

Propagation de *Ricinodendron heudelotii* par bouturage *in vitro*

FOTSO^{a*}, Tchinda Néhémie DONFAGSITELI^b, Duclair MBOUNA^a, Ndoumou Denis OMOKOLO^a

^a Laboratoire de Physiologie végétale, École normale supérieure, BP 47, Yaoundé, Cameroun
fotsob@yahoo.fr

^b Institut de recherches médicales et d'études des plantes médicinales (IMPM), BP 6113, Yaoundé, Cameroun

In vitro propagation of *Ricinodendron heudelotii* by cuttings.

Abstract — Introduction. *R. heudelotii* (Euphorbiaceae) is a fruit tree of the tropical wet, dense forests, exploited by the local populations. The species is dioecious. The currently used regeneration by seeds is not easy and it involves a genetic heterogeneity of the descendants. Until now, the species' horticultural vegetative multiplication was especially based on the use of seedlings resulting from seeds. Our work aimed at developing an *in vitro* vegetative propagation method of selected adult trees of *R. beudotii*. **Materials and methods.** Cuttings of 2 cm (one node with a single axillary bud) were taken on an adult plant of *R. heudelotii*, and then cultured, after sterilization, on a half-diluted Murashige and Skoog's medium. Various concentrations of kinetin were added to this basic medium (BM) to study the cytokinin effect on the bud bursting and the axillary bud development. In the same way, effects of benzylaminopurine (BAP) added to BM were studied in parallel on the proliferation of buds present at the level of the cutting node. Lastly, the cutting's rooting after culturing either on medium with kinetin or on medium with BAP was tested by transplanting cuttings onto BM enriched with naphthaleneacetic acid (NAA). **Results.** The 4.5 mg BAP·L⁻¹ medium allowed the proliferation of 91% of the buds present at the node level on cuttings, with a maximum of 4.8 newly formed buds per cutting. However, the insulation of these buds on medium enriched with NAA did not allow the observation of root differentiation. Medium with 2.5 mg kinetin·L⁻¹ supported bud bursting and the best development of axillary buds (71%). Transplanting onto medium with 2 mg ANA·L⁻¹ supported the rooting of 72% of the cuttings cultured at the beginning on medium with kinetin, with a maximum of 6.3 roots formed by cutting. The acclimatization success rate of the regenerated vitroplants was 52.7%. **Discussion and conclusion.** By using media with kinetin and NAA, a maximum of 36 rooted *R. heudelotii* vitroplants were regenerated in 22 weeks from the 50 cuttings cultured. This propagation rate remains weak and, for an effective clonal propagation of the species, it will have to be improved with a vitroplant complementary production starting with proliferation of buds obtained on medium with BAP.

Cameroon / *Ricinodendron heudelotii* / plant propagation / vitroplants / propagation by cuttings / buds / rooting

Propagation de *Ricinodendron heudelotii* par bouturage *in vitro*.

Résumé — Introduction. *R. heudelotii* (Euphorbiaceae) est un arbre fruitier des forêts denses humides, exploité par les populations locales. L'espèce est dioïque. La régénération par graines actuellement utilisée n'est pas aisée et elle entraîne une hétérogénéité génétique des descendants. Jusqu'à présent, la multiplication végétative horticole a surtout été basée sur l'utilisation de plantules issues des graines. Le but principal de notre travail a été de développer une méthode de multiplication conforme *in vitro* d'arbres adultes de *R. beudotii* sélectionnés. **Matériel et méthodes.** Les boutures de 2 cm (un œil + un bourgeon axillaire) ont été prélevées sur une plante adulte de *R. heudelotii*, puis mises en culture, après stérilisation, sur un milieu de Murashige et Skoog dilué de moitié. Différentes concentrations de kinétine ont été ajoutées à ce milieu de base (MB) pour étudier l'effet de cette cytokinine sur le débournement et le développement des bourgeons axillaires. De même, les effets de la benzylaminopurine (BAP) ajoutée à MB ont été parallèlement étudiés sur la prolifération des bourgeons présents au niveau des nœuds des boutures. Enfin, l'enracinement des boutures après culture soit sur milieu avec kinétine, soit sur milieu avec BAP a été testé par repiquage des boutures sur MB enrichi en acide naphthalèneacétique (ANA). **Résultats.** La BAP à 4,5 mg·L⁻¹ a permis la prolifération de 91 % des bourgeons présents au niveau des nœuds sur boutures avec un maximum de 4,8 bourgeons néoformés par bouture. Cependant, l'isolement de ces bourgeons sur milieu enrichi en ANA n'a pas permis d'observer la différenciation de racines. La kinétine à 2,5 mg·L⁻¹ a favorisé le débournement et le meilleur développement des bourgeons axillaires (71 %). Le repiquage sur MB + 2 mg ANA·L⁻¹ a favorisé l'enracinement de 72 % des boutures mises en cultures au départ sur MB + kinétine, avec un maximum de 6,3 racines formées par bouture. Le taux de réussite de l'acclimatation des vitroplants régénérés a été de 52,7 %. **Discussion et conclusion.** En utilisant la kinétine et l'ANA, un maximum de 36 vitroplants enracinés de *R. heudelotii* ont été régénérés en 22 semaines à partir de 50 boutures mises en culture. Ce taux de multiplication reste faible et, pour une multiplication conforme efficace de l'espèce, il devra être amélioré par la production complémentaire de vitroplants à partir de la prolifération des bourgeons obtenus sur milieu avec BAP.

* Correspondance et tirés à part

Reçu le 22 août 2003
Accepté le 7 juin 2004

Fruits, 2004, vol. 59, p. 351–358
© 2004 Cirad/EDP Sciences
All rights reserved
DOI: 10.1051/fruits:2004033
RESUMEN ESPAÑOL, p. 358

Cameroon / *Ricinodendron heudelotii* / multiplication des plantes / vitroplant / bouturage / bourgeons / enracinement

1. Introduction

Ricinodendron heudelotii (Euphorbiaceae) est un arbre fruitier répandu dans les zones forestières tropicales humides d'Afrique de l'Ouest et centrale.

Au Cameroun, l'espèce est communément appelée « Djansang ». Ses amandes oléagineuses sont récoltées par les populations locales pour la consommation et la commercialisation [1, 2]. Elles servent de matière première potentielle pour les industries agroalimentaires tropicales [3]. Son bois est utilisé en menuiserie et sert également à la construction des maisons [4]. Cependant, la multiplication de l'espèce *R. heudelotii* n'est pas encore contrôlée en Afrique.

Des essais de production de semences pour l'extension des plantations en milieu paysan réalisés au Cameroun par Mapongmetsem *et al.* [5] se sont heurtés à un faible taux de production des graines (3,3 % de succès) qui produisent, par ailleurs, une descendance hétérogène. De plus, bien que la plante se multiplie principalement par voie sexuée, cette multiplication est très limitée à cause de l'allogamie de l'espèce, de la résistance de la coque entourant les amandes qui limite la germination de la graine [6] et de l'action de psylles de l'espèce *Diclidopplebia xuani* qui détruisent les jeunes plantules après germination [7].

Les tentatives de multiplication et de propagation végétatives de l'espèce par les méthodes horticoles traditionnelles telles que greffage [8], bouturage et marcottage [9, 10] se sont heurtées à des difficultés d'enracinement et de reprise des greffons après transplantation. En utilisant un système de propagation sur différents substrats (sciure, sable et graviers) enrichis en acide indolbutyrique, Shiembo *et al.* [11] ont pu obtenir, dans certaines conditions, jusqu'à 80 % de plantules de *R. heudelotii* enracinées à partir de boutures feuillées ; l'espèce pourrait donc être propagée végétativement. Cependant, jusqu'à présent, très peu de travaux ont été consacrés à sa multiplication *in vitro*. Parmi eux, les travaux de Donfagsiteli [12] et Omokolo [13] ont abouti à la régénération de plantules après induction de cals à partir de fragments de feuilles et de tige, puis

induction de bourgeons à partir de ces cals. S'appuyant sur des résultats encourageants d'Enjalric [14] sur le bouturage *in vitro* de *Hevea brasiliensis* (également de la famille des Euphorbiaceae), nos travaux ont tenté d'établir les conditions favorables pour un bouturage *in vitro* de *R. heudelotii* afin d'obtenir une propagation clonale rapide de la plante pour la mise en place de plantations homogènes de l'espèce.

2. Matériel et méthodes

2.1. Préparation du matériel végétal

Des segments de tige de 2 cm environ portant un seul nœud doté d'un bourgeon axillaire ont été prélevés entre septembre et octobre sur les jeunes repousses d'un arbre de 8 ans, après fructification dans la région de Nkolbisson (banlieue de Yaoundé, Cameroun). Ces explants ont été lavés à l'eau courante et désinfectés par trempage dans une solution de Tween 80 à 1 % pendant 5 min, puis dans une solution de Mercryl laurylé à 20 % pendant 20 min, enfin dans une solution d'hypochlorite de sodium à 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*

Les tests préliminaires réalisés sur milieu de Murashige et Skoog complet (MS) [15] ou dilué deux, quatre ou huit fois ont montré que le milieu MS dilué deux fois était le plus favorable au développement des boutures de *R. heudelotii*. Le choix des phytohormones utilisées et la méthodologie adoptée dans ce travail ont été basés sur les travaux de Omokolo *et al.* [16] sur *Invirgia gabonensis*. Ainsi, le milieu de base pour toutes les cultures a été constitué d'un milieu gélosé à 0,6 % d'agar contenant la solution minérale de Murashige et Skoog diluée deux fois, additionnée de 4 % de saccharose, et du complexe vitaminique de Morel et Wetmore [17]. Le pH de tous les milieux a été ajusté à 5,6. Tous les milieux ont été stérilisés à l'autoclave à 115 °C pendant 30 min sous une

pression de $1,6 \text{ kg}\cdot\text{cm}^{-2}$. Toutes les cultures ont été placées dans une salle à une température de $(26 \pm 1) \text{ }^\circ\text{C}$, une photopériode de 16 h d'éclairement, et une intensité lumineuse de $40 \text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$.

2.3. Phytohormones testées

L'influence de la kinétine sur le débourrement et la croissance des bourgeons axillaires a été étudiée par addition de différentes concentrations de (0 à 3,5) mg kinétine·L⁻¹ au milieu de culture de base. Après 10 semaines, le pourcentage des bourgeons débourrés et développés a été noté pour chacune des concentrations de kinétine testées. La croissance des bourgeons a été exprimée par l'allongement moyen de la tige et le nombre moyen de feuilles nouvellement formées.

Parallèlement, un milieu de base enrichi de (0 à 6,5) mg benzylaminopurine·L⁻¹ a permis d'étudier l'influence de cette cytokinine sur la prolifération des bourgeons au niveau des nœuds de boutures. Après 10 semaines d'expérimentation, le nombre moyen de bourgeons proliférés a été noté pour chacune des concentrations de BAP testées.

Après croissance sur ces milieux avec kinétine ou avec BAP, les boutures montrant des bourgeons axillaires développés ont été isolées et repiquées sur le même milieu de base alors enrichi en acide naphthalèneacétique (ANA) à différentes concentrations [(0 à 3) mg·L⁻¹] pour étudier l'influence de cette auxine sur la rhizogenèse. Après 12 semaines d'expérience, le pourcentage d'explants formant des racines, le nombre moyen de racines par bouture et l'allongement moyen des racines ont été mesurés pour chaque concentration d'ANA.

Chacun des milieux ainsi définis a été testé par la mise en culture de 50 boutures saines. Les résultats ont été traités par analyse de variances et les moyennes significativement différentes séparées par le test de Duncan ($P \leq 0,05$).

2.4. Acclimatation

Les vitroplants enracinés ont été transférés en sachets de polyéthylène contenant un mélange de [terre noire + vermiculite] à volume égal, préalablement stérilisé à l'étuve à

120 °C pendant 1 h 30 min. Chaque sachet a été recouvert d'une cloche de plastique permettant de confiner l'atmosphère et de réduire la déshydratation, puis placé en chambre de culture maintenue à $(26 \pm 1) \text{ }^\circ\text{C}$, (72 à 76) % d'humidité relative et une photopériode de 16 h/8 h ($40 \text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$). 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 pendant 2 semaines, puis à l'eau courante pendant les 10 dernières semaines d'acclimatation.

3. Résultats

La méthode de stérilisation des explants utilisée a permis d'obtenir 75 % d'explants sains, soit environ 350 boutures saines sur les 500 mises en culture.

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

Sans ajout de kinétine dans le milieu de base, il n'y a eu aucun débourrement (*tableau 1*). Dans nos conditions expérimentales, la kinétine a donc été indispensable pour provoquer un débourrement des bourgeons mis en culture.

Lorsque différentes concentrations de kinétine ont été ajoutées au milieu de base, les bourgeons axillaires des boutures ont commencé à débourrer après une semaine de culture (*figure 1*), puis ils se sont développés pour former une tige feuillée en 9 semaines (*figure 2*). Les meilleurs taux de débourrement des bourgeons ont été obtenus sur milieux avec (2 et 2,5) mg kinétine·L⁻¹ (*tableau 1*). Sur ces milieux, les tiges ont pu s'allonger jusqu'à 4,8 cm. Le nombre maximal de feuilles nouvellement formées a été obtenu sur milieux avec de (1,5 à 2,5) mg kinétine·L⁻¹ (*tableau 1*).

3.2. Prolifération des bourgeons sur bouture

Les bourgeons présents sur les boutures saines cultivées directement sur le milieu de

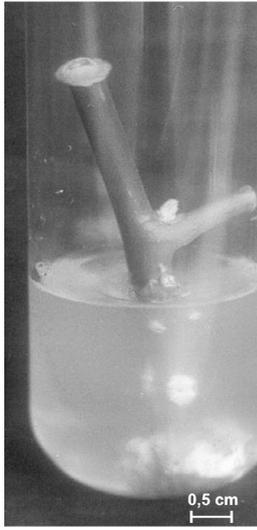


Figure 1.
Bouture de *Ricinodendron heudelotii* à bourgeon axillaire débouffé après une semaine de culture sur milieu de Murashige et Skoog dilué de moitié et additionné de 2,5 mg kinétine·L⁻¹.

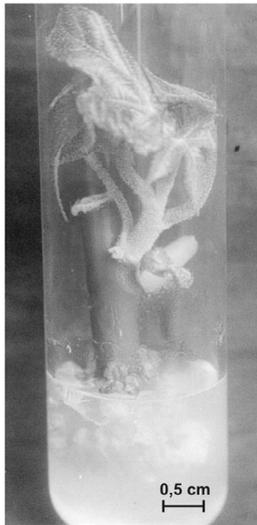


Figure 2.
Tige feuillée issue du développement d'un bourgeon axillaire débouffé de *Ricinodendron heudelotii* après 9 semaines de culture sur milieu de Murashige et Skoog dilué de moitié et additionné de 2,5 mg kinétine·L⁻¹.

Tableau I.

Effet de la kinétine sur le débouffement et la croissance des bourgeons axillaires de boutures de *Ricinodendron heudelotii*. Les boutures (un segment de tige avec un nœud portant un bourgeon axillaire) ont été cultivées pendant 10 semaines sur milieu de Murashige et Skoog dilué de moitié et additionné de (0 à 3,5) mg kinétine·L⁻¹ (50 explants sains testés par dose de kinétine).

Dose de kinétine (mg·L ⁻¹)	Bourgeons débouffés et développés (%)	Allongement moyenne de la tigelle (cm)	Nombre moyen de feuilles nouvellement formées par plantule
0	0	0	0
0,5	3	2,2 c	2,1 c
1,0	7	3,3 b	3,0 b
1,5	29	3,0 b	6,8 a
2,0	69	4,8 a	6,2 a
2,5	71	4,6 a	6,8 a
3,0	22	3,0 b	2,2 c
3,5	21	1,8 c	2,4 c

Les valeurs de chaque colonne ayant la même lettre ne sont pas statistiquement différentes d'après le test de Duncan ($P \leq 0,05$).

base sans BAP ou avec seulement 0,5 mg BAP·mL⁻¹ n'ont présenté aucun développement (*tableau II*). En revanche, les bourgeons cultivés sur milieu de base enrichi avec de plus fortes concentrations de BAP ont débouffé. Ce débouffement a été suivi du gonflement de la tige au niveau du nœud avec apparition de nouvelles ébauches de bourgeons. Ces nouveaux bourgeons se sont ensuite développés pour évoluer en 10 semaines en nouvelles tiges secondaires feuillées, disposées en couronne autour de la tige principale (*figure 3*). Les meilleurs taux de boutures ayant formé de nouvelles tiges secondaires ont été obtenus sur un milieu contenant (3,5 et 4,5) mg BAP·L⁻¹ (*tableau II*). À cette concentration, un nombre maximal de 4,7 et 4,8 bourgeons par bouture a pu être obtenu.

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

Douze semaines après repiquage sur milieu avec ANA, des racines se sont différenciées à la base de la tige des boutures présentant un axe feuillé et issues du milieu de base enrichi en kinétine (*figure 4*). En revanche,

l'isolement des bourgeons proliférés sur bouture et issu du milieu enrichi en BAP puis repiqués sur milieu enrichi en ANA n'a pas permis d'observer la différenciation de racines (*figure 5*). Le meilleur taux de boutures ayant différencié les racines et le nombre maximal de racines comptées par boutures (6,3) a été obtenu avec un milieu à 2 mg ANA·L⁻¹ (*tableau III*). A cette même concentration, l'allongement des racines a été maximal et égal à 3,8 cm.

3.4. Acclimatation

En utilisant de la kinétine à 2,5 mg·L⁻¹ puis de l'ANA à 2 mg·L⁻¹, un nombre maximal de 36 vitroplants de *R. heudelotii* sur les 50 boutures mises en culture en début d'expérimentation a pu être régénéré en 22 semaines (10 semaines en présence de kinétine + 12 semaines en présence d'ANA). Ces vitroplants placés en condition d'acclimatation ont repris leur croissance pour 52,7 % d'entre eux ; 19 plantules sur 36 ont donc réussi à être acclimatées après 3 semaines. Elles ont été aptes à un transfert en champ après 15 semaines (*figure 6*).

Tableau II.

Effet de la benzyladénine (BAP) sur la prolifération de bourgeons sur boutures de *Ricinodendron heudelotii*. Les boutures (un segment de tige avec un nœud portant un bourgeon axillaire) ont été cultivées pendant 10 semaines sur milieu de Murashige et Skoog dilué de moitié et additionné de (0 à 6,5) mg BAP·L⁻¹ (50 explants sains testés par dose de BAP).

BAP (mg·L ⁻¹)	Boutures avec prolifération de bourgeons (%)	Nombre moyen de bourgeons formés par bouture
0	0	0
0,5	0	0
2,5	51	3,0 b
3,5	84	4,7 a
4,5	91	4,8 a
5,5	42	3,0 b
6,5	36	1,2 c

Les valeurs de chaque colonne ayant la même lettre ne sont pas statistiquement différentes d'après le test de Duncan ($P \leq 0,05$).

4. Discussion

Nos expérimentations ont permis d'induire *in vitro* le développement de bourgeons axillaires de l'espèce *R. heudelotii* à partir de boutures prélevées sur une plante adulte et cultivées sur un milieu de Murashige et Skoog dilué de moitié et enrichi en kinétine, puis repiquées sur un milieu avec ANA.

La kinétine a favorisé le développement de bourgeons axillaires en tiges feuillées. L'effet maximal a été obtenu avec 2,5 mg kinétine·L⁻¹ qui ont provoqué le débourement de 71 % des bourgeons ; ceux-ci ont présenté un allongement maximal de la tigelle en 10 semaines.

L'adjonction de la BAP au milieu de base a entraîné la prolifération des bourgeons au niveau des nœuds des boutures mises en cultures. Le meilleur taux de boutures ayant différencié des bourgeons (91 %) a été obtenu avec 4,5 mg BAP·L⁻¹ et, à cette concentration, chaque bouture a présenté un nombre maximal de 4,8 bourgeons. Ces résultats sont similaires à ceux obtenus par Enjalric [14] chez *Hevea brasiliensis* (Euphorbiaceae) à partir de boutures cultivées dans les mêmes conditions avec, cependant, ajout dans le milieu de (0,5 à 1) g de charbon actif·L⁻¹. De

même, Gulati et Jaiwal [18] avaient obtenu un nombre similaire de bourgeons au niveau des nœuds des microboutures de *Dalbergia sissoo*, mais le milieu de base était alors constitué de MS complet. Par ailleurs, Yassen *et al.* [19] avaient obtenu un nombre de bourgeons deux fois plus élevé (9,6 bourgeons par explant) à partir de boutures de *Psidium guajava*, alors prélevées sur plantules issues de la germination de graines.

Dans nos expérimentations, l'obtention de plantules entières a eu lieu après une phase d'enracinement sur milieu de base enrichi en ANA. Seules les boutures mises en culture au début de l'expérimentation ont alors formé des racines avec un pourcentage maximal de 72 % et au plus 6,3 racines par bouture. Ces résultats sont à comparer à ceux obtenus par bouturage horticole de *R. heudelotii* (3,3 % de réussite) par Mapongmetsem *et al.* [5]. De même, les travaux de Shiembo [9] puis de Shiembo *et al.* [10] sur le bouturage horticole d'*Irvingia gabonensis* et de *Gnetum africanum* avaient donné des résultats relativement faibles, alors que, en utilisant la même technique de bouturage horticole pour *R. heudelotii*, Shiembo *et al.* [11] avaient obtenu des taux d'enracinement relativement élevés (80 %). Nos résultats sont comparables aux résultats des



Figure 3. Bourgeon de *Ricinodendron heudelotii* montrant une prolifération au niveau d'un nœud de bouture après 10 semaines de culture sur milieu de Murashige et Skoog dilué de moitié et additionné de 4,5 mg BAP·L⁻¹.



Figure 4. Bouture de *Ricinodendron heudelotii* enracinée, 12 semaines après repiquage sur un milieu de Murashige et Skoog dilué de moitié et additionné de 2 mg ANA·L⁻¹.



Figure 5.

Tige feuillée issue du développement d'un bourgeon de *Ricinodendron heudelotii*, observé 12 semaines après avoir été isolé et repiqué sur un milieu de Murashige et Skoog dilué de moitié et additionné de 2 mg ANA·L⁻¹.

Tableau III.

Effet de l'acide naphthalèneacétique (ANA) sur l'induction et l'allongement des racines de boutures de *Ricinodendron heudelotii*. Après 10 semaines sur milieu de Murashige et Skoog dilué de moitié et additionné de kinétine, les boutures (un segment de tige avec un nœud portant un bourgeon axillaire) ont été repiquées sur milieu additionné de (0 à 3,5) mg ANA·L⁻¹ puis laissées en sous-culture pendant 12 semaines (50 explants sains testés par dose d'ANA).

ANA (mg·L ⁻¹)	Vitroplants rhizogènes (%)	Nombre de racines par vitroplant	Allongement des racines (cm)
0	0	0	0
0,5	18	2,1 d	2,4 b
1,0	26	2,4 d	2,2 b
1,5	58	3,0 c	3,1 a
2,0	72	6,3 a	3,8 a
2,5	40	4,0 b	1,8 c
3,0	17	3,4 b	1,6 c

Les valeurs de chaque colonne ayant la même lettre ne sont pas statistiquement différentes d'après le test de Duncan ($P \leq 0,05$).

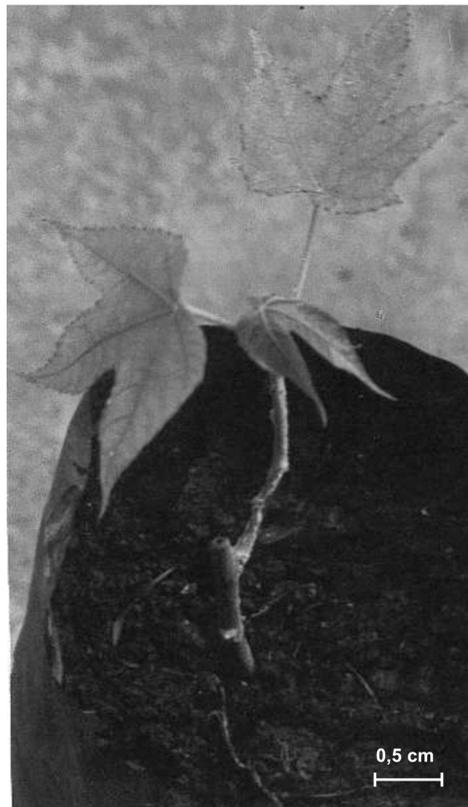


Figure 6.

Plantule de *Ricinodendron heudelotii* issue de vitroculture et acclimatée pendant 15 semaines sur un mélange de (terre + vermiculite) à volume égal.

études similaires réalisées *in vitro* chez d'autres espèces ligneuses telles que *Hevea brasiliensis* [14], *Cola nitida* [20–22] et *Dacryodes edulis* [23].

L'isolement et le repiquage sur milieu de base avec ANA des bourgeons proliférés au niveau des nœuds des boutures n'ont pas donné lieu à la formation de racines. Des résultats similaires ont été obtenus par Donfagsiteli [12] et Omokolo [13] sur la même espèce et par Fotso *et al.* [24] sur *Cola acuminata*, mais, lors de ces travaux, les bourgeons étaient issus de cals. En revanche, chez *Irvingia gabonensis*, Omokolo *et al.* [16] ont montré que les bourgeons proliférés au niveau des nœuds des boutures après isolement et repiquage sur MS dilué quatre fois et enrichi en 2,5 mg ANA·L⁻¹ différenciaient des racines pour 98 % d'entre eux.

La méthode d'acclimatation utilisée a permis d'obtenir 52,7 % de plantules viables, soit, en moyenne, 19 plantules sur les 36 régénérées à partir des 50 boutures saines mises en cultures. Ces résultats sont similaires à ceux de Youmbi et Benbadis [25] chez *Dacryodes edulis* qui ont obtenu avec la même méthode 50 % de plantules viables.

Le schéma global de multiplication *in vitro* de *R. heudelotii* mis au point au cours de nos travaux incluant l'utilisation de la kinétine pour induire le débourrement et le développement des bourgeons axillaires en 10 semaines, puis l'utilisation de l'ANA pour induire l'enracinement en 12 semaines et enfin l'acclimatation des vitroplants dans un mélange [terre noire + vermiculite] respecte globalement le schéma de multiplication *in vitro* des espèces végétales [23, 25]. Il peut permettre dès maintenant un certain taux de multiplication *in vitro* d'arbres productifs. Cependant, une expérimentation avec utilisation simultanée des deux hormones kinétine et ANA pourrait être intéressante à entreprendre pour gagner 10 semaines dans le protocole et vérifier l'existence éventuelle d'interactions entre les deux hormones sur le développement de la microbouture.

L'amplification par prolifération sur milieu de base enrichi en BAP pose encore des problèmes, notamment pour l'enracinement des plantules. L'une des approches envisageables pour remédier à cette difficulté serait de tester simultanément une combinaison d'auxine et de cytokinine pour la culture des souches proliférantes. Cette utilisation pourrait permettre d'augmenter le taux de régénération et, dès lors, la méthode pourrait constituer une nouvelle voie de micropropagation *in vitro* de *R. heudelotii*.

Remerciements

Les auteurs remercient le Dr. Boudjeko Thaddée pour ses suggestions et critiques.

Références

- [1] Kapseu C., Tchiengang C., Chemical properties of *Ricinodendron heudelotii* (Baill) seed oil, *J. Food Lipids* 2 (1995) 87–98.
- [2] Mbofung C.M.F., Caractéristiques morphologiques des amandes et physico-chimiques de l'huile de *Ricinodendron heudelotii* (Baill) du Cameroun, in: 3^e Sémin. Int. Valorisation du safoutier et autres oléagineux non conventionnels, Yaoundé, Cameroun, 2002, pp. 288–299.
- [3] Tchiengang C., Kapseu C., Ndouenkeu R., Ngassoum M. B., Amandes des *Ricinodendron heudelotii* (Baill). Matière première potentielle pour les industries agroalimentaires tropicales, *J. Food Eng.* 32 (1997) 1–10.
- [4] Anigbogu P., Nature's Gifts: improving trees and shrubs around the world. *Ricinodendron heudelotii* (Baill) in Nigeria, *Agroforestry Today* (1996) 8–25.
- [5] Mapongmetsem P.M., Duguma B., Nkongmeneck B.A., Domestication of *Ricinodendron heudelotii* (Baill) in the humid lowlands of Cameroon, in: Actes 2^e Sémin. Int. Valorisation du safoutier et autres oléagineux non conventionnels, Ngaoundéré, Cameroun, 1998, pp. 71–79.
- [6] Fondoun J.M., Tiki T.M., Kengne J., *Ricinodendron heudelotii* (Baill) (Djangsang) Ethnobotany and importance for forest dwellers in Southern Cameroon, in: Actes 2^e sémin. Int. Valorisation du safoutier et autres oléagineux non conventionnels, Ngaoundéré Cameroun, 1998, pp. 247–248.
- [7] Messi J., Alene D.C., Tamesse J.L., Une espèce nouvelle de psylle, *Diclidophledia xuani* (Homoptera : Psyllidae), déprédateur du *Ricinodendron heudelotii* (Baill), in: Actes 2^e sémin. Int. Valorisation du safoutier et autres oléagineux non conventionnels, Ngaoundéré, Cameroun, 1998, pp. 80–89.
- [8] Nguélé O.S., Essai de greffage de *Ricinodendron heudelotii* (Baill), mém. DESS, Univ. Yaoundé I, Cameroun, 2000, 43 p.
- [9] Shiembo P.N., Domestication of multipurpose tropical plants with particular reference to *Irvingia gabonensis* (Baill), *Ricinodendron heudelotii* (Baill) and *Gnetum africanum* Welw., thesis, Univ. Edinburgh, UK, 1994, pp. 103–124.
- [10] Shiembo P.N., Newton A.C., Leakey R.R.B., Vegetative propagation of *Irvingia gabonensis*, a West African fruit tree, *For. Ecol. Manage.* 87 (1996) 185–192.
- [11] Shiembo P.N., Newton A.C., Leakey R.R.B., Vegetative propagation of *Ricinodendron heudelotii*, a West African fruit tree, *J. Trop. Forest Sci.* 9 (1997) 514–525.
- [12] Donfagsiteli T.N., Potentialités de régénération *in vitro* chez *Ricinodendron heudelotii* (Baill) à partir des fragments d'organes, mém. DEA, Univ. Yaoundé I, Cameroun, 2002, 48 p.
- [13] Omokolo N.D., Preliminary results on the *in vitro* regeneration of *Ricinodendron heudelotii* (Baill), in: Proc. First Protia Int. workshop, Nairobi, Kenya, 2002, pp. 325–326.
- [14] Enjalric F., Étude sur le microbouturage *in vitro* de *Hevea brasiliensis* Mull Arg., Thèse, Univ. Paris-Sud, Orsay, France, 1983, 161 p.

- [15] Murashige T., Skoog F., A revised medium for rapid growth and bioassay with tobacco tissue culture, *Physiol. Plantarum* 15 (1962) 473–497.
- [16] Omokolo N.D., Fotso, Oumar, Mbouna D., Propagation d'*Irvingia gabonensis* par microbouturage *in vitro*, *Fruits* 59 (1) (2004) 1–8.
- [17] Morel G., Wetmore R.H., Fern callus tissue culture, *Ann. J. Bot.* 38 (1951) 141–143.
- [18] Gulati A., Jaiwal P.K., Micropropagation of *Dalbergia sissoo* from nodal explants of mature trees, *Biol. Plantarum* 3 (2) (1996) 169–175.
- [19] Yassen R.N., Shell 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.
- [20] Dublin P., La multiplication végétative et l'amélioration de *Cola nitida*, *Café Cacao Thé* (14) (1970) 275–294.
- [21] Ashiru G.A., Quarcoo T., Vegetative propagation of kola [*Cola nitida* (Vent) Schott and Endlicher], *Trop. Agric.* 48 (1) (1971) 85–92.
- [22] Dossa E.L., Bertrand B., Aidam A., Microbouturage *in vitro* du *Cola nitida* (Schott et Endlicher), *Café Cacao Thé* 38 (1) (1994) 57–60.
- [23] Youmbi E., Potentialités de régénération *in vitro* du nœud cotylédonaire chez *Dacryodes edulis*, *Fruits* 55 (6) (2000) 409–419.
- [24] 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.
- [25] Youmbi E., Benbadis A., Régénération *in vitro* de plants à partir des bourgeons axillaires et des apex de plantules sexuées de *Dacryodes edulis* (Don) Lam., *Fruits* 56 (5) (2001) 333–343.

Propagación de *Ricinodendron heudelotii* por estaquillado *in vitro*.

Resumen — Introducción. *R. heudelotii* (Euphorbiaceae) es un árbol frutal de los bosques densos húmedos, explotado por las poblaciones locales. Es una especie dioica. La regeneración por semillas actualmente utilizada no es fácil y provoca heterogeneidad genética en los descendientes. Hasta ahora, la multiplicación vegetativa hortícola se basaba fundamentalmente en la utilización de plántulas procedentes de semillas. El objetivo principal de nuestro trabajo fue desarrollar un método de multiplicación fiel “*in vitro*” de árboles adultos de *R. heudelotii* seleccionados. **Material y métodos.** Las estacas de 2 cm (un ojo + una yema axilar) se tomaron de una planta adulta de *R. heudelotii* y se pusieron en cultivo, tras esterilización, en un medio Murashige y Skoog diluido a la mitad. Se añadieron diferentes concentraciones de kinetina a este medio basal (MB) para estudiar el efecto de esta citoquinina en el desborre y desarrollo de las yemas axilares. Asimismo, se estudiaron paralelamente los efectos de la bencilaminopurina (BAP) añadida al MB en la proliferación de las yemas presentes en los nudos de las estacas. Por último, se ensayó, mediante trasplante de las estaquillas en MB enriquecido con ácido naftalenacético (ANA), el enraizamiento de las estacas tras cultivo bien en un medio con kinetina, bien en un medio con BAP. **Resultados.** La BAP a 4,5 mg·L⁻¹ permitió la proliferación del 91% de las yemas presentes en los nudos de estacas con un máximo de 4,8 yemas neoformadas por estaca. Sin embargo, el aislamiento de estas yemas en un medio enriquecido con ANA no permitió observar la diferenciación de raíces. La kinetina a 2,5 mg·L⁻¹ favoreció el desborre y el mejor desarrollo de las yemas axilares (71%). El repicado en MB + 2 mg ANA·L⁻¹ favoreció el enraizamiento del 72% de las yemas inicialmente cultivadas en MB + kinetina, con un máximo de 6,3 raíces formadas por estaca. El porcentaje de éxito en la aclimatación de las vitroplantas regeneradas fue del 52,7%. **Discusión y conclusión.** Mediante el uso de kinetina y ANA, se regeneró un máximo de 36 vitroplantas enraizadas de *R. heudelotii* en 22 semanas a partir de 50 estaquillas puestas en cultivo. Esta tasa de multiplicación sigue siendo baja y, para lograr una multiplicación fiel y eficaz de la especie, deberá mejorarse mediante la producción complementaria de vitroplantas a partir de la proliferación de yemas obtenidas en un medio con BAP.

Camerún / *Ricinodendron heudelotii* / propagación de plantas / vitroplantas / esquejado / yema (planta) / enraizamiento