

# CALLOGENESE DE *L'ATRIPLEX HALIMUS* A PARTIR DE DIFFERENTS EXPLANTS, EN VUE D'UNE REGENERATION

(Callus of *Atriplex halimus* from different explants, for regeneration)

**Fatma-Zohra CHAUCHE, Maria Stela ABDUL HUSSAIN**

*Faculté Agro-Vétérinaires et Biologie, Université Saad Dahleb, Blida, Algérie*

## **Abstract.**

The regeneration of the *Atriplex halimus* by seedling becomes very insufficient, for the constitution of the vegetable cover. The culture of cloths or callus reproduction can constitute a means of very efficient multiplication, a callus being able to produce far more buds adventives that a microhort of buds axillaries.

We are concerned in the culture of clothes of the *Atriplex halimus*, whose study consists of a test of culture establishment of cloths organogenic from different organs of vitroseedling.

Between-knots, whole leaves, fragments of the part apical of the leaf are put in culture on the middle of MURASHIGE and SKOOG (1962), diluted half, with addition of growth hormones (BAP and AIB) to different concentrations, microphone-elements of MS, vitamins of Morel, the Iron-EDTA, the saccharose to reason 20 g/l and the agar to 8 g/l, the pH being adjusted to 5,8.

Obtained results seem to depend of the nature of the put in culture and the report BAP/IAB.

**Key words:** callus, hormones, growth, organogenic, regeneration

## **Résumé.**

La régénération de *l'Atriplex halimus* par semis devient très insuffisante pour la reconstitution de la couverture végétale. La culture de tissus ou callogenèse peut constituer un moyen de multiplication très efficace, un cal pouvant produire beaucoup plus de bourgeons adventifs qu'une micro-bouture de bourgeons axillaires.

Nous, nous sommes intéressés à la culture de tissus de *l'Atriplex halimus*, dont l'étude consiste en un essai d'établissement de culture de tissus organogènes à partir de différents explants de vitro-semis.

Les entre-nœuds, les feuilles entières, les fragments de la partie apicale de la feuille, sont mis en culture sur le milieu de MURASHIGE et SKOOG (1962), dilué de moitié, avec adjonction d'hormones de croissance (BAP et AIB) à différentes concentrations, des micro-éléments de MS, des vitamines de Morel, du fer-EDTA, du saccharose à raison de 20 g/l et de l'agar à 8 g/l, le pH = 5,8.

Les résultats obtenus semblent dépendre de la nature de l'explant mis en culture et du rapport cytokinine/auxine.

**Mots clés:** Callogenèse, hormones, croissance, organogène, régénération.

## INTRODUCTION

Dans le bassin méditerranéen, la production fourragère se révèle insuffisante, partout où il n'y a aucune possibilité d'irrigation.

Les parcours des régions arides de l'Afrique du nord, sont soumis à une dégradation rapide, résultant d'un surpâturage et d'un défrichement important.

Le meilleur remède à cette situation est la constitution de réserves fourragères à base d'arbres et d'arbustes fourragers dont font partie les *Atriplex*.

Parmi les espèces de l'*Atriplex* qui ont suscité le plus d'intérêt, figure l'*Atriplex halimus*.

Selon MAIRE (1962), cette espèce autochtone est classée parmi les plus répandues en Algérie.

Sa régénération naturelle par semis est insuffisante, pour la reconstitution de la couverture végétale, en plus pour avoir lieu, la germination des graines nécessite des conditions difficilement réalisables en même temps, dont la température et l'humidité.

D'autre part l'action inhibitrice exercée par les valves de la graine, est associée à d'autres substances inhibitrices hydrosolubles, dont les composés phénoliques.

L'introduction de l'*Atriplex halimus* in-vitro semble être une voie prometteuse, pour faire face aux problèmes du terrain.

Nous avons donc initié une culture tissulaire pour une régénération à partir de différents explants (feuille ; entre-nœud).

## MATERIEL ET METHODES

### **1. Matériel végétal**

Les semences de l'*Atriplex halimus* sont récoltées durant le mois de Décembre, dans la région semi-aride d'El Mesrane, Wilaya de Djelfa.

#### **1.1. Désinfection et germination des graines**

Après décortication manuelle, les graines sont désinfectées par trempage dans de l'alcool à 70°, pendant 10 secondes, suivis d'un autre trempage dans l'hypochlorite de calcium à 8 p.cent pendant 20 minutes, trois rinçages à l'eau distillée stérilisée s'en suivent. La désinfection des graines se fait sous hotte à flux laminaire.

### **2. Milieu de culture**

#### **2.1. Milieu de vitro-semis**

Pour l'obtention de vitro-semis, le milieu de culture utilisé est celui de MURASHIGE et SKOOG (1962) composé, des macro-éléments dilués au demi,

des micro-éléments, du fer.EDTA, des vitamines de MOREL, de 20 g/l de saccharose et de 8 g/l de gélose. Le pH est ajusté à 5,8.

L'autoclavage du milieu de culture se fait à 120°C, pendant 20 minutes.

### 2.2. Milieu de callogenèse

Les milieux de bases sont identiques à celui utilisé pour l'obtention des vitro-semis, auxquels on a ajouté les hormones de croissance, en l'occurrence la BAP et l'AIB à différentes concentrations (Tableau 1).

Les explants utilisés pour la callogenèse proviennent des vitro-semis; ce sont la feuille entière, des fragments de la partie basale de la feuille et des entre-nœuds.

### 3. Conditions de culture

Toutes les cultures ont été placées dans un phytotron dont la température est de 25°C +/- 1, la photopériode est de 16 heures de lumière et 8 heures d'obscurité.

## RESULTATS ET DISCUSSION

### 1. Germination

Les graines germent 5 jours après la mise en culture, le taux atteint est de 60 p.100. pour la région d'El Mesrane. Selon MEZHOU (1993) le taux, de germination de *Atriplex halimus* varie selon la provenance il est seulement de 40 p.100 pour la région de Tadjmout (Wilaya de Laghouat).

Les graines germées en boîte de Pétri, sont transférées en tube sur le milieu de culture de base. Après 2 mois de culture les vitro-semis obtenus, présentent une hétérogénéité de croissance du point de vue, longueur de la tige, nombre de feuilles, présence ou absence de ramifications et de cals.

### 2. Callogenèse

Les résultats obtenus dépendent du rapport hormonale utilisé, ainsi le milieu témoin dépourvu d'hormone (M0), ne manifeste aucune callogenèse, quelque soit le type d'explants, ces derniers se nécrosent.

Cependant une importante callogenèse a été observée sur le milieu (M4), contenant 1 mg/l de BAP et 0,5 mg/l d'AIB.

Les cals obtenus sur les milieux M1 et M4 sont de couleur verte et de consistance friable, sur les milieux M2 et M3, ils sont beiges et peu friables (figure 1).

Les entre-nœuds présentent la plus importante callogenèse, avec une surface moyenne des cals de 149,9 mm<sup>2</sup>, suivie par celle des feuilles entières 82,2 mm<sup>2</sup>. Le milieu M3 dont le rapport hormonal est égal à l'unité, donne les plus faibles proliférations cellulaires. FERKOUS (1995) a obtenu un résultat similaire sur *Atriplex halimus*. Cependant certains auteurs, accordent une bonne callogenèse lorsque le rapport auxine/cytokinine est proche de l'unité (AUGE et al 1989).

L'analyse de la variance indique une différence significative entre les explants et leur pouvoir callogène. Selon le test de NEWMAN-KEULS au seuil de 5 p.cent (tableau 2), il existe 2 groupes homogènes ; le premier est représenté par l'entre-nœud (EN) et le second par la feuille entière (FE) et la partie basale de la feuille (PB) et ceci pour les 4 milieux callogènes, M1, M2, M3 et M4.

### **3. Organogenèse**

#### **3.1. Caulogenèse**

Afin d'étudier l'aptitude de l'espèce à la caulogenèse et la rhizogenèse, nous avons transféré les cals obtenus après 2 mois de culture sur le même milieu frais. Un mois après le transfert, les cals prolifèrent peu, un deuxième transfert s'en est suivi, dans les mêmes conditions de culture que le premier.

Les proliférations cellulaires sur les cals restent faibles avec absence totale de néoformation.

Nous avons alors procédé à la fragmentation des cals primaires, avec transfert sur les mêmes milieux frais.

Un mois après la fragmentation, les tissus manifestent une activité mitotique importante, surtout au niveau des sections. De nouvelles proliférations cellulaires chlorophylliennes, apparaissent sur la surface supérieure des cals (figure 2).

Deux semaines plus tard de nombreux petits bourgeons sont néoformés (figure 2 b) sur les cals cultivés sur le milieu M1 (1 mg/l de BAP et 0,01 mg/l d'AIB).

Le pourcentage des cals ayant néoformé des bourgeons est de 16 p.cent.

Selon SKOOG (1971) la néoformation de bourgeons à partir d'un cal est sous le contrôle des interactions entre cytokinines et auxines. Mais le dépassement d'un certain seuil de concentration de l'un ou de l'autre des régulateurs (parfois des 2 simultanément) peut déclencher ou inhiber la caulogenèse.

.Concernant notre travail, la caulogenèse est induite, secondairement à la suite de repiquage et de fragmentation successifs des cals.

#### **3.2. Rhizogenèse**

Des racines néoformées, sur cals de feuilles entière (FE) et la partie basale de la feuille (PB), sont apparues 15 jours après la fragmentation sur milieu M2, contenant 0,01 mg/l de BAP et 1 mg/l d'AIB (figure 2 c), sur un total de 75 cals, 45 émettent des racines. Notons qu'il n'y a aucune néoformation de bourgeons sur les cals qui ont néoformé des racines en premier.

## CONCLUSIONS

La multiplication végétative par culture in-vitro représente sans conteste un outil puissant qui permet de dépasser les limites inhérentes à la biologie de l'espèce considérée.

Ainsi le milieu de culture de MURASHIGE et SKOOG (1962) dilué au demi est favorable à l'élongation des vitro-semis et aux proliférations cellulaires des différents tissus mis en culture.

Les entre-nœuds sont les plus callogènes, sur le milieu M4, contenant 1 mg/l de BAP et 0,5 mg/l d'AIB.

La pratique de la fragmentation des cals primaires a permis de stimuler l'activité mitotique et de déclencher la caulogénèse et la rhizogénèse.

Comme il a été aussi constaté que les transferts réguliers des cals permettent leur entretien.

La régénération de *Atriplex halimus*, à partir de cals, nécessite des fragmentations successives et régulières. Son importance dépend à la fois de la nature de l'explant et de la composition hormonale du milieu de culture.

#### REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. Auge R., Beauchesne G., Boccon-Gibod J., et al: La culture in-vitro et ses applications horticoles. 3<sup>ème</sup> édition : Technique et documentation. Lavoisier, 1989 225 p.
2. Maire R. Flore de l'Afrique du nord. Vol VIII. Lechevallier, Paris, 1962 pp :581-591.
3. Mezhoud M. Etude de la morphogénèse chez *Atriplex halimus* en culture in-vitro : Influence de la provenance. Th.Ing.Agro.Univ de Blida, INES agronomie, 1993, 51p.
4. Murashige T, Skoog F. A revised medium for rapid growth and bio- assays with tobacco tissues cultures. *Physiol.* 1962 *Plant* 15, pp: 473-497.
5. Skoog F. Aspects of growth factors interactions in morphogenesis of tobacco tissue culture. In : culture de tissus de plantes. *Colloq. int. C.N.R.S.*, 1971 pp : 115-136.

## ANNEXES

Tableau 1

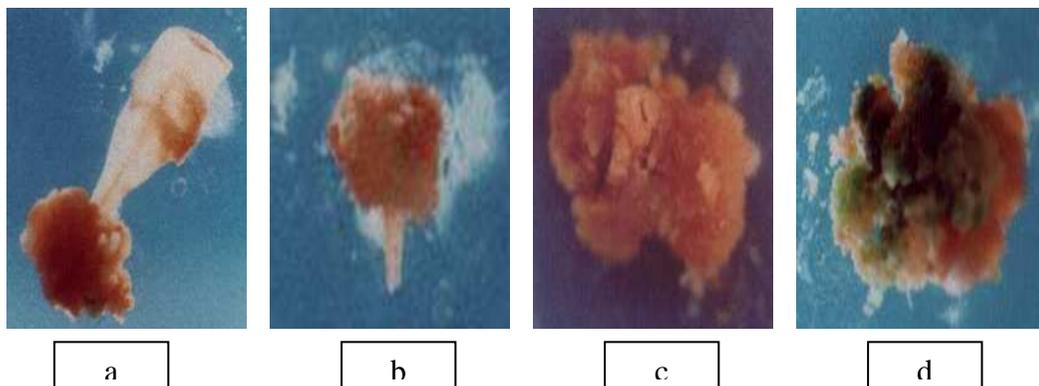
Composition hormonale des milieux callogènes.

Hormones / milieux	BAP mg/l	AIB mg/l
M0	0	0
M1	1	0,01
M2	0,01	1
M3	1	1
M4	1	0,5

Tableau 2

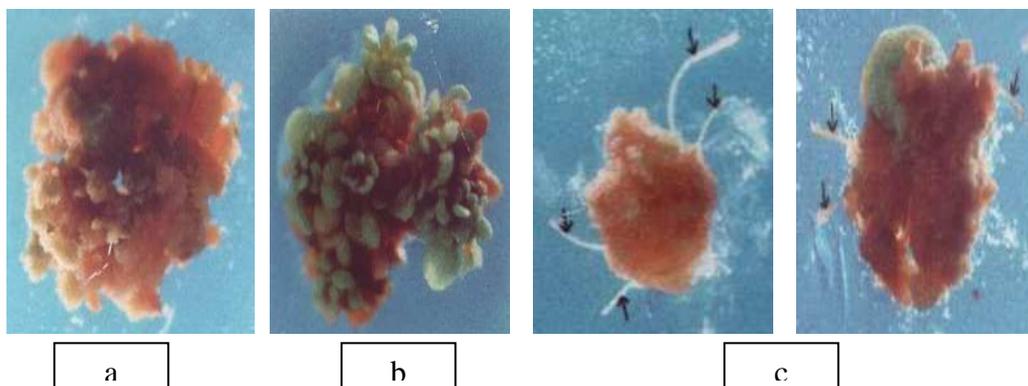
Test de NEWMAN-KEULS

F1	Libelles	Moyennes	Groupes homogènes
3	EN	95,59	A
1	FE	62,63	B
2	PB	54,53	B



**Figure 1 :** Aspect des cals des différents explants après 2 mois de culture

- a-feuille entière sur M4
- b- partie basale de feuille sur M3
- c- entre-nœud sur M2
- d-entre-nœud sur M1



**Figure 2 :** Aspect des cals

- a- cal représentant des nodules verts
- b- cal regenerant des bourgeons
- c- cal renfermant des racines