

PHYSIOLOGIE VÉGÉTALE. — *Multiplication végétative du Palmier à huile (Elaeis guineensis Jacq.) à l'aide de cultures de tissus foliaires.* Note (*) de MM. Henri Rabéchault et Jean-Pierre Martin, présentée par M. Lucien Plantefol.

La multiplication végétative du Palmier à huile est possible grâce à la culture des tissus foliaires. On observe une grande variabilité dans la sensibilité des tissus aux auxines, de sorte que l'établissement de véritables cultures peut demander de 5 mois à 2 ans. Ensuite les tissus conservent pendant au moins 3 ans leur faculté d'organogenèse. Les tissus augmentent leur poids frais de 10 à 30 fois en 2 mois et peuvent produire plus de 50 plantules viables et normales par gramme.

La méthode des cultures de tissus ou de cellules peut seule permettre la multiplication végétative des Palmiers à huile hauts producteurs et le doublement d'un rendement déjà 10 fois supérieur à ceux des autres plantes oléagineuses. Les études effectuées ces dernières années n'ont pas conduit à résoudre le problème, parce que, à partir du matériel utilisé, on ne pouvait pas obtenir une organogenèse complète [racines (1), (2)], l'avenir génétique ne pouvait être connu [embryon, plantules (3), (4)] ou le prélèvement impliquait le sacrifice de l'arbre [bourgeon terminal (5), (6)]. Les feuilles utilisées ici sont disponibles en abondance et faciles à prélever.

MATÉRIEL ET MÉTHODES. — Les fragments de feuilles sont désinfectés à l'aide d'une solution aqueuse de chlorure mercurique à 1‰ pendant 20 mn. Après rinçage à l'eau stérile, des petits carrés de limbe sont prélevés et cultivés à l'obscurité sur un milieu gélosé favorable à la dédifférenciation. Il comporte les éléments minéraux de la formule de Murashige et Skoog (7), du saccharose 20‰, de la gélose « Bacto Agar Difco » 8‰, des compléments selon Dulieu (8) et une auxine : 2.4 D ou du 2.4.5-TCPP (acide trichlorophénoxypropionique) à raison de 2 à 10 mg/l. Le pH est ajusté à 4,5 avant l'autoclavage.

Les cals formés sont transférés sur un milieu de prolifération sur lequel ils sont cultivés jusqu'à l'obtention de véritables cultures de tissus.

La différenciation a lieu ensuite à la lumière (10 000 lx) sur un milieu identique au précédent, mais dans lequel le 2.4 D est remplacé par un mélange d'une cytokinine (kinétine, benzylaminopurine, ou γ , γ' diméthylallylaminopurine) : 2 mg/l et d'ANA : 0,5 mg/l.

RÉSULTATS. — *Dédifférenciation.* — En général des cals se forment le long des nervures après 15 à 60 jours de culture (pl., fig. A, c).

Le brunissement des tissus, comme la sensibilité aux auxines, sont très variables et dépendent de l'origine du matériel; les feuilles les plus jeunes sont préférables. L'établissement de véritables cultures de tissus peut demander de 5 mois à 2 ans.

Les cultures, d'un blanc-jaunâtre clair, ont un aspect granuleux caractéristique (granules irréguliers de 0,2 à 1,5 mm) (pl., fig. B). Elles se multiplient avec rapidité, augmentant leur poids frais de 10 à 30 fois en 2 mois. Ainsi 1 g d'inoculum pourrait produire annuellement 1 t de tissus organogènes.

La faculté d'organogenèse peut apparaître très tôt, au bout de quelques mois. On peut la détecter en laissant vieillir les tissus sur le même milieu. Au bout de 80 jours quelques nodules blanc-nacré, arrondis, de texture plus ferme que le tissu-mère, apparaissent. (pl., fig. C). Il s'agit d'*embryoïdes* analogues à ceux obtenus précédemment à partir d'embryons (1). Leur formation est due à l'épuisement du milieu, mais n'est pas seulement le fait de la disparition de l'auxine, car des tissus transférés sur un milieu sans auxine ne produisent pas d'*embryoïdes*.

24 FEB. 1977

O. R. S. T. O. M.

Collection de Référence

N^o 8503 ex 1 B B V

Différenciation. — Tout en faisant plus ou moins brunir les tissus, les cytokinines provoquent et stimulent la formation des embryoides proportionnellement à leur concentration, dans la zone d'activité optimale. (pl., fig. D). Parmi les cytokinines, seule la zéatine a peu d'effets au-dessus de 0,05 mg/l sur l'embryogenèse; elle ne permet que la formation de racines pour des concentrations inférieures.

1 g de tissus donne plus de 50 embryoides qui peuvent poursuivre leur organogenèse sur la culture mère. A noter cependant que, lorsque l'apex racinaire de l'embryoïde entre le premier en activité, l'apex caulinaire, situé à l'autre extrémité, n'évolue pas. L'inhibition de l'apex caulinaire semble d'autant plus irréversible que la racine formée a atteint un plus grand développement. La suppression de cette dernière rétablirait peut-être une corrélation de croissance convenable.

Par conséquent le meilleur processus de développement chez les embryoides a lieu lorsque l'organogenèse débute par une entrée en activité de l'apex caulinaire ou bien lorsque les apex caulinaire et racinaire se développent en même temps.

La rhizogenèse des embryoides (pl., fig. E), dont le bourgeon est en activité, est achevée sur un milieu identique au précédent, mais dans lequel les quantités de sucre et de fer sont notablement diminuées et les régulateurs de croissance supprimés.

Les embryoides se transforment en « plantules » absolument identiques à celles que l'on peut obtenir à partir d'embryons excisés. On distingue sur la planche, figure F : les feuilles f, et une racine principale blanche r avec sa coiffe. En règle générale cependant les deux types de racines caractéristiques du système racinaire du Palmier à huile se forment très tôt, dès le début de l'enracinement. Planche, figure G : la jeune plante qui a des feuilles juvéniles f, présente déjà des racines normales r et des pneumatodes pn, racines à géotropisme négatif plus spécialisées dans les échanges gazeux.

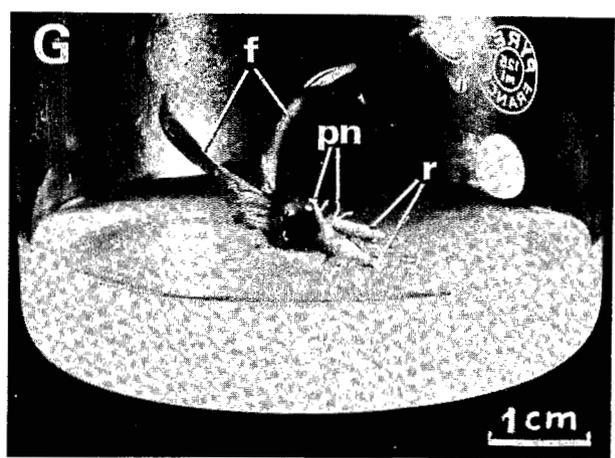
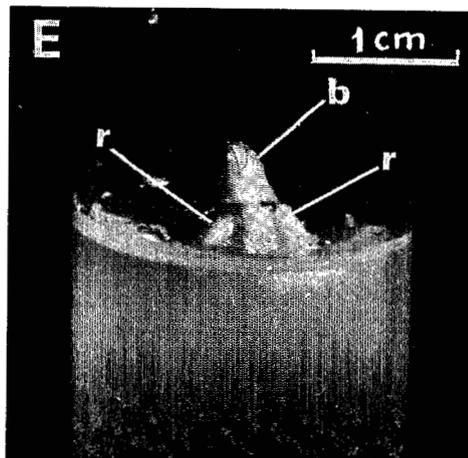
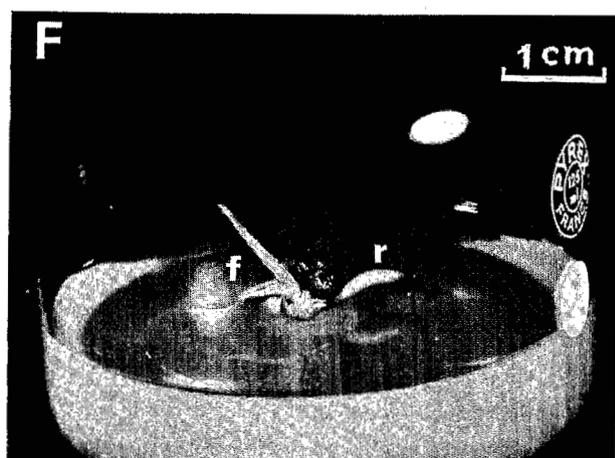
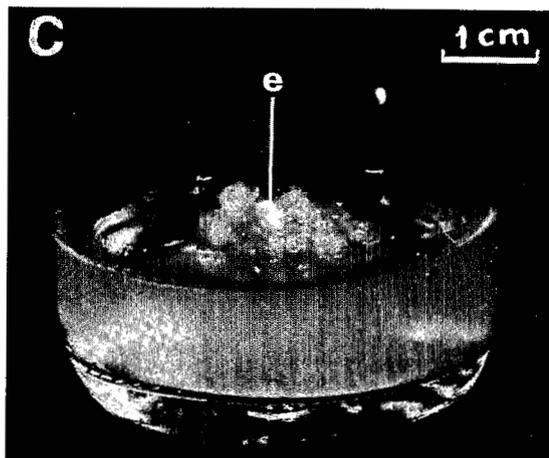
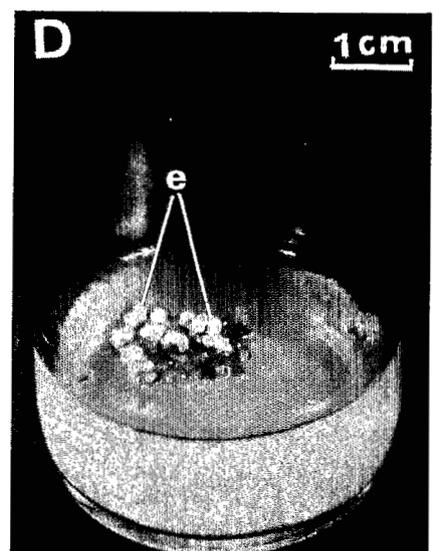
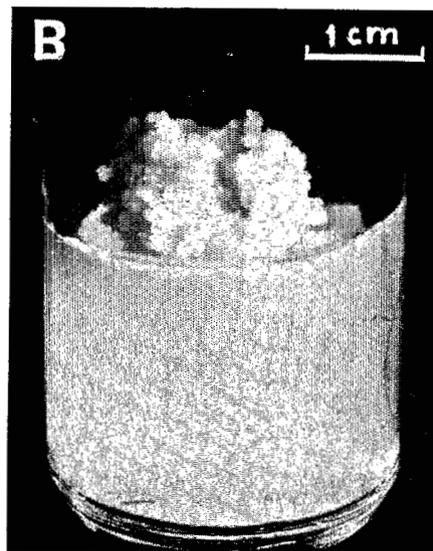
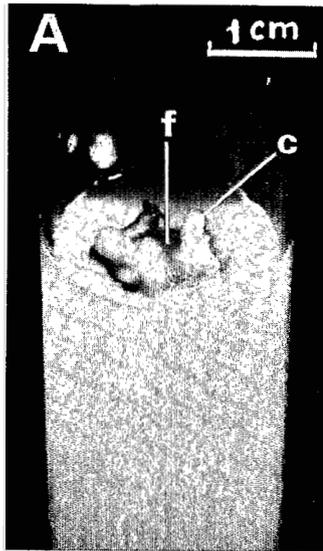
Lorsque le système racinaire est assez développé, les jeunes plantes sont transférées du milieu aseptique au milieu naturel. Cette opération doit être effectuée dans les conditions optimales d'hygrométrie.

DISCUSSION ET CONCLUSIONS. — La multiplication végétative du Palmier à huile à partir de cultures de tissus foliaires est possible. Ce résultat revêt une grande importance économique, si l'on considère les nombreux débouchés offerts aux matières grasses dans l'alimentation et l'industrie; car on peut envisager à présent doubler les rendements à l'hectare du Palmier à huile, déjà 10 fois supérieurs à ceux des autres plantes oléagineuses, tout en améliorant l'homogénéité des plantations et de leur production.

La faculté de dédifférenciation des tissus foliaires est très variable selon l'origine génétique et l'âge des feuilles et, dans les cas les plus défavorables, l'établissement des cultures de tissus est très long (2 ans). Cependant des expériences en cours nous permettent d'espérer réduire bientôt ce délai, puisque nous avons obtenu une pousse verte sur un cal de 5 mois.

LÉGENDE DE LA PLANCHE

A, dans un tube à essai, un morceau de feuille f, couché à plat sur le milieu, a développé deux lignes de cals c; B, culture de tissus à croissance rapide; C, embryoïde e, sur une culture de tissus maintenue 80 jours sur le même milieu; D, la formation des embryoïdes e, est stimulée par la présence d'une cytokinine; E, embryoïde mis à raciner (on distingue le bourgeon b qui s'ouvre au sommet et les premières racines r); F, jeune plante avec les 2 premières feuilles f et sa racine r; Fig. G, plante plus âgée, sur l'une des 3 feuilles f on distingue les nervures caractéristiques, le système racinaire comporte des racines r et des pneumatodes pn.



(*) Séance du 27 septembre 1976.

- (1) H. RABÉCHAULT, J. AHÉE et G. GUÉNIN, *Comptes rendus*, 270, série D, 1970, p. 3067.
- (2) L. H. JONES, *Oil Palm news*, 17, 1974, p. 1-8.
- (3) G. STARITSKY, *Euphytica*, 19, 1970, p. 288-292.
- (4) H. RABÉCHAULT, J.-P. MARTIN et S. CAS, *Oléagineux*, 27, 1972, p. 531-534.
- (5) J.-P. MARTIN, S. CAS et H. RABÉCHAULT, *Oléagineux*, 27, 1972, p. 303-305.
- (6) W. K. SMITH et J. A. THOMAS, *Oléagineux*, 28, 1973, p. 123-127.
- (7) T. MURASHIGE et F. SKOOG, *Physiol. Plant.*, 15, 1962, p. 473-497.
- (8) J. P. NITSCH, C. NITSCH et S. HAMON, *Comptes rendus*, 269, série D, 1969, p. 1275.
- (9) H. L. DULIEU, *Comptes rendus*, 256, 1963, p. 3344.
- (10) W. K. SMITH et L. H. JONES, *Chem. and Indust.*, 44, 1970, p. 1399-1401.
- (11) J. P. MARTIN et H. RABÉCHAULT, Brevet O.R.S.T.O.M., n° 76.28.361, 1976.

*Laboratoire de Physiologie végétale
des Services scientifiques centraux de l'O.R.S.T.O.M.,
70, route d'Aulnay,
93140 Bondy.*