

Effets des auxines sur les cotylédons de safoutier (*Dacryodes edulis* (Don) Lam) cultivés *in vitro*

Emmanuel Youmbi, Abdelatif Benbadis

Le safoutier, *Dacryodes edulis*, est un arbre dont les fruits constituent une importante source alimentaire en Afrique centrale, et particulièrement au Cameroun. L'arbre ne se prête pas aux méthodes classiques de propagation par marcottage et bouturage [1], la faible viabilité de l'appareil végétatif et l'inaptitude à la formation de racines adventives faisant de *Dacryodes edulis* une espèce rebelle à la multiplication végétative classique. Les études récentes sur le marcottage aérien et sur les lobes cotylédonaire cultivés *in vitro* ont donné un faible taux de réussite non exploitable à grande échelle [2, 3]. Le seul mode de propagation du safoutier jusqu'ici pratiqué est le semis, ce qui engendre une forte proportion d'individus peu productifs, ne reproduisant pas nécessairement les caractères recherchés par le paysan (précocité de fructification, grosseur du fruit,

épaisseur et goût de la pulpe). La culture *in vitro* pourrait permettre de reproduire le safoutier à l'identique. L'enracinement des vitroplants étant une étape difficile à réaliser dans la micropropagation, nous avons analysé les capacités d'enracinement des cotylédons de *Dacryodes edulis* en culture *in vitro*.

Méthode et techniques

Les fruits de « type long » [4] utilisés dans ce travail proviennent de Yaoundé (République du Cameroun). Les techniques spécifiques de désinfection [3] consistent à tremper les graines dans une solution de bénomyl à 5 g/l pendant 30 minutes, à les transférer dans l'éthanol à 70 % pendant 30 secondes, puis à les tremper dans l'hypochlorite de calcium à 9 % pendant 20 minutes, suivi d'un triple rinçage à l'eau stérile. Les milieux de base – Knop 1/2 [5], Murashige et Skoog ou MS [6], Gamborg ou MB5 [7] et Heller [8] – ont été testés. Les lobes cotylédonaire mis en culture proviennent de graines non germées. Ils sont placés dans une chambre de culture dont la température diurne

est de 23-25 °C et la température nocturne de 20-21 °C. Les tubes reçoivent un éclairage moyen de 8 W.m⁻² fourni par les tubes OSRAM (L20W/28SA).

L'influence des auxines et leurs concentrations ont été étudiées de même que celle de l'éclairage (continu, photopériode, obscurité). Environ 72 lobes cotylédonaire ont été mis en culture dans chaque condition expérimentale.

Résultats

Les cotylédons mis en culture ont formé des cals sur tous les milieux. Le taux de formation de cals ne dépasse pas 13 % sur les milieux de base de Heller et de Knop dilués de moitié. Le milieu MS, qui a une efficacité double (69 %) de celui de MB5, a été retenu. La callogénèse est plus faible (38 %) à l'obscurité, moyenne (54 %) en éclairage continu et plus élevée (63 %) en photopériode. Les cals formés n'apparaissent pas seulement au niveau du pétiole cotylédonaire. Les observations réalisées sur un échantillon de 72 lobes mis en culture, dont 54 callogènes, montrent que le pétiole cotylédonaire apparaît comme la zone privilégiée, mais non exclusive, de la callogénèse (68 %) (tableau 1).

E. Youmbi : Université de Yaoundé 1, Faculté des sciences, BP 812, Yaoundé, Cameroun.

A. Benbadis : Laboratoire d'histophysiologie végétale, Université Pierre-et-Marie-Curie, 12, rue Cuvier, 75005 Paris, France.

Tirés à part : E. Youmbi, CRBP, BP 832, Douala, Cameroun.

Thèmes : Génétique et amélioration des plantes ; Physiologie végétale.

Le tableau 2 indique l'influence des différentes auxines, avec induction de cals et de racines. Le 2,4-D induit la formation de cals (photo a) alors que l'ANA, l'AIB et l'AIA induisent la formation des racines (photos b, d, e). L'induction de cals par le 2,4-D est faible (8,3 %) à basse concentration (0,45 µmol), augmente avec l'accroissement de la concentration et est optimale (83,3 %) à 4,5 µmol. Les autres auxines AIB et AIA, aux fortes concentrations, ne dépassent pas 50 % d'enracinement et ont respectivement pour pourcentages optimum 50 et 45 % de racines formées.

Les cals formés en présence de 2,4-D différencient des racines plus volumineuses que celles induites par les autres auxines (photo c). Le pichlorame (acide amino-4 trichloro-3,5,6 pyridine carboxylique-2), comme le 2,4-D, induit la callogenèse à plus faibles pourcentages (83 et 42 % respectivement). À la différence du 2,4-D, le pichlorame induit aussi une rhizogenèse dans 8 à 17 % des cas (tableau 3).




Discussion et conclusion

L'organogénèse peut être obtenue *in vitro* à partir de cotylédons de *D. edulis*, ce phénomène ayant déjà été observé en 1873 [9]. La formation d'organes à partir des cotylédons a été observée sur *Pinus radiata* [10] et *Manihot esculenta* G [11] pour lesquels le milieu MS était le plus favorable. Nos résultats confirment cette situation pour le safoutier. Le milieu MB5 [7] est favorable pour la culture des cotylédons de *Cajanus cajan* L. [12], tandis que le milieu MO est utilisé pour la culture des cotylédons de *Olea europaea* L. [13].

Les organes formés par les cotylédons en culture *in vitro* sont soit des cals, soit des racines, soit encore des bourgeons. Les lobes cotylédonaire de *D. edulis* sur MS produisent des cals et cette callogenèse est influencée par la lumière, avec verdissement accompagné d'une synthèse de chlorophylle a et b [4]. Les cals formés par les cotylédons à l'obscurité ou en lumière continue ou encore en photopériode, qu'ils soient séparés du lobe ou non, ne verdissent pas et seul le lobe verdit à la lumière. Ces cals apparaissent à des endroits différents du lobe cotylédo-

Tableau 1

Différentes régions de formation des cals sur les lobes cotylédonaire du safoutier en présence du 2,4-D

Emplacement des cals sur les lobes			
Lobes portant des cals	37	8	9
Pourcentage de cals par zone de formation	68	15	17

L : lobe cotylédoinaire ; C : cal.

Different regions of calli growth on the cotyledon lobes of the African bush butter in a MS medium containing 2.4-D

Tableau 2

Réponse des lobes cotylédonaire du safoutier à diverses concentrations en auxines

	Teneur en hormones (µmol)	Nombre de lobes mis en culture	Réponse organogène		Nombre de lobes organogènes	Pourcentage de lobes organogènes
			Cals	Racines		
2,4-D	0,45	48	+	-	4	8,30
	0,90	48	+	-	20	41,50
	2,26	48	+	-	24	50,00
	4,50	48	+	-	40	83,30
AIB	0,45	48	-	+	4	8,30
	0,98	48	-	+	12	25,00
	2,46	48	-	+	16	33,30
	4,90	48	-	+	24	50,00
ANA	0,54	48	-	+	0	0,00
	1,07	48	-	+	14	29,16
	2,68	48	-	+	12	25,00
	4,90	48	-	+	8	16,66
AIA	0,57	48	-	+	4	8,30
	1,14	48	-	+	16	33,30
	2,85	48	-	+	12	25,00
	5,70	48	-	+	22	45,00

+ : présence ; - : absence.

Response of African bush butter cotyledon lobes to different auxin concentrations

Tableau 3

Réponses des lobes cotylédonaire du safoutier aux différentes concentrations en pichlorame

Pichlorame Teneur hormonale (µmol)	Nombre de lobes mis en culture	Réponse organogène		% cals	% racines
		Cals	Racines		
0,82	48	+	+	17	17
4,14	48	+	-	25	0
8,28	48	+	+	8	8
16,50	48	+	-	8	0
20,70	48	+	-	42	0

Response of African bush butter cotyledon lobes to different pichloram concentrations

naire, mais leur formation reste prépondérante au niveau du pétiole cotylédonnaire (68 %) alors qu'elle ne dépasse pas 20 % pour les autres zones. Il a été mon-

tré que les cotylédons provenant des graines germées ne produisent de bourgeons qu'au niveau de leur région basale [10].

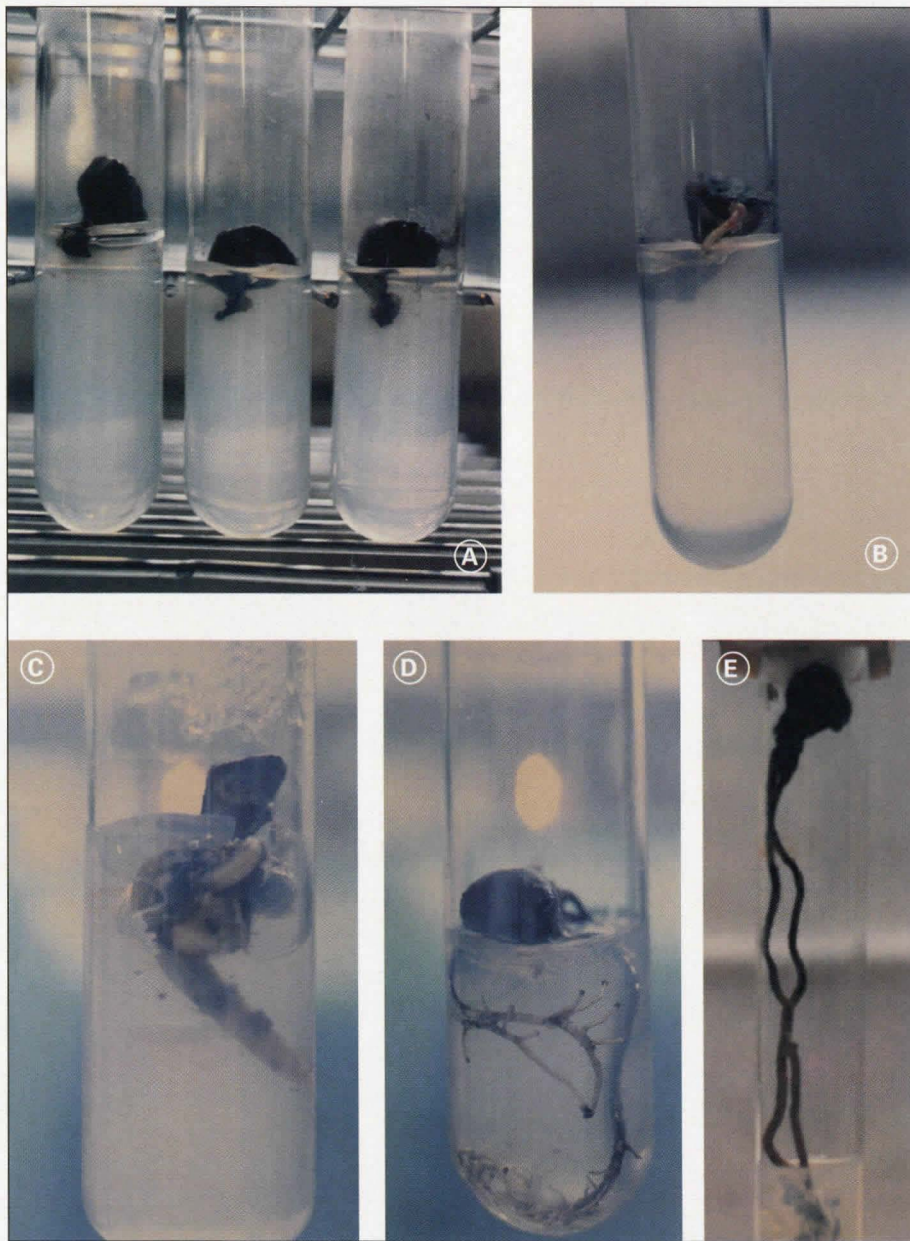


Photo. Callogenèse et rhizogenèse au niveau des lobes cotylédonnaires du safoutier.
 a – Formation de cals sur pétiole cotylédonnaire en présence du 2,4-D (x 0,95).
 b – Racine adventive sur le côté opposé au pétiole cotylédonnaire (x 1,08).
 c – Racines issues de la différenciation des cals (x 1,5).
 d – Enracinement des lobes dans le milieu contenant de l'ANA, l'AIB, et l'AIA (x 1,36).
 e – Croissance racinaire avec soulèvement du lobe cotylédonnaire au-dessus du milieu de culture (x 0,83).

Photo. Callogenesis and rhizogenesis on cotyledon lobes of the African bush butter.
 a – Calli growth on cotyledon petiole in a medium containing 2,4-D (x 0,95).
 b – Adventitious root on the opposite side of cotyledon petiole (x 1,08).
 c – Roots from callus differentiation (x 1,5).
 d – Cotyledon lobe rooting in the medium containing AAN, BIA and AAI (x 1,36).
 e – Root growth and cotyledon lobe uprisings above the culture medium (x 0,83).

Summary

Effects of auxins on cotyledon lobes of African bush butter (*Dacryodes edulis* (Don) Lam) cultivated *in vitro*

E. Youmbi, A. Benbadis

*Cotyledon lobes of *Dacryodes edulis* cultivated on different base media containing 2,4-D initiated calli. The higher percentage of callus formation (69%) was obtained on MS, whereas the lower percentage (13%) was obtained on Heller and Knop base media. These calli differentiated roots under photoperiodic condition. Most calli (6%) were observed on cotyledon petioles (table 1). The effects of other auxins (ANA, IBA, IAA) and pichloram were also tested *in vitro*. Cotyledon lobes in MS medium directly differentiated roots, that were morphologically different from those obtained with 2,4-D (figure 1 and table 2). Pichloram at concentrations of 0.82 and 8.28 μM induced the simultaneous formation of calli and roots (table 3), but with a low percentage (17% and 8%, respectively).*

Cahiers Agricultures 2001 ; 10 : 397-400.

L'importance des cals au niveau du pétiole cotylédonnaire pourrait être expliquée par le fait que la rupture de la couche externe au niveau du point d'insertion à l'axe embryonnaire faciliterait le contact de ces cellules polyédriques avec les régulateurs de croissance, stimulant ainsi leur développement. La callogenèse n'est pas l'unique phénomène pouvant être induit sur les lobes cotylédonnaires de *D. edulis*, l'ANA, l'AIB et l'AIA stimulant directement la rhizogenèse.

Les cotylédons de graines de safoutier forment des racines *in vitro*. Ces résultats devraient être exploités sur d'autres explants de la plante, dans le but d'établir un protocole de multiplication d'arbres aux caractéristiques intéressantes ■

Références

1. Philippe J. Essais de reproduction végétative du « Nsafou » (*Dacryodes edulis* (Don) Lam). *Bull Inform INEAC IV* 1957 ; 5 : 320-7.
2. Kengue J, Tchio F, Ducelie D. Le marcottage aérien : une technique pour la multiplication végétative du safoutier. *Actes du 2^e séminaire international sur la valorisation du safoutier et autres oléagineux non conventionnels, Ngaoundéré, Cameroun* 1997 : 123-35.
3. Youmbi E, Benbadis A. Callogenèse et rhizogenèse sur les cotylédons de *Dacryodes edulis* (Don) Lam. Cultivés *in vitro*. *Actes du 2^e séminaire international sur la valorisation du safoutier et autres oléagineux non conventionnels, Ngaoundéré, Cameroun* 1997 : 55-60.
4. Youmbi E. *Contribution à l'étude de la germination de Dacryodes edulis* (Burseraceae). Mémoire de DEA, Université Paris-VII, 1987 ; 74 p.
5. Knop W. Bereitung einer concentrirten Nährstofflösung für Pflanzen. *Landwversuchsstat* 1884 ; 30 : 292-4.
6. Murashige T, Skoog F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissues culture. *Physiol Plant* 1962 ; 57 : 473-97.
7. Gamborg O, Miller R, Ojima K. Nutrient requirements of suspension cultures of soybean root cells. *Exp Cell Res* 1968 ; 50 : 151-8.
8. Heller R. Recherches sur la nutrition minérale des tissus végétaux cultivés *in vitro*. *Ann Sc Nat Bot Biol Veg* 1953 ; 14 : 1-223.
9. Van Tieghem MP. Recherches physiologiques sur la germination. *Ann Sci Nat* série 5, 1873 ; 61 : 205-24.
10. Aitken J, Horagan KJ, Thorpe. Influence of explant selection on the shoot-forming capacity of juvenile tissue of *Pinus radiata*. *Can J Forest Res* 1981 ; 11 : 112-7.
11. Mabenza J, Jonard R. La régénération des plantes de manioc par néoformation de bourgeons à partir des cotylédons extraits de semences mûres et immatures. *Bull Soc Fr* 1984 ; 131 : 91-5.
12. Mehta U, Mohanram HY. Regeneration of plantlets from the cotyledons of *Cajanus cajan*. *Ind J Experiment Biol* 1980 ; 18 : 800-2.
13. Canas LA, Benbadis A. *In vitro* plant regeneration from cotyledon fragments of olive tree (*Olea europaea* L.). *Plant Science* 1988 ; 54 : 65-74.