

Micropropagation d'arbres adultes de Kad

Acacia albida (Leguminosae).

Y.K. GASSAMA et E. DUHOUX.

Laboratoire de Cytophysiologie, Département de Biologie végétale
Faculté des Sciences, Dakar, Sénégal.

Résumé: Une méthode de micropropagation à partir de jeunes plantules de Kad a déjà été mise au point. Nous présentons ici les premiers résultats expérimentaux permettant la régénération de plantes entières à partir de matériel adulte. Les noeuds sont prélevés sur des rejets de Kad adultes, puis désinfectés au HgCl₂. La mise en culture sur un milieu minéral de base (Murashige et Skoog) contenant une cytokinine (BAP) et une auxine (ANA) permet le développement du bourgeon situé entre les deux épines. Ce bourgeon évolue ensuite pour donner naissance à une pousse feuillée qu'il sera possible d'enraciner selon les techniques déjà mises au point avec les sujets juvéniles.

Summary : Procedures for propagating young seedlings of Acacia albida already exist. We present here, the first results showing the production of viable plantlets from mature trees. Nodes of Kad are excised from stump sprouts, then disinfected by HgCl₂. The mineral solution of Murashige and Skoog added with a cytokinin (BAP) and an auxin (NAA), stimulate the development and elongation of axillary buds to form shoots. Their rooting will be possible according to the procedure previously developed on juvenile plantlets.

MICROPROPAGATION DE L'Acacia albida

(Leguminosae) adulte

Y.K. GASSAMA, E. DUHOUX

Laboratoire de Cytophysologie végétale. Faculté des Sciences.
Université de DAKAR (SENEGAL).

INTRODUCTION

Dans les zones tropicales arides ou semi-arides, soumises à une grave érosion des sols, la végétation arborée demeure un des éléments fondamentaux concernant le maintien et la restauration de la fertilité des sols ainsi que l'augmentation des rendements des cultures annuelles (Giffard, 1974). Ainsi l'association arbre-culture de rente, trouve sa justification dans le cadre d'une action intégrée agro-sylvo-pastorale. De ce point de vue l'Acacia albida, considéré par certaines ethnies du Sénégal comme l'arbre miracle, intéresse de nombreux chercheurs à bien des égards : protection et enrichissement des sols, action améliorante sur le micro-climat, augmentation du rendement en mil et arachide sous sa frondaison, enfin apport fourrager très important.

D'autre part, comme certaines légumineuses arborescentes, l'Acacia albida est supposé améliorer le sol grâce à son association symbiotique avec les Rhizobium, en augmentant ainsi la teneur du sol en matière azotée.

Dans le cadre de l'amélioration de l'efficacité de la fixation d'azote, il s'avère indispensable de sélectionner aussi bien la plante-hôte que le symbionte. La culture in vitro permet

de multiplier en masse des géotypes réputés très bons fixateurs (Duhoux, 1986).

La présente note rapporte les résultats préliminaires concernant la micropropagation d'Acacia albida à partir d'arbres adultes.

MATERIELS ET METHODES

a) Matériel végétal

Le matériel de base est constitué de noeuds portant un bourgeon axillaire situé entre les deux épines. Les noeuds proviennent soit de rejets récoltés à la base du tronc de l'arbre, au niveau du collet, soit de drageons se développant à partir des affleurements racinaires. Contrairement aux rejets, les drageons sont très peu lignifiés et se trouvent dans un environnement hydrique plus favorable grâce à de fréquents arrosages.

La désinfection du matériel s'obtient par trempage des noeuds déberassés de leurs feuilles dans une solution de $HgCl_2$ (1°/00) pendant 5 mn, suivi de 5 rinçages successifs à l'eau distillée stérile. Les noeuds (24 par essai) sont placés dans les tubes de culture.

b) Milieux et condition de culture

Trois milieux de base ont été testés : Murashige - Skoog (1962), Lin et Staba (1961) enfin un milieu Murashige-Skoog légèrement modifié par apport supplémentaire d'ions K^+ , Mg_2^+ et PO_4^- sous forme de sels (KH_2PO_4 : 18,6 mM ; $MgSO_4 \cdot 7H_2O$: 13,1 mM). Outre ces éléments minéraux de base, les milieux de culture contiennent un mélange vitaminique de Nitsch et Nitsch (1965) du

saccharose (30 g/l) une auxine l'acide naphthalène acétique (ANA) à des doses variant de 0 à 1 mg/l, une cytokinine, la 6 Benzyl - amino purine (BAP) de 0 à 0,5 mg/l, enfin de la gélose, Bacto-Difco agar (9 g/l).

Le pH est ajusté à 5,6. Après autoclavage, le charbon actif (20 g/l) est ajouté stérilement au milieu.

Les tubes sont placés dans une salle de culture climatisée à une température de $25 \pm 1^\circ\text{C}$ et soumise à une photopériode de 16 h/jour et 8 h/nuit.

RESULTATS EXPERIMENTAUX

A) Réactivité et expression morphogénétique des explants.

. Sur les noeuds issus de drageons, le débourrement du bourgeon est aussitôt suivi du développement d'un axe caulinaire porteur de jeunes feuilles. Par contre avec les rejets, le débourrement est très rarement suivi d'une croissance de tige. Seules des feuilles se développent à l'aisselle des épines, le bourgeon axillaire demeure inhibé.

L'incorporation au milieu de base d'une gibbérelline (GA_3) de la vitamine E (α -tocopherol), des doses élevées de saccharose, se sont révélées inefficaces à la levée de l'inhibition caulinaire.

. Deux types de morphologie foliaire apparaissent sur les rameaux néoformés. Sur les noeuds issus de rejets, on observe une disposition foliaire de type adulte (feuille composée bipennée comportant 3 à 4 pennes). Par contre, les feuilles développées sur des noeuds issus de drageons présentent une morphologie de type juvénile comparable à celle d'un semis (feuille composée uniquement de 2 pennes).

b) Influence du milieu de base et de la nature de l'explant sur l'expression du bourgeon axillaire.

Deux conditions apparaissent déterminantes : les dragons comme explant et le milieu M-S modifié comme milieu nutritif. En effet, le plus court délai (3 jours) de reprise d'activité du bourgeon axillaire est obtenu quand il s'agit de noeuds issus de dragons cultivés sur un milieu M-S modifié. De plus, les valeurs optimales du taux de reprise d'activité et le pourcentage de bourgeons évoluant en axe caulinaire sont obtenus dans les mêmes conditions (Tableau I).

Tableau I : Réponse de l'explant en fonction de sa nature et du milieu de culture

Milieux de culture	Murashige-Skoog		Murashige-Skoog modifié		Lin et Staba	
	rejet	dragon	rejet	dragon	rejet	dragon
Nature de l'explant						
Délai de reprise d'activité	8 jours	5 jours	10 jours	3 jours	10 jours	-
Taux de reprise d'activité	61 %	42 %	49 %	100 %	11 %	-
% de bourgeons évoluant en axe caulinaire	0 %	42 %	15 %	75 %	0 %	-

c) Influence des régulateurs de croissance sur l'activité
méristématique

Afin de favoriser l'allongement du bourgeon axillaire, différentes combinaisons de BAP (0 à 0,5 mg/l) et d'ANA (0 à 2 mg/l) ont été testées. Les concentrations en cytokinine utilisées ne favorisent pas la multiplication des bourgeons axillaires. Ainsi, un seul bourgeon se développe par noeud. Cependant, comme il l'a été démontré sur Acacia albida juvénile (Duhoux, Davies 1985), il est possible de stimuler la formation d'un grand nombre de bourgeons axillaires en augmentant la teneur en cytokinine.

La combinaison BAP/ANA qui permet d'obtenir un meilleur allongement de l'axe caulinaire est déterminée par les teneurs suivantes BAP : 0,5 mg/l et ANA : 0,01 mg/l.

d) Enracinement des tigelles

Cette phase s'effectue sur milieu L S dépourvu de régulateur de croissance et contenant des doses élevées de saccharose (50 g/l). Ce milieu optimal de rhizogénèse a été défini (Davies (1984) et Duhoux et Davies (1985)) sur du matériel juvénile. Les racines très abondantes et très fines se développent à partir d'un cal cicatriciel blanchâtre.

Discussion et Conclusion

Ces résultats préliminaires, ont permis de montrer qu'il est possible de régénérer des plantes entières à partir d'arbres adultes d'Acacia albida.

Les meilleurs résultats concernant la caulogénèse ont été obtenus en cultivant des drageons sur un milieu M S légèrement modifié par apport d'ions K^+ , Mg^{2+} et PO_4^- . Ces ions en quantités

importantes dans la solution joueraient un rôle déterminant dans la stimulation de l'activité organogène des méristèmes caulinaires.

Au cours de notre étude, nous avons constaté que les noeuds prélevés sur les drageons ont une plus grande réactivité que ceux issus de rejets.

Ces essais mettent en évidence l'influence de l'origine du matériel végétal utilisé et rappellent d'autres observations (Boulay, 1979 ; Bongas 1982) concernant la relation existant entre l'activité organogène de l'explant et ses conditions physiologiques. Les recherches concernant le traitement du matériel végétal avant la mise en culture sont à intensifier afin de déterminer les moyens d'induire un certain degré de juvénilité.

Par ailleurs, de nouvelles investigations s'avèrent nécessaires pour essayer d'obtenir un coefficient de multiplication plus élevé, en induisant la multiplication du bourgeon axillaire par apport de cytokinine, comme cela est réalisée chez le Sequoia sempervirens (Boulay, 1979) et le Pinus pinaster (David et col., 1983).

Ces premiers résultats obtenus, nous autorisent à envisager dans un proche avenir, la propagation en masse des clones améliorés d'Acacia albida, issus d'arbres adultes sélectionnés.

B I B L I O G R A P H I E

- BONGA, J.M., 1982. - Vegetative propagation in relation to juvenility, maturity and rejuvenation In : Tissue culture in Forestry, BONGA J.M. and DURZAN D.J. Ed s., Martinus Nijhoff/W. Junk, 387-412.
- BOULAY, M., 1979. - Multiplication et clonage rapide du Sequoia sempervirens par la culture in vitro. Etudes et Recherches, AFOCEL, domaine de l'Etançon, 49-55.
- DAVID, A., DAVID, H. et FAYE, M. 1983. - Organogénèse chez les Gymnospermes : applications à la multiplication végétative. Bull. Soc. bot. Fr. 130. Actual. Bot., 2, 69-78.
- DAVIES, D.W. 1984. - Multiplication vegetative "in vitro" de Faidherbia (Del.) A. Chev. (Acacia albida. Del.) D.E.A. Université Dakar, 70 p.
- DUHOUX, E. et DAVIES, D.W. 1985. - Caulogénèse à partir des bourgeons cotylédonnaires d'Acacia albida et influence du Saccharose sur la rhizogénèse J. Plant Physiol., Vol 121, 175-180.
- DUHOUX, E. 1986. - Sélection des plantes hôtes et multiplication végétative in vitro (sous presse).
- GIFFARD, P.L. 1974. - L'arbre dans le paysage sénégalais. Centre Technique forestier tropical. 131 p.
- LIN, M.L. et STABA, J. 1961. - Pepermint et Spearmint tissue culture. I. Callus formation in submerged culture. Lloydia, 24, 139-145.

MURASHIGE, T. and SKOOG, F. 1962. - A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. *Physiol. Plant*, 15, 473-497.

NITSCH, J.P. et NITSCH, C. 1965.-Néoformation de fleurs in vitro chez une espèce de jours courts : Plumbago indica L. *Ann. Physiol. veg.*, 7, 251-256.