

Production de porte-greffes d'olivier à partir d'embryons d'*Olea europea* var. Chemlal cultivés *in vitro**

Mourad Haddadi¹
Saliha Yakoub-Bougdal²

¹ Faculté des sciences biologiques
et des sciences agronomiques
Université Mouloud Mammeri
RP 15000
Algérie
<mouradhaddadi27@yahoo.fr>

² Laboratoire de morphogenèse et cytologie
végétales
Unité de recherche de biologie
BP 359
RP 15000
Tizi-Ouzou
Algérie
<ybougdal@yahoo.fr>

Résumé

En Algérie, la variété locale de Kabylie (*Olea europea* L. Var. Chemlal), a toujours bénéficié d'une attention particulière en raison de la haute qualité gustative de son huile. Notre travail avait pour objectif la production rapide de jeunes plantes porte-greffes à partir d'embryons zygotiques. Les embryons de cette variété sont cultivés sur un milieu MS (Murashige et Skoog) modifié, additionné d'hormones seules ou en combinaison. L'addition de l'acide indole -3- acétique induit un taux de développement important mais les feuilles présentent souvent une modification de la phyllotaxie. La combinaison hormonale de 6-benzylaminopurine et d'acide indole -3- acétique a permis d'obtenir des plantes dont les tiges sont courtes avec des feuilles verdoyantes, mais elle a surtout induit la néoformation de racines adventives sur les feuilles cotylédonaire. Des jeunes plantes avec des racines épaisses pivotantes, à deux paires de feuilles insérées sur des tiges rigides sont formées avec la combinaison de la 6-benzylaminopurine et d'acide naphthalène acétique. La reconstitution de plantes viables est de 60 %.

Mots clés : Algérie ; embryon végétal ; *in vitro* ; *Olea europea* ; porte greffes ; racine adventive.

Thèmes : productions végétales.

Abstract

Olive rootstock production from *Olea europea* Var. Chemlal cultured *in vitro*

In Algeria, the local variety of Kabylia (*Olea europea* L. Chemlal Var.) has always attracted particular attention because of the high taste quality of its oil. The aim of our experiment was the quick production of rootstock from zygotic embryos. The embryos were cultured on MS (Murashige and Skoog) medium supplemented with hormones either singly or in combinations. The addition of 3- indoleacetic acid resulted in rapid embryo growth. However, the phyllotaxy was often modified. The hormonal combination of 6-benzylaminopurine and 3- indoleacetic acid provided *in vitro* plants with short shoots and very green leaves. It also resulted in the regeneration of adventitious roots on a cotyledonous leaf. Young plants with large pivot-roots and two pairs of leaves with strong stalks were obtained with the hormonal combination 6-benzylaminopurine and naphthalene-acetic acid. Sixty per cent of the plants were viable.

Key words: adventitious roots; Algeria; *in vitro*; *Olea europea*; plant embryos; rootstocks.

Subjects: vegetal productions.

En Algérie, l'olivier représente l'une des espèces arboricoles les plus répandues occupant une superficie de 177 220 hectares, mais le rendement demeure faible à cause du vieillissement du verger oléicole. Sur 17 millions d'arbres, 15 millions sont en production. Occupant 40 % du verger, la variété locale de Kabylie (*Olea europea* L. Var Chemlal), est la plus répandue. Elle est reconnue comme étant productrice d'une huile naturelle et saine de haute qualité, dont le rendement est de l'ordre de 14 à 18 litres/100 kg (d'olives fraîches avec noyau). Cette variété vigoureuse colonise les sols accidentés des reliefs montagneux de la région (Sahli et Mekersi, 2005). Multipliée par bouturage herbacé, elle montre un faible taux d'enracinement (19 %). Traditionnellement, elle se trouve donc le plus souvent multipliée par greffage sur oléastres, ou par semis de noyaux suivi de greffage (Yakoub-Bougdal *et al.*, 2007). D'où le problème du manque de porte-greffes. Un protocole de production rapide et permettant une production intensive de porte-greffes sélectionnés de la variété Chemlal s'impose. Nous avons utilisé la culture *in vitro* comme méthode pour produire des jeunes plants sains et vigoureux.

Matériel et méthode

Prélèvements et préparation du matériel végétal

Les fruits d'olivier (*Olea europea* L. var. Chemlal) ont été prélevés sur des arbres sains âgés de 10 ans, en période de récolte (de novembre à janvier) dans une oliveira traditionnelle de la région de Tizi-Rached de la wilaya de Tizi-Ouzou. Les fruits sont débarrassés de leur chair (pulpe), puis lavés afin d'éliminer toute trace de matière grasse. Les noyaux obtenus sont relavés avec un détergent commercial, puis essuyés et séchés à l'air libre. Ils sont conservés dans des bocaux à température ambiante. Les graines sont extraites des noyaux. Celles indemnes de maladies apparentes sont choisies, désinfectées par une solution d'hypochlorite de sodium à la concentration de 2,5 % durant 5 minutes, puis imbibées en conditions axéniques pendant 3 jours, dans des boîtes de Pétri tapissées de coton hydrophile.

Culture

Les embryons zygotiques matures sont extraits à l'aide d'une double incision des téguments au niveau de la partie radiculaire de la graine (Cañas *et al.*, 1987). Quarante-huit embryons ont été ensemencés dans des tubes à essai contenant 25 ml

d'un milieu MS modifié (milieu Murashige et Skoog, avec 40,5 mg/L de Na₂ - EDTA, et 200 mg/L de glutamine), solidifié avec de la gélose Bacto agar (Sigma, 8 mg/L), contenant de l'AIA (acide indole-3-acétique) à 0,1 mg/L, ou de la BAP (6-benzylaminopurine) à 0,1 mg/L additionnée d'auxine (ANA, acide naphthalène

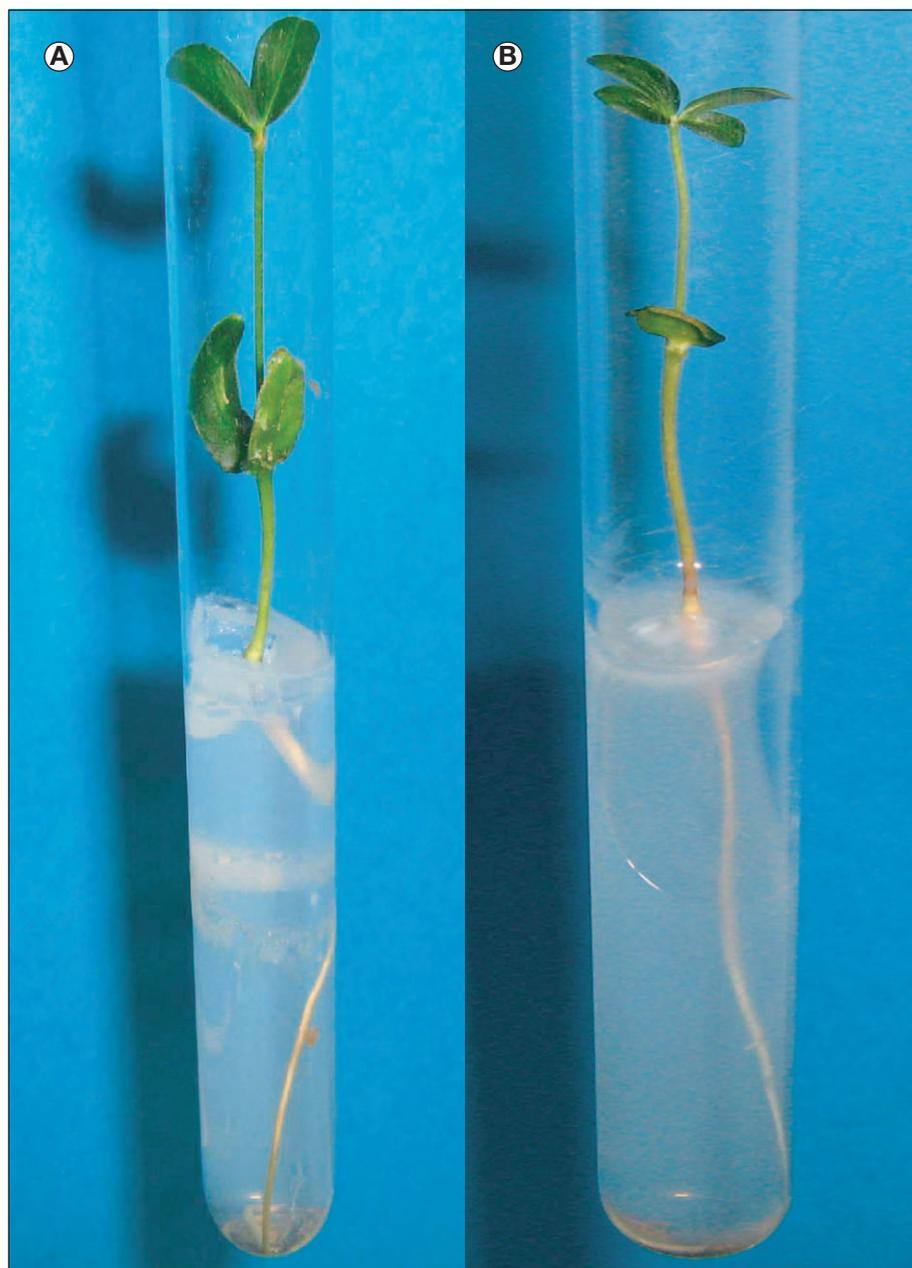


Figure 1. Développement des embryons sur le milieu MS (Murashige et Skoog) modifié additionné d'acide indole-3-acétique (AIA) (0,1 mg/L).

Figure 1. Development of embryos cultured on MS-modified medium (Murashige and Skoog medium) supplemented with AIA (0.1 mg/L).

A) plantule après 5 semaines montrant une tige portant 1 paire de feuilles et une racine pivotante ; B) plantule après 10 semaines de culture montrant une modification de la phyllotaxie avec le développement de quatre feuilles à l'extrémité apicale.

acétique) à 1 mg/L, ou de la BAP à 10 mg/L additionnée d'auxine AIA à 0,1 mg/L. Le pH des milieux est à 5,6. L'incubation s'est effectuée à 25 °C de température et 16 heures de photopériode.

Résultats

Développement des embryons

L'addition d'AIA à la concentration de 0,1 mg/L a permis d'obtenir le développement de 54 % des 48 embryons ensemencés (figure 1A). Les 46 % restants se nécrosent dès la germination ou subissent un arrêt de développement au cours de la croissance. Cette hormone a induit, après 10 semaines de culture chez 19 % des embryons développés, une modification de la phyllotaxie avec la formation anormale de 4 feuilles à l'extrémité apicale (figure 1B). L'addition d'AIA à 0,1 mg/L et de BAP à 10 mg/L produit 33 % de vitroplants avec de longues racines pivotantes ; les tiges sont courtes avec un feuillage verdâtre (figure 2A). Cette formule a permis d'induire quelquefois la néoformation de racines adventives sur les feuilles cotylédonaires après 21 semaines de culture (6 % des embryons ensemencés) (figure 2B). La combinaison hormonale ANA (1 mg/L) + BAP (0,1 mg/L) a permis d'obtenir un développement précoce dès le quatrième jour. Soixante pour cent de plantules pourvues de deux paires de feuilles avec une tige longue et rigide, et une racine principale épaisse et pivotante, ont été obtenues après 5 semaines de culture, l'expérimentation ayant été répétée 2 fois (figures 3A et 3B).

Discussion et conclusion

Le milieu MS modifié nous a permis d'obtenir un développement satisfaisant après 7 jours de culture. Jay-Allemand et Cornu (1986) ont utilisé la même quantité de glutamine (200 mg/L), associée aux microéléments de Murashige et Skoog (1962) dans leurs milieux de culture pour les embryons isolés du noyer commun (*Juglans regia* L.). Ils ont



Figure 2. Développement des embryons sur le milieu MS (Murashige et Skoog) modifié additionné de 6-benzylaminopurine (BAP) (10 mg/L) et d'acide indole-3-acétique (AIA) (0,1 mg/L).

Figure 2. Development of embryos cultured on MS-modified medium (Murashige and Skoog medium) supplemented with BAP (10 mg/L) and AIA (0.1 mg/L).

A) plantule après 5 semaines montrant une tige courte portant 2 paires de feuilles et une racine pivotante ; B) développement de racines adventives sur une feuille cotylédonaire, après 21 semaines.

signalé que les apports en vitamines semblent indispensables pour obtenir un développement complet des embryons immatures ou matures cultivés *in vitro*. Lorsque ce même milieu est additionné des hormones que nous avons utilisées, le développement devient plus rapide (croissance de la radicule et verdissement des cotylédons en 5 jours), ce qui montre l'effet stimulateur de ces hormones végétales. L'addition d'AIA à 0,1 mg/L montre une capacité appréciable de développement

(54 %). Cependant, elle induit souvent une phyllotaxie anormale. La formation de plusieurs feuilles simultanément est due à l'influence morphogénétique de l'AIA. Le milieu MS modifié additionné d'AIA (0,1 mg/L) et de BAP (10 mg/L) présente un réel intérêt : il nous a permis d'obtenir des vitroplants pourvus de deux paires de feuilles bien développées et verdoyantes avec une longue racine. Cependant, des racines adventives sont apparues sur des feuilles cotylédonaires. Le milieu le plus favorable au dévelop-

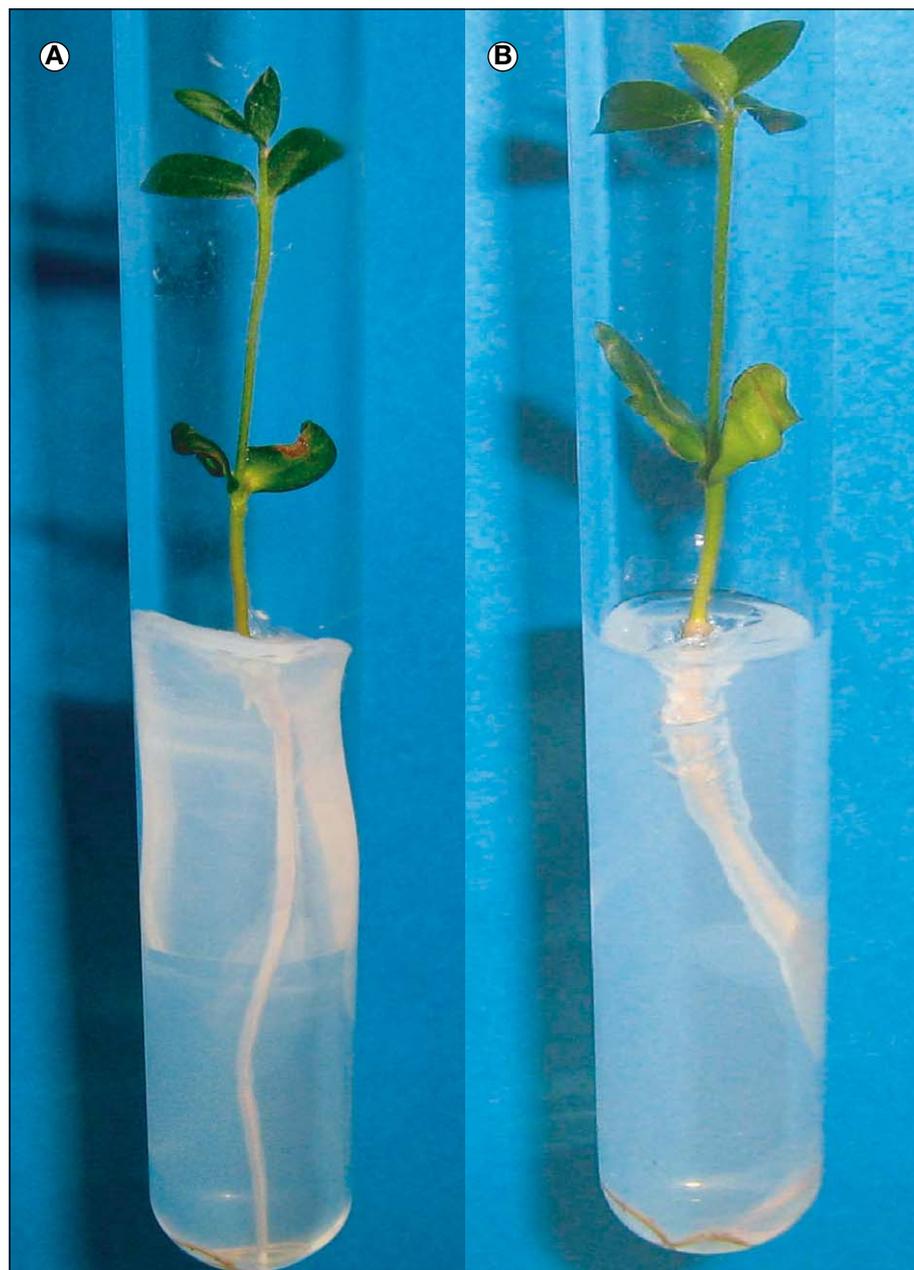


Figure 3. Développement des embryons sur le milieu MS (Murashige et Skoog) modifié additionné de 6-benzylaminopurine (BAP) (0,1 mg/L) et d'acide naphthalène acétique (ANA) (1 mg/L).

Figure 3. Development of embryos cultured on MS-modified medium (Murashige and Skoog medium) supplemented with BAP (0.1 mg/L) and ANA (1 mg/L).

A) et B) : plantules après 5 semaines montrant des tiges rigides et allongées portant 2 paires de feuilles et des racines principales épaisses et pivotantes.

pement précoce est celui qui est additionné d'hormones en combinaison auxines-cytokinines (ANA à 1 mg/L + BAP à 0,1 mg/L). L'association de l'ANA avec la BAP serait responsable de l'accélération du processus de développe-

ment. Roussos et Pontikis (2002) ainsi que Yacoub-Bougdal *et al.* (2007), entre autres, ont montré l'importance des auxines sur la régénération de l'olivier par culture *in vitro*, notamment dans l'enracinement. ■

Références

Cañas LA, Carramolino L, Vicente M. Vegetative propagation of the olive tree from *in vitro* cultured embryos. *Plant Sci* 1987 ; 50 : 85-90.

Jay-Allemand C, Cornu D. Culture *in vitro* d'embryons isolés de Noyer commun (*Juglans regia* L.). *Ann Sci For* 1986 ; 43 : 189-98.

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

Roussos PA, Pontikis CA. *In vitro* propagation of olive (*Olea europaea* L.) cv. Koroneiki. *Plant Growth Regul* 2002 ; 37 : 295-304.

Sahli Z, Mekersi S. Algérie. In : Ilbert H, ed. *Produits du terroir méditerranéen. Conditions d'émergence, d'efficacité et modes de gouvernance (PTM : CEE et MG)*. Recherche N° 22-35. Montpellier (France) : Ciheam-lamm, 2005.

Yakoub-Bougdal S, Chérifi D, Bonaly J. Production de vitroplants d'*Olea europaea* var. Chemlal. *Cah Agric* 2007 ; 16 : 125-7. Doi : 10.1684/agr.2007.0079