



## l'amélioration de la régénération du chêne liège avec la sélection des écotypes les mieux adaptées à la sécheresse par l'utilisation de la culture *in vitro*

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.fr

Prof. Ervedo Giordano, Dr. Bellarosa Rosanna

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



### Résumé :

Les forêts de chêne-liège sont les plus sensibles au stress hydrique durant la longue période de sécheresse. Cela peu rendre la subéraie plus vulnérable aux incendies, surtout avec son puissant sous-bois d'essences secondaires inflammables qui offre un aliment exceptionnel à sa propagation. 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 résistantes au stress hydrique 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 et résistants au stress hydrique a été obtenue.

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

### Introduction

Le chêne liège souffre d'une dégradation importante qui est due principalement à la sécheresse, aux incendies, au pâturage et 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 adaptés à la sécheresse travers la région Ouest pour envisager l'extension des suberaies et maintenir une suberculture suffisante.

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. En effet, 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 de 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 sylvicoles. Ces succès sont prometteurs pour l'avenir pour assurer à court terme une méthode de propagation de masse à partir de génotypes sélectionnés.

### 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.

- 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 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 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 NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub> (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.

- Les bourgeons provenant de matériel âgé ont été stérilisés sous hotte par une solution de chlorure mercurique (HgCl<sub>2</sub> 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 CaCl<sub>2</sub> 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 rhizogenèse.

- 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 ;

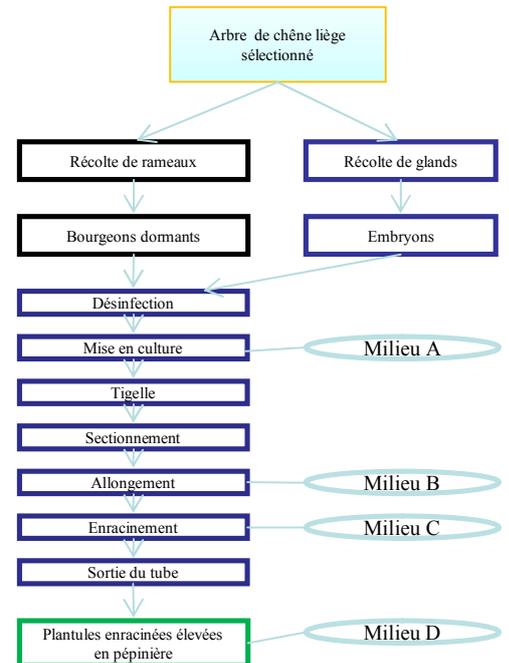
Elle permet de d'avoir autant de copies qu'on le désire de ce représentant unique ; elle permet donc d'affiner au maximum les tests de sélection ;

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.

La sélection d'écotypes de chêne liège sur la base des critères de résistances au stress hydrique et leur multiplication en grand nombre par culture *in vitro* sont donc possibles et peuvent être réutilisés dans les différents programmes de reboisement à base de chêne liège pour la réhabilitation des subéraies de l'Ouest algérien.

### 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.), Sallesses (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.  
 Pardos (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.



Mise en culture de bourgeons et d'embryons 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	Period de multiplication	Nombre de pousses en phase de multiplication
A	5	12	Début de la phase de multiplication	1 embryon
B	8	22	1 <sup>o</sup> mois	2 pousses
C	11	55	2 <sup>o</sup> mois	8 pousses
D	22	83	3 <sup>o</sup> mois	42 pousses
E	2	10	4 <sup>o</sup> mois	77 pousses
F	3	7	5 <sup>o</sup> mois	192 pousses
G	1	25	6 <sup>o</sup> mois	670 pousses
H	3	5		
I	5	18		
J	3	20		
K	2	3		
L	3	6		
M	5	4		
Total	73	270		

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

Tableau N°1: Résultat après 4 mois de culture *in vitro* de 13 bourgeons axillaires de chêne liège