

Production de vitroplants d'*Olea europea* var. Chemlal

Saliha Yakoub-Bougdal¹
Djamila Chérifi¹
Jacqueline Bonaly²

¹ Laboratoire de morphogenèse et cytologie végétales, Centre de recherche scientifique et technique sur les régions arides (CRSTRA), Unité de recherche de biologie, Université de Tizi-ouzou, BP 359, RP 15000 Tizi-ouzou Algérie
<ybougdal@yahoo.fr>

² Laboratoire de biochimie et biologie cellulaire, Faculté de pharmacie, 5, rue J.-B. Clément, 92296 Châtenay-Malabry cedex France
<jacqueline.bonaly@cep.u-psud.fr>

Résumé

Le verger oléicole algérien, vieillissant, demande à être renouvelé. L'objectif de ce travail a été d'optimiser la production de vitroplants enracinés à partir d'explants d'*Olea europea* L., variété Chemlal. Le taux de reprise des explants, prélevés sur des rameaux de l'année d'arbres de 3 ans, s'est montré le plus élevé pour des prélèvements effectués à l'automne. Des vitroplants enracinés ont été obtenus à partir de boutures cultivées sur milieu de Murashige et Skoog additionné de 6-benzylaminopurine ou de kinétine, repiquées sur un milieu inductif contenant de l'acide naphthalène acétique, puis sur un milieu contenant du charbon actif. Le taux d'enracinement le plus élevé a été de 90 %.

Mots clés : Algérie ; *Olea europea* ; culture *in vitro* ; vitroplant.

Thèmes : productions végétales ; méthodes et outils.

Abstract

Optimization of the production of vitroplants of *Olea europea* var. Chemlal

In several districts of Algeria, rural people live mainly on olive-related activities. Olive-growing is a major crop, but olive groves are getting old and need to be renewed. This study was conducted using *in vitro* culture methods in order to circumvent the low yield in rooted cuttings produced using traditional methods. It comprised the following two phases: i) determination of the most favourable season for taking cutting samples; ii) selection of the appropriate culture medium for best rooted cuttings productivity. Results showed that the best budding was obtained from autumnal explants cultured on a Murashige and Skoog medium supplemented with 2 mg/L 6-benzylaminopurine or with 2 mg/L kinetin. To obtain rooted cuttings, an inductive medium containing 6mg/L naphthalen acetic acid was first used, cuttings being next cultured in the same medium supplemented with 7 g/L active coal. In these conditions, 90% rooted cuttings were obtained. Field tests are now under investigation.

Key words: Algeria; *Olea europea*; *in vitro* culture; vitroplants.

Subjects: vegetal productions; tools and methods.

L'oléiculture représente en Algérie une activité arboricole majeure, mais, exploités de façon artisanale, les arbres du verger oléicole demandent à être renouvelés. Traditionnellement, les oliviers sont multipliés par des méthodes classiques telles que semis de noyaux suivis de greffage, etc. Ce sont des méthodes longues à faible rendement. Nous avons utilisé une méthode moins traditionnelle : la culture *in vitro*. Parmi les variétés d'*Olea europea* L., notre choix s'est porté sur la variété Chemlal, variété vigoureuse de Kabylie, particulièrement réputée pour la qualité et les propriétés de son huile. Seuls des essais de bouturage herbacé de la variété Chemlal ont déjà été réalisés, mais avec

un taux d'enracinement faible (19 %). En revanche, des essais d'utilisation de techniques de culture *in vitro* sur d'autres variétés d'olivier ont montré des taux d'enracinement supérieurs à 80 % (Rugini, 1990). Après avoir déterminé la période de l'année la plus propice au prélèvement de boutures, un protocole d'enracinement des vitroplants a été établi.

Matériel et méthode

Prélèvements et préparation des boutures

Des extrémités de tiges d'une longueur de 12 à 15 cm ont été prélevées le matin

sur les pousses de l'année d'arbres du parc de Cap Djenet (Boumerdes) âgés de 3 ans, et cela pendant les quatre périodes de l'année : été, automne, hiver, et printemps. Les prélèvements ont toujours été effectués en gardant la partie apicale. Les tiges ont été paraffinées au niveau de la section, puis désinfectées par une solution de chlorure mercurique à une concentration de 0,5 g/L durant 5 minutes après un passage rapide dans l'alcool à 70°. Elles ont été ensuite rincées trois fois avec de l'eau distillée stérile. Les feuilles ont été sectionnées stérilement de façon à conserver la moitié du limbe.

Culture

Les portions de tige précédemment préparées ont été découpées en boutures de 1 cm de long, chacune portant deux bourgeons axillaires ; 48 boutures ont été ensemencées sur milieu MS (Murashige et Skoog, 1962) additionné de bacto-agar (Sigma, 8 g/L) avec ajout éventuel de cytokinines : BAP (6-benzylaminopurine) 2 mg/L ou KIN (kinétine) 2 mg/L (Sigma). L'enracinement a été induit par la méthode du choc auxinique (Rancillac *et al.*, 1982) : les nouvelles tiges séparées des boutures initiales ont été repiquées sur le milieu MS dilué de moitié et additionné d'une auxine (ANA, acide naphthalène acétique) aux concentrations de 4 ou 6 mg/L. Après trois semaines, ces tiges enracinées ont été repiquées sur le milieu MS dilué au demi, additionné de charbon actif (Sigma, 7 g/L).

Résultats

Étude du taux de débourrement suivant la période de prélèvement

Durant l'été, le taux de débourrement des bourgeons axillaires reste faible, un maximum de 16 % étant obtenu en présence de KIN à 2 mg/L. Les pousses obtenues sont de petite taille et se développent lentement. Les prélèvements de l'automne montrent un fort taux de débourrement : 75 % si le milieu est additionné de BAP à 2 mg/L, et 90 % s'il est additionné de KIN à 2 mg/L. Les prélèvements de tiges effectués lors du repos végétatif (hiver) don-

nent des microboutures qui ne présentent aucune reprise des bourgeons, mais subissent un brunissement suivi de nécrose. Les prélèvements de printemps présentent un taux de reprise moyen : un maximum de 40 % est obtenu en présence de KIN à 4 mg/L. En conclusion, la variété Chemlal présente le meilleur taux de débourrement axillaire pour les prélèvements effectués en automne.

Obtention de vitroplants enracinés

Les boutures repiquées sur milieu MS additionné de BAP à 2 mg/L donnent des tiges qui forment jusqu'à trois paires de feuilles dès la cinquième semaine (figure 1A). Sur les 48 explants repiqués, 46 présentent un débourrement des deux bourgeons initiaux de la microbouture. L'addition de KIN à 2 mg/L a souvent entraîné une réponse originale : le démarrage de deux bourgeons au niveau d'un seul nœud (figure 1B). Les meilleurs résultats de l'induction racinaire sur les tiges nouvellement développées ont été

obtenus en utilisant un milieu additionné d'ANA à 6 mg/L suivi d'un repiquage sur milieu sans hormone additionné de charbon actif : sur 48 nouvelles tiges séparées des nœuds, 44 ont donné des pousses enracinées, le nombre de racines par pousse variant de 1 à 5.

Discussion

Les périodes de croissance active de l'olivier se situent en automne et au printemps (Abousalim *et al.*, 1993). Les périodes d'été et d'hiver ne sont pas favorables pour prélever des boutures. Les prélèvements de printemps ont montré l'existence d'un débourrement, mais celui-ci s'accompagne d'une croissance très lente des nouvelles tiges. Il est possible que les processus de floraison aient un effet négatif sur la reprise des bourgeons et donc réduisent leur potentiel de multiplication végétative (Abousalim *et al.*, 1993). Ce sont les boutures d'automne qui ont donné les meilleurs résultats de

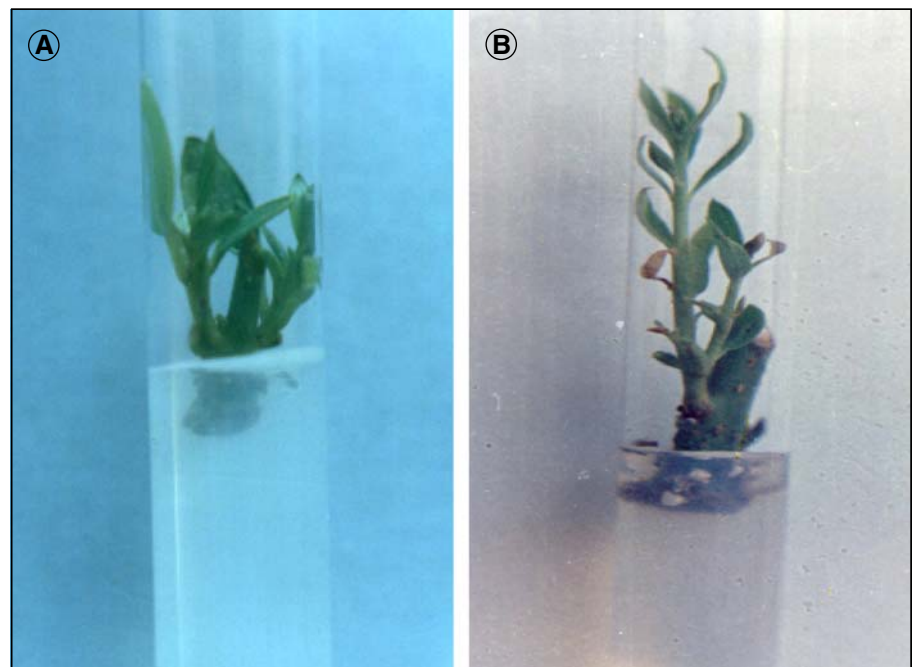


Figure 1. Développement des bourgeons axillaires sur milieu MS additionné de BAP 2 mg/L (A) et de KIN 2 mg/L (B).

Figure 1. Microcutting growth on MS medium supplemented with BAP 2 mg/L (A) and with KIN 2 mg/L (B).

A) BAP 2 mg/L : les cultures de 5 semaines montrent des tiges possédant trois paires de feuilles ; B) KIN 2 mg/L : formation de deux pousses à la base d'un seul des deux bourgeons axillaires.

reprise. Cela pourrait être dû au fait que ces explants possèdent à cette saison une teneur élevée en hydrates de carbone (Del Rio *et al.*, 1991).

D'une façon générale, la rhizogenèse *in vitro* des ligneux est difficile à réaliser. L'addition d'ANA au milieu inducteur a donné des résultats satisfaisants, ce qui est en accord avec les travaux de Jacoboni (1989). D'autres auteurs ont obtenu un enracinement pour d'autres cultivars d'olivier (Ozkaya et Celik, 1995), mais nos résultats, qui montrent un taux d'enracinement important sur des vitroplants obtenus à partir d'explants prélevés sur des arbres jeunes mais adultes, sont tout à fait nouveaux pour la variété Chemlal.

Conclusion

Nous avons établi un protocole permettant l'obtention de vitroplants enracinés avec un taux de rendement élevé. Ces vitroplants robustes sont actuellement en expérimentation en champ. ■

Références

Abousalim A, Walali DM, Slaoui K. Effet du stade physiologique sur l'enracinement des boutures semi-ligneuses de l'olivier en tablettes chauffantes. *Olivae* 1993 ; 46 : 30-7.

Del Rio C, Rallo L, Caballero M. Effect of carbohydrate content on the seasonal rooting of vegetative and reproductive cutting of olive. *J Horticult Sci* 1991 ; 66 : 301-9.

Jacoboni A. Culture *in vitro*. *Olivae* 1989 ; 25 : 31-4.

Murashige T, Skoog F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiol Plant* 1962 ; 15 : 473-97.

Ozkaya MT, Celik M. The effect of rooting environment and combination of auxin polyamine on the rooting ability of turkish olive Gemlit and Domat. *Acta Horticult* 1995 ; 356 : 31-4.

Rancillac M, Faye M, David A. *In vitro* rooting of cloned shoots in *Pinus pinaster*. *Physiol Plant* 1982 ; 56 : 97-101.

Rugini E. *In vitro* of the olive : an overview of the present scientific status. *Acta Horticult* 1990 ; 300 : 225-32.