

Propagation d'*Irvingia gabonensis* par microbouturage *in vitro*

Denis Omokolo NDOUMOU, FOTSO*, OUMAR, Duclair MBOUNA

Université de Yaoundé I,
École Normale Supérieure,
Laboratoire de Physiologie
Végétale, LAF 314,
BP 47 Yaoundé,
Cameroun
Fotsobor@yahoo.fr

Propagation of *Irvingia gabonensis* by *in vitro* microcutting.

Abstract — Introduction. *Irvingia gabonensis* (Irvingiaceae) is a fruit tree of the wet, dense tropical forests. Its fruits and wood are exploited by the local populations. Because of the plant's allogamy, multiplication by seed involves a large genetic heterogeneity. The techniques of traditional vegetative multiplication give a low propagation rate. The principal aim of our work was to develop an *in vitro* technique for cloning selected individuals. **Materials and methods.** The microcuttings were taken on a plant of *I. gabonensis* with ripe fruits. After disinfection, they were then cultured on a medium derived from Murashige and Skoog diluted 4 times (MS/4). The effects of kinetine were studied on the bud burst and on the axillary bud development. The effects of benzylamino purin (BAP) were studied on the microcutting bud proliferation. Lastly, the effects of naphthalene acetic acid (NAA) were studied on the vitroplant rooting. **Results.** The best bud burst and the best axillary bud development were obtained with 3 mg kinetine·L⁻¹. BAP with 4,5 mg·L⁻¹ allowed the proliferation of 95% of the microcutting buds with a maximum number of 5,1 buds burst per microcutting. NAA with 2,5 mg·L⁻¹ allowed the rooting of 100% of the vitroplants resulting from microcuttings, with a maximum number of 12,6 roots per vitroplant, and 98% of the vitroplants resulting from the buds isolated, with a maximum number of 9,2 roots per vitroplant. The vitroplant acclimatization was 88% successful. **Discussion and conclusion.** By using BAP, 260 seedlings rooted in horticultural conditions can be obtained annually from 64 healthy explants. The results of this work thus open a new way for the consistent production of *I. gabonensis* seedlings which could be used for the species propagation and domestication.

Cameroon / *Irvingia gabonensis* / microcuttings / vegetative propagation / *in vitro* regeneration / plant growth substances / vitroplants

Propagation d'*Irvingia gabonensis* par microbouturage *in vitro*.

Résumé — Introduction. *Irvingia gabonensis* (Irvingiaceae) est un arbre fruitier des forêts denses humides dont les fruits et le bois sont très exploités par les populations locales. Plante allogame, la multiplication par semis entraîne une grande hétérogénéité génétique. Les techniques de multiplication végétative traditionnelle donnent un faible taux de multiplication. Le but principal de ce travail a été de mettre au point une technique de multiplication conforme *in vitro* des individus élités. **Matériel et méthodes.** Les microboutures ont été prélevées sur un plant d'*Irvingia gabonensis* portant des fruits mûrs. Après désinfection, elles ont été ensuite mises en culture sur un milieu dérivé de Murashige et Skoog dilué 4 fois (MS/4). Les effets de la kinétine ont été étudiés sur le débourrement et le développement des bourgeons axillaires. Les effets de la benzylaminopurine (BAP) ont été étudiés sur la prolifération des bourgeons des microboutures. Enfin, les effets de l'acide naphthalène acétique (ANA) ont été étudiés sur l'enracinement des vitroplants. **Résultats.** La kinétine à 3 mg·L⁻¹ a favorisé le meilleur débourrement et le meilleur développement des bourgeons axillaires. La BAP à 4,5 mg·L⁻¹ a permis la prolifération de 95 % des bourgeons de microboutures avec un nombre maximal de 5,1 bourgeons débourrés par microbouture. L'ANA à 2,5 mg·L⁻¹ a permis l'enracinement de 100 % des vitroplants issus des microboutures avec un nombre maximal de 12,6 racines par vitroplant et de 98 % des vitroplants issus des bourgeons isolés avec un nombre maximal de 9,2 racines par vitroplant. L'acclimatation des vitroplants a réussi à 88 %. **Discussion et conclusion.** En utilisant la BAP, 260 plants enracinés en conditions horticoles peuvent être obtenus annuellement à partir de 64 explants sains. Les résultats de ce travail ouvrent ainsi une nouvelle voie pour la production conforme de plant d'*I. gabonensis* qui pourront être utilisés pour la propagation et la domestication de cette espèce.

Cameroon / *Irvingia gabonensis* / microbouture / multiplication végétative / régénération *in vitro* / substance de croissance végétale / vitroplant

* Correspondance et tirés à part

Reçu le 1 mars 2003
Accepté le 25 juin 2003

Fruits, 2004, vol. 59, p. 31–38
© 2004 Cirad/EDP Sciences
All rights reserved
DOI: 10.1051/fruits:2004004

RESUMEN ESPAÑOL, p. 38

1. Introduction

Irvingia gabonensis (Irvingiaceae) est un arbre fruitier répandu dans les forêts denses humides d'Afrique centrale et de l'ouest. La ressemblance de ses fruits avec ceux du manguier (*Mangifera indica*) a valu à cette espèce le pseudonyme de « manguier sauvage » ou « bush mango » [1].

I. gabonensis est surtout exploité pour ses fruits. Cependant, les amandes sont comestibles. Elles servent à la fabrication du pain de Dika au Gabon et de condiments dans les autres pays d'Afrique centrale. Elles sont très oléagineuses et permettent l'extraction d'une huile ayant les mêmes vertus que celle du karité [2]. La pulpe de fruit, dont la concentration en sucre est comparable à celle des ananas et oranges [3], est utilisée pour la préparation de jus et de vin [3]. Ce jus contient environ $67 \text{ mg} \cdot 100 \text{ mL}^{-1}$ de vitamine C [4]. Le bois d'*I. gabonensis* est utilisé en menuiserie [5].

Malgré son importance, *I. gabonensis* n'est pas encore domestiqué en Afrique, d'où sa classification par l'ICRAF (International Centre for Research in Agroforestry) parmi les espèces fruitières sauvages prioritaires pour la domestication [6].

La multiplication de l'espèce, fortement allogame [7], se fait principalement par la voie sexuée, ce qui entraîne une hétérogénéité des descendants [8] peu favorable à la multiplication des génotypes élités (individus productifs). Actuellement, la propagation végétative d'*I. gabonensis* peut se faire par greffage, bouturage ou marcottage [9]. Mais ces méthodes traditionnelles sont très limitées du fait d'un enracinement difficile et, comme chez la plupart des ligneux, d'un faible taux de reprise après transplantation [10–12]. Jusqu'à présent, la technique du microbouturage *in vitro* n'a pas été testée sur *I. gabonensis*. Pourtant, son utilisation pourrait permettre non seulement de contourner les difficultés de la multiplication végétative traditionnelle, mais aussi de favoriser la multiplication conforme (conservation des génotypes) des individus élités. Comme cela a pu être obtenu chez la plupart des ligneux sauvages tels que *Cola nitida* [13], *Psidium guajava* [14] ou *Dacryodes*

edulis [15], le microbouturage *in vitro* conduit alors à une production rapide et à grande échelle des clones.

Selon certains travaux utilisant cette technique de multiplication rapide, la levée de dormance chez les espèces herbacées serait mieux assurée par la kinétine alors que, chez les ligneux, elle serait favorisée par la benzylaminopurine (BAP) [16]. Par ailleurs, les travaux de Nikam [17] et de Nasir *et al.* [18] ont montré que, chez ces mêmes espèces ligneuses, la kinétine pouvait être favorable à l'induction et le développement des bourgeons et l'acide naphthalène acétique (ANA) est connu pour favoriser la rhizogénèse. S'appuyant sur ces résultats, nos travaux ont cherché à développer un protocole de multiplication *in vitro* d'*I. gabonensis* basé sur l'emploi de ces trois substances de croissance : kinétine, BAP et ANA.

2. Matériel et méthodes

2.1. Préparation du matériel végétal

Des microboutures de 1,5 cm environ et portant chacune un bourgeon axillaire ont été prélevées en juin–juillet dans la région de Mfou (au centre du Cameroun) sur un arbre en production. Ces microboutures ont été soigneusement lavées à l'eau courante, puis désinfectées. Pour cela, les explants ont été immergés dans une solution à 1 % de Tween 80 pendant 5 min, puis dans une solution de Mercryl laurylé à 20 % pendant 20 min et enfin dans une solution d'hypochlorite de sodium 3 % pendant 25 min. Ce dernier trempage a été suivi de trois rinçages à l'eau distillée stérile de 10 min chacun sous une hotte à flux laminaire horizontal, au voisinage d'un bec Bunsen.

2.2. Milieux de culture *in vitro*

Des tests préliminaires sur milieux de Murashige et Skoogs (MS), de MS dilué de moitié (MS/2), du quart (MS/4) et du huitième (MS/8) utilisés comme milieux de base ont montré que le milieu MS/4 était le plus favorable au développement des

explants d'*Irvingia gabonensis*. De ce fait, le milieu de base alors adopté pour toutes nos expérimentations a été dérivé de ce milieu MS/4 [19] auquel ont été ajoutés 3 % de saccharose, 0,8 % d'agar, ainsi que des vitamines de Morel et Wetmore [20]. Le pH a été ajusté à 5,6. Les milieux ont été stérilisés par autoclavage à 115 °C pendant 30 min sous une pression de 1,6 kg·cm⁻². Les cultures ont été placées dans une salle à (26 ± 1) °C, avec une photopériode de 16 h de lumière et une intensité lumineuse de 40 μmol·m⁻²·s⁻¹.

2.3. Facteurs étudiés et analyses

Un milieu de culture constitué du milieu de base enrichi en kinétine à différentes concentrations (0, 1, 2, 3, 4, 5 mg·L⁻¹) a permis d'étudier l'influence de cette cytokinine sur le débourrement et la croissance des bourgeons axillaires présents sur les microboutures prélevées.

À l'issue de cette expérimentation poursuivie sur 60 j, le pourcentage des bourgeons débouffés et développés a été noté en fonction de la concentration de kinétine du milieu. La croissance des bourgeons a été exprimée par l'allongement moyen de la tigelle et le nombre moyen de nouvelles feuilles formées.

Un autre milieu de culture a permis d'étudier l'influence de la benzylaminopurine (BAP), autre cytokinine, sur la prolifération des bourgeons au niveau des nœuds des microboutures. Les concentrations alors testées ont été de (0,5 ; 2,5 ; 3,5 ; 4,5 ; 5,5 et 6,5) mg·L⁻¹. Après 63 j d'expérience, le nombre moyen de bourgeons formés par microbouture a été noté pour chacune de ces concentrations.

Une sous-culture des microboutures développées en présence de kinétine (formation de bourgeons axillaires) et des bourgeons proliférés puis isolés sur milieux avec BAP a permis d'étudier l'influence de l'acide naphthalène acétique (ANA) (phytohormone) sur la rhizogenèse et la formation des vitroplants entiers. Elle a été effectuée sur un milieu constitué du même milieu de base que précédemment alors enrichi en (0,5 ; 1 ; 1,5 ; 2 ; 2,5 ; 3 ou 3,5) mg ANA·L⁻¹. Après 72 j de culture, le pourcentage d'explants et

de boutures isolées et repiquées formant des racines, le nombre moyen de racines par explant et l'allongement moyen des racines ont été mesurés en fonction des différentes concentrations d'ANA testées.

Chacune de ces expérimentations a été répétée deux fois et a porté sur la mise en culture de 40 explants sains. Les résultats ont été traités par analyse de variance et les moyennes significativement différentes ont été séparées par le test de Duncan au seuil de probabilité de 5 %.

2.4. Acclimatation des plants

Les vitroplants enracinés ont été transférés, à raison d'un vitroplant par sachet, dans des sacs de polyéthylène remplis d'un mélange de moitié terre noire et moitié vermiculite, préalablement stérilisé à l'étuve à 120 °C pendant 1 h 30 min. Chaque sachet, recouvert d'une cloche de plastique afin de confiner l'atmosphère et de réduire la déshydratation du plant, a alors été mis en chambre de culture maintenue à (26 ± 1) °C et (72–76) % d'humidité relative, sous une photopériode de 16 h de lumière. L'acclimatation a été réalisée en réduisant progressivement l'humidité ambiante de la plantule par diminution régulière du confinement. Les plantules ont été arrosées à l'eau stérile durant 30 j, puis à l'eau courante pendant les 60 derniers jours d'acclimatation.

3. Résultats

Le protocole de désinfection du matériel végétal a permis d'obtenir 95 % d'explants sains. Pour les différentes expérimentations, les deux répétitions effectuées pour un milieu donné ont donné des résultats analogues. De ce fait, les résultats présentés correspondent à ceux d'un des deux essais, soit à 40 explants sains par culture.

3.1. Débourrement et croissance des bourgeons axillaires : effet de la kinétine

Après 14 j de culture sur le milieu de base contenant différentes concentrations de kinétine, les bourgeons axillaires présents sur les

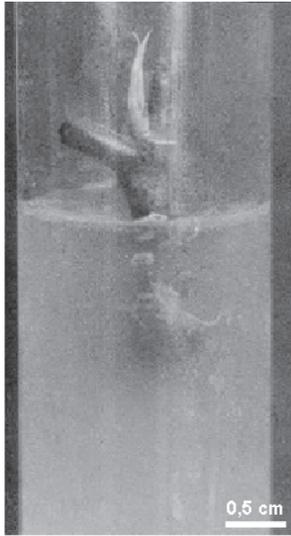


Figure 1. Microbouture à bourgeon axillaire d'*Irvingia gabonensis* débourrée après 17 j de culture sur un milieu de base dérivé d'un milieu de Murashige et Skoogs dilué du quart et additionné de 3 mg·L⁻¹ kinétine.



Figure 2. Vitroplant d'*Irvingia gabonensis* sans racine issu du développement d'un bourgeon axillaire débourré après 60 j de culture sur un milieu de base dérivé d'un milieu de Murashige et Skoogs dilué du quart et additionné de 3 mg·L⁻¹ kinétine.

microboutures ont débourré (*figure 1*), puis ils se sont développés et ils ont formé une tige feuillée en 60 j (*figure 2*). Le pourcentage maximal des bourgeons débourrés, de 93 % (37 microboutures sur 40) a été obtenu dans un milieu à 3 mg kinétine·L⁻¹ (*tableau I*). L'allongement de la tigelle a été maximale dans les milieux contenant (2 ou 3) mg kinétine·L⁻¹ qui ont permis de mesurer un accroissement de (3,1 à 3,5) cm. Le nombre maximal de nouvelles feuilles formées par plantule, égal à 8,1 en moyenne, a été observé dans le milieu avec 3 mg kinétine·L⁻¹ et est égal à 8,1 (*tableau I*).

3.2. Prolifération des bourgeons sur microboutures : effet de la BAP

Les bourgeons présents sur les microboutures mises en culture sur le milieu de base enrichi de (0,5 à 6,5) mg BAP·L⁻¹ ont proliféré après 63 j de culture (*figure 3*). Le maximum d'explants ayant bourgeonné a été de 95 % (38 microboutures sur 40) et cela sur un milieu à 4,5 mg BAP·L⁻¹. À cette même concentration, le nombre moyen de bourgeons produits par explant ayant bourgeonné a été maximal et égal à 5,1 (*tableau II*), ce qui permet de prévoir une production de 194 tigelles.

3.3. Induction de la rhizogenèse : effet de l'ANA

Après 72 j de subculture sur milieu de base enrichi de (0,5 à 3,5) mg ANA·L⁻¹, il y a eu différenciation de racines pour les explants de microboutures débourrés sur milieu avec kinétine et les bourgeons néoformés sur milieu avec BAP.

Avec les milieux à 2,5 mg ANA·L⁻¹, 100 % des explants débourrés ont formé des racines adventives au niveau de la tige mère. Le nombre maximum de racines par explant (de 11,8 à 12,6) a été obtenu avec des milieux contenant (2 ou 2,5) mg ANA·L⁻¹ (*tableau III*). Ces racines, blanchâtres (*figure 4*), ont présenté un allongement maximal de 2 cm.

Avec ces mêmes milieux à 2,5 mg ANA·L⁻¹, 98 % des bourgeons néoformés, (190 sur 194) ont formé des racines à la base de la tigelle. Chacun de ces bourgeons développés en plantule a porté en moyenne un nombre maximal de 9,2 racines verdâtres (*tableau III, figure 5*) qui, sur milieu contenant (2 ou 2,5) mg ANA·L⁻¹, ont présenté un allongement maximal de 4 cm.

3.4. Acclimatation

Les deux méthodes de microbouturage testées (débourement en présence de kinétine

Tableau I.

Effet de la kinétine sur le débourement et la croissance de bourgeons axillaires de microboutures d'*Irvingia gabonensis*. Les microboutures sont cultivées pendant 60 j sur des milieux constitués d'un milieu de base additionné de diverses concentrations de kinétine (40 explants sains par dose de kinétine ; deux répétitions pour chaque dose).

| Kinétine (mg·L ⁻¹) | % de bourgeons débourrés et développés | Allongement moyen de la tigelle (cm) | Nombre moyen de nouvelles feuilles formées par plantule |
|--------------------------------|--|--------------------------------------|---|
| 0 | 0 | 0 | 0 |
| 1 | 3 | 1,6 c | 2,7 c |
| 2 | 35 | 3,1 a | 6,1 b |
| 3 | 93 | 3,5 a | 8,1 b |
| 4 | 49 | 2,7 b | 2,9 c |
| 5 | 24 | 2,3 b | 2,9 c |

Dans une même colonne, les valeurs ayant la même lettre ne sont pas statistiquement différentes d'après le test de Duncan ($p < 0,05$).

et bourgeonnement avec BAP) ont permis de régénérer respectivement un nombre maximal moyen de 37 et 190 vitroplants. Dans 88 % des cas, les vitroplants placés en condition d'acclimatation ont repris leur croissance après 14 j. Après 90 j, les deux méthodes nous ont permis d'obtenir, respectivement, 32,5 et 167,2 plantules vigoureuses, prêtes pour le transfert en champ car

présentant chacune, en moyenne, 10 feuilles assez développées et verdâtres (figure 6). En extrapolant ces résultats, l'application de nos techniques de multiplication à la mise en culture de 64 explants permettrait d'obtenir en une année, respectivement, 52 et 260 plantes enracinées en conditions horticoles, ce qui correspond à des taux de multiplication respectifs de 0,8 et 4.

Tableau II.

Effet de la benzylaminopurine (BAP) sur la prolifération de bourgeons au niveau des nœuds de microboutures d'*Irvingia gabonensis*. Les explants sont cultivés pendant 63 j sur des milieux constitués d'un milieu de base additionné de diverses concentrations de BAP (40 explants sains par dose de BAP ; deux répétitions pour chaque dose).

| BAP (mg·L ⁻¹) | Pourcentage de microboutures ayant proliféré | Nombre moyen de bourgeons par microbouture |
|---------------------------|--|--|
| 0 | 0 | 0 |
| 0,5 | 0 | 0 |
| 2,5 | 21 | 2,3 c |
| 3,5 | 53 | 3,8 b |
| 4,5 | 95 | 5,1 a |
| 5,5 | 82 | 2,4 c |
| 6,5 | 38 | 1,1 d |

Dans une même colonne, les valeurs ayant la même lettre ne sont pas statistiquement différentes d'après le test de Duncan ($p < 0,05$).

Tableau III.

Effet de l'acide naphthalène acétique (ANA) sur l'induction et l'allongement des racines de vitroplants d'*Irvingia gabonensis*. Après culture en présence de kinétine (débourrement et croissance des bourgeons axillaires) ou de benzylaminopurine (prolifération de bourgeons au niveau des nœuds), les explants ont été laissés 72 j en subcultures sur un milieu de base additionné de diverses concentrations d'ANA (40 explants sains par dose d'ANA ; deux répétitions pour chaque dose).

| ANA (mg·L ⁻¹) | Pourcentage d'explants rhizogènes | | Nombre de racines par explant | | Allongement des racines (cm) | |
|---------------------------|-----------------------------------|----------|-------------------------------|----------|------------------------------|----------|
| | Microbouture | Bourgeon | Microbouture | Bourgeon | Microbouture | Bourgeon |
| 0,5 | 0 | 2 | 0 | 3,1 c | 0,9 b | 0 |
| 1,0 | 27 | 26 | 6,1 b | 4,4 d | 1,1 b | 2,3 b |
| 1,5 | 26 | 26 | 6,2 b | 5,9 c | 1,2 b | 1,7 c |
| 2,0 | 66 | 48 | 11,8 a | 8,6 b | 2,0 a | 4,1 a |
| 2,5 | 100 | 98 | 12,6 a | 9,2 a | 2,1 a | 4,3 a |
| 3,0 | 49 | 21 | 5,3 b | 4,4 d | 1,1 b | 2,4 b |
| 3,5 | 16 | 12 | 6,2 b | 4,2 d | 1,2 b | 1,6 c |

Dans une même colonne, les valeurs ayant la même lettre ne sont pas statistiquement différentes d'après le test de Duncan ($p < 0,05$).



Figure 3. Bourgeons proliférés au niveau du nœud d'une microbouture d'*Irvingia gabonensis* après 63 j de culture sur un milieu de base dérivé d'un milieu de Murashige et Skoogs dilué du quart et additionné de 3,5 mg·L⁻¹ BAP.

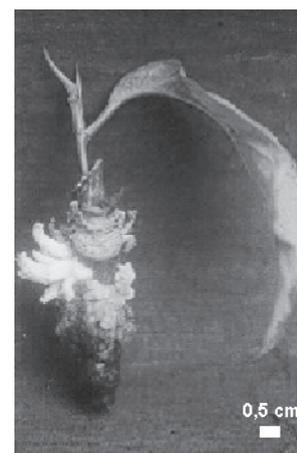


Figure 4. Vitroplant complet d'*Irvingia gabonensis* issu de l'enracinement d'une microbouture mise en subculture pendant 72 j sur un milieu de base dérivé d'un milieu de Murashige et Skoogs dilué du quart et additionné de 2,5 mg·L⁻¹ ANA.



Figure 5. Vitroplant complet d'*Irvingia gabonensis* issu de l'enracinement d'un bourgeon isolé mis en subculture pendant 72 j sur un milieu de base dérivé d'un milieu de Murashige et Skoogs dilué du quart et additionné de 2,5 mg·L⁻¹ ANA.

Figure 6. Plantule d'*Irvingia gabonensis* acclimatée 90 j après repiquage sur un mélange de terre noire et vermiculite à volume égal.



4. Discussion

Nos travaux ont permis de régénérer *in vitro* avec succès l'espèce *I. gabonensis* à partir de microboutures prélevées sur une plante adulte. Le pourcentage de réussite des différentes étapes de cette régénération a varié en fonction de la nature et de la concentration de phytohormone utilisée. La présence de kinétine dans les milieux de culture a eu un effet sur le débourrement : à 3 mg kinétine·L⁻¹, 93 % des bourgeons axillaires ont débourré et ont présenté un développement maximal en plantules sans racines. Des résultats similaires ont été obtenus chez des espèces telles que *Dalbergia sisso* sur MS [21] et *Isoplexis canariensis* [22] sur MS/2. En revanche, des résultats relativement faibles ont été obtenus par Dossa *et al.* chez *C. nitida* [13], par Romano *et al.* chez *Cerantonia siliqua* [23] et par Jaroslow chez *Dianthus arenarius* [24] cultivés presque dans les mêmes conditions. En présence de BAP, il y a eu prolifération de bourgeons axillaires sur 95 % des explants mis en culture sur un milieu à 4,5 mg BAP·L⁻¹, avec en moyenne 5,1 bourgeons par explant. Ces résultats sont conformes à ceux obtenus par Nobre chez *Myrtus communis* [25] et Enjalric chez

H. brasiliensis [26] dont les microboutures ont été cultivées presque dans les mêmes conditions mais avec addition de (0,5 à 1) g charbon actif·L⁻¹ dans le milieu. En revanche, chez *C. anomala* et *C. acuminata*, le nombre de bourgeons décompté par explant a été de trois à cinq fois supérieur à ces résultats ; il a été obtenu par Fotso *et al.* sur milieu MS/2 contenant (2 ou 2,5) mg BAP·L⁻¹ [27]. Lors de nos travaux, la plante entière a été obtenue après passage par une phase d'enracinement sur un milieu enrichi en ANA. Le pourcentage d'explants rhizogènes, le nombre de racines comptées par explant ainsi que leur allongement ont varié considérablement en fonction de la concentration du milieu en ANA et du matériel (explants d'origine ou bourgeons néoformés et isolés) mis en culture. À 2,5 mg ANA·L⁻¹, 100 % des microboutures ayant bourgeonné ont produit des racines alors que 98 % des explants provenant de bourgeons isolés ont été rhizogènes ; à cette même concentration, 12,6 racines avec un allongement moyen de 2,1 cm ont été dénombrées en moyenne par microbouture contre 9,2 racines observées par bourgeon isolé avec un allongement moyen de 4,3 cm. Ces résultats maximaux sont nettement supérieurs à ceux obtenus par Youmbi et Benbadis [28] avec les explants de *Dacryodes edulis* cultivés sur milieu MS/2 enrichi en différentes concentrations d'ANA et (0,5 à 3) g charbon actif·L⁻¹. Cependant, ils se rapprochent de ceux de Gulati et Jaiwal chez *D. sisso* [21] et Ajithkumar et Seeni chez *Aegle marmelos* [29]. La méthode d'acclimatation utilisée a permis d'obtenir 88 % de plantules viables. Ces résultats sont légèrement supérieurs à ceux de Youmbi et Benbadis [28] chez *D. edulis* qui ont obtenu, avec la même méthode, un taux de 70 % de reprise et 50 % de plantules viables. La méthode de multiplication *in vitro* de *I. gabonensis* proposée, à savoir l'utilisation de BAP pour la prolifération de bourgeons, suivie d'un enracinement en présence d'ANA et enfin d'une acclimatation dans un mélange de terre noire / vermiculite, respecte globalement le schéma de multiplication *in vitro* utilisé par d'autres auteurs pour les espèces ligneuses [21, 28].

5. Conclusions

Nos expérimentations permettent d'ouvrir une nouvelle voie de multiplication conforme d'individus élites d'*Irvingia gabonensis* afin de produire des semences pouvant être utilisées pour la propagation et la domestication de cette espèce.

Remerciements

Les auteurs remercient le Dr. Boudjeko Thaddée pour sa fructueuse collaboration.

Références

- [1] Vivien J., Faure J.J., Fruitiers sauvages d'Afrique, Espèces du Cameroun, in: Ngila-Kerou (Eds.), Coopération Française, CTA, France, 1996, 415 p.
- [2] Noumi E., Les plantes à épices, à condiments et à aromates du Cameroun, Univ. Yaoundé, Thèse, Cameroun, 1984, 166 p.
- [3] Akubor P.I., The suitability of African bush mango juice for wine production, *Plant Food. Hum. Nutr.* 49 (1996) 213–219.
- [4] Leakey R.R.B., Potential for novel food products from agroforestry trees, *Rev. Food Chem.* 66 (1999) 114.
- [5] Ngoye A., Les fruitiers sauvages dans les systèmes de production agricole paysanne au Gabon, exemple : le manguier sauvage (*Irvingia gabonensis*), Iret/Cenarest, Gabon, 1998, 20 p.
- [6] Lapidó D.O., Fondoun J.M., Ganga N., Domestication of the bush mango (*Irvingia* spp.): some exploitable intraspecific variations in west and central Africa, in: Leakey R.R.B., Temu A.B., Melnyk M., Vantomme P. (Eds.), *Nonwood Forest Products No. 9: domestication and commercialisation of non-timber forest products for agroforestry*, FAO, Rome, Italy, 1996, pp. 193–205.
- [7] Lowe A.J., Gillies A.C.M., Wilson J., Dawson I.K., Conservation genetics of bush mango from central/west Africa: implication from random amplified polymorphic DNA analysis, *Mol. Ecol.* 9 (2000) 831–841.
- [8] Okafor J.C., Interim report on breeding of some Nigerian food trees, in: Leakey and Newton (Eds.), *Proc. 2nd Annu. Conf. for Agroforest. Zaria, Nigeria, 1971*, pp. 151–162.
- [9] Shiembo P.N., Newton A.C., Leakey R.R.B., Vegetative propagation of *Irvingia gabonensis*, a west African fruit tree, *Forest Ecol. Manag.* 87 (1996) 185–192.
- [10] Ashiru G.A., Quarcoo T., Vegetative propagation of kola (*Cola nitida* (Vent) Schott and Endlicher), *Trop. Agric.* 48 (1) (1971) 85–92.
- [11] Hamzah A., A note on the effect of leaf number on rooting of *Hopea odorata* stem cuttings, *J. Trop. For. Sci.* 3 (4) (1992) 384–385.
- [12] Newton A.C., Mesén J.F., Dick Mc P., Leakey R.R.B., Low technology of propagation of tropical trees: rooting physiology and its practical implications, in: *Mass production technology for genetically improved. Fast Growing forest Trees species*, Afofel, Nangis, France, 1992, pp. 417–424.
- [13] Dossa E.L., Bertrand B., Aidam A., Microbouturage *in vitro* du *Cola nitida* (Schott et Endlicher), *Café Cacao Thé* 38 (1) (1994) 57–60.
- [14] Mohamed-Yassen Y., Barriviger S.A., Schnell R.J., Splittstoesser W.E., *In vitro* shoot proliferation and propagation of guava (*Psidium guajava* L.) from germinated seedlings, *Plant Cell Rep.* 14 (1995) 525–528.
- [15] Youmbi E., potentialités de régénération *in vitro* de nœud cotylédonaire chez *Dacryodes edulis*, *Fruits* 55 (2000) 409–419.
- [16] Boxus P., La micropropagation proprement dite, in: Demarly Y., *Multipliation végétative : micropropagation, embryogenèse somatique*, CNED, Aupelf-Uref, France, 1995, pp. 45–62.
- [17] Nikam T.D., High frequency shoot regeneration in *Agave sisalana*, *Plant Cell Tiss. Org.* 51 (1997) 225–228.
- [18] Saced N.A., Zafar J., Malik K.A., A simple procedure of *Gossypium* meristem shoot tip culture, *Plant Cell, Tiss. Org.* 51 (1997) 201–207.
- [19] Murashige T., Skoog F., A revised medium for rapid growth and bioassay with tobacco tissue culture, *Physiol. Plantarum* 15 (1962) 473–497.
- [20] Morel G., Wetmore R.H., Fern callus tissue culture, *Ann. J. Bot.* 38 (1951) 141–143.
- [21] Gulati A., Jaiwal P.K., Micropropagation of *Dalbergia sissoo* from nodal explants of mature trees, *Biol. plantarum* 3 (2) (1996) 169–175.

- [22] Arrebola M.L., Socorro O., Verpoorte R., Micropropagation of *Isoplexis canariensis* (L.) G. Don, *Plant Cell Tiss. Org.* 49 (1997) 117–119.
- [23] Romano A., Barros S., Martins-Louçao M.A., Micropropagation of the Mediterranean tree *Ceratonia siliqua*, *Plant Cell Tiss. Org.* 68 (2002) 35–51.
- [24] Jaroslow K., Micropropagation of *Dianthus arenarius* subsp. *Bohemicus*, an endangered endemic from the Ezech Republic, *Bot. Gard. Micropropag. News* 1 (8) (1995) 1–4.
- [25] Nobre J., *In vitro* shoot proliferation of *Myrtus communis* L. from field grown plants, *Scientia Hort.* 58 (1994) 253–258.
- [26] Enjalric F., Étude sur le microbouturage *in vitro* de *Hevea brasiliensis*. Mull. Arg., Univ. Paris-Sud, Thèse, Orsay, France, 1983, 161 p.
- [27] Fotso, Omokolo Ndoumou D., Mbouna D., Comparaison de l'aptitude à la régénération *in vitro* de deux kolatiers : *Cola anomala* et *cola acuminata*, *Cah. Agric.* 11 (2002) 355–360.
- [28] Youmbi E., Benbadis A., Régénération *in vitro* de plants à partir des bourgeons axillaires et de l'apex de plantules sexuées de *Dacryodes edulis* (Don) Lam., *Fruits* 56 (5) (2001) 333–343.
- [29] Ajithkumar D., Seeni S., Rapid clonal multiplication through *in vitro* axillary shoot proliferation of *Aegle marmelos* (L.) Corr., a medicinal tree, *Plant Cell Rep.* 17 (1998) 422–426.

Propagación de *Irvingia gabonensis* mediante microestacas *in vitro*.

Resumen — Introducción. *Irvingia gabonensis* (Irvingiaceae) es un árbol frutal de los bosques densos húmedos cuyas frutas y maderas son muy explotadas por las poblaciones locales. Planta alógama, la multiplicación por semilla conlleva una gran heterogeneidad genética. Las técnicas de multiplicación vegetativa tradicional tienen una baja tasa de multiplicación. El objetivo principal de este trabajo fue poner a punto una técnica de multiplicación conforme *in vitro* de árboles selectos. **Material y métodos.** Las microestacas se tomaron de una planta de *Irvingia gabonensis* con frutos maduros. Tras desinfección, se pusieron en cultivo en un medio derivado de Murashige y Skoog diluido 4 veces (MS/4). Se estudiaron los efectos de la kinetina en el desborre y desarrollo de las yemas axilares. Se estudiaron los efectos de la beclaminopurina (BAP) en la proliferación de las yemas de microestacas. Por último, se estudiaron los efectos del ácido naftaleno acético (ANA) en el enraizamiento de las vitroplantas. **Resultados.** La kinetina a 3 mg·L⁻¹ favoreció el mejor desborre y el mejor desarrollo de las yemas axilares. La BAP a 4,5 mg·L⁻¹ permitió la proliferación del 95% de las yemas de microestacas con un número máximo de 5,1 yemas desbarradas por microestaca. El ANA a 2,5 mg·L⁻¹ permitió el enraizamiento del 100% de las vitroplantas con un número máximo de 12,6 raíces por vitroplanta y del 98% de las vitroplantas procedentes de yemas aisladas con un número máximo de 9,2 raíces por vitroplanta. La aclimatación de las vitroplantas se logró en el 88% de los casos. **Discusión y conclusión.** Con BAP, se pueden obtener anualmente 260 plantas enraizadas en condiciones hortícolas a partir de 64 explantes sanos. Los resultados de este trabajo abren, pues, una nueva vía para la producción conforme de plantas de *I. gabonensis* que podrán utilizarse para la propagación y la domesticación de esta especie.

Camerún / *Irvingia gabonensis* / microestacas / propagación vegetativa / regeneración *in vitro* / sustancias de crecimiento vegetal / vitroplantas
