

PREMIERS RESULTATS DE MULTIPLICATION VEGETATIVE CHEZ LE GENRE PINUS

par M^{me} F. MONDEIL *

Devant l'intérêt suscité par les questions de génétique, de multiplication végétative et d'Amélioration des Arbres Forestiers, nous avons cru bon de rassembler dans un même programme tous les sujets traitant de ces problèmes.

Dans un premier point, nous nous sommes fixés pour but de déterminer la nature du traitement qui favoriserait le maximum d'enracinement, la période la plus favorable à l'enracinement et par conséquent de suivre en parallèle l'accroissement phénologique des deux espèces de pin cultivés à Madagascar.

Intérêt de la reproduction végétative des arbres forestiers

Il me semble inutile d'insister sur ce point, l'intérêt d'obtenir des clones parfaitement fixés provenant d'arbres présentant les plus grandes qualités morphologiques et physiologiques, est évident. Outre qu'il permettrait la multiplication rapide des meilleurs sujets des espèces présentant de grandes variations individuelles, il apporterait une solution au problème de la descendance des hybrides instables en fixant immédiatement par la multiplication végétative les caractères fugaces de la première génération d'hybrides. L'opération délicate de l'hybridation ne pouvant porter que sur un nombre d'individus restreints, les produits pourraient être multipliés, dès les premières années de leur vie, à un très grand nombre d'exemplaires. En somme, on a un gain de temps considérable dans la propagation des meilleurs produits de la sélection et de l'hybridation.

L'intérêt que nous avons porté à cette technique se justifie pour deux raisons : exploités pour la pâte à papier par excellence, les résineux sont également très utilisés en reforestation dans une optique de protection des bassins versants. Plantés dans des conditions marginales très peu

* Docteur Ingénieur. Chef de la division Génétique Forestière. DRFP AMBATOBE.

114 PREMIERS RESULTATS DE MULTIPLICATION VEGETATIVE CHEZ LE GENRE PINUS

arrivent à donner de beaux arbres. Le bouturage, s'il réussit serait d'un précieux secours, en permettant une multiplication rapide des individus ou des espèces, hybrides ou non, les plus adaptés à la région.

L'autre raison est que les résineux subissent des attaques fréquentes et graves de maladies cryptogamiques dont la propagation est facilitée par la chaleur et les pluies. Là encore, la reproduction végétative serait d'un précieux secours, en permettant une multiplication rapide des individus ou des espèces, hybrides ou non, les plus résistants.

Il existe deux procédés principaux de multiplications végétatives utilisés en horticulture et en arboriculture fruitière : le greffage et le bouturage.

Le premier procédé a fait l'objet de recherches effectuées en 1973 par R. HUEBER, au Département des Recherches Forestières et Piscicoles d'Ambatobe (Tananarive). Ses expériences sur le genre *Pinus* effectuées à la station du Mangoro ont réussi. Mais la crainte que les réactions mal connues du greffon et du porte-greffe ne compromettent l'avenir des arbres ne nous a pas encore incité à créer des peuplements forestiers composés d'arbres greffés. Nous avons en effet noté un certain nombre de rejets sur ces greffes.

Si cette technique est maintenue, c'est avant tout pour nous permettre d'effectuer des observations qui pourraient être intéressantes du point de vue scientifique. D'autre part, il faut noter la faculté qu'ont les arbres greffés de fructifier beaucoup plus tôt que les sujets francs de pieds. Nous n'insisterons pas sur les avantages multiples qu'offre cette propriété, tant pour le sélectionneur que pour l'hybrideur.

Dans notre cas, nous avons plutôt porté nos efforts sur les possibilités du bouturage. Si les expériences sur le bouturage de jeunes pousses d'arbres forestiers sont beaucoup moins avancées que sur le greffage, ce procédé semble devoir prendre dans l'avenir un développement pratique beaucoup plus étendu. On pourra envisager de constituer des peuplements forestiers avec des boutures.

Notons que notre étude a été démarrée à la mi-octobre 1976.

Matériel :

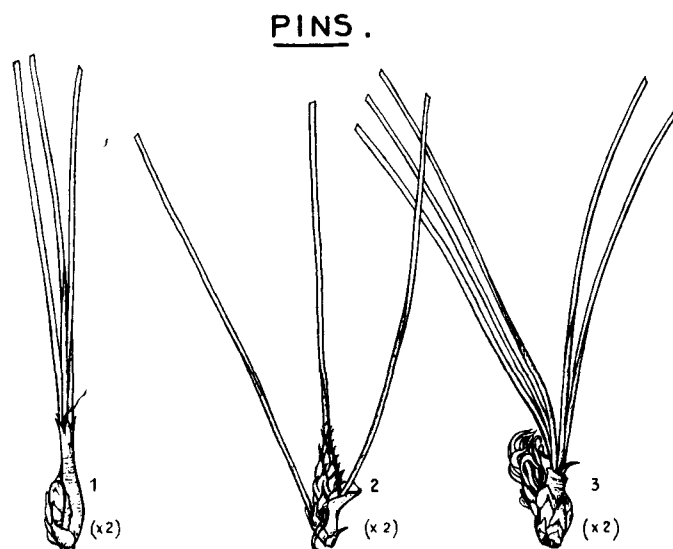
Le matériel végétal est constitué par le *Pinus kesiya* et le *Pinus caribæa*. Nous avons choisi ces deux espèces pour leur adaptation et leur rapidité de croissance dans notre station d'Ambatobe.

Les expériences sont réalisées dans une serre-abri et ont démarré au mois d'Octobre 1976. La serre ne dispose d'aucun moyen de contrôle de la température et les boutures sont alors soumises aux fluctuations des

conditions météorologiques ambiantes, compte-tenu d'un effet-serre. La figure 1 indique ces variations de température sous serre au cours de l'année 1977. La serre-abri dispose toutefois d'un système d'aération permettant de ventiler l'ensemble de l'enceinte. Trois rampes d'arrosage équipées de diffuseurs-arroseurs sont suspendues au-dessus des tables de bouturage.

Préparation des boutures

Les boutures sont des brachyblastes (rameaux courts portant des aiguilles). Il s'agit au préalable de favoriser le débourrement du bourgeon situé à l'aisselle des aiguilles de brachyblastes. Pour cela, nous avons sectionné les bourgeons terminaux des rameaux secondaires, situés au niveau des deuxième et troisième verticilles comptés à partir de la base de l'arbre. Le développement des bourgeons s'échelonne dans le temps et suivant leur position par rapport à la section du rameau secondaire. Il s'obtient généralement sur les brachyblastes situés dans les 10 premiers centimètres au-dessous de la section. Le débourrement se manifeste environ 1 mois après l'induction. Après chaque récolte le rameau secondaire dénudé est de nouveau sectionné et le débourrement reprend plus ou moins rapidement suivant les saisons.



Bourgeons de brachyblastes .

On peut ainsi observer plusieurs stades de débourrement, allant du bourgeon à peine gonflé à la base des aiguilles, au bourgeon éclos avec ses premières feuilles.

Suivant le rythme d'accroissement des bourgeons, on distingue 2 types de boutures :

— les boutures où la croissance du méristème terminal est très rapide; elles se présentent en chandelles et ne portent que des feuilles en écailles ; [voir schéma I (2)]

— les boutures où la croissance du méristème terminal est lente ; elles se présentent sous l'aspect d'un très court rameau avec des feuilles vertes. (ou euphylls). [voir schéma I (3)].

D'une manière générale, ces deux types de brachyblastes sont récoltés lorsque le bourgeon est prêt à débouurer jusqu'au stade du bourgeon entièrement éclos, et expérimentés en bouturage.

Sitôt après la récolte, les boutures sont mises à tremper dans de l'eau courante et conservées entre 4° C et 6° C pendant une semaine. Cette conservation a pour but de favoriser l'exsudation de la résine qui semble défavorable à la rhizogénèse.

Au terme de ce conditionnement, nos boutures subissent, au laboratoire, un traitement hormonal : diverses concentrations d'Exubérone liquide sont appliquées sur la base des boutures pendant 48 heures et toujours au froid. Elles subissent alors l'ablation des aiguilles sur une hauteur de 5 centimètres au-dessus du bourgeon débouuré.

La bouture ainsi préparée est mise en place dans le substrat de bouturage.

Le substrat :

Le substrat est très simple : il est constitué de sable blanc d'Ampasimpotsy employé soit seul, soit additionné de parche de café. Lorsqu'il est employé seul, il est utilisé sous 2 formes tamisées :

- le sable grossier (diamètre compris entre 1 et 3 mm)
- le sable fin (diamètre inférieur à 1 mm).

Lorsqu' il est utilisé avec le parche de café, celui-ci est ajouté au sable fin dans les proportions suivantes :

- 1 volume de sable pour 1 volume de parche (1/1)
- 1 volume de sable pour 2 volumes de parche (1/2)
- 1 volume de sable pour 3 volumes de parche (1/3)

quelle que soit la composition du substrat, il est préalablement lavé, séché, stérilisé à l'étuve pendant 24 heures. La veille du repiquage des boutures il est mis en pot et abondamment arrosé d'eau courante. Au moment de l'emploi, il est humidifié par un nébulisateur manuel.

L'apport d'eau par les diffuseurs automatiques est assuré pendant 9 heures au rythme d'un arrosage pendant 3 secondes 8/10 toutes les 3 minutes ; ce temps est fractionné en 2 arrosages de 4 heures puis 5 heures avec une heure de repos.

Le contrôle des expériences :

Les expériences mises en place sont suivies tout au long d'une année. Au cours de cette période, les boutures sont soumises à 4 ou 5 comptages. Le premier intervient 4 mois après la mise en place, et les suivants, tous les 2 mois. Au cours de chaque observation, les boutures sont classées en 3 catégories :

— boutures enracinées : la base des boutures présente une racine nettement développée, quelle qu'en soit sa longueur ;

— boutures vivantes : la bouture présente des aiguilles et un bourgeon encore vert ; elle est vigoureuse et peut présenter un cal à base ;

— boutures mortes : les bourgeons brunissent et meurent ; les aiguilles brunissent également et se dessèchent.

Après chaque observation, les boutures enracinées sont repiquées dans des pots contenant de la terre à pin ; elles y séjournent jusqu'à ce qu'elles atteignent en moyenne 10 centimètres de hauteur, et sont ensuite repiquées en terre. Les boutures vivantes sont replacées dans le substrat initial et les boutures mortes sont éliminées.

L'analyse phénologique

Pour définir le cycle végétatif des deux espèces de *Pinus* testées en bouturage, des observations phénologiques sont effectuées tous les 10 jours tout au long de l'année.

Ces observations ont porté principalement sur la croissance en hauteur, le développement du bourgeon terminal, et des aiguilles de ce méristème. Pour éviter un trop grand nombre d'observations sur le terrain et une masse de chiffres trop importante au dépouillement, nous avons effectué nos mesures sur 5 arbres de chaque espèce.

Résultats expérimentaux

A. OBSERVATIONS PHENOLOGIQUES

Les résultats relatifs aux observations phénologiques sont donnés dans les figures 2 et 3. Si les deux espèces de pin montrent un accroissement rythmique, la croissance annuelle du *Pinus caribæa* est nettement supérieure à celle du *Pinus kesiya*.

L'étude de cet accroissement rythmique est observée sur les méristèmes terminales de l'axe orthotrope et des axes plagiotropes. Au moment du débourrement, le méristème manifeste un allongement très rapide. Il est entouré de feuilles brunes en écailles. Lorsque cet allongement apical ralentit, les bourgeons axillaires situés à l'aisselle des écailles donnent naissance à des brachyblastes, rameaux très courts porteurs de pseudophylles (ou aiguilles), dont la longueur n'excède pas encore 3 centimètres. Leur développement s'accélère pour atteindre en moyenne 20 centimètres, lorsque le méristème terminal a arrêté sa croissance. Il s'ensuit un repos végétatif plus ou moins long suivant l'espèce : il est nettement plus marqué chez le *Pinus caribæa*. Ensuite le méristème apical reprend sa croissance active jusqu'à un nouveau repos végétatif.

En superposant les figures 1, 2 et 3, nous observons que le plus grand allongement des pins sur les Hauts-Plateaux Malgaches a lieu essentiellement au cours du premier semestre, lorsque la température mensuelle est en baisse et que les jours raccourcissent (été austral). Au cours de l'hiver austral, il n'y a pas d'arrêt de végétation. L'accroissement est seulement ralenti et l'allongement moins prononcé.

B. OBSERVATIONS DE LA RHIZOGENESE

Dans les tableaux I et II qui indiquent respectivement le comportement des boutures et le taux d'enracinement après 4 mois d'expérience, nous voyons que :

— le *Pinus caribæa* manifeste une plus grande facilité de rhizogénèse par rapport au *Pinus kesiya*.

— la période la plus favorable à l'enracinement se situe au cours du premier semestre. Si le mois de février apparaît comme étant la meilleure époque pour effectuer le bouturage chez les deux espèces de pin, c'est au cours de cette même période que le taux de mortalité est le plus fort ; la moyenne de la température relativement élevée de ce mois, au cours de cette année, peut être considérée comme responsable du dessèchement des jeunes boutures.

— l'apport de parche de café semble avoir un effet favorable à la rhizogénèse. En revanche, l'exubérone ne paraît pas être le véritable responsable d'une initiation racinaire : en effet, les lots témoins n'ayant reçu aucun traitement par cette hormone manifestent quelque aptitude à l'enracinement.

Lorsque nous suivons la destinée des boutures ayant initié un cal basal, nous nous apercevons qu'elles ne parviennent jamais à former une racine. Elles restent très longtemps vertes ; parfois leur méristème apical se développe de quelques millimètres (5 à 12 mm) mais à partir de ce moment, elles flétrissent rapidement.

Au cours de la mise en place des expériences, nous n'avons fait aucune différence entre les boutures « en chandelle », très allongée et porteuses de feuilles en écailles, et les boutures « feuillées ». En contrôlant nos expériences, nous sommes en mesure d'affirmer que les « chandelles » sont inaptes au bouturage. Trop gorgées d'eau, elles sont fragiles : elles se dessèchent très vite, brunissent et meurent au bout de 15 jours.

Les boutures feuillées, plus vigoureuses et plus petites, restent vertes plus longtemps (5 à 6 mois), sont moins fragiles. C'est parmi elles que nous avons dénombré toutes nos boutures porteuses de calcs ou de racines.

En faisant une observation plus poussée, nous avons constaté que les boutures où les feuilles primaires commençaient à sortir du bourgeon et étaient donc encore recroquevillées, manifestaient une bonne facilité à l'enracinement.

Deux cas particuliers doivent être signalés :

— le premier : il s'agit d'un brachyblasté à peine induit qui après avoir formé une racine pivotante a initié directement quelques aiguilles. Lorsque le méristème terminal a débouffé, son rythme d'accroissement était très lent et il ne suivait pas la phénoménologie normale des pins. Les aiguilles s'allongeaient presque en même temps que le méristème apical et avec une vitesse bien plus rapide que le rythme moyen normal.

— Le second : il s'agit d'une bouture feuillée qui, après 3 mois d'expérience, avait déjà débouffé. Quelques brachyblastes portaient des aiguilles de 3 centimètres. Lorsque le contrôle est intervenu au quatrième mois, la bouture était vigoureuse mais ne présentait que de faibles racines traçantes. Repiquée en terre à pin, elle a conservé sa vigueur. Nous avons voulu vérifier l'état de ses racines, mais elle était fortement ancrée au

120 PREMIERS RESULTATS DE MULTIPLICATION VEGETATIVE CHEZ LE GENRE PINUS

sol. Il semblerait qu'une racine pivotante, plus puissante que les premières formées, se soit développée pour assurer la croissance de notre bouture.

C. ETAT ACTUEL DES BOUTURES ENRACINEES.

Transplantées dans de la terre à pin (voir composition en annexe) les boutures se développent rapidement. Quelques pieds témoins issus de graines ont été semés au mois de Juillet de l'année où les boutures ont été mises en place sur leur substrat. En Mars de l'année suivante, les boutures repiquées et les plantes témoins avaient en moyenne la même taille. Leur allure générale était identique. Il semblerait donc que le comportement des boutures ne diffère en rien de celui des plantes issues de graines, du moins au cours de ce premier stade. Les six mois de délai que nécessitent les boutures pour former leurs racines ne constituent pas un handicap ou un retard, mais au contraire un gain de temps considérable si l'on tient compte de la possibilité de propager les meilleurs arbres pour en faire un verger de clones.

CONCLUSION

Dans cette première étude nous voyons qu'il existe deux voies importantes dans l'orientation des boutures de brachyblastes : la formation de cal ou celle de racine. Il serait utile de savoir ce qui détermine le choix vers l'une ou l'autre de ces deux voies, afin d'orienter systématiquement la bouture vers la rhizogénèse.

Puisque les boutures en chandelle constituent un mauvais matériel, plusieurs inductions sur les verticilles des arbres mères sont faites pour nous indiquer le meilleur moment pour tailler les arbres qui orienteront les boutures vers l'aspect « feuillé ».

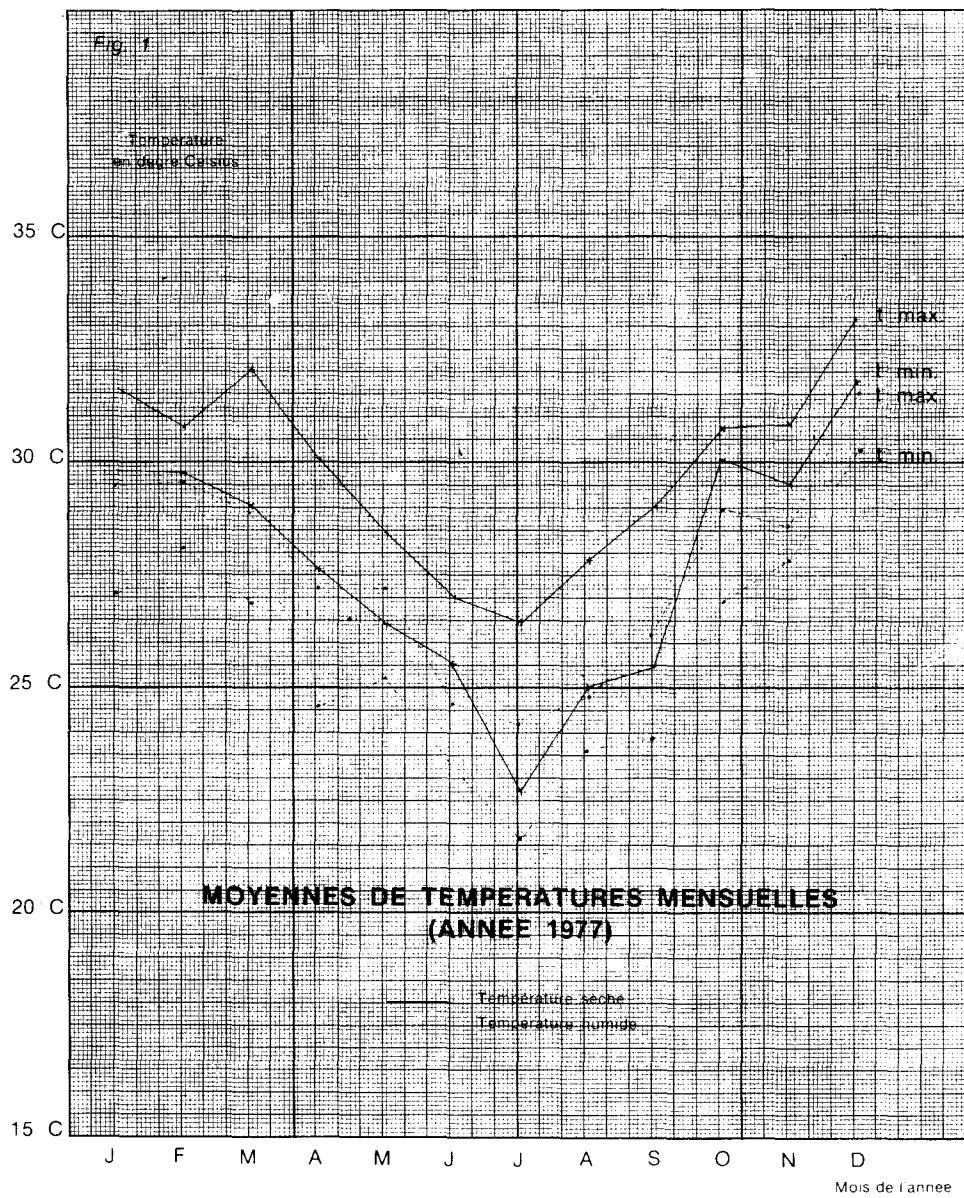
L'apport de parche semble réellement bénéfique à l'enracinement des boutures : la meilleure proportion est de 2 volumes de parche pour 1 volume de sable fin.

Le *Pinus caribæa* s'avère plus apte au bouturage que le *Pinus kesiya* et donne davantage de boutures feuillées.

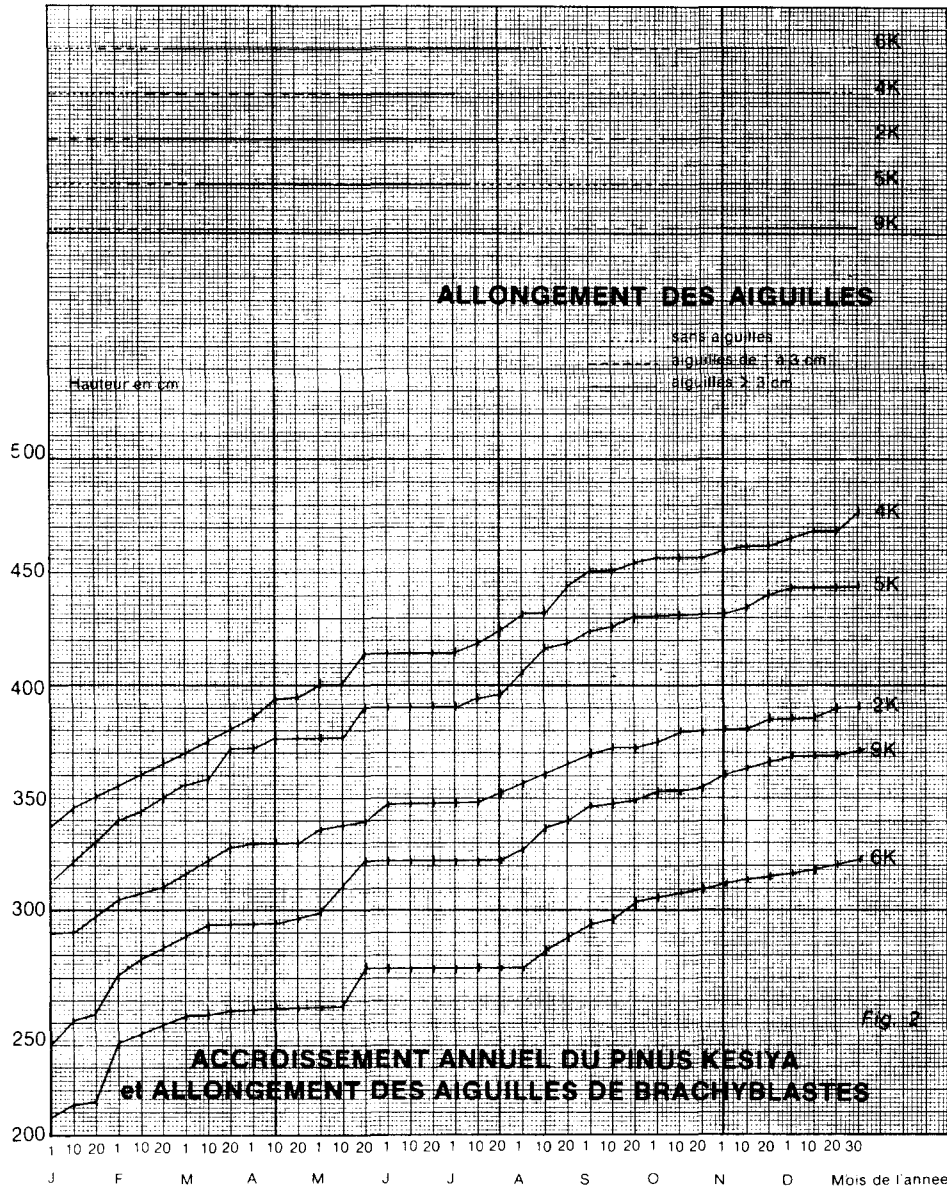
La meilleure période pour effectuer la mise en place des boutures se situe au moment de la montée de sève c'est-à-dire lorsque le bourgeon terminal de l'axe orthotrope présente son plus fort taux d'accroissement, et lorsque la température annuelle est en baisse, sans être trop basse (aux environs de 25° C). A cette époque, nous avons moins d'infection, moins de flétrissement, moins de dessèchement.

BIBLIOGRAPHIE

- BOULAY M., LAFFRAY D., MELIN Ch. 1974 : Recherches préliminaires sur la culture « in vitro » de bourgeons de douglas — *Pseudotsuga menziensis*.
(Mirb) Franco — AFOCEL 1974, p. 47-55.
- BOULAY M., 1976 : Recherches sur la propagation du douglas par culture « in vitro » — AFOCEL 1976, p. 84-144.
- BOUVAREL, 1949 : Aperçu sur les problèmes du bouturage en matière forestière — *Revue forestière française* 1949, p. 214-238.
- DAVID R. 1949 : « Réalisation du bouturage du pin maritime ».
C.R. AC. SC., t-228 - p. 1045.
- DAVID R. 1953 : « Un nouveau procédé de multiplication végétative du pin maritime ».
C.R. AC. SC. 9 Novembre 1953 - p. 1175.
- DAVID R. 1965 : « Nouvelle contribution à l'étude de la rhizogénèse chez le pin maritime ».
Bull. de la Soc. Botanique de France, t. 112, N° 3-4.
- HERMANN L. et THIBAUT B., 1971 : Essais de bouturage ligneux de la variété Williams (*Pyrus communis* L.) — *Ann. Amél. Pites*, 1971 - 21 (4), p. 423-443.
- ROL R., 1949 : Le bouturage du pin maritime - *Revue Forestière Française* 1949, p. 212-213.



MOYENNES DES TEMPERATURES MENSUELLES
(ANNEE 1977)



**ACCROISSEMENT ANNUEL DU PINUS KESIYA
et ALLONGEMENT DES AIGUILLES DE BRACHYBLASTES**

124 PREMIERS RESULTATS DE MULTIPLICATION VEGETATIVE CHEZ LE GENRE PINUS

TABLEAU I

Comportement respectif des boutures après 4 mois d'expérience

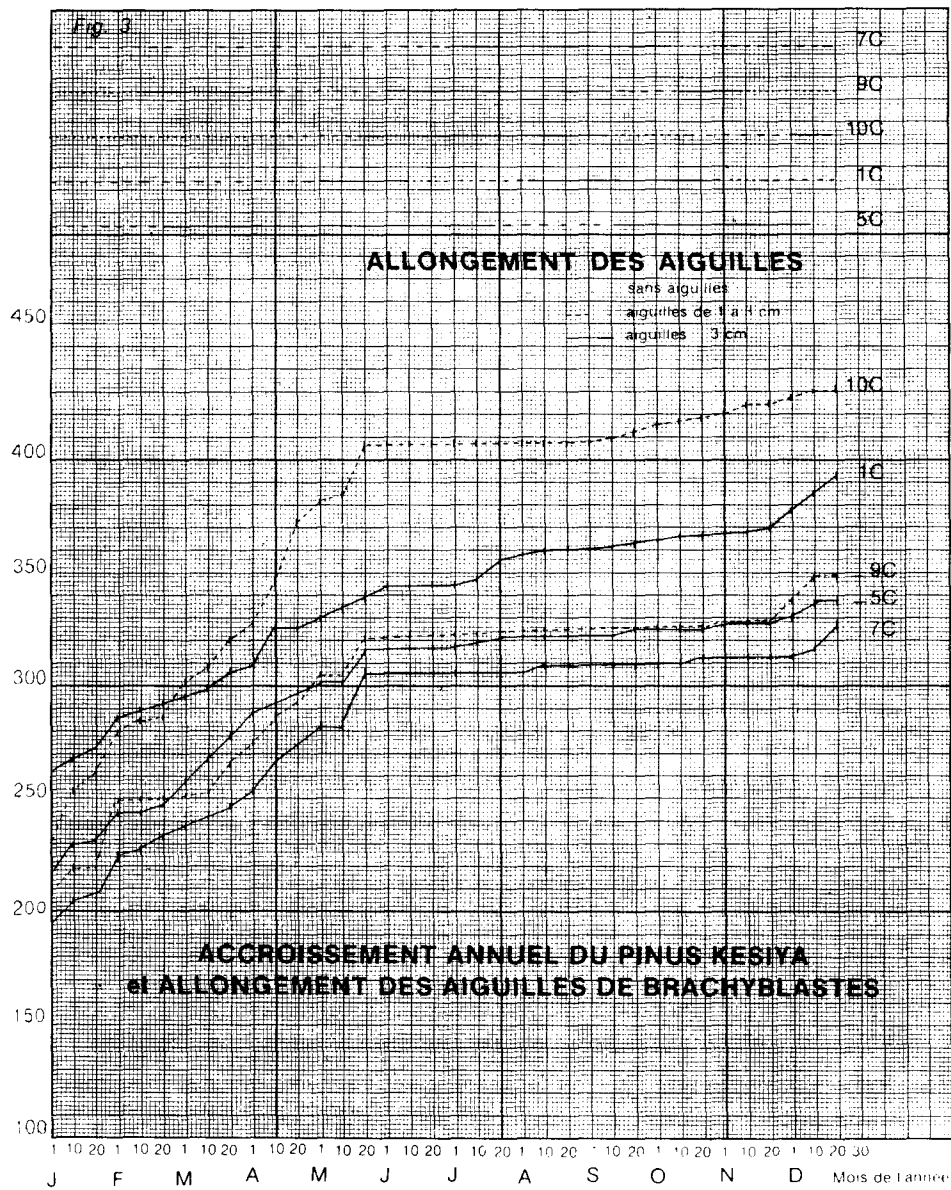
PINUS KESIYA

Date de mise en place	Nb. de boutures expérimentées	Boutures vivantes	Avec cal	Avec racines	Boutures mortes	% d'enracinement (par rapport aux boutures vivantes)
12/1	56	51	3	1	5	2 %
1/2	50	29	—	1	21	3,45
16/2	33	8	3	2	25	25
1/4	46	43	5	—	3	—
20/5	45	34	3	1	11	2,94
8/6	48	47	1	—	1	—
14/7	35	20	1	—	15	—
7/9	65	20	—	—	45	—
5/10	44	40	—	—	4	—
9/11	52	32	—	—	20	—
2/12	28	9	3	1	19	11
<i>PINUS CARIBÆA</i>						
12/1	37	28	—	1	9	3,57 %
1/2	33	16	3	2	17	12,5
16/2	39	13	—	5	26	38,46
1/4	38	34	—	2	4	5,80
20/5	15	10	3	—	5	—
8/6	20	15	1	3	5	20
14/7	30	23	1	2	7	8,6
7/9	20	2	—	—	18	—
5/10	30	10	—	—	20	—
9/11	32	23	—	—	9	—
2/12	52	31	—	—	21	—

TABLEAU II

Boutures enracinées après 4 mois d'expérience

Espèce	Nb. boutures vivantes	Traitement à l'exubérone					Total de boutures racinées
		0	10 ‰	15 ‰	20 ‰	25 ‰	
P. kesiya							
Dates :							
12/1	51	—	—	—	1	—	1
1/2	29	1	—	—	—	—	1
16/2	8	—	—	1	1	—	2
1/4	43	—	—	—	—	—	—
20/5	34	1	—	—	—	—	1
8/6	47	—	—	—	—	—	—
14/7	20	—	—	—	—	—	—
7/9	20	—	—	—	—	—	—
5/10	40	—	—	—	—	—	—
9/11	32	—	—	—	—	—	—
2/12	9	1	—	—	—	—	1
P. caribæa							
12/1	28	—	—	—	1	—	1
1/2	16	1	1	—	—	—	2
16/2	13	2	—	1	1	1	5
1/4	34	1	1	—	—	—	2
20/5	10	—	—	—	—	—	—
8/6	15	1	—	—	2	—	3
14/7	23	1	—	—	—	1	2
7/9	2	—	—	—	—	—	—
5/10	10	—	—	—	—	—	—
9/11	23	—	—	—	—	—	—
2/12	31	—	—	—	—	—	—



**ACCROISSEMENT ANNUEL DU PINUS CARIBÆA
 et ALLONGEMENT DES AIGUILLES DE BRACHYBLASTES**

ANNEXE

Composition de la terre à pin

Deux compositions différentes, toutes les deux se révélant satisfaisantes.

1ère composition :

- 3 volumes de terre à pin
- 3 volumes de terre rouge
- 1 1/2 volume de terreau
- 1 volume de sable.

2ème composition :

- 1 volume de terre à pin
- 1 volume de terre rouge
- 1 volume de terreau
- 1 volume de sable.