

Zeitschrift: Saussurea : journal de la Société botanique de Genève
Herausgeber: Société botanique de Genève
Band: 21 (1990)

Artikel: Culture "in vitro" des fragments de cotylédons des plantules de Cedrus atlantica Manetti
Autor: Abourouh, Mohamed / Najim, Larbi
DOI: <https://doi.org/10.5169/seals-1099107>

Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist die Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften auf E-Periodica. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Zeitschriften und ist nicht verantwortlich für deren Inhalte. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern beziehungsweise den externen Rechteinhabern. Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen sowie auf Social Media-Kanälen oder Webseiten ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. [Mehr erfahren](#)

Conditions d'utilisation

L'ETH Library est le fournisseur des revues numérisées. Elle ne détient aucun droit d'auteur sur les revues et n'est pas responsable de leur contenu. En règle générale, les droits sont détenus par les éditeurs ou les détenteurs de droits externes. La reproduction d'images dans des publications imprimées ou en ligne ainsi que sur des canaux de médias sociaux ou des sites web n'est autorisée qu'avec l'accord préalable des détenteurs des droits. [En savoir plus](#)

Terms of use

The ETH Library is the provider of the digitised journals. It does not own any copyrights to the journals and is not responsible for their content. The rights usually lie with the publishers or the external rights holders. Publishing images in print and online publications, as well as on social media channels or websites, is only permitted with the prior consent of the rights holders. [Find out more](#)

Download PDF: 17.04.2026

ETH-Bibliothek Zürich, E-Periodica, <https://www.e-periodica.ch>

Culture “in vitro” des fragments de cotylédons des plantules de *Cedrus atlantica* Manetti

MOHAMED ABOUROUH
&
LARBI NAJIM

RÉSUMÉ

ABOUROUH, M. & L. NAJIM (1990). Culture “in vitro” des fragments de cotylédons des plantules de *Cedrus atlantica* Manetti. *Saussurea* 21: 75-80. En français, résumés français et anglais.

Le développement du tissu méristématique sur les cotylédons des plantules de *Cedrus atlantica* Manetti cultivés “in vitro” est important en présence d’une cytokénine (BAP) à une concentration de 5 $\mu\text{m}/\text{l}$ et d’une auxime (AIB) à 0.5 $\mu\text{m}/\text{L}$. Une période de culture de 4 semaines est nécessaire pour obtenir une formation de tissu méristématique sur toute la longueur cotylédonaire.

ABSTRACT

ABOUROUH, M. & L. NAJIM (1990). “In vitro” culture of cotyledon explants of *Cedrus atlantica* Manetti seedlings. *Saussurea* 21: 75-80. In French, French and English abstracts.

The development “in vitro” of meristematic tissue on the cotyledons of *Cedrus atlantica* Manetti seedlings is important with the cytokinin (BAP) and the auxin (AIB) added respectively at concentration of 5 $\mu\text{m}/\text{l}$ and 0.5 $\mu\text{m}/\text{l}$. A culture period of 4 weeks is necessary to obtain the formation of meristematic tissue along the cotyledons.

Introduction

La propagation des végétaux peut se faire soit par la reproduction faisant intervenir les organes sexués, soit par la multiplication asexuée impliquant alors la fragmentation d’une partie de l’individu primitif, méthode communément appelée “bouturage”; cette méthode nécessite généralement la constitution de méristèmes nouveaux à partir de cellules différenciées.

Jusqu’ici, la plupart des conifères, et c’est le cas pour le cèdre, sont propagés par semis. Les méthodes traditionnelles de multiplication végétative par bouturage n’ont pas été essayées pour cette espèce ligneuse.

L’induction “in vitro” d’organes chez les gymnospermes a été observée pour la première fois par BALL en 1950. Durant la dernière décennie, plusieurs essais ont été faits pour produire des plantules à partir de tissus ou d’organes de conifères cultivés “in vitro”.

Des succès partiels ont été signalés par GREENWOOD & BERLYN (1965), par BETHEL (1972) et par KONAR (1963, 1975). D'autres travaux ont permis la régénération de plants entiers racinés: *Picea abies* (CHALUPA, 1975), *Picea glauca* (CAMPBELL & DURZAN, 1975, 1976), *Picea sitchensis* (WEBB & STREET, 1977), *Pinus gerardiana* (KONAR, 1975), *Pinus palustris* (SOMMER & al., 1975), *Pinus pinaster* (DAVID & DAVID, 1977; DAVID & al., 1978), *Pinus radiata* (REILLY & BROWN, 1976; REILLY & WASHER, 1977), *Pinus taeda* (MOTT & al., 1977), *Pseudotsuga mensiesii* (SOMMER, 1975; CHENG & VOQUI, 1977; BOULAY & FRANCKET, 1977), *Tsuga heterophylla* (CHENG, 1976), *Thuja plicata* (COLEMAN & THORPE, 1977).

La démarche suivie consiste dans un premier temps à induire ou stimuler le développement de nouveaux bourgeons (phase de caulogenèse) puis à isoler ces bourgeons et provoquer leur allongement en tiges feuillées et, dans un deuxième temps, à provoquer leur enracinement (phase de rhizogenèse) de façon à reconstituer des plants entiers autonomes.

Les recherches dans le domaine de la culture "in vitro" doivent être orientées vers la recherche, pour chacune des étapes précitées, du meilleur explant, d'un milieu de culture adéquat et des conditions optimales de culture.

Le cèdre de l'Atlas (*Cedrus atlantica* Manetti) s'étend au Maroc sur 131.000 ha. Le maintien de ses peuplements naturels pose aux forestiers des problèmes particuliers: pour n'en citer que deux, absence de régénération naturelle et difficultés de production en pépinière de plants de qualité se traduisant par un pourcentage d'échec élevé au moment de la plantation. La sélection génétique et la mycorhization contrôlée sont des moyens efficaces dans l'amélioration de la qualité des plants forestiers. Un certain nombre de caractères recherchés par les forestiers, croissance rapide, qualité du bois, tolérance aux variations climatiques, résistance aux agents phytopathogènes, peuvent être sélectionnés ou induits grâce aux techniques de la culture "in vitro". Au cours de ce travail, nous avons essayé de déterminer les potentialités d'organogenèse des cotylédons extraits de jeunes plants de *Cedrus atlantica* Manetti et les concentrations optimales en régulateurs de croissance (cytokénine et auxine) du milieu de culture.

Matériel et méthodes

Des graines de *Cedrus atlantica* (provenance de Ketama) sont utilisées au cours de ces essais. Elles sont mises en germination sur de la vermiculite à la température ambiante sans aucune stratification préalable. Nous pallions au faible pourcentage de germination (10%) caractérisant ce type de graines par le dépôt dans le substrat d'un nombre élevé de semences. Les semis issus de la germination des graines sont stérilisés en surface pendant 10 minutes dans une solution d'eau de Javel à 20% additionnée de 2 gouttes d'un détergent et lavés quatre fois dans de l'eau distillée stérile. Les cotylédons, dont le nombre par graine varie entre 5 et 9, sont excisés et cultivés, la surface adaxiale au dessus, dans des boîtes de Pétri de 9 cm de diamètre contenant du milieu de MURASHIGE & SKOOG (1962), gélosé (0.8%) et dilué de moitié. La composition de ce milieu de culture (MS) est la suivante (mg/l):

- KNO₃, 1900; NH₄NO₃, 1650; KH₂PO₄, 170; CaCl₂.2H₂O, 440; MgSO₄.7H₂O, 370; FeSO₄.7H₂O, 27.8; Na₂.EDTA.H₂O, 37.3; H₃BO₃, 6.2; ZnSO₄.7H₂O, 8.6; MnSO₄.7H₂O, 16.9; Na₂MoO₄.2H₂O, 0.25; KI, 0.83; CuSO₄.5H₂O, 0.025; CoCl₂.6H₂O, 0.025; myoinositol, 100; glycine, 2; thiamine HCl, 0.1; acide nicotinique, 0.5; pyridoxine HCl, 0.5; eau distillée jusqu'à 1 litre.

A chaque litre du milieu de culture dilué de moitié, nous ajoutons 30 g de saccharose et des concentrations variées d'une cytokénine (la 6 benzyl-aminopurine (BAP): 1.5 et

10 μm) et d'une auxine (l'acide indolbutyrique-3 (AIB): 0, 0.05 et 0.5 μm). Le pH est ajusté à 5.5 et le milieu est autoclavé à 121°C pendant 20 minutes.

Après 4 semaines de culture, les explants montrant un développement méristématique sont transférés dans des tubes à essais (1 explant par tube) contenant le même milieu de base, dilué, enrichi de 30 g/l de saccharose, en l'absence de régulateurs de croissance et contenant ou non du charbon activé (2:100).

Tous les essais ont lieu à la température ambiante, sous une lumière artificielle dont nous ignorons l'intensité.

Résultats

Développement de tissu méristématique sur les cotylédons

En fonction des concentrations de la BAP et de l'AIB, des réactions variées sont enregistrées après 4 semaines en culture.

A) BAP seule

A₁) BAP à 1 $\mu\text{m}/\text{l}$ — Les cotylédons de couleur verte à la mise en culture sur le milieu d'initiation deviennent brunâtres et commencent à se nécroser avec le temps. Le développement du tissu méristématique sur ce type d'explant est très faible.

A₂) BAP à 5 $\mu\text{m}/\text{l}$ — Nous assistons au même phénomène que précédemment avec un développement méristématique un peu plus important.

A₃) BAP à 10 $\mu\text{m}/\text{l}$ — Le changement de coloration est moins important et moins rapide que pour les deux cas précédents avec un développement méristématique du même ordre que pour le A₂.

B) BAP + 0.05 μm d'AIB

B₁) 1 μm de BAP + 0.05 μm d'AIB — Nous enregistrons dans ce cas un développement peu important du tissu méristématique accompagné, avec l'âge des cultures, d'un changement de couleur et d'une nécrose des cotylédons.

B₂) 5 μm de BAP + 0.05 μm d'AIB — Le développement du tissu méristématique est faible tandis que le changement de couleur et la nécrose des explants sont plus rapides que dans le cas précédent.

B₃) 10 μm de BAP + 0.05 μm d'AIB — Nous assistons au même phénomène que dans le cas précédent.

C) BAP + 0.5 μm d'AIB

C₁) 1 μm de BAP + 0.5 μm d'AIB — Nous remarquons un développement du tissu méristématique faible, un changement de couleur et une nécrose avec le vieillissement de la culture.

C₂) 5 μm de BAP + 0.5 μm d'AIB — Nous assistons ici à un développement méristématique maximum. Tous les explants manifestent une prolifération méristématique importante; pratiquement toute la surface des cotylédons se trouvant en contact avec le milieu d'induction étant couverte par ce type de tissu. Ce tissu méristématique n'est pas initié sur la partie supérieure qui n'est pas en contact avec le milieu de culture.

C₃) 10 μm de BAP + 0.5 μm d'AIB — Dans ce cas, le développement du tissu méristématique est intermédiaire entre le C₂ et les autres cas.

Développement des primordia foliaires

Après le transfert, des explants ayant manifesté un développement important du tissu méristématique sur un milieu de base (MS dilué de moitié) enrichi d'une source d'énergie (30 g/l de saccharose) mais ne contenant pas de régulateurs de croissance (milieu d'allongement), nous assistons, durant les trois semaines qui suivent, à un développement des primordia foliaires et à la formation d'aiguilles. L'importance de cette formation est la même en présence ou en absence du charbon activé (2:100). Avec le temps, ces aiguilles, initialement de couleur verte, arrêtent leur allongement, brûnissent et se nécrosent.

Discussion

Nos essais préliminaires sur la culture "in vitro" des cotylédons de *Cedrus atlantica* montrent que le développement du tissu méristématique est important en présence d'une cytokénine (la BAP) à une concentration de 5 $\mu\text{m}/\text{l}$ et d'une auxine (l'AIB) à 0.5 $\mu\text{m}/\text{l}$. La prolifération méristématique étant très faible sur le milieu de culture ne contenant que de la BAP quelle que soit sa concentration. La cytokénine et l'auxine combinées sont donc nécessaires pour l'obtention d'une prolifération abondante. CAMPBELL & DURZAN (1975) ont remarqué que le rapport cytokénine-auxine du milieu de culture est important pour l'induction de la caulogénèse sur les explants constitués d'axes hypocotylés de plantules de *Picea glauca*. Les résultats que nous avons obtenus sur les cotylédons de *Cedrus atlantica* se rapprochent également de ceux de CHENG (1975) sur les explants cotylédonaires de *Picea glauca* et sur ceux de *Pseudotsuga mensiesii* et de JANSSEN & BORNMAN (1980) sur les aiguilles de *Picea abies*. Le premier auteur a noté que la formation des bourgeons adventifs est favorisée par un rapport cytokénine (BAP), auxine (ANA) de 1000:1 alors que le rapport optimal pour JANSSEN & BORNMAN (1980) est de 100:1. En ce qui nous concerne, ce rapport est de 10:1 (BAP:AIB). L'induction des bourgeons adventifs sur divers explants de *Thuja plicata* (les cotylédons par exemple) nécessite une concentration forte en cytokénine par rapport à celle en auxine. Ces besoins ont été démontrés à la fois pour les gymnospermes et pour les angiospermes malgré des variations fréquentes dues à la variété ou à l'espèce végétale, à l'âge de l'explant ou aux conditions expérimentales (COLEMAN & THORPE, 1977); les cotylédons de *Sequoia gigantea* sont par exemple capables de produire des bourgeons adventifs en l'absence de tout régulateur de croissance exogène (COLEMAN & THORPE, 1976). Une concentration relativement élevée en saccharose (30 g/l) est nécessaire pour l'induction de la caulogénèse. En effet, selon TRANVAN & THOMAS (1981), l'isolement des cotylédons diminue leur aptitude à former des bourgeons adventifs; cette aptitude peut être restaurée en augmentant la concentration du milieu en sucre.

Une période de culture de quatre semaines est nécessaire pour obtenir la formation de tissu méristématique sur tout la longueur cotylédonaire. Cette durée est considérée par AITKEN & al. (1981) comme étant une situation normale et idéale.

Le maintien prolongé des cultures sur le milieu "d'induction" favorise le développement des cals et inhibe celui des bourgeons adventifs (TSOGAS & BOURIQUET, 1982); la croissance de ces bourgeons étant stimulée sur un milieu de base ne contenant pas de régulateurs de croissance. L'élimination de ces substances arrête la croissance des cals et provoque l'élongation de la tige et l'expansion des écailles des bourgeons adventifs (CHENG & VOQUI, 1977). C'est ainsi que l'utilisation d'un milieu d'induction enrichi de cytokénine suivie par le transfert et le maintien sur un milieu de base dilué ne contenant souvent pas de phytohormones ou en contenant en faibles quantités pour stimuler l'élongation des tiges formées avant leur enracinement, sont devenus pratiques courantes (CAMPBELL & DURZAN, 1975; CHENG, 1975; SOMMER & al., 1975; WINTON &

VERHAGEN, 1977; COLEMAN & THORPE, 1977; VON ARNOLD & ERIKSSON, 1978; BOULAY, 1979). Nous constatons dans ce travail que les transferts des explants du milieu "d'induction" après la formation du tissu méristématique vers un milieu de base dépourvu de régulateurs de croissance permet le développement de pousses feuillées. Malheureusement, l'allongement des aiguilles formées s'arrête très tôt sans dépasser 2 à 3 mm, leur couleur change et elles se nécrosent. Ces phénomènes sont sans aucun doute dus aux conditions de culture défectueuses et plus particulièrement à la température et à la lumière, loin sans aucun doute des valeurs adéquates. AITKEN & al. (1981) ont constaté qu'après 6 semaines (trois sur le milieu d'induction et trois sur le milieu d'allongement), le tissu méristématique formé sur les cotylédons de *Pinus radiata* donne naissance à plusieurs aiguilles primaires. Durant les trois semaines qui suivent, les apex à la base de ces aiguilles se développent et forment des tiges aériennes de petite taille. Ces auteurs ont maintenu leurs cultures sous une photopériode de 16 h, une intensité lumineuse de $80 \text{ E m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ et sous des températures de $28 \pm 1^\circ\text{C}$ le jour et de $24 \pm 1^\circ\text{C}$ la nuit durant la phase d'initiation et de $24 \pm 1^\circ\text{C}$ le jour et de $20 \pm 1^\circ\text{C}$ la nuit durant la phase d'allongement.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- AITKEN, J., K. J. HORGAN & T. A. THORPE (1981). Influence of explant selection on the shoot-forming capacity of juvenile tissue of *Pinus radiata*. *Canad. J. Forest. Res.* 11: 112-117.
- BALL, E. (1950). Differentiation in a callus culture of *Sequoia sempervirens*. *Growth* 14: 195-325.
- BETHEL, J. S. (1972). Influence of environment on quality of wood of Douglas fir. *Forest Research progress in 1971*: 22-23. Cooperative State Research Service, U.S. Department of Agriculture, Washington DC.
- BOULAY, M. (1979). Multiplication et clonage rapide de *Sequoia sempervirens* par la culture "in vitro". *AFO-CEL. Etudes et Recherches* 12: 49-55.
- BOULAY, M. & A. FRANCKET (1977). Recherches sur la propagation végétative du Douglas: *Pseudotsuga menziesii* (Mirb.) Franco. Possibilités d'obtention de plants viables à partir de la culture "in vitro" de bourgeons de pieds mères juvéniles. *Compt. Rend. Acad. Sci., Sér. D* 284: 1405-1407.
- CAMPBELL, R. A. & D. J. DURZAN (1975). Induction of multiple buds and needles in tissue cultures of *Picea glauca*. *Canad. J. Bot.* 53: 1952-1675.
- CAMPBELL, R. A. & D. J. DURZAN (1976). Vegetative propagation of *Picea glauca* by tissue culture. *Canad. J. Forest. Res.* 6: 240-243.
- CHALUPA, V. (1975). Induction of organogenesis in forest tree tissue cultures. *Comm. Inst. Forest. Cechosl.* 9: 39-50.
- CHENG, T. Y. (1975). Adventitious bud formation in culture of Douglas fir (*Pseudotsuga menziesii* (Mirb.) Franco). *Pl. Sci. Letters* 5: 97-102.
- CHENG, T. Y. (1976). Vegetative propagation of western hemlock (*Tsuga heterophylla*) through tissue culture. *Pl. Cell Physiol.* 17: 1347-1350.
- CHENG, T. Y. & H. VOQUI (1977). Regeneration of Douglas-fir plantlets through tissue culture. *Science (Washington)* 198: 306-307.
- COLEMAN, W. K. & T. A. THORPE (1976). Induction of buds in tissue cultures of four different conifers. *Pl. Physiol.* 57 (Suppl.): 67.
- COLEMAN, W. K. & T. A. THORPE (1977). "In vitro" culture of Western Redcedar (*Thuja plicata* Donn.). I — Plantlet formation. *Bot. Gaz.* 138: 298-304.
- DAVID, A. & H. DAVID (1977). Manifestations de diverses potentialités organogènes d'organes et de fragments d'organes de Pin maritime (*Pinus pinaster* Sol.) en culture "in vitro". *Compt. Rend. Acad. Sci., Sér. D* 284: 627-630.
- DAVID, H., K. ISEMUKALI & A. DAVID (1978). Obtention de plants de pin maritime (*Pinus pinaster* Sol.) à partir de brachyblastes ou d'apex caulinaires de très jeunes sujets cultivés "in vitro". *Compt. Rend. Acad. Sci., Sér. D* 287: 245-248.

- GREENWOOD, M. S. & G. P. BERLYN (1965). The regeneration of active meristems "in vitro" by hypocotyl section from dormant *Pinus lambertiana* embryos. *Canad. J. Bot.* 43: 173-175.
- JANSSON, E. & C. H. BORNMAN (1980). "In vitro" phyllomorphic generation of shoot buds and shoots in *Picea abies*. *Physiol. Pl.* 49: 105-111.
- KONAR, R. N. (1963). Studies on submerged callus culture of *Pinus gerardiana* Wall. *Phytomorphol.* 13: 165-169.
- KONAR, R. N. (1975). "In vitro" studies of *Pinus*. II. The growth and morphogenesis of cell cultures from *Pinus gerardiana*. *Phytomorphol.* 25: 55-59.
- MOTT, R. L., R. H. SMELTLER, A. MEHRA-PALTA & B. J. ZOBEL (1977). Production of forest trees by tissue culture. *Tappi* 60: 62-64.
- MURASHIGE, T. & F. SKOOG (1962). A revised medium of rapid growth and assays within tobacco tissue culture. *Physiol. Pl.* 15: 473-497.
- REILLY, Y. J. & C. L. BROWN (1976). "In vitro" studies of bud and shoot formation in *Pinus radiata* and *Pseudotsuga menziesii*. *Ga. Ror. Res. Pap. N.* 86.
- REILLY, K. J. & J. WASHER (1977). Vegetative propagation of radiata pine by tissue culture plantlet formation from embryonic tissues. *N. Z. J. Forest. Sci.* 7: 199-206.
- SOMMER, H. E. (1975). Differentiation of adventitious buds on Douglas fir embryos "in vitro". *Proc. Intern. Pl. Soc. Propag. Soc.* 25: 125-127.
- SOMMER, H. E. & C. L. BROWN (1974). Plantlet formation in pine tissue cultures. *Amer. J. Bot.* 61, Suppl.: 11.
- SOMMER, H. E., C. L. BROWN & P. P. KORMANIK (1975). Differentiation of plantlets in longleaf pine (*Pinus palustris* Mill.) tissue cultured "in vitro". *Bot. Gaz.* 136: 196-200.
- TRANVAN, H. & M. J. THOMAS (1981). Aptitudes morphogénétiques des plantules et des fragments de plantules de *Pinus silvestris* L. en culture "in vitro". *Bull. Soc. Bot. France* 128, Lettres Bot.: 151-163.
- TSOGAS, M. & R. BOURIQUET (1982). Propagation de l'épicéa par culture "in vitro" d'embryons et de plantules. *Extrait des Annales AFOCEL* 1982: 346-367.
- VONARNOLD, S. & T. ERIKSSON (1978). Induction of adventitious buds on embryos of Norway spruce grown "in vitro". *Physiol. Pl.* 44: 283-287.
- WEBB, K. J. & H. E. STREET (1977). Morphogenesis "in vitro" of *Pinus* and *Picea*. *Acta Hort.* 78: 295-296.
- WINTON, L. L. & S. A. VERHAGEN (1977). Shoots from Douglas fir culture. *Canad. J. Bot.* 55: 1246-1250.