni A., Ghanati F., Emami F. J. Adv. Bio. Biotech., 2015, 3(2): 58-67
doi: 10.9734/JABB/2015/13900
- [27] Behbahani M., Shanehsazzadeh M., Hessami M. J. Optimization of callus and cell suspension cultures of *Barringtonia racemosa* (Lecythidaceae family) for lycopene production, Sci. Agric. (Piracicaba, Braz.), 2011, 68(1), 69-76
- [28] Mei. B, No. E. G, McWilliams. E. L, Gould. J. H and Newton. R. J. *In vitro* regeneration of fourwing saltbush [*Atriplex canescens* (Pursh) Nutt]. J. Range Manage., 50, 1997, 413-418
- [29] Sané D, Aberlenc- Bertossi F, Gassama-Dia Y. K., Sagna M., Trouslot M.F., Duval Y. Borgel A. Ann. Bot., 2006, 98(2), 301-308 , doi:10.1093/aob/mcl104
- [30] Gueye B., Herve J., Sané D., Borgel A., Aberlenc-bertossi F. et Verdail J.L. Les cellules végétales compétentes à se réactiver constituent des cibles privilégiées du 2,4-D. AUF RENNES, 2008
- [31] Avilés F., Ríos D., Ricardo González R., Sánchez-Olate M. Effect of culture medium in callogenesis from adult walnut leaves (*Juglans Regia* L.). Chilean J. Agric. Res., 2009, 69 (3), 460-466
- [32] Haouala F., Farhat N. & Chabchoub L. Effets du type et de la position de l'explant sur l'induction de cals chez le gerbera (*Gerbera jamesonii* Bolus). Tropicultura, 2010, 28 (1), 57-60
- [33] Naz S., Tabassum F., Javad S., Ilyas S., Aslam F., Munir N. Ali A. Micropropagation and callogenesis of a recalcitrant Species *Ricinus communis*. Paki. J. Bota., 2011, 43 (5), 2419-2422
- [34] Klyachenko O. L., Likhanov A. F., Krylovskaya S. A. Morphogenetic modules formation in sugar beet callus tissues *in vitro*, J. Microbiol. Biotech. Food Sci.: 2 (Special issue on BQRMF), 2013, 1396-1408

- [35] Kadiri A., Ighilhariz Z., Bouabdallah L., Halfaoui Y. influence du genotype, du type d'explant et de la balance hormonale sur la callogenèse chez le pois chiche (*Cicer arietinum* L.). Revue « Nature et Technologie ». B- Sciences agronomiques et Biologique, 11, 2014, 59-66
- [36] Auge R., Beauchesne G., Boccon G., Decourtye L., Digat B., Jalouzot R., Minier R., Morand Cl, Reynoirdj P., Strullud G. Vidalie H. La culture *in-vitro* et ses applications horticoles. Ed Lavoisier. 1989, p225
- [37] Zouzou M., Kouakou T. H., Koné M., Amani N. G., Kouadio Y. J. Effect of genotype, explants, growth regulators and sugars on callus induction in cotton (*Gossypium hirsutum* L.). 2008. Aust. J. Crop Sci., 2(1), 1-9
- [38] Fotso, Sannone, Donfagsiteli Tchinda N. et Ndoumou D.O. Comparaison des premiers étapes de l'embryogenèse somatique chez *Baillonella toxasperma* et *Vitellaria paradoxa* (Sapotacées). Biotechnol. Agron. Soc. Environ. 2008, 12(2), 131-138
- [39] Chaouia C., Valles V., Snoussi S. A., Saidi F., Benrebiha F., Abdulhussain M. S., Ghezali H. Elaboration d'une technique de régénération de l'*Actinidia chinensis* par embryogenèse somatique. *Agricoltura-Stiintà si practicà*, 2008, 1(2), 65-66
- [40] Mahmood T., Jameel A., Bilal Haider Abbasi B., Faiza Munir F., Saqlan Naqvi S. M. J. Crop Sci. Biotech., 2012, 15 (4), 289 - 295 doi: 10.1007/s12892-012-0014-1
- [41] Kambaska K. B. Santilata S. Rapid *In vitro* Micro propagation of Sugarcane (*Saccharum officinarum* L. cv-Nayana) Through Callus Culture. Nature and Science, 2009, 7(4) ISSN 1545-0740
- [42] Samariya S. Sarin R. Effect of growth regulators on Callus production in two medicinally important plants of cucurbitaceae, 2014, Indian J. Adv. Plant Resear., 2014, 1(3), 30-34
- [43] Roy A., Ghosh S. Chaudhuri M. et Saha P. K., Afri. J. Biotech., 2008, 7(13), 2209-2211 doi: 10.5897/AJB08.809
- [44] De Kalvan K. Plant tissue culture. New Central Book Agency (P) Ltd Kolkata (India), 2004, pp 23-89

How to cite this article:

Halfaoui Y, Kadiri A, Ighilhariz Z. *Atriplex halimus* (amarantacees) callogenesis induction from different explant type. J. Fundam. Appl. Sci., 2018, 10(1), 20-34.