

## Multiplication végétative *in vitro* du gommier : *Acacia senegal* L. (Willd.).

*In Vitro* Vegetative Propagation of the Gum Arabic Tree (*Acacia senegal* (L.) Willd.).

S. BADJI <sup>1,\*</sup>, Y. MAIRONE <sup>1</sup>, I. NDIAYE <sup>1</sup>, G. MERLIN <sup>1</sup>, J. P. COLONNA <sup>2</sup>, P. DANTHU <sup>3</sup> et P. NEVILLE <sup>1</sup>

1 - Laboratoire de Morphogenèse végétale (442), Université d'Aix-Marseille III, Faculté des Sciences et Techniques de Saint-Jérôme, Avenue Escadrille Normandie Niemen. 13397 Marseille Cedex 13 (France)

2- Centre ORSTOM, B. P. 1386, Dakar (Sénégal)

3- Chercheur du CIRAD-Forêt mis à la disposition de la DRPF / ISRA, B.P. 2312, Dakar (Sénégal)

\*- Adresse actuelle: Direction des Eaux, Forêts, Chasses et de la Conservation des Sols, B. P. 1831, Dakar (Sénégal)

### RESUME

La méthode décrite ici nous a permis de produire trois à quatre vitroplants d'*Acacia senegal* à partir d'un seul explant uninodal. Celui-ci est prélevé soit sur une plante axénique soit sur une plante de 4 ou 5 ans cultivée en serre.

Zéatine ou BAP sont incorporées, à diverses concentrations, au milieu de Murashige et Skoog (M S) dont la teneur en macroéléments a été divisée par deux (MS mod.). A la concentration de  $5 \cdot 10^{-7}$  M., la zéatine fournit les meilleurs taux de multiplication pour les deux types de matériel végétal.

Pour obtenir un taux d'enracinement de ces microboutures proche de 100%, il faut procéder en deux étapes. La première étape, dite d'induction, consiste en un passage de 6 à 12 jours sur le milieu de Jordan dont la teneur en macroéléments a été divisé par deux (JN mod.) et auquel on a incorporé de l'ANA à la concentration de  $5 \cdot 10^{-5}$  M. La seconde étape, dite étape d'expression racinaire, nécessite un passage des microboutures sur ce dernier milieu totalement dépourvu de phytohormone. Les racines apparaissent au bout de quelques jours.

Le sevrage et l'acclimatation en serre s'effectuent avec un taux de réussite voisin de 100% lorsque les vitroplants enracinés sont transférés dans des pots renfermant un mélange de vermiculite et de terreau (1: 1; v/v)

**MOTS-CLES:** *Acacia senegal*, microbouturage, Cytokinines, *In vitro*, noeuds

**Abbréviations:** BAP, 6-benzylaminopurine; ANA, acide naphthalène acétique, MS, milieu de Murashige and Skoog, JN, milieu de Jordan.

\* Badji S., Mairone Y., Ndiaye I., Merlin G., Colonna J.P., Danthu P. et Neville P. (1992). Multiplication végétative *in vitro* du gommier : *Acacia senegal* L. (Willd), *in Production de variétés génétiquement améliorées d'espèces forestières à croissance rapide* - Actes du Symposium, Bordeaux 1992. Tome II. AFOCEL ed. Nançois  
155 166

(ii) des plants de 4 ou 5 ans cultivés en serre et maintenus à l'état juvénile par des recépages réguliers. Ce deuxième type de matériel sera qualifié de mature par opposition au matériel juvénile. Les segments de rameaux ont été prélevés sur la partie non lignifiée des jeunes rejets en croissance. Ils sont totalement défeuillés puis trempés, pendant 7 min sous agitation dans une solution de bichlorure de mercure ( $\text{HgCl}_2$ ) à 0,1% dans l'éthanol à 70° additionné de quelques gouttes de Tween 20. Les fragments ont été, par la suite, plongés pendant 30 s dans l'éthanol à 70° avant d'être rincés trois fois à l'eau distillée stérile. Les segments de rameaux sont alors découpés en microboutures uninodales de 15 à 20 mm de long introduites aseptiquement, sous hotte à flux laminaire, dans les tubes contenant les milieux testés.

Ces deux types d'explants provenant soit de plants juvéniles axéniques soit de plants adultes cultivés en serre sont appelés "microboutures de première génération"

Les explants obtenus à partir des rameaux produits par ces microboutures de première génération, ont servi à l'étude de l'enracinement. Ils sont appelés "microboutures de deuxième génération".

## METHODES

### 1.- Milieux et Conditions de culture

Deux milieux minéraux de base ont été utilisés, suivant l'objectif recherché.

#### Allongement des rameaux

Pour l'allongement des rameaux des microboutures de première génération on a utilisé, comme milieu de base, un milieu de Murashige et Skoog (1962) modifié (MS mod.). La modification consiste à diluer de moitié la teneur en macroéléments. On ajoute à ce milieu de base soit de la 6-benzyl-amino-purine (BAP) soit de la 6-(4-hydroxy-3-méthylbut-trans-2-enyl)-aminopurine (Zéatine) à trois concentrations différentes:  $5 \cdot 10^{-7}$  M,  $1 \cdot 10^{-6}$  M,  $5 \cdot 10^{-6}$  M pour les expériences effectuées sur les plantules et  $1 \cdot 10^{-7}$  M,  $5 \cdot 10^{-7}$  M,  $1 \cdot 10^{-6}$  M pour les expériences effectuées sur le matériel adulte. Les concentrations ont été définies après des essais préliminaires. Le milieu témoin ne contient pas de régulateurs de croissance.

#### Enracinement

L'étude de l'enracinement a été effectuée sur des explants uninodaux de deuxième génération, prélevés en phase d'allongement sur les rameaux des microboutures de première génération ayant poussé sur le milieu "MS mod. + zéatine  $5 \cdot 10^{-7}$  M". L'enracinement comporte une phase d'induction de la rhizogenèse suivie une phase d'expression de la rhizogenèse.

Les milieux d'induction racinaire renferment de l'ANA à la concentration de  $5 \cdot 10^{-5}$  M. Deux milieux d'induction ont été testés, pour une durée de 6 jours: (a)  $\text{H}_2\text{O}$ , (b) milieu de Jordan modifié (JN mod.) en diluant de moitié ses macroéléments. Deux durées d'induction ont été aussi testées: 6 jours et 12 jours. L'influence de ces modalités d'induction sur l'expression racinaire a été déterminée après passage sur le milieu dit "d'expression racinaire" constitué par le milieu de Jordan modifié (JN mod.) ne contenant pas de substance de croissance.

Les milieux utilisés pour la caulogénèse et la rhizogénèse contiennent 20 g de saccharose par litre et ont été solidifiés par 6 g. l<sup>-1</sup> de gélose DIFCO et stérilisé par autoclavage à 120° C durant 15 min. Le pH est ajusté à 5.8 avant autoclavage.

Les paniers contenant les tubes sont placés dans une chambre de culture dans laquelle la température est de  $30 \pm 2^\circ$  C, l'humidité varie de 20 à 40%, avec un régime photopériodique comportant 16 h de jour et 8 h de nuit. La lumière artificielle est fournie par des tubes fluorescents Sylvania GroLux F 40 W à raison de 12,5 W. m<sup>-2</sup>.

## 2.- Sevrage et acclimatation

Après enracinement, les vitroplants sont extraits délicatement des tubes de culture pour être transplantés directement en pot sur un substrat constitué de vermiculite en mélange à part égale avec du terreau fertiligène (support NF U 44551, Ets Puteaux S. A. 78150 LE CHESNAY, France), à base de tourbe de *Sphagnum* et de *Carex*, présentant les caractéristiques suivantes: matière sèche / produit brut = 32%; matière organique / produit brut = 22%; pH (H<sub>2</sub>O) = 6; résistivité = 900 . cm<sup>2</sup>; rétention en eau = 360% du poids de matière sèche).

Ils sont alors maintenus pendant 4 j, en serre, sous un double confinement assuré par une mini-serre et une cloche de matière plastique transparent (Fig. 6), à la température moyenne de 35° C, l'hygrométrie variant de 70 à 100%. Durant les 7 jours suivants les plants débarrassés de leur cloche sont maintenus dans la miniserre, sous brumisation (3 fois 6 min tous les 24 h).

Les plants sont ensuite élevés en serre sous nébulation à la température de 35° ± 8° C et sous le même rythme d'arrosage (Fig. 7).

## 3.- Schéma expérimental

Pour chaque traitement des diverses expérimentations ci-dessus, on a utilisé 24 tubes contenant chacun un explant. Certains résultats ont été soumis à l'analyse de variance et dans ces cas le test de Duncan (1955) a été employé. L'intervalle de confiance de la moyenne a été calculée à la probabilité de 5%.

Les expressions caulogène et racinaire ont été évaluées par des paramètres consignés dans les tableaux.

# RESULTATS

## Materiel juvénile

### A. Caulogénèse

Les deux cytokinines testées (BAP et zéatine), induisent sur le développement des rameaux axillaires formés, des influences différentes suivant leurs concentrations dans le milieu.

Le tableau 1 montre l'effet des concentrations en zéatine et en BAP sur le développement caulogène des microboutures. Au bout de 60 j de culture, le traitement "zéatine 5. 10<sup>-7</sup> M" induit un meilleur développement caulogène que tous les autres traitements et aboutit à la formation d'un rameau de 36 mm de long en moyenne; ce rameau comporte 4 noeuds et permet de produire 3 explants bouturables. Plus de 79% des explants ayant subi ce traitement portent un rameau développé de plus de 10 mm de long. En présence de concentrations en zéatine plus élevées (1. 10<sup>-6</sup> M et 5. 10<sup>-6</sup> M), ce pourcentage diminue nettement ainsi que le nombre d'explants bouturables mais le nombre de noeuds reste à peu près le même. Il y a donc diminution de la taille des entre-noeuds. A la base des fragments, se sont développés des cals de volume moyen plus important (environ 566 mm<sup>3</sup>) avec 5. 10<sup>-7</sup> M en zéatine, qu'avec les autres concentrations. La prolifération du cal basal ne semble pas affecter le développement du rameau axillaire. Aucun cal n'est observé chez le témoin, qui globalement, pour tous les paramètres étudiés, a donné des résultats inférieurs.

Pour la BAP, c'est la concentration la plus élevée (5. 10<sup>-6</sup> M) qui fournit le meilleur allongement du rameau des microboutures de première génération. Toutefois cet allongement est très inférieur à celui obtenu avec la zéatine puisque

à 60 j de culture il n'atteint en moyenne que 15,5 mm au lieu de 36 mm. Au bout de ce laps de temps et pour les trois concentrations de BAP, deux noeuds en moyenne sont formés sur le rameau. Le pourcentage d'explants portant un rameau de plus de 10 mm de long n'est que de 62 et non de 79 pour le cas précédent. Le cal, inexistant pour la plus faible teneur en BAP ( $5 \cdot 10^{-7}$  M) et pour le témoin atteint en moyenne  $32 \text{ mm}^3$  à  $1 \cdot 10^{-6}$  M et  $103 \text{ mm}^3$  à  $5 \cdot 10^{-6}$  M.

## B. Rhizogenèse

*-Effet de l'apport minéral et vitaminique dans le milieu d'induction sur l'expression racinaire (Tabl. 2)*

Après la transplantation sur le milieu d'expression racinaire, les explants de 2<sup>ème</sup> génération provenant du milieu d'induction " eau gélosée + ANA non enrichie en macroéléments et vitamines", où ils ont séjourné pendant 6 j, donnent leur première racine en 10 j. Après 30 j, le pourcentage de plants enracinés atteint 60% en moyenne; le nombre de racines par explant enraciné 1,7; la taille du rameau formé 10 mm. Le taux de multiplication de ces microboutures de deuxième génération, c'est à dire le nombre d'explants uninodaux bouturables (longueur  $\geq$  10 mm) obtenus sur le rameau formé à partir d'un explant uninodal enraciné de deuxième génération est de 1,5 en moyenne.

Lorsque le milieu d'induction a au contraire été enrichi en minéraux et en vitamines, l'apparition des racines après transplantation sur le milieu d'expression racinaire se fait en un temps beaucoup plus court : 5 j seulement. Cette première amélioration de l'expression racinaire est suivie de l'amélioration de tous les paramètres mesurés : en 30 j le pourcentage de plants enracinés atteint 100% (Fig. 2), le nombre de racines par explant enraciné est de 3,5, la taille du rameau formé est plus que triplée (34,5 mm) et le taux de multiplication lui même est plus que doublé (3,5 au lieu de 1,5).

*-Effet de la durée de passage dans le milieu d'induction sur l'expression racinaire (Tabl. 3)*

L'intérêt d'incorporer des éléments minéraux et vitaminiques au milieu d'induction déjà enrichi en ANA apparaît nettement dans l'expérience ci-dessus, avec une durée d'induction de 6 j. Au bout de ce délai tous les explants sont enracinés et 3 racines sont apparues en moyenne par explant. Cependant, la prolongation de 6 nouveaux jours de cette durée d'induction, passant de 6 à 12 jours, améliore le nombre moyen de racines formées, pour chaque microbouture de 133%. On note une amélioration du même ordre pour tous les paramètres consignés dans le tableau 3.

## Materiel adulte

Les conditions de propagation *in vitro* du matériel juvénile issu de graine ayant été défini dans les expériences précédentes, il convenait de déterminer si la multiplication *in vitro* de matériel végétal adulte, issu de rejets de pieds-mères âgés de 4 à 5 ans, cultivés en serre, était possible et dans quelles conditions. En effet, le végétal provenant de plantes adultes, même rajeunies par recépages constants, n'aura pas forcément le même comportement *in vitro* que les microboutures provenant de plantules issues de graines.

## A. Caulogénèse

Sur le milieu de culture MS mod. contenant zéatine ou BAP aux concentrations de  $1 \cdot 10^{-7}$  M,  $5 \cdot 10^{-7}$  M,  $1 \cdot 10^{-6}$  M ou zéro (Témoin), une seule tige se forme à partir du bourgeon axillaire; elle s'allonge pour produire plusieurs fragments bouturables (Fig. 4). La longueur maximale atteinte en 60 j par cette tige est plus importante pour la zéatine (29,2 mm) que pour la BAP (17,2 mm); pour le témoin sans cytokinine elle n'est que de 10,9 mm (Tabl. 4).

Pour les deux cytokinines les concentrations les plus efficaces ne sont pas les mêmes. En effet, par rapport au témoin la longueur de la tige formée en présence de zéatine s'accroît de 84% pour la concentration de  $1 \cdot 10^{-7}$  M, de 168% pour  $5 \cdot 10^{-7}$  M et seulement de 35% pour  $1 \cdot 10^{-6}$  M. Par contre, en présence de BAP, le seul accroissement significatif (+ 58%) est obtenu pour la concentration la plus élevée ( $1 \cdot 10^{-6}$  M).

Seules les tiges ayant atteint une longueur de 10 mm sont utiles pour l'obtention d'explants réellement bouturables. Si l'on considère le pourcentage d'explants ayant, en 60 j, développé un rameau axillaire bouturable, on retrouve le schéma précédent: les plus fortes concentrations de BAP et les faibles concentrations de zéatine fournissent les meilleurs résultats (Tabl. 4). Ces rameaux de longueur égale ou supérieure à 10 mm donnent chacun un ou plusieurs fragments bouturables. Le meilleur taux de multiplication est 3.3; il est obtenu avec la zéatine à la concentration de  $5 \cdot 10^{-7}$  M. Cette cytokinine donne aux concentrations utilisées des taux de multiplication supérieures à ceux obtenus avec la BAP, pour laquelle le meilleur résultat est de 2.2 à la concentration de  $1 \cdot 10^{-6}$  M.

## B. Enracinement

Tous les explants, après un traitement inducteur de la rhizogénèse par un séjour de 12 jours dans le milieu de JN mod. à forte concentration d'auxine ( $5 \cdot 10^{-5}$  M) ont donné des racines. On note un bon développement de leur rameau axillaire, au bout de 60 j (Fig. 5).

Dans nos conditions expérimentales, il apparaît clairement qu'il est possible d'obtenir des microboutures de deuxième génération à la fois enracinées et ayant développé un rameau vigoureux (Fig. 5) produisant en moyenne 4 microboutures.

## DISCUSSION ET CONCLUSION

### *Développement caulogène*

En règle générale, les cytokinines sont indispensables pour le débourrement, la multiplication des pousses et leur croissance (Skoog et Miller, 1957). Parmi les cytokinines, c'est, sans doute, la BAP qui est la plus utilisée chez la plupart des espèces ligneuses comme *Acacia koa* (Skolmen et Mapes, 1976), *Sequoia sempervirens* (Boulay, 1980), *Ceratonia siliqua* (Thomas et Metha, 1983), *Acacia albida* (Duhoux et Davies, 1985), *Leucaena leucocephala* (Dhawan et Bhojwani, 1985), *Casuarina equisetifolia* (Duhoux et al., 1986) ou *Quercus robur* (Chalupa, 1988). La zéatine, substance naturelle, très peu signalée dans la littérature, stimule la croissance des tiges des microboutures notamment chez *Olea europea* (Cañas, 1988) et induit le développement des bourgeons axillaires d'apex de certains pommiers (Elliot, 1971).

En ce qui concerne *Acacia senegal*, la BAP s'est montrée moins efficace

que la zéatine pour le débourrement des bourgeons et le croissance des rameaux formés. La zéatine, utilisée à faible dose ( $5 \cdot 10^{-7}$  M), a permis un meilleur développement des rameaux produits. Ce n'est pas le cas pour le peuplier hybride TT 32, chez lequel on observe une prolifération de bourgeons adventifs sur les tiges avec l'augmentation de la concentration en zéatine dans le milieu (Douglas, 1985).

Le mode de bourgeonnement -couramment décrit dans la littérature se rapporte surtout à la prolifération des pousses en présence de cytokinines (Al Kai et al. 1984; Barghchi, 1987; Mittal et al. 1989). Cela n'est pas observé sur *Acacia senegal* dans les conditions de notre expérience. A partir du bourgeon axillaire, une seule tige parvient à s'allonger pour produire plusieurs fragments bouturables. Ce mode de propagation a permis d'atteindre à partir d'explants aussi bien de plantules que de jeunes rejets de pieds-mer-es âgés de 4 ou 5 ans, un coefficient moyen de multiplication égal à 3 ou 4, relativement comparable à celui obtenu chez *Prosopis juliflora* (Goyal et Arya, 1984) et *Pterocarpus santalinus* (Patri et al., 1988).

#### Enracinement et acclimatation

En soumettant les microboutures d'*Acacia senegal* à un traitement inductif de courte durée, nous leur avons assuré un taux maximal d'enracinement de 100%. Le transfert des pousses dans le milieu dépourvu de phytohormone a permis un développement vigoureux des racines. D'autres auteurs, en procédant à la séparation des processus de rhizogenèse en différentes phases, sont arrivés à des constatations analogues. C'est le cas pour Depommier (1981) sur *Eucalyptus sp.*, Amerson et Mott (1982) sur *Pinus monticola*, Basbaa (1991) sur *Gleditsia triacanthos*

Chez *Acacia senegal*, les racines, dans la phase d'induction et d'initiation, développées à partir d'un cal rhizogène, semblable à celui décrit par Skolmen et Mapes (1978) sur *Acacia koa*, apparaissent deux fois plus tôt lorsque le milieu contient des éléments minéraux; ce qui dénote l'importance de ceux-ci dans cette étape. Au cours de la phase d'élongation des racines, nous avons constaté que la qualité de l'enracinement avait une influence considérable sur le développement caulogène des explants. En effet, les rameaux portés par les explants enracinés se sont développés beaucoup mieux que ceux obtenus sur des explants très peu enracinés ou pas du tout. L'élongation des rameaux réalisée en même temps que l'enracinement, au cours de cette étape en l'absence de phytohormone (Fig. 5), offre sans aucun doute l'avantage de poursuivre la multiplication *in vitro* de l'*Acacia senegal*, tout comme chez *Gleditsia triacanthos* (Basbaa, 1991).

L'acclimatation des plants enracinés effectuée sans difficulté en serre, (Fig. 6 et 7) indique la fiabilité de la technique de la multiplication végétative *in vitro* appliquée à l'espèce étudiée.

Les résultats obtenus sur matériel juvénile et adulte nous montre que la propagation en masse de l'*Acacia senegal*, essence à fonctions multiples, productrice de gomme arabique, peut être assurée par cette méthode

#### Remerciements

Ce travail a été réalisé grâce au support financier de la Société "Colloïdes Naturels International" (C. N. I.) de Rouen Les auteurs remercient Madame J Bernard pour son assistance technique.

## REFERENCES

- Al Kai H, Salesses G, Mouras A (1984) *Agronomie* 4 (4): 399-402
- Amerson HV, Mott RL (1982) *Forest Sci.* 28: 822-825
- Badji S, Ndiaye I, Danthu P, Colonna JP (1991) *Agroforestry Systems* 14: 183-191
- Barghchi M (1987) *Plant Science* 53: 183-189
- Basbaa A (1991) Thèse Doct. Univ. Aix-Marseille III
- Bonga JM (1982) In: *Tissue Culture in Forestry*. JM Bonga, DJ Durzan (ed) Martinus Nijhoff / DW Junk Publishers, The Hague pp 387-412
- Boulay M, (1980) *Annales Afocel* 1979: 49-56
- Cañas LH (1988) *Bull. Soc. Bot. Fr.* 135: 263-277
- C.C.I. (Centre du Commerce International), CNUCED-GATT (1978) *Le marché de la gomme arabique*. CNUCED (ed), Genève
- Chalupa V (1988) *Biologia Plantarum (Praha)* 30 (6): 414-421
- Danthu P, Leblanc JM, Badji S, Colonna JP (1992) *Agroforestry Systems* 19: 15-25
- Danthu P, Roussel J, Dia M, Sarr A (1992) In press. *Seed Sci. & Technol.* 20
- Depommier D (1981) In: *Colloque international sur la culture in vitro des essences forestières*. IUFRO-AFOCEL, Fontainebleau France, pp 127-132
- Dhawan V, Bhojwani SS (1985) *Plant Cell Reports* 4: 315-318
- Douglas GG (1985) *J. Plant Physiol.* 121: 225-231
- Duhoux E, Davis D (1985) *J. Plant Physiol.* 121: 175-180
- Duhoux E, Sougoufara B, Dommergues Y (1986) *Plant Cell Reports* 3: 161-164
- Duncan DB (1955) *Biometrics* 11: 1-42
- Elliot RF (1971) *N. Z. J. Bot.* 10: 254-258
- Franclat A, Boulay M, Bekkaoui F, Fouret Y, Verschoore-Martouzet B, Walker N (1987) In: *Rejuvenation in Cell and Tissue Culture in Forestry*. Vol. 1
- Gassama YK, Duhoux E (1990) *Bulletin de l'IFAN C. A. D. série A*, t. 47
- Giffard PL (1966) *Bois et Forêts des Tropiques* 105: 21-31
- Goyal Y, Arya HC (1984) *Indian J. Exp. Biol.* 22: 592-595
- Gupta PK, Nagir AL, Mascarenhas AF, Jagannathan V (1980) *Plant Sci. Lett.* 17: 259-268
- Laliberté S, Lalonde M (1988) *Amer. J. Bot.* 75: 767-777
- Mittal A, Agarwal R, Gupta SC (1989) *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 19: 65-70
- Murashige T, Skoog F (1962) *Physiol. Plant.* 15: 473-493
- Murashige T (1974) *Ann. Rev. Plant Physiol.* 25: 135-166
- Patri S, Bhatnagar SP, Bhojwani SS (1988) *Phytomorphology* 38: 41-45
- Skolman RG, Mapes M (1976) *J. Hered.* 67: 114-115
- Skolman RG, Mapes M (1978) *Proc. Intern. Plant prop. Soc.* 28: 156-164
- Skoog F, Miller CO (1957) *Symp. Soc. Exp. Biol.* 11: 118-130
- Thomas V, Metha AR (1983) *Basic Life Sciences* 22: 451-457
- Vogt GF, Palma B (1991) *Phyton (Horn, Austria)* 31(1): 97-109
- Von Maydell HJ (1983) *Arbres et arbustes du Sahel: leurs caractéristiques et leurs utilisations*. GTZ. Eschborn

Tableau 1 : Influence des concentrations de zéatine et BAP sur le développement des microboutures de 1ère génération provenant de plantules issues de semis in vitro d'Acacia senegal au bout de 60 jours.

Zéatine (Conc. mol.l-1)	BAP	Hauteur moyenne du rameau formé à partir du bourgeon de la microbouture (mm)	Nombre de noeuds	Explants portant un rameau développé de plus de 10 mm (%)	Explants portant un cal basal (%)	Volume du cal basal produit (mm <sup>3</sup> )	Taux de multiplication (T M)*
0	0	9,75 ± 3,60 b	2,08 a	45,83	0,00	0,00 e	1,36 ± 0,42
5.10-7	0	35,62±12,85 a	4,25 a	79,16	91,66	566,08 a	3,00 ± 0,82
1.10-6	0	18,87 ± 8,09 b	3,00 a	58,33	100,00	116,46 c	2,21 ± 0,77
5.10-6	0	15,54 ± 5,88 b	3,16 a	50,00	100,00	263,62 b	1,41 ± 0,75
0	5.10-7	12,04 ± 6,18 b	2,04 a	45,83	0,00	0,00 e	1,90 ± 0,78
0	1.10-7	11,70 ± 2,40 b	2,71 a	58,33	100,00	32,62 d	1,21 ± 0,21
0	5.10-6	15,54 ± 5,88 b	3,16 a	50,00	100,00	263,62 b	1,41 ± 0,75

\* Taux de multiplication (TM) = Nombre d'explants uninodaux bouturables de 10 mm ou plus par microbouture primaire ayant développé un bourgeon égal ou supérieur à 10 mm.

Les erreurs standards ont été calculées au seuil de 5% (test de "T").

Dans chaque colonne, les valeurs suivies d'une même lettre ne sont pas significativement différentes à p = 0,05 d'après le test de DUNCAN (1955)

Tableau 2. Influence du milieu minéral sur la rhizogenèse, 30 jours après repiquage et sur la caulogenèse, 60 jours après repiquage sur milieu d'élongation racinaire (sans ANA).

Milieu induction	Cinétique 1 <sup>o</sup> racine	Plants enracinés (%)	Nombre de racines/explants enracinés	Taille du rameau (mm)	T M *
JOR/2 + ANA**	5 j	100,00	3,5 ± 0,8	34,5 ± 5,6	3,5 ± 0,3
EAU + ANA	10 j	60,00	1,7 ± 0,2	10,0 ± 3,3	1,5 ± 0,4

\* TM (Taux de multiplication) = nombre d'explants uninodaux bouturables de 10 mm ou plus par microbouture primaire ayant développé un bourgeon égal ou supérieur à 10 mm.

\*\* L'ANA est utilisée à la concentration de 5.10<sup>-5</sup> M.

JOR/2 = Milieu de JORDAN dont la solution minérale est diluée de moitié.

Les valeurs sont établies à partir de 24 microboutures de chaque lot.

Les erreurs standards ont été calculées au seuil de 5% (test de "T").

Tableau 3. Influence de la durée du séjour sur milieu d'induction avec auxine sur la rhizogenèse, après 30 jours sur milieu d'élongation.

Durée induction	Milieu	Plants enracinés (%)	Diamètre des racines*	Nombre de racines par explants
6 jours	JOR/2 + ANA**	100,00	+ +	3,0 ± 0,76
	EAU + ANA	50,00	+	1,5 ± 0,23
12 jours	JOR/2 + ANA	100,00	+ + +	4,0 ± 0,81
	EAU + ANA	66,00	+ +	2,0 ± 0,27

\* Le diamètre des racines est estimé à l'œil nu : (+) racines fines, (+ +) racines moyennes, (+ + +) racines grosses.

\*\* L'ANA est utilisée à la concentration de 5.10<sup>-5</sup> M.

JOR/2 = Milieu de JORDAN dont la solution minérale est diluée de moitié.

Les erreurs standards ont été calculées au seuil de 5% (test de "T").

Tableau 4 . Influence, après 60 jours de culture in vitro, des concentrations de zéatine et de BAP sur le développement des microboutures prélevées sur des plantes-mères recépées d *Acacia senegal* âgées de 4 ans.

Zéatine ( Conc. mol. l-l )	BAP	Nombre de survivants	Hauteur du rameau formé issu de bourgeon (mm)	Explants ayant développé un rameau égal ou supé- rieur à 10 mm* (%)	Taux de multiplication ( TM)**
0	0	10/24	10.90 ± 4,18	38.88	1.14 ± 0.31
1 10-7	0	17/24	20,10 ± 9,22	47.05	1.87 ± 0.81
5 10-7	0	17/24	29,20 ± 4.78	41.17	3.28 ± 1,02
1 10-6	0	22/24	14,70 ± 8,48	27.27	2.33 ± 0.54
0	1 10-7	19/24	11.92 ± 8,34	3 1.57	1.50 ± 1,27
0	5 10-7	12/24	10.18 ± 5.77	41,66	1,40 ± 0,64
0	1 . 10-6	16/24	17,25 ± 7,76	50,00	2.12 ± 0.52

\* Rapporte au nombre de survivants,

\*\* Taux de multiplication (TM) = nombre d'explants uninodaux bouturables de 10 mm ou plus, par microbouture.  
Chaque valeur représente la moyenne pour 24 individus.  
Les intervalles de confiance ont été calculé au seuil de 5% (test de "T").

