

PERSPECTIVES DE PRODUCTION DE VITRO-PLANTS DE PALMIER A HUILE

Le palmier à huile *ELAEIS GUI-NEENSIS* est la plante oléagineuse dont le rendement est le plus élevé: 4 à 5 tonnes d'huile par hectare et par an sont couramment atteintes dans des conditions écologiques favorables où le potentiel des dernières variétés sélectionnées en cours de diffusion est estimé à 6 à 7 tonnes.

Originaire d'Afrique de l'Ouest, ses peuplements naturels sont exploités depuis très longtemps, sa culture a commencé avec ce siècle et s'est considérablement accélérée au cours des vingt dernières années en raison du déficit important en corps gras de la plupart des pays en voie de développement.

De 1960 à 1984, la production mondiale d'huile de palme est passée de 1,5 à 6,3 millions de tonnes, alors que la production totale d'huile passant de 13,2 à 44,2 millions de tonnes.

Les principaux pays consommateurs sont de plus en plus les pays producteurs eux-mêmes, à l'exception de la Malaisie, premier producteur mondial, qui exporte la majeure partie de sa production.

En 1983, la production s'est répartie de la façon suivante:

	en milliers de tonnes
Malaisie	3 560
Indonésie	900
Nigeria	340
Côte-d'Ivoire	160
Reste du monde	900

La production est étalée tout au long de l'année grâce à un rythme de développement régulier résultant de la présence d'un apex unique et de conditions de végétation homogènes.

Sa bonne répartition dépend essentiellement de la régularité des pluies.

Chaque mois, deux nouvelles feuilles apparaissent à l'extrémité du stipe couronné de feuilles, à l'aisselle de chacune desquelles se développe une inflorescence mâle ou femelle (monœciel).

L'apparition des inflorescences est régulières, en cycles mâle et femelle alternés déterminant une reproduction strictement croisée (allogamie).

L'inflorescence femelle est un spadice d'épillets portant de 500 à 3 000 fruits et pouvant peser jusqu'à 50 kg à maturité.

Le fruit est une drupe: du mésocarpe on extrait l'huile de palme et de l'amande contenue dans une coque dure, l'huile de palmiste.

L'huile de palme représente environ 90 % de l'huile totale produite par les variétés sélectionnées; c'est une huile concrète composée d'environ 50 % d'acides gras insaturés.

Cette huile a de multiples utilisations (margarines, biscuits, savons, détergents, cosmétiques, etc.).

le pédoncule de l'inflorescence femelle mûre (alors appelée régime) et la durée d'exploitation est de 20 à 25 ans, suivant la vitesse de croissance des arbres.

L'huile de palme doit être extraite des fruits immédiatement après la récolte pour éviter son acidification, ce qui nécessite l'installation d'une usine à proximité des plantations.

Le régime est stérilisé, égrappé, puis les fruits sont pressés pour en extraire l'huile. Les graines sont recueillies et concassées pour séparer la coque de l'amande (palmiste). Le palmiste est traité plus tard dans d'autres usines pour en extraire l'huile.



Photo 1.

Le développement des techniques de fractionnement conduit de plus en plus à séparer une partie fluide, riche en acides gras insaturés, et une partie concrète.

La partie fluide, représentant environ 70 %, est commercialisée comme huile de table et la partie concrète est essentiellement utilisée en savonnerie.

La dimension des feuilles (8 m de long environ) et la parfaite symétrie de l'arbre conduisent à planter 143 individus par hectare, éloignés les uns des autres de 9 m.

Les jeunes plants sont mis en place après une année de pépinière et commencent à produire deux à trois ans après.

La récolte est réalisée en coupant

AMELIORATION VARIETALE ET INTERET DU CLONAGE

Les variétés sélectionnées sont des hybrides composés de 100 % de palmiers *tenera* (fruits à coque mince) obtenus en croissant des palmiers *dura* (coque épaisse) avec des palmiers *pisifera* (fruits sans coque avortant généralement).

Ils sont sélectionnés en fonction de leur rendement mais également en fonction de la fluidité de leur huile (teneur élevée en acides gras insaturés), de leur faible croissance en hauteur (diminution des coûts de récolte et allongement de la durée d'exploitation) et enfin en fonction de facteurs de tolérance à quelques maladies.

Depuis 1957, le schéma de sélection de l'IRHO est une adaptation de la sélection récurrente réciproque (SRR).

Il exploite un fort effet d'hétérosis sur le rendement obtenu en croisant des arbres d'origines non apparentées et à caractéristiques complémentaires et fait appel à des essais comparatifs de croisements pour déterminer les aptitudes à la combinaison pour les caractéristiques dont l'hérédabilité est faible comme la production.

On peut résumer les résultats obtenus en trente ans pour la production d'huile de palme dans des conditions écologiques moyennes de la façon suivante: ORSTOM Fonds Documentaire

Hybrides	Huile de palme en tonnes par ha/an
Sélection normale	3,3
1 ^{er} cycle de SRR	3,9
2 ^e cycle de SRR	4,5 (en début de vulgarisation)

Il faut y ajouter une augmentation moyenne de 10 % du pourcentage d'acides gras insaturés et une diminution moyenne de 20 % de la croissance en hauteur.

L'hybridation interspécifique avec le palmier à huile américain, qui a une huile fluide et une croissance en hauteur très faible, a été entreprise, il y a une quinzaine d'années, et fait espérer une amélioration importante de ces deux caractères dans le futur.

Les croisements associant les caractères intéressants au meilleur niveau sont vulgarisés. Leur sélection est sévère puisque sur 780 croisements testés au cours du premier cycle de sélection, 15 seulement ont été retenus.

Afin d'obtenir de grandes quantités de semences, on utilise des arbres-mères descendant des parents des croisements sélectionnés.

En Afrique, 6 millions environ de semences sont ainsi produites annuellement avec le label I.R.H.O., ce qui assure la plantation de 20 000 ha.

Ces croisements entre individus hétérozygotes présentent une variabilité relativement importante pour de nombreux caractères, et en particulier le rendement.

La figure 1 illustre la distribution de la production d'huile des arbres d'un essai en Indonésie dans une excellente écologie : pour une moyenne de 44,3 kg d'huile de palme par arbre et par an (6,3 tonnes par ha), la production varie de 21 à 77 kg, soit de 3 à 11 tonnes/ha.

La vulgarisation des clones obtenus à partir des meilleurs arbres présente un intérêt évident.

L'exploitation de la variabilité entre arbres associée à la possibilité de propager des génotypes particuliers ouvre par ailleurs de nouvelles perspectives à la sélection : les croisements entre palmiers exceptionnels et à caractères complémentaires en cours de plantation devraient donner des arbres cumulant les caractères des deux parents (recombinaison).

Leur vulgarisation sous forme de clones aura quinze ans d'avance sur un matériel ayant les mêmes performances obtenu par voie sexuée.

Le schéma général d'amélioration

n'est pas profondément modifié par cette technique, mais ses résultats sont valorisés et exploités plus rapidement.

Le cas de l'hybride interspécifique E. melanococca × E. guineensis est typique.

Cet hybride présente une stérilité assez marquée et la création de croisements fertiles de bonne valeur agronomique nécessitera plusieurs générations.

En revanche, la propagation des quelques arbres fertiles intéressants, que



Photo 2.

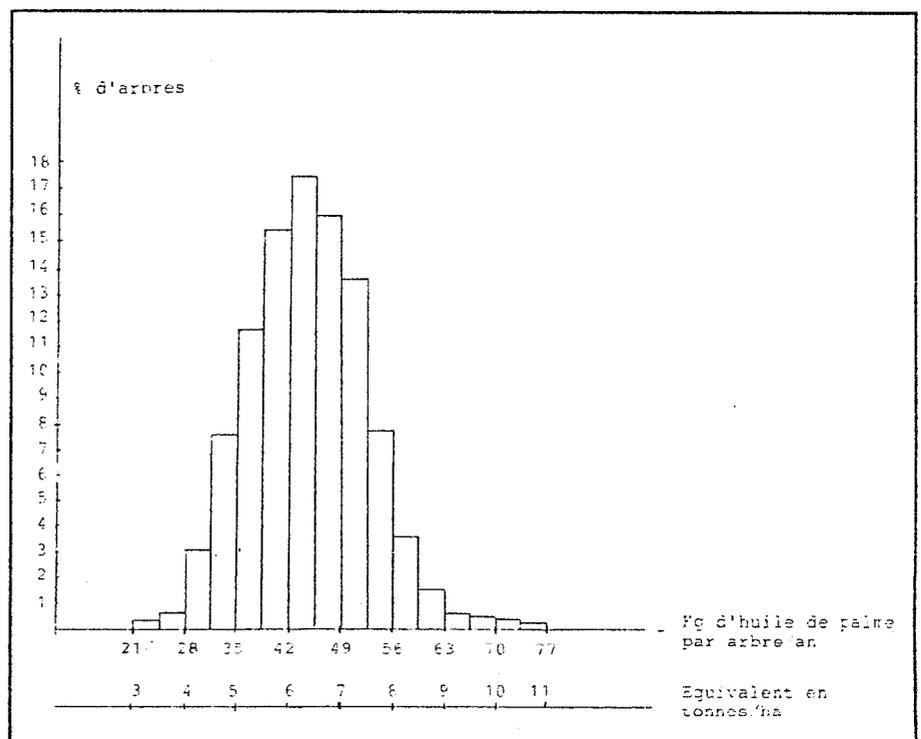


Fig. 1. Distribution des productions d'huile de palme des arbres dans un essai.

l'étude de cette stérilité fait espérer dès la première génération, fera gagner au moins vingt ans à la vulgarisation de ce matériel, estimé être le type idéal pour les plantations de palmier à huile.

Ceci n'empêche pas que le programme de restauration de la fertilité au niveau des croisements reste nécessaire si l'on veut améliorer ce matériel et avoir des arbres plus performants à propager par voie végétative dans le futur.

LA TECHNIQUE DE MULTIPLICATION VÉGÉTATIVE

Dès 1970, l'I.R.H.O. s'est associé à l'O.R.S.T.O.M. pour la recherche d'une technique de multiplication végétative du palmier à huile par culture *in vitro*, car les techniques classiques de type bouturage, greffage ou marcottage ne sont pas applicables à cette plante qui possède un seul bourgeon végétatif, l'apex.

Différentes voies ont été prospectées : la multiplication *in vitro* à partir de l'apex fut un échec.

Les autres voies consistaient à provoquer la régénération de plantules à partir de cales provenant de différents fragments d'organes (racines, inflorescences, feuilles).

Finalement, en 1976, RABEAULT et MARTIN ont obtenu les premières plantules en partant de tissus foliaires. Leur procédé a connu des améliorations successives.

Les explants d'initiation des cultures sont des fragments de jeunes feuilles non ouvertes ne nécessitant pas une désinfection poussée, toujours traumatisante.

Ce matériel est abondant, au moins 2 000 explants peuvent être obtenus en même temps sur un arbre sans affecter sa survie.

Après leur mise en culture en conditions stériles, les explants sont stockés durant douze semaines dans des pièces de culture à atmosphère et éclairage contrôlés, certaines cellules se divisent et forment des cals qui apparaissent au niveau des nervures (photo 1).

Le rendement de cette phase varie d'un arbre à l'autre en fonction de leur état physiologique et de différents autres facteurs. Actuellement 20 à 80 % des explants donnent des cals.

Les cals sont isolés et repiqués sur un autre milieu de culture favorable à l'organogenèse, puis stockés dans des pièces de culture.

Après au moins deux mois, parfois beaucoup plus, des structures organisées apparaissent sur certains cals (photo 2), ce sont des embryons somatiques ou embryoides possédant un pôle caulinaire et un pôle racinaire.

L'apparition de ces embryoides est encore aléatoire ; peu de cals en produisent, mais la fréquence est relativement bonne pour l'ensemble des arbres en cours de clonage puisque 75 % d'entre eux ont donné des embryoides à la suite d'un seul prélèvement d'explants.

En quatre mois, ces embryoides repiqués sur un nouveau milieu de culture évoluent en plantules (photo 3) qui sont transférées en conditions normales de culture (photo 5).

Les plantules sont fragiles durant le premier mois après le transfert, mais leur taux de reprise est en général supérieur à 90 %.

Bien que peu de cals portent des embryoides, le taux de multiplication est élevé parce que ces embryoides peuvent donner naissance à des embryoides secondaires.

Le taux de multiplication, qui varie suivant les clones, est voisin de 3 par mois (500 000 embryoides en un an à partir d'un seul) et peut être entretenu pendant plusieurs années (certaines cultures d'embryoïdes ont plus de cinq ans).

Au sein d'un massif d'embryoïdes tel que celui de la photo 3, tous les stades de développement sont représentés. A chaque repiquage, les embryoïdes les plus âgés sont isolés, ils évolueront en plantules, les plus jeunes continueront à assurer la multiplication du clone.



Photo 3.

Deux grandes phases se dégagent dans le processus :

- La création des clones comprenant la callogenèse et l'organogenèse, c'est-à-dire jusqu'à l'obtention des premiers embryoïdes, dont la durée moyenne est de un an. Ce travail est réalisé une fois pour un arbre et pour une période encore inconnue qui sera fonction de l'évolution des cultures d'embryoïdes dans le temps ;

- la production de plantules comprenant la multiplication des embryoïdes suivie de leur développement et du transfert en conditions normales de culture. Lorsque l'on a obtenu une certaine masse d'embryoïdes, le triplement de cette masse tous les mois assure une production de plantules qui ne demande que quatre mois de culture *in vitro* au laboratoire.

L'existence de ces deux phases a conduit à imaginer pour la diffusion des clones un circuit qui partirait de laboratoires situés sur les Centres de Recherches créant des clones de leurs meilleurs arbres et qui aboutirait à des unités industrielles recevant des embryoïdes, les multipliant et les élevant.

Le transport des embryoïdes sur de longues distances (France - Côte-d'Ivoire et France - Malaisie ou Indonésie) a été réalisé plusieurs fois et ne pose pas de problème.

LA MISE EN ŒUVRE DE LA TECHNIQUE ET SES PROBLÈMES

Deux séries de problèmes devaient être résolus avant que la multiplication

végétative puisse être utilisée. Les premiers propres à la technique, les seconds concernant les arbres à cloner et la valeur des clones.

Problèmes propres à la technique

L'utilisation de la culture *in vitro* et plus particulièrement d'un processus d'embryogenèse somatique pour cloner des individus nécessite de vérifier que le procédé mis en œuvre est conservatif.

En principe, le stock d'information héréditaire est gardé intact à l'issue d'un processus de multiplication végétative, mais le passage par un tissu dédifférencié (cal) entretenu sur des milieux de culture contenant des auxines peut induire des modifications irréversibles de structure ou de fonctionnement du patrimoine héréditaire.

D'autre part, la production économique de millions de vitro-plants demande l'adaptation de la technique de laboratoire aux contingences d'une unité industrielle.

Problèmes concernant les arbres à cloner et la valeur des clones

Les caractères observés (phénotype) sont la résultante de deux influences simultanées : l'une, due à l'hérédité (génotype), se transmet intégralement au clone, l'autre, due à l'environnement, varie d'un individu à l'autre.

L'importance de l'influence de l'environnement, en particulier pour un caractère comme le rendement en huile, rend difficile le choix des arbres qui donneront les meilleurs clones.

Des études théoriques ont conduit à une méthode de choix. Il faut la vérifier en plantant des essais clonaux qui permettront en même temps de connaître les meilleurs clones.

Ces deux séries de problèmes sont imbriquées et justifiaient une production suffisante de vitro-plants de clones différents pour la plantation des essais, en utilisant une technique la plus fiable possible.

De 1976 à 1981, on a choisi de travailler presque exclusivement sur la technique : réduction du temps de culture pour chaque phase, diminution des doses de produits divers utilisés, amélioration du rendement, etc.

De nombreux essais ont été réalisés et jusqu'à 17 personnes ont participé aux recherches en France (ORSTOM, Bondy) pendant cette période.

En même temps, on a installé une unité pilote en Côte-d'Ivoire, sur la Station de Recherches de La Mé où il était possible de choisir des arbres intéressants à cloner et de planter des essais clonaux.

1 000 croisements en essais comparatifs y sont représentés par 50 000 arbres, dont l'observation individuelle de la production durant sept années assure de larges possibilités de choix.

Les mises en culture ont commencé en mai 1981 avec un programme de création de 50 clones par an. Les premiers essais ont été plantés en 1983 et une production de 50 000 vitro-plants par an est maintenant possible.

Des solutions techniques originales ont été trouvées car il n'existait pas, à notre connaissance, de laboratoire de cette importance dans des pays tropicaux humides où les risques de contamination sont beaucoup plus importants que sous un climat tempéré.

Les 250 m² de cette unité sont à atmosphère contrôlée et divisés en deux zones en fonction de l'asepsie ; la filtration de l'air est plus fine dans les salles de repiquage et de culture que dans celles de préparation des milieux et de stérilisation.

Des essais de simulation de production industrielle ont été réalisés : rendement du personnel, conditionnement des cultures, optimisation du rendement et du coût de chaque étape, essais d'appareillages, etc.

Tous les problèmes ne sont pas résolus, mais un schéma de production industrielle a été établi et permet de déterminer pour une production donnée de vitro-plants les caractéristiques techniques d'une unité industrielle comprenant outre les installations, le personnel et les bases de calcul du coût de fonctionnement.

Le transfert des vitro-plants aux conditions habituelles de culture est facilement résolu quand il s'adresse à de petits lots qui peuvent être minutieusement suivis et pour lesquels les problèmes économiques ne sont pas pris en compte. Dans ces conditions le taux de réussite est voisin de 100 %.

L'adaptation de la technique à des lots industriels est en cours et nécessite en particulier la mise au point d'installations adéquates (serres ou châssis dans une première étape suivie d'un séjour dans une prépépinière classique ombrée avec un bon système d'arrosage type brumisation).

LE RESEAU INTERNATIONAL DE VULGARISATION DE LA TECHNIQUE

Le milieu professionnel, centres de recherches et sociétés de plantation, s'est intéressé à la vulgarisation de la technique de multiplication végétative

dès la production des premières plantules en 1976.

L'O.R.S.T.O.M. et l'I.R.H.O. se sont retrouvés face à la concurrence d'Unilever dont une équipe de recherche avait obtenu des résultats voisins la même année.

La politique adoptée a été fondamentalement différente : Unilever a installé ses propres unités de production en Malaisie et en Grande-Bretagne alors que l'O.R.S.T.O.M. et l'I.R.H.O. ont recherché des accords avec le milieu professionnel.



Photo 4.

Ces accords prévoient un transfert de savoir-faire avec clauses d'exclusivité et de secret compensées par un taux de redevance sur les plantules produites avec un minimum garanti.

Le transfert de savoir-faire comporte l'installation de l'unité de production, la formation du personnel qui, de plus, est informé de toute nouvelle amélioration du procédé et l'assistance technique lorsqu'elle s'avère nécessaire.

De plus, les améliorations obtenues par un laboratoire sont transférables aux autres laboratoires du réseau. Chaque unité reste propriétaire de ses clones et peut négocier leur utilisation.

La vulgarisation du procédé n'étant pas terminée, les premiers accords ont été passés avec des Sociétés de Plantation qui ayant un centre de recherches, avaient intérêt à créer des clones avec leurs meilleurs arbres pour les tester.

Le premier accord a été signé avec le F.E.L.D.A. (Federal Land De-

velopment Authority) qui est une société d'Etat de Malaisie regroupant 350 000 ha de plantations de palmier à huile appartenant à environ 80 000 planteurs associés dans un système coopératif.

Cette Société représente le plus grand complexe mondial de plantations de palmier à huile et participe pour environ 20 % à la production mondiale d'huile de palme.

Un chercheur du F.E.L.D.A. a été formé et les premières mises en culture réalisées en septembre 1983 ont déjà permis 9 mois plus tard la création de 10 clones.

Une unité industrielle est en cours de finition à Kuala Lumpur ; sa surface est de 1 300 m² et sa capacité annuelle est de 1 million de plantules avec la création de 100 clones. A terme, cette unité sera amenée à produire surtout des embryoides pour d'autres unités qui assureront leur développement en plantules. Les besoins du F.E.L.D.A. étant de l'ordre de 3,5 millions de vitro-plants par an pour assurer son programme de replantation.

En Indonésie, deux accords ont été passés, l'un avec une Société de plantation mixte, la SOCFINDO, qui a 35 000 ha de palmier à huile, et l'autre avec la Compagnie Nationale des Plantations Gouvernementales, P.N.P., qui a 250 000 ha de palmiers plantés et un programme de développement de 450 000 ha.

L'unité de la SOCFINDO est opérationnelle depuis novembre 1983 et sa capacité, qui est de 150 000 plantules par an, avec la création de 20 clones, peut être portée à 600 000 plantules par l'adjonction de pièces de culture.

L'unité des P.N.P. est en cours de construction et aura une capacité annuelle en première phase de 250 000 plantules et de clones, pouvant être portée à 2 millions de vitro-plants (1 600 m²).

Comme l'unité du F.E.L.D.A., celle des P.N.P. produira à terme surtout des embryoides destinés à plusieurs unités car leurs besoins sont estimés à 7 à 8 millions de plantules par an.

D'autres accords similaires sont en préparation ou en négociation pour l'Amérique du Sud et pour l'extrême-Orient. Dans les pays d'Afrique où la France a des accords particuliers de coopération, les conventions limitent les clauses à l'exclusivité et au secret.

Parallèlement à ces réseaux de laboratoires, un réseau d'essais clonaux et semi-industriels est en cours de création pour tester les clones dans différentes écologies et promouvoir le



La culture des plantes.

matériel clonal auprès des professionnels qui ne peuvent envisager pour le moment l'installation d'une unité de production.

Les mêmes essais seront plantés dans six pays d'Afrique, d'Amérique du Sud et d'Asie du Sud-Est. Des plants obtenus par voie sexuée et correspondant au meilleur matériel sélectionné sont utilisés comme témoin.

Les 30 à 40 000 vitro-plants nécessaires à ces essais sont produits par l'unité pilote de Côte-d'Ivoire et leur sevrage est réalisé en France pour des raisons phytosanitaires.

On a pour le moment choisi de fournir des vitro-plants après leur transfert en conditions naturelles car ce transfert nécessite des installations particulières et une certaine expérience.

**

Les essais clonaux plantés permettront de vérifier la conformité de la reproduction par culture in vitro en 1990.

De nombreux indices militent en faveur d'une reproduction conforme :

- les anomalies sur les vitro-plants sont exceptionnelles,
- les stocks chromosomiques ne sont pas modifiés,
- les premières inflorescences des jeunes clones sont normales ainsi que leur aspect végétatif, etc.

Il est cependant nécessaire de poursuivre l'expérimentation pour s'assurer

que les caractéristiques agronomiques intéressantes des arbres clonés sont conservées intactes dans les clones.

La production commerciale de vitro-plants devrait donc commencer en 1991, en s'amplifiant à mesure que l'on disposera de nouveaux clones testés dans les essais comparatifs.

Les perspectives de commercialisation des vitro-plants sont bonnes en raison de l'augmentation de production attendue et de la durée d'exploitation des arbres.

Le prix de vente des vitro-plants est estimé entre cinq et dix fois celui des semences, mais cette augmentation est couverte en trois ans au plus par une amélioration de 20 % de la production en conditions écologiques moyennes.

La protection du procédé de multiplication et des clones est difficile à assurer en raison de l'absence de législations nationales ou internationales efficaces.

Le procédé ORSTOM-IRHO a été breveté dans plusieurs pays, mais cette protection est illusoire à cause des nombreuses variantes possibles; l'avance technologique et le secret offrent de meilleures garanties dans ce domaine et nécessitent que les recherches soient poursuivies pour rester plus performant.

Les clones diffusés pour les essais sont protégés par un contrat et les organismes recevant ces clones sont choisis.

Cette pratique ne sera pas possible pour du matériel à vulgarisation mon-

diale et on devra rechercher d'autres solutions dont par exemple la vulgarisation de mélanges de clones à caractéristiques voisines et surtout la création de clones plus performants.

Bien que la diffusion de clones constitue actuellement l'objectif principal de la culture in vitro pour le palmier à huile, d'autres applications font l'objet de recherches ou de projets.

La cryoconservation d'embryoïdes en cours d'étude donne déjà de bons résultats et permettra la constitution de collections (vitrothèque) difficiles à réaliser en champ pour une plante encombrante comme le palmier à huile.

La régénération de plantules à partir de protoplastes est également abordée dans le cadre d'un vaste projet devant aboutir au transfert de gènes in vitro.

Ces programmes devraient recevoir un support financier important nécessaire à leur développement au cours de la décennie qui vient grâce aux redevances sur les ventes de vitro-plants.

Le programme de multiplication végétative du palmier à huile a été mené à bien grâce à une collaboration exemplaire entre l'ORSTOM, qui disposait de chercheurs et de laboratoires, et l'IRHO qui pouvait assurer les phases expérimentale et industrielle par son implantation dans des centres de recherches et par sa connaissance des milieux professionnels.

J.-M. NOIRET,
J.-P. GASCON,
C. PANNETIER