

Microgreffage d'apex de *Faidherbia albida* adultes

C. Detrez¹, S. Ndiaye², F. Kerbellec¹,
N. Dupuy¹, P. Danthu² et B. Dreyfus¹

Résumé

Des apex, isolés à partir de bourgeons végétatifs (apicaux ou axillaires) de rameaux d'arbres adultes de *Faidherbia albida*, ont été utilisés *in vitro* comme greffons, sur des plantules porte-greffes axéniques de *F. albida* âgés de 2 jours. Ces greffons se sont allongés après seulement dix jours de culture. Les pousses ainsi obtenues ont fourni des bourgeons utilisés pour un deuxième et un troisième cycle de microgreffage. Les plantules microgreffées ont continué à se développer après acclimatation en serre. Cette technique permet dès maintenant d'obtenir la multiplication d'ortets sélectionnés, sur des porte-greffes issus de semis. D'autre part, elle pourrait à l'avenir, faciliter le rajeunissement d'individus adultes par microgreffage en cascade et permettre ainsi l'obtention de clones enracinés.

Introduction

Faidherbia albida présente une large variabilité génétique. L'obtention de clones sélectionnés permet d'une part, d'améliorer dans des délais relativement courts, la production végétale, d'autre part de faciliter l'étude des relations symbiotiques entre la plante-hôte (*F. albida*) et ses partenaires microbiens, (rhizobium ou champignons mycorrhiziens).

On sait que chez les ligneux, les potentialités de clonage, diminuent avec l'âge de l'individu sur lequel on effectue le prélèvement de matériel végétal (Bong 1987; Franclet et al. 1987). Chez *F. albida*, il est aisé de multiplier et d'enraciner des pousses obtenues *in vitro* à partir de bourgeons cotylédonnaires (Duhoux et Davies 1985). Par contre, l'enracinement est plus difficile à obtenir à partir de microboutures prélevées sur des drageons d'arbres adultes (Gassama 1989).

L'état de maturation caractérisant les tissus au moment de leur prélèvement sur l'arbre adulte peut toutefois être réservé partiellement et progressivement, par diverses pratiques culturales, dites de rajeunissement (Nozeran 1978). Le retour à des caractères de juvénilité, compatibles avec la propagation clonale, peut notamment être obtenu par des cycles successifs de greffage (Franclet 1977; Franclet et al. 1987). C'est en se fondant sur ce principe que la technique originale de microgreffage en cascade présentée dans cet article a été développée.

Matériel et méthodes

Traitement et germination des semis axéniques

Les graines de quatre provenances de *Faidherbia albida* (Kagnobon, Mérina Dakhar, Bode et Ouadiour) récoltées au Sénégal par la Direction des recherches sur les productions forestières (DRPF) de l'ISRA, ont été scarifiées par immersion dans H₂SO₄ concentré durant une heure. Elles ont ensuite été abondamment rincées à l'eau stérile, puis plongées dans le chlorure mercurique 0,1% pendant 30 secondes, et de nouveau rincées à l'eau stérile, où elles ont finalement été maintenues 3 à 4 heures. Les graines ont alors été mises à germer sur eau gélosée (0,8%), à l'obscurité.

Choix des ortets et préparation des greffons

Le matériel végétal destiné à être greffé a été prélevé sur trois types d'ortets: (1) des semis axéniques au stade cotylédonnaire, (2) des plantules de serre âgés de 1 à 2 mois, et (3) un arbre adulte de plus de 50 ans (Dakar, Bel-Air). Les ramets (courts rameaux feuillés herbacés de 5 à 7cm de long), des types d'ortets (2) et (3) ont été récoltés puis stérilisés au chlorure mercurique (0,1%) pendant 20 secondes. Sur ces ramets, des apex constitués d'un dôme méristématique surmontant une embase taillée en biseau et protégé par l à 4

1. Institut français de recherche scientifique pour le développement en coopération (ORSTOM), B.P. 1386. Dakar. Sénégal.

2. Institut sénégalais de recherches agricoles (ISRA), B.P. 2312. Dakar. Sénégal.

Detrez, C., Ndiaye, S., Kerbellec, F., Dupuy, N., Danthu, P. et Dreyfus, B. 1993. Pages 91-95 in *Faidherbia albida* dans les zones tropicales semi-arides d'Afrique de l'Ouest: comptes rendus d'un atelier, 22-26 avril 1991, Niamey, Niger (Vandenbeldt, R.J. et Renard, C., eds.). Patancheru, A.P. 502 324. Inde: Institut international de recherche sur les cultures des zones tropicales semi-arides; et Nairobi, Kenya: Centre international de recherche en agroforesterie.



jeunes feuilles chlorophylliennes, ont été prélevés pour en faire des greffons.

Porte-greffes et techniques de microgreffage

Nous avons comparé deux techniques de microgreffage utilisant comme porte-greffes des plantules axéniques âgés de deux jours: (1) la microgreffe en tête ou en fente simple qui consiste à introduire le greffon dans une incision pratiquée dans la partie terminale de l'hypocotyle du porte-greffe, après ablation de l'épicotyle et des cotylédons et (2) la microgreffe latérale effectuée sur l'hypocotyle dont les cotylédons et l'apex ont été maintenus en place durant les 12 premiers jours suivant l'implantation du greffon, puis décapités afin de supprimer la dominance apicale du porte-greffe.

Cycles successifs de microgreffage—ortet adulte

Les pousses obtenues à l'issue d'une première opération de microgreffage et de la phase d'élongation caulinaire des apex microgreffés ont fourni des apex utilisés pour l'initiation d'un deuxième cycle de microgreffage selon la technique de microgreffe en tête. Ce deuxième microgreffage a été suivi par un troisième, effectué dans les mêmes conditions.

Milieux de culture

Après microgreffage, les plantes ont été cultivées en tubes de culture (25 × 150 mm) contenant 10 ml de milieu nutritif. Le milieu de culture était constitué de la base minérale et du mélange vitaminique de Murashige et Skoog (MS) (1962), additionnés de saccharose (20 g L⁻¹). Le Ph a été ajusté à 5,8 et l'agar (Bacto Difco 0,8%) a été incorporé. Les milieux ont été stérilisés à l'autoclave pendant 20 minutes à 110°C.

A l'issue de chaque cycle de microgreffage, après élongation, les greffons ont été séparés du porte-greffe et leur aptitude à la rhizogenèse testée sur milieu de MS, additionné de 60 g L⁻¹ de saccharose (Duhoux and Davies 1985), ou additionné de 20 g L⁻¹ de saccharose et d'acide indol butyrique (5 mg L⁻¹) (Gassama 1989).

Les cultures ont été placées en chambre climatisée à une température de 28±2°C et exposées à un éclairage artificiel, continu, de 3200 lux. Les plantules greffées ont été acclimatées en serre, sous atmosphère humide, sur un substrat (sol de Bel Air; vermiculite; 3:1, v:v).

Résultats

Réactivation et élongation du greffon

Pour les trois types d'ortets étudiés, la soudure tissulaire entre les deux partenaires de la greffe est intervenue, lorsqu'elle s'est réalisée, 7 à 10 jours après l'incision dans l'hypocotyle. Les techniques de greffe en fente latérale (Figures 1 et 2) ou en tête (Figure 3) ont pu être appliquées avec succès à la fois aux ortets juvéniles et à l'ortet adulte. Dans le cas de la greffe latérale, il est nécessaire de procéder à l'ablation du bourgeon terminal du porte-greffe dès la reprise d'activité du greffon, ce qui requiert des manipulations supplémentaires, sans améliorer sensiblement la reprise de la greffe. C'est pourquoi, dans la suite de l'expérimentation, nous avons abandonné la greffe latérale au profit de la greffe en tête.

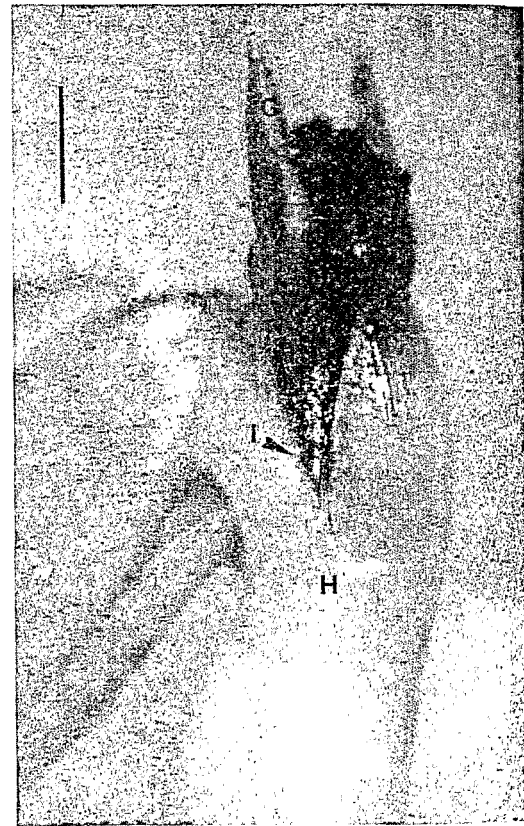


Figure 1. Insertion d'un microgreffage de *Faidherbia albida* par la technique d'incision latérale. Le greffage (G) consiste en un apex prélevé sur un bourgeon axillaire d'une branche d'arbre adulte, taillé en biseau et introduit dans l'incision (I) effectuée dans l'hypocotyle (H) d'un plant âgé de deux jours (Barre = 1 mm.)

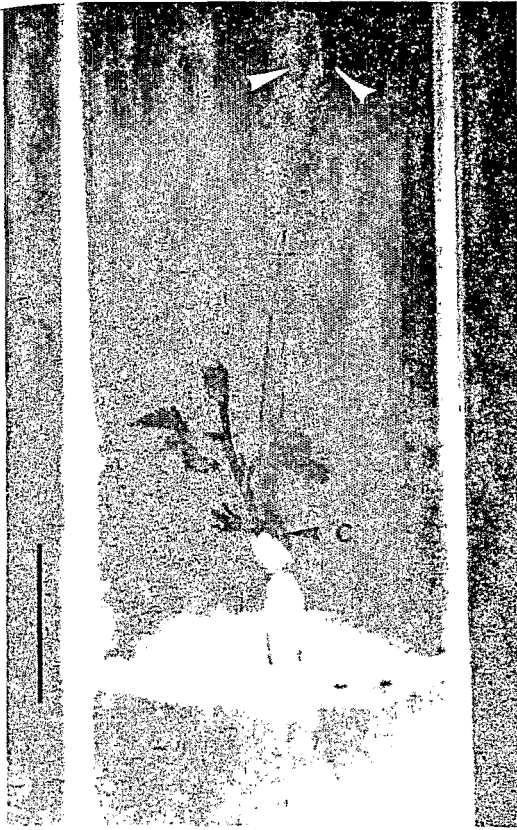


Figure 2. Elongation d'un apex prélevé sur un arbre adulte et microgreffé dans l'hypocotyle avec la technique d'incision latérale (3 semaines de croissance.) L'apex et les cotylédons de la souche laissés en place les premiers 15 jours suivant le greffage, ont été sélectionnés (voir flèche) après la formation de callus (C). (Barre = 1 cm.)

Dans le cas des ortets juvéniles, la formation du cal cicatriciel a été immédiatement suivie d'une émission foliaire et d'un début d'élongation de l'axe caulinaire, après 10 à 12 jours de culture. Pour les ortets âgés de 2 jours, l'élongation des greffons a été obtenue dans 23 des 24 essais mis en place. Pour les ortets âgés de 1 à 2 mois, l'élongation a été réussie pour 22 des 24 greffons.

Dans le cas de l'ortet adulte, la réussite de la greffe est apparue dépendante de la date de prélèvement des ramets (Tableau 1). Dans le cas optimum de ramets collectés en début de saison de feuillaison (novembre/décembre, région de Dakar) 19 greffons sur 24 mis en place ont manifesté une élongation caulinaire. Celle-ci a été obtenue, quelque soit l'origine, axillaire ou terminale, des greffons sur les rameaux de l'ortet. A partir du mois de janvier, les ramets ont

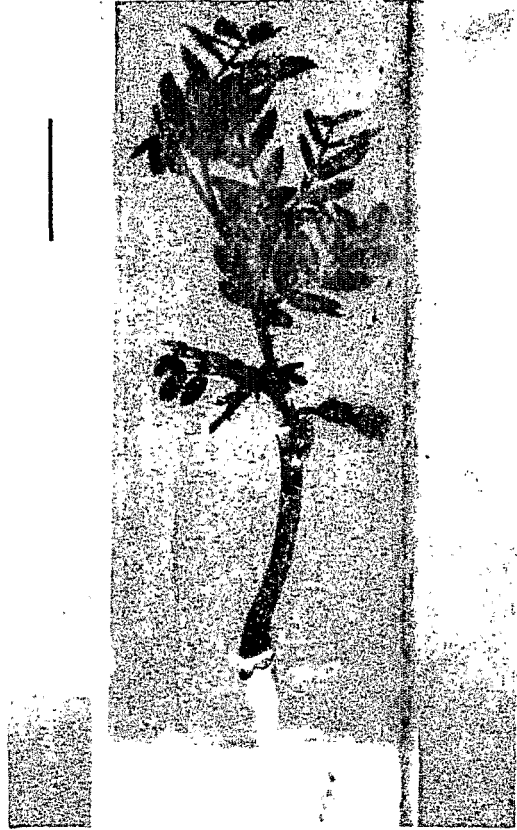


Figure 3. Elongation d'un apex prélevé sur un arbre adulte, puis microgreffé avec la technique de greffage opicole après avoir retiré les cotylédons et l'épicotyle de la souche (6 semaines de croissance.) (Barre = 1 cm.)

été fortement contaminés par une moisissure. Le traitement habituel par l' $HgCl_2$ s'est révélé insuffisant

Tableau 1. Fréquence d'élongation des greffons prélevés sur un ortet adulte de *Faidherbia albida* en fonction de la période de prélèvement, Dakar, Sénégal, 1990.

Période de prélèvement	Stade phénologique de l'ortet	Stade phénologique des ramets	Fréquence de réussite
Nov/Déc	Végétatif	Feuillaison	19/24
Jan/Fév.	Feuillaison	Feuillé	2/36
Mars/Avril	Fin de feuillaison	Feuillé	1/48

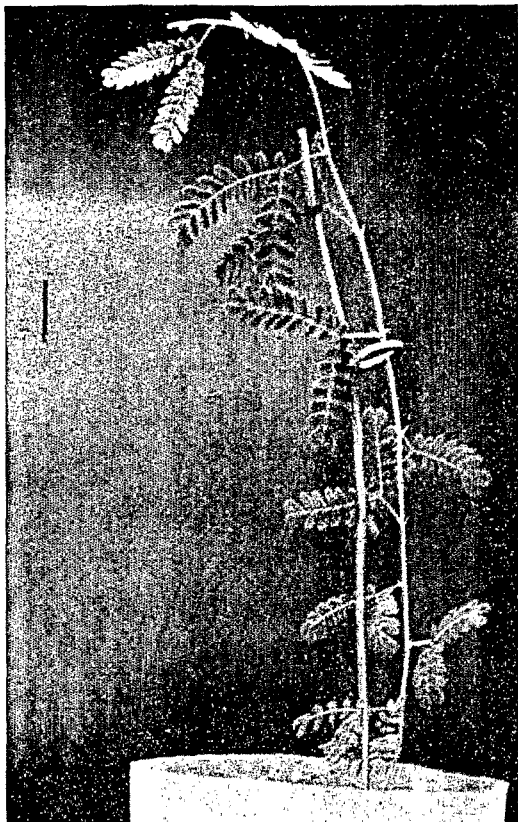


Figure 4. Croissance et développement d'un individu microgreffé après transplantation en serre (15 semaines après le microgreffage.) (Barre = 1 cm.)

pour contrôler le problème, malgré un pré-traitement fongicide (Benlate^mq 70 mg L⁻¹) des ramets deux jours avant leur prélèvement. Les individus microgreffés ont poursuivi leur croissance en serre (Figure 4). Au cours des trois premiers mois suivant l'acclimatation, ils n'avaient que des tiges frêles progressivement supplantée par une seconde tige vigoureuse, issue de développement d'un bourgeon axillaire basal.

Microgreffage en cascade de *F. albida* adulte

La fréquence d'élongation des greffons augmente au cours du microgreffage en cascade (Tableau 2). De même, le coefficient de multiplication des greffons (c'est à dire le nombre moyen de noeuds portés par les pousses feuillées émises à l'issue de chacun des

3 cycles successifs de microgreffage) s'accroît sensiblement au cours du deuxième et du troisième cycle de microgreffage à l'issue duquel le coefficient atteint une valeur de 10.

Tableau 2. Fréquence d'élongation et coefficient de multiplication des greffons prélevés sur *Faidherbia albida* adulte, à l'issue de trois cycles successifs de microgreffage (G1, G2, G3), Dakar, Sénégal, 1990.

Paramètres	Cycle de microgreffage		
	G1 ¹	G2	G3
Fréquence d'élongation des greffons	19/24	6/8	10/10
Coefficient de multiplication ²	5±0,24	8,5±0,32	10,2±0,27

1. Cycle de microgreffage correspondant à des prélèvements d'apex effectués en novembre et décembre.
2. Nombre moyen de noeuds produits par deux pousses feuillées après 6 semaines de culture (±ET).

Discussion

Il est possible de greffer *in vitro* des apex de *Faidherbia albida* sur des porte-greffes obtenus par semis. Les ortets juvéniles (de trois mois) et adultes peuvent être utilisés. Ce dernier résultat revêt une grande importance puisqu'il permet dès maintenant l'obtention d'individus sélectionnés greffés sur semis, qui peuvent déjà être utilisés dans des essais aux champs. Cette technique de microgreffage est avantageuse parce que tout type de bourgeon prélevé sur les ramets peut être utilisé et deux sites de greffage sur l'hypocotyle (en tête ou en fente latérale) sont suffisants. La période optimale de prélèvement déterminée par cette étude s'accorde avec les observations réalisées par Danthu (1992) pour le bouturage horticole de *F. albida*.

Le microgreffage en cascade, par multiplication de bourgeons axillaires, produit un nombre élevé de pousses néoformées et montre un coefficient de multiplication élevé en six semaines. En d'autres termes, il permet d'obtenir en six mois, à partir d'un greffon, 10000 individus greffés identiques.

Si les pousses issues de greffons ont pu être multipliées sur porte-greffes, elles n'ont pu jusqu'à présent être enracinées. Nous espérons toutefois en obtenir l'enracinement par la réjuvenilisation des tissus au cours du greffage en cascade. Les investigations en cours dans notre laboratoire ont précisément pour objectif l'obtention de clones enracinés, condition néc-

essaie à la mise sur pied d'un projet d'amélioration des peuplements de *F. albida*.

Remerciements. Les auteurs remercient vivement M. Yvon Dommergues pour sa lecture critique du manuscrit.

Bibliographie

Bonga, J.M. 1987. Clonal propagation of mature trees: problems and possible solutions. Pages 249-271 in *Cell and Tissue Culture in Forestry*, Vol.1 (J.M. Bonga and Don J. Durzan, eds.). Martinus Nijhoff, Dordrecht, Les Pays-Bas.

Danthu, P. 1992. Vegetative propagation of adult *Faidherbia albida* by branch and root cuttings. Cette publication.

Duhoux, E., et Davies, D.W. 1985. Caulogénèse à partir des bourgeons cotylédonaire de *Acacia albida* et influence du saccharose sur la rhizogénèse. *Journal of Plant Physiology* 121:175-180.

Francllet, A. 1977. Manipulation des pieds-mères et amélioration de la qualité des boutures. *Etudes et Recherches* 8. 20 pp. France: Afocel.

Francllet, A., Boulay, M., Bekkaoui, F., Fourret, Y., Verschoore-Martouzet, B., et Walker, N. 1987. Rejuvenation. Pages 232-248 in *Cell and Tissue Culture in Forestry*, Volume 1. General Principles and Biotechnology (Bonga, J.M., and Durzan, D.J., eds.) Martinus Nijhoff, Dordrecht, Les Pays-Bas.

Gassama, Y.K. 1989. Culture in vitro et amélioration symbiotique chez *Acacia albida* (Leguminosae) adulte. Pages 286-290 in *Trees for development in sub-Saharan Africa: proceedings of a regional seminar held by the IFS, Nairobi, Kenya, 20-25 February*. Kenya: Fondation internationale pour la science.

Murashige, T., et Skoog, F. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. *Plant Physiology* 15:473-497.

Nozeran, R. 1978. Réflexions sur les enchaînements de fonctionnement au cours du cycle des végétaux supérieurs. *Bulletin de la Société Botanique Française* 125:263-280.

Faidherbia albida

dans les zones tropicales
semi-arides d'Afrique de l'Ouest



*Institute international de recherche sur les cultures des zones
tropicales semi-arides
Centre international de recherche en agroforesterie*