



LA CULTURE *IN VITRO* DU CHÊNE-LIÈGE, UNE POSSIBILITE POUR AMELIORER LA REGENERATION DE LA SUBERAIE ALGERIENNE

Dr. Larbi Hocine, Dr. Souidi Zahira

Laboratoire de recherche sur les systèmes biologiques et la géomatique. Université de Mascara, Algérie.

Tel.: 07 71 61 35 46; Fax: 45 80 41 62 E-mail: larbihoc@yahoo.com

Prof. Ervedo Giordano, Dr. Bellarosa Rosanna

(DISAFRI) Università degli Studi della Tuscia di Viterbo -Italie



Résumé :

Comparé aux autres essences forestières en Algérie, le Chêne-liège connaît ces dernières années une dégradation prenant des proportions inquiétantes. La majorité des peuplements subéricoles sont âgés et la sécheresse ainsi que le déliègeage répété accélèrent la mortalité des arbres. Par ailleurs, la régénération des peuplements est difficile, voire quasiment absente, en raison de facteurs anthropozoogènes.

Pour remédier à cette situation, des actions de reboisement à base de plants de qualité doivent être entreprises. La multiplication *in vitro* peut être d'un grand secours.

Dans ce travail, la régénération de plantes entières à partir de la micropropagation de bourgeons axillaires et d'embryons issus d'arbres adultes près sélectionnés de Chêne-liège a été obtenue.

•**Mots clés:** Chêne-liège, dégradation, régénération, micropropagation, bourgeons axillaires, embryons

Introduction

Parmi les méthodes de propagation asexuée, on trouve aussi la culture *in vitro* qui a été retenue par de nombreux cultivateurs et sélectionneurs afin de propager intensivement et conformément leur matériel végétal de base (ALTMAN et LOBERANT, 1998). L'utilisation de cette biotechnologie est satisfaisante par rapport aux méthodes traditionnelles et offre plusieurs avantages, notamment pour l'obtention de matériel sain et dans un temps relativement court. A cet égard, plusieurs études ont montré l'utilité de la culture *in vitro* pour la multiplication et l'assainissement des arbres fruitiers et forestiers (CORNAGGIA, 1986; DEOGRATIAS et DOSBA, 1986).

Aujourd'hui cependant les techniques de culture des tissus *in vitro* appliquées aux végétaux ligneux permettent d'envisager la question sous un angle nouveau en assurant en permanence le maintien d'un matériel à l'état juvénile, donc beaucoup plus facile à multiplier. En effet, la régénération de plantes entières, à partir de cellules ou d'organes isolés, a été obtenue non seulement chez de nombreuses plantes herbacées, mais aussi chez plusieurs espèces arbusives, fruitières ou sylvoicoles. Ces succès sont prometteurs pour l'avenir pour assurer à court terme une méthode de propagation de masse à partir de génotypes sélectionnés.

Le chêne liège souffre d'une dégradation importante qui est due principalement à une régénération quasi inexistante. C'est dans cet objectif que s'inscrit notre étude, afin de sélectionner les écotypes les plus résistants et les mieux adapter à travers la région Ouest pour envisager l'extension des suberaies et maintenir une subriculture suffisante.

Matériels et méthodes

Quelques sujets de Chêne-liège élite de plus de 80 ans de la subéraie de Tuscania, Viterbo (Italie, centre ouest) ont été sélectionnés. Une dizaine de glands, ainsi que des rameaux de l'année en cours de chaque pied de Chêne-liège ont été récoltés en octobre et stockés dans des sachets de toile noire à l'obscurité et à 4 °C et ont été fournis au laboratoire d'eco-physiologie du département de sciences forestières de l'Université de Viterbo, Italie.

Les glands sont imbibés 48 heures et seuls les nœuds de la partie médiane des rameaux de l'année en cours à 10 cm ont été prélevés.

A- La culture d'embryons chêne-liège sur un milieu solidifié par de l'agar: les glands collectés en décembre ont été stockés dans de la tourbe à 4 °C. Les glands ont été rincés à l'eau courante, stérilisés (Tween 80, 30 min, puis H2O2 12 volumes, 15 min et NaClO 15 %, 10 min), puis imbibés dans de l'eau distillée stérile 4 à 5 jours. Sous hotte, les glands ont été traités à nouveau par NaClO 15 % (10 min) puis rincés à l'eau distillée stérile. Les embryons, séparés de leurs cotylédons sous binoculaire, ont été cultivés sur le milieu minéral Durzan [16] additionné de NH4NO3 (800 mg/l) et KCl (65 mg/l). Le milieu a été utilisé entier ou dilué de moitié. Sur le milieu minéral dilué de moitié, 10 µM de BA (benzyladénine) ont favorisé le développement de plantules avec des entrenœuds courts, des petites feuilles et des bourgeons latéraux. À la même concentration et avec le milieu minéral complet, des racines se sont développées. L'augmentation de la concentration en BA (25 µM) a permis le développement de longues racines puis de courts bourgeons avec des petites feuilles. Ces bourgeons ont été micropropagés en présence de cytokinines.

B- Les bourgeons provenant de matériel âgé ont été stérilisés sous hotte par une solution de chlorure mercurique (HgCl2 0,2 %) additionnée de quelques gouttes de Tween 20 et agitée 2 minutes. Puis ils ont été rincés 10 minutes par une solution à 2,44 g/l de CaCl2 et 10 autres minutes par une solution d'acide ascorbique (1 g/l).

Le débourement des bourgeons axillaires a été meilleur sur le milieu Sommer. Ce dernier et celui d'Heller ont été favorables à la multiplication. La BA combinée à l'ANA a affecté le nombre de bourgeons. La concentration d'AIB a eu une influence significative sur le nombre et la longueur des racines tandis que la durée de culture en présence d'AIB n'a affecté que le pourcentage de rhizogénèse.

C- Les cultures sont placées dans une chambre climatisée à 26 °C pourvue de tubes "Phillips - 40 W" assurant un éclaircissement de 2000-2500 lux. La photopériode est de 16 heures de lumière par jour. Les résultats sont la moyenne de six répétitions à partir d'un seul embryon et de 2 répétitions à partir de 13 bourgeons.

Conclusion, discussion et perspectives de travail

Il est ainsi possible d'assurer la multiplication végétative *in vitro* du chêne liège à partir d'embryons ou de bourgeons. Nos résultats démontrent la validité de la technique de multiplication *in vitro* pour constituer rapidement des clones importants. En l'espace de 6 mois, on peut obtenir à partir d'une seule glande un clone d'une centaine d'individus repiqués en serre.

Par rapport à la méthode de multiplication du chêne liège par semis, la méthode *in vitro* offre plusieurs avantages :

Le plus immédiat est le gain de temps considérable dû à l'augmentation très rapide du nombre d'individu ;

Elle permet de d'avoir autant de copies qu'on le désire de ce représentant unique ; elle permet donc d'affiner au maximum les tests de sélection ;

La sélection d'écotypes de chêne liège sur la base des critères physiologiques et leur multiplication en grand nombre par culture *in vitro* sont donc possibles.

Le coefficient de multiplication important (plus de 600 plantules en 6 mois à partir d'un embryon ou une dizaine d'un bourgeon). La possibilité de stocker au froid à l'état de vie ralentie le matériel pendant un temps assez long, montre que la culture *in vitro* ouvre des possibilités implorantes en matière de multiplication végétative du chêne liège. Nous avons là un modèle de milieu et de production.

Références bibliographiques

Bennett (L.K.), Davies (F.T.Jr.) - *In vitro* propagation of *Quercus shumardii* seedlings. - *HortScience*, 1986, **21**(4), 1045-1047.
 Bellarosa (R.) - *In vitro* culture of *Quercus suber* L. embryos. - In Colloque international sur la culture *in vitro* des essences forestières, Fontainebleau, 31 août-4 septembre, 1981, AFOCEL, p 119-125.
 Chauvin (J.E.), Salesses (G.) - Effet du fructose sur la micropropagation du châtaignier *Castanea* sp. - *C. R. Acad. Sci., Ser. 3*, 1988, **306**(5), 207-212.
 Cheng (T.Y.), Voqui (T.H.) - Regeneration of Douglas fir plantlets through tissue cultures. *Science*, 1977, **198**(4314), 306-307.
 Pardo (J.A.) - *In vitro* plants formation from stem pieces of *Quercus suber* L. - *Colloq. Int. Cult. in Vitro Essences For.*, Fontainebleau, 31 août - 4 septembre 1981, AFOCEL, 1981, 186-190.
 Chalupa (V.) - *In vitro* propagation of oak (*Quercus robur* L.) and Linden (*Tilia cordata* Mill.). - *Biol. Plant.*, 1984, **26**(5), 374-377.

Milieu A : W.P.M.	BAP 2.5 mg/l IAB 0.01 mg/l
Milieu B : W.P.M.	BAP 0.5 mg/l Pectine 1 mg/l
Milieu C : W.P.M. + LP ½	BAP 0.5 mg/l
Milieu D : W.P.M.	IAB 0.01 mg/l NAA 0.1 mg/l

Tableau N°1: Type de milieu de culture utilisé pour la culture *in vitro* du chêne liège

Période de multiplication	Nombre de pousses en phase de multiplication
Début de la phase de multiplication	1 embryon
1 ^o mois	2 pousses
2 ^o mois	8 pousses
3 ^o mois	42 pousses
4 ^o mois	77 pousses
5 ^o mois	192 pousses
6 ^o mois	670 pousses

Tableau N°2: Résultat après 6 mois de culture *in vitro* d'un embryon de chêne liège

Les bourgeons en phase de multiplication	Nombre de pousses durant la première multiplication Après 3 mois	Nombre de pousses durant la deuxième multiplication Après 4 mois
A	5	12
B	8	22
C	11	55
D	22	83
E	2	10
F	3	7
G	1	25
H	3	5
I	5	18
J	3	20
K	2	3
L	3	6
M	5	4
Total	73	270

Tableau N°3: Résultat après 4 mois de culture *in vitro* de 13 bourgeons axillaires de chêne liège