

# Potentialités de régénération par graines, de multiplication *in vitro* et cinétique de croissance juvénile des plants de *Milicia excelsa* (Welw.) C. C. Berg (Moraceae)

Membassolim SOGO <sup>(1)</sup>\*, Kodjo Djidjolé ETSE <sup>(2)</sup>, Essozima ALIAKI <sup>(2)</sup>, Oyétoundé DJIWA <sup>(1)</sup>, Hodabalo KAMOU <sup>(1)</sup>, Pondikpa NADJOMBE <sup>(1)</sup> et Kudzo Atsu GUELLY <sup>(1)</sup>

## Résumé

L'explosion démographique a accentué les pressions sur les ressources forestières naturelles entraînant leur dégradation voire leur disparition. En vue de restaurer ces forêts et disposer des ressources pour le bois d'œuvre et de service des essais de reboisement ont été menés pour l'essentiel avec des essences exotiques. Aujourd'hui, le constat est amer ; la physiognomie de nos formations n'est plus la même et les performances tant ventées de ces espèces exotiques montrent leur limite. Notre travail consiste à remédier au déficit de connaissance des potentialités des essences locales notamment de *Milicia excelsa*, afin de contribuer à sa promotion. Les graines de *M. excelsa* récoltées sont mises à germer avec et sans prétraitements. Après germination, 25 plants sont sélectionnés pour des mesures de paramètres de croissance chaque mois. Cinq jeunes plantules sont sélectionnées pour initier la culture *in vitro*. Les graines non traitées présentent un meilleur résultat avec 78% de capacité de germination. Les plants de 210 jours ont une taille de 23 cm et 18 bourgeons. L'analyse des résultats a montré que *M. excelsa* se régénère bien par graines ; cependant les traitements des fruits et la durée de conservation des graines influencent la production des plants en grand nombre. En outre, les résultats de la culture *in vitro* montrent une alternative pour disposer d'une grande quantité de plants à tout moment de l'année. Ces résultats constituent un acquis pour la sylviculture de l'Iroko (*Milicia excelsa*).

**Mots clé :** Espèce forestière, régénération, *in vitro*, sylviculture, *Milicia excelsa*.

## Abstract

The demographic explosion has accentuated the pressures on natural forest resources leading to their degradation and even their disappearance. In order to restore these forests and to have the resources for timber and service, reforestation trials have been carried out mainly with exotic species. Today, the report is bitter; the physiognomy of our formations is no longer the same and the windy performances of these exotic species show their limits. Our work consists in remedying the lack of knowledge of the potential of local species, in particular *Milicia excelsa*, in order to contribute to its promotion. The harvested *M. excelsa* seeds are germinated with and without pretreatments. After germination, 25 plants are selected for measurements of growth parameters each month. Five young plantlets are selected to initiate the *in vitro* culture. Untreated seeds show a better result with 78% germination capacity. 210-day-old plants are 23 cm tall and have 18 buds. Analysis of the results showed that *M. excelsa* regenerates well by seed; however, the treatments of the fruits and the shelf life of the seeds influence the production of plants in large numbers. In addition, the results of *in vitro* culture show an alternative to have a large quantity of plants at all times of the year. These results constitute an achievement for the silviculture of Iroko (*Milicia excelsa*).

Key words: Forest species, regeneration, *in vitro*, silviculture, *Milicia excelsa*.

(1) : Laboratoire de Botanique et d'Ecologie Végétale, Département de Botanique, Faculté des Sciences, Université de Lomé, 01 BP 1515, Lomé, Togo.

(2) : Laboratoire de Physiologie et Biotechnologies Végétales, Département de Botanique, Faculté des Sciences, Université de Lomé, 01 BP 1515, Lomé, Togo.

\* Correspondance, courriel : [sogobouyo@gmail.com](mailto:sogobouyo@gmail.com) ; Contact : +228 91324514 ; BP 54 Atakpamé/Togo.

SOGO: [sogobouyo@gmail.com](mailto:sogobouyo@gmail.com) ; ETSE: [kodjo.etse@yahoo.fr](mailto:kodjo.etse@yahoo.fr) ; ALIAKI: [essozimaaliaki76@yahoo.fr](mailto:essozimaaliaki76@yahoo.fr) ; DJIWA: [oyedjiwa@hotmail.fr](mailto:oyedjiwa@hotmail.fr) ; KAMOU: [hodabalou@gmail.com](mailto:hodabalou@gmail.com) ; NADJOMBE: [nadjomb2012@gmail.com](mailto:nadjomb2012@gmail.com) ; GUELLY : [kudzoatsuguely@gmail.com](mailto:kudzoatsuguely@gmail.com)

## INTRODUCTION

La forêt contribue de façon substantielle à l'économie nationale et familiale ainsi qu'à la lutte contre la pauvreté sous toutes ses formes, aussi bien en milieu rural qu'urbain (MERF, 2011). La FAO (2009) indique que le secteur forestier togolais a généré, en 2006, une valeur ajoutée de 16,5 milliards de FCFA, soit 1,6% du PIB. En considérant tous les sous-secteurs forestiers, on n'est pas loin des 22% du PIB avec une valeur économique totale estimée à plus de 78 milliards de FCFA (Yapi et Sessi 1997). Cet exemple témoigne de l'importance accordée au reste du couvert forestier mondial. Au Togo, le paysage est constitué d'une diversité d'écosystèmes malheureusement en perpétuelle dégradation, affectant les essences de bois d'œuvre, de service, de bois énergie et les ressources végétales alimentaires, médicinales et fourragères (Ugoh et al, 2014 ; Padakale et al, 2015 ; Kebenzikato et al, 2015 ; Kaina et al, 2018 ; Issa, 2018). Conscients des graves conséquences auxquelles s'expose l'humanité suite à

la dégradation du couvert forestier, les pouvoirs publics, les organismes internationaux, les organisations de la société civile et les particuliers, entreprennent diverses actions en vue de restaurer cette couverture forestière (Guelly, 2011 ; Woegan, 2013). Parmi les activités de restauration du couvert forestier, le reboisement est de loin la plus importante. Cependant, la plupart des programmes de reboisement ont été réalisés pour l'essentiel avec des essences exotiques, parmi lesquelles, *Tectona grandis* et *Gmelina arborea* qui font figure d'essences prioritaires (Atindogbe et al, 2013 ; Akpene et al, 2014 ; Sehoueto et al, 2015). Les quelques essais de germination de semences d'essences locales ainsi que le succès de leurs plantations semblent ne jamais être satisfaisants, peut-être par faute de recherche forestière adéquate. L'accentuation des pressions anthropiques sur les forêts naturelles de même que sur certaines essences très appréciées par les populations conduit inévitablement à une érosion génétique. *Milicia excelsa*, longtemps exploité pour la qualité de son bois est classée vulnérable sur la liste rouge de

l'IUCN. Pour éviter cette érosion génétique, Bellefontaine et Monteuis (2000) ont proposé la domestication de ces espèces par la connaissance de meilleures conditions de germination de leurs graines. L'insuffisance des connaissances biologiques et écologiques sur la plupart des essences indigènes constitue une limite et un grand handicap pour l'aménagement et la conservation des ressources génétiques des forêts tropicales (Deboux, 1998). L'objectif général de ce travail est donc de contribuer à la connaissance des potentialités de production du matériel végétal (semence) de *Milicia excelsa* en vue de promouvoir l'essence dans le reboisement au Togo. De façon spécifique, il s'agit de :

- caractériser les graines de *M. excelsa* ;
- initier la micropropagation *in vitro* de *M. excelsa* et
- évaluer la cinétique de croissance juvénile de ces plants.

## 1. MATÉRIEL ET MÉTHODES

### 1.1. Matériel végétal

Le matériel végétal a été constitué de graines de *M. excelsa* (Welw., Moraceae) récoltées sur des parcelles à Badou et Atakpamé (Togo).

### 1.2. Méthodes

#### 1.2.1. Collecte et traitement des semences

Les semences nécessaires à la réalisation de cette étude ont été récoltées sur deux sites au cours d'une prospection pendant quatre jours. Le premier site est à Badou, en zone forestière du Togo, de coordonnées géographiques 7° 32' 15,091'' / 0° 36' 24,102''. Le second site est à Atakpamé, en zone guinéenne, de coordonnées géographiques 7° 32' 37,297'' / 1° 7' 38,844''. Les fruits mûrs ont été directement collectés sous des semenciers de manière aléatoire. Les fruits ramassés ont été pressés à la main et les graines recueillies ont été séchées à l'ombre pendant une journée puis emballés dans des enveloppes en papier en vue de leur caractérisation au laboratoire.

#### 1.2.2. Site d'étude

Les tests de caractérisation des graines ont été réalisés sur une parcelle de 500 m<sup>2</sup> aménagée au bord de la rivière Eké (7° 31' 12,445'' ; 1° 8' 18,18'') à Atakpamé (Togo). L'étude de la croissance a été réalisée sur la parcelle puis après la mise en terre des plants sur le site de l'arboretum de Béna-plateau de coordonnées géographiques 7° 32' 13,08'' / 0° 55' 4,872'', dans la préfecture de Wawa. Quant à la culture *in vitro* de *Milicia excelsa*, elle a été réalisée au Laboratoire de Physiologie et de Biotechnologies Végétales de la Faculté des Sciences à l'Université de Lomé au Togo.

#### 1.2.3. Caractérisation des paramètres physique et physiologique de la germinatives des graines

##### La teneur en eau des graines

Un échantillon de 1000 graines est prélevé pour la détermination du poids et de la teneur en eau. Le poids a été évalué en utilisant une balance électronique de modèle METTLER AE 50. La teneur en eau des graines par rapport à la masse fraîche TE a été déterminée selon l'équation 1 :

$$TE = \frac{\text{masse fraîche} - \text{masse sèche}}{\text{masse fraîche}} \times 100 \quad (\text{équation 1})$$

## Tests de germination des graines

Pour étudier la germination des graines, des lots de 100 graines de chaque localité ont été constitués. Ensuite les différents traitements ont consisté en un trempage des graines dans de l'eau de robinet pendant 5, 10 et 15 minutes. Trois essais ont été effectués pour chaque traitement. Les graines traitées ont été semées dans des boîtes de Pétri sur du sable puis disposés sous ombrière. Au cours des tests de germination les paramètres évalués sont :

- le délai de germination (DG) correspondant au temps entre la date de semis et la date de germination de la première graine ;
- la durée totale de germination (DTG) qui correspond au temps qui sépare la date de la germination de la première graine et celle de la date de germination de la dernière graine ;
- le pourcentage de germination ou capacité de germination obtenu (CG) ;
- le temps moyen de germination (TMG) qui est le temps nécessaire pour obtenir la germination de 50% des graines, soit par la valeur de la pente de la courbe représentant le pourcentage de germination en fonction du temps ou encore l'inverse  $\times 100$  du coefficient de vélocité.
- la conservation du pouvoir germinatif ou longévité des graines ; elle est déterminée en effectuant des tests de germination chaque mois pendant 12 mois.

## Cinétique de croissance juvénile des plants

La cinétique de croissance des jeunes plants a été étudiée à travers les paramètres dendrométriques, principalement la taille et le nombre de feuilles en fonction du temps. Ainsi un échantillon représentatif de 25 plantules issues de la germination en boîte de Pétri a été repiqué dans des sachets de polyéthylène préalablement remplis avec un substrat constitué d'un mélange de terreau fertilisé et de terre de jardin dans une proportion 1:3, 2:3 (v/v). Au cours de cette étude, le traitement des plantules a consisté en un arrosage régulier à l'eau de rivière. Les plantules ont séjourné sous ombrière pendant trois mois au cours desquels les différentes mesures ont été effectuées à intervalle de dix jours. Ensuite, les plants ont été mis en terre sur le site de l'arboretum où les mesures ont été effectuées chaque mois pendant quatre mois. La mesure des paramètres de croissance a été effectuée pendant la saison pluvieuse du mois de mai à novembre et ces mesures ont été arrêtées à l'arrivée de la saison sèche.

#### 1.2.4. Régénération *in vitro* de *Milicia excelsa*

##### Désinfection et germination des graines

Les graines de *Milicia excelsa* ont été désinfectées en surface en conditions aseptiques. Ces graines supposées stériles ont été placées dans des tubes à essai contenant un milieu de germination. Le milieu de germination est le milieu MS (Murashige et Skoog, 1962) supplémenté de 30 g/L de saccharose et solidifié avec l'agar-agar à 8 g/L. Le pH du milieu a été ajusté à  $5,80 \pm 0,01$  avant l'autoclavage. Dix millilitres de milieu MS ont été versés dans des tubes à essai et une graine y a été placée. Les graines ont été incubées pendant trois jours à l'obscurité dans une salle de culture puis transférées à la lumière sous une photopériode de 16 h avec une intensité lumineuse d'environ 2000 lux, fournies par des lampes led blanches froides, à une température de  $25 \pm 2^\circ \text{C}$  et 70 % d'humidité.

**Micro-bouturage de *Milicia excelsa***

Soixante jours après la germination les vitroplants obtenus ont été découpés en fragments uninodaux. Ces fragments ont été ensuite repiqués sur un milieu identique au milieu de germination décrit ci-dessus et cultivés pendant six semaines dans les mêmes conditions. Ce milieu a servi en même temps de milieu d'enracinement.

**Acclimatation**

**Sevrage ou pré acclimatation**

Les vitroplants enracinés et âgés de 35 jours ont été retirés du milieu de culture. Leurs racines ont été débarrassées de l'agar-agar et lavées à l'eau de robinet. Puis, les vitroplants ont été transférés dans des caisses compartimentées aux couvercles transparents, préalablement remplies avec du sable stérilisé à l'autoclave à 121°C pendant 60 minutes, sous une pression de 1 bar. Les caisses contenant les jeunes plantules ont été disposées dans la salle de culture à 25 °C sous une photopériode de 16 h. Les plantules ont été arrosées régulièrement avec de l'eau distillée.

**Elevage ou durcissement**

Après un séjour de deux semaines dans la salle de culture, les plantules ont été transférées dans des pots en plastique préalablement remplis de sable stérilisé, riche en humus. Les pots contenant les plants ont été disposés dans une serre de culture et régulièrement arrosés avec de l'eau de robinet. Après quatre semaines d'acclimatation, le taux de survie a été évalué selon la formule suivante (équation 2) :

$$\text{Taux de survie (TS)} = \frac{\text{Nombre de vitroplants ayant survécu après acclimatation}}{\text{Nombre de vitroplants acclimatés}} \times 100$$

(équation 2)

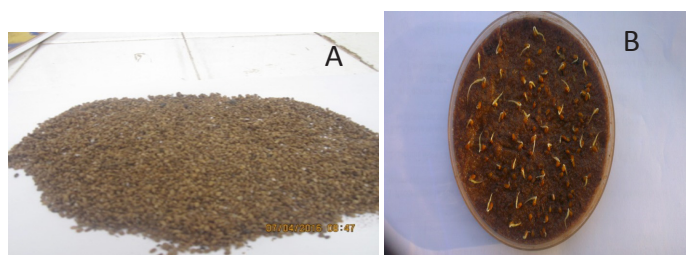
**1.2.5. Analyses statistiques**

Les données de germination ont été traitées avec le logiciel Excel 2013 de Microsoft.

**2. RESULTATS**

**2.1. Caractérisation des graines de *Milicia excelsa***

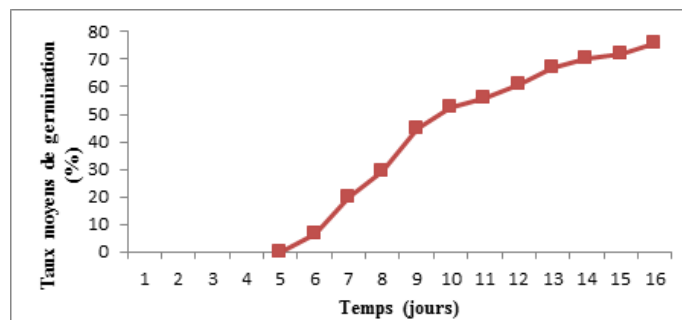
Les graines de *M. excelsa* sont très petites, le poids moyen de 1000 graines est de 2,45g soit 408 graines/g. La teneur en eau des graines est de 9,9%. Aucune dormance n'est notée pour les graines de *M. excelsa* et leur germination est épigée. La figure 1 montre les graines extraites des fruits puis séchées (A) et les graines en germination dans une boîte de Pétri (B).



**Figure 1 :** Graines de *Milicia excelsa* extraites des fruits puis séchées (A) et graines de *M. excelsa* en germination dans une boîte de Pétri (B).

Le temps minimal de germination des graines de *M. excelsa* est de 6 jours et le temps maximal est de 16 jours. La capacité de germination des graines de *M. excelsa* en fonction du temps présente deux phases : du 6<sup>ème</sup> jour au 12<sup>ème</sup> jour on note une accélération de la capacité de germination qui passe de 0% à 68% et du 13<sup>ème</sup> jour au 16<sup>ème</sup> jour on observe une faible

augmentation de la capacité de germination pour atteindre 78% de taux de germination (Figure 2).



**Figure 2 :** Evolution de la capacité de germination des graines non traitées de *M. excelsa* en fonction du temps.

Les différents traitements effectués sur les graines de *M. excelsa* n'ont pas amélioré leur capacité de germination par rapport aux graines non traitées. Cependant la capacité de germination des graines diminue avec leur durée de conservation. Cette capacité passe de 78% à 62% après trois mois de conservation, à 47% après six mois, à 32% après neuf mois et à 19% après douze mois de conservation (tableau 1).

**Tableau 1 :** Caractéristiques germinatives des graines de *M. excelsa* selon les différents traitements.

	DG (jours)	TMG (jours)	DTG (jours)	CG (%)
Graines non traitées	6	10	10	78
Graines soumises au choc thermique 5 minutes	-	-	-	0
Graines trempées dans HCl 5 minutes	-	-	-	0
Graines après 3 mois de conservation	6	11	12	62
Graines après 6 mois de conservation	7	9	9	47
Graines après 9 mois de conservation	13	18	14	32
Graines après 12 mois de conservation	17	22	15	19

**2.2. Cinétique de croissance des jeunes plants de *Milicia excelsa***

Les plants de *M. excelsa* présentent une croissance continue pour atteindre près de 23 cm de taille et 18 bourgeons en 210 jours soit en 7 mois. Dès la germination, on note une croissance rapide des plants pour atteindre en moyenne 12 cm de taille avec 9 bourgeons en 60 jours. Du 60<sup>ème</sup> jour au 90<sup>ème</sup> jour, on observe un ralentissement de la croissance en taille et en nombre de bourgeons qui est compensé par une croissance en diamètre. A partir du 90<sup>ème</sup> jour, on observe une croissance exponentielle pour atteindre 23 cm avec 18 bourgeons en moyenne après 210 jours (Figure 4). Cependant cette croissance est perturbée par l'arrivée de la sécheresse à partir du 7<sup>ème</sup> mois (en novembre) qui se traduit par la mort de l'axe principal au profit des rejets.



**Figure 3 :** Plant de *M. excelsa* de cinq mois, deux mois après la mise en terre.

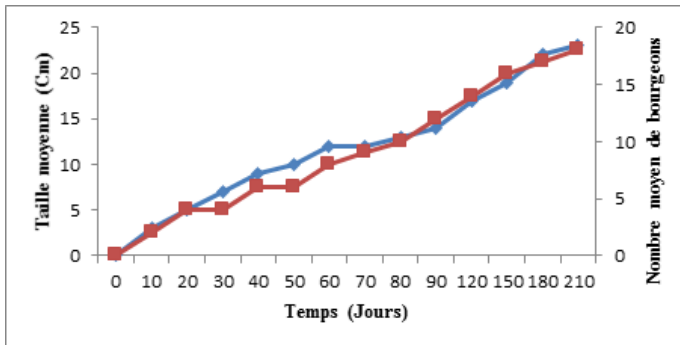


Figure 4 : Evolution de la taille moyenne et du nombre moyen de bourgeons des plants de *M. excelsa* en fonction du temps.

### 2.3. Régénération *in vitro* de *M. excelsa*

Le taux de contamination relevé est de 40% au 35<sup>ème</sup> jour. En ce qui concerne le taux de brunissement, il croît progressivement et est de 30% au bout de 35 jours de culture.

Quant au taux de débourrement, il est de 0% au 7<sup>ème</sup> jour et augmente jusqu'à 60% au 35<sup>ème</sup> jour de culture. Les premières racines ont été observées le 21<sup>ème</sup> jour et 40% des vitroplantules se sont enracinées au bout des 35 jours de culture sur le milieu de Murashige et Skoog (Figure 5).

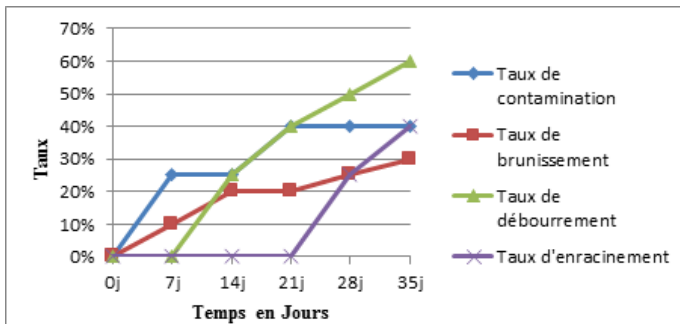


Figure 5 : Taux de contamination, de brunissement, de débourrement et d'enracinement des explants de *M. excelsa* cultivés pendant 35 jours sur le milieu (MS).

L'observation de la culture est faite durant 35 jours ; durée au bout de laquelle la taille des vitroplants atteint la longueur totale du tube. Les paramètres de croissance à savoir le nombre de nœuds, le nombre de racines et la taille des vitroplants ont été relevés à intervalle régulier de 7 jours. Pendant ce temps, le nombre moyen de nœuds croît et est de 12,43 nœuds par plantule au 35<sup>ème</sup> jour. Quant au nombre moyen de racines, il croît faiblement et est de 4,31 au 35<sup>ème</sup> jour. La taille des vitroplants croît faiblement pendant les 7 premiers jours et du 7<sup>ème</sup> au 35<sup>ème</sup> jour, on note une augmentation rapide de la taille des vitroplants. Au 35<sup>ème</sup> jour, la taille moyenne des vitroplants est de 18,75 cm (Figure 6). La figure 7 présente un vitroplant de *M. excelsa* dans un tube à essai sur le milieu MS.

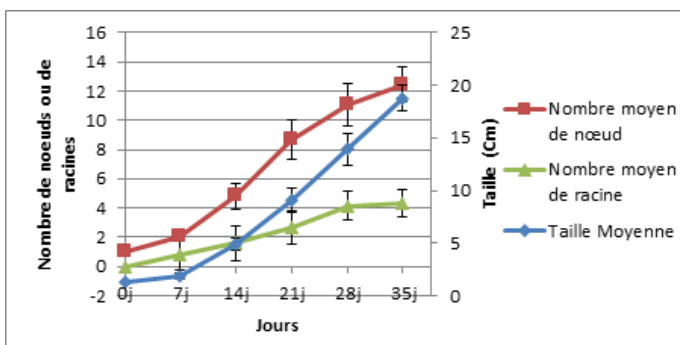


Figure 6 : Croissance et développement des explants de *M. excelsa* repiqués sur le milieu MS (Barre d'erreur : moyenne ± erreur type).



Figure 7 : Un vitroplant de *M. excelsa* dans un tube à essai sur le milieu (MS).

Au cours de l'acclimatation, on a observé un bon développement des plantules. Elles ont présenté une bonne adaptation sur le substrat utilisé. Ainsi on a remarqué une reprise rapide de la croissance des plantules qui se traduit par un allongement important des tiges et une production satisfaisante de nœuds (Figure 8). Au terme de quatre semaines d'acclimatation, les plantules acquièrent assez de vigueur pour assurer elles-mêmes leur propre nutrition. Le taux de survie des plantules de *Milicia excelsa* obtenu est de 100% pour chaque lot composé de 50 plantules. A la fin de l'acclimatation 250 plants de près de 10 cm ont été transférées sur le site de l'arboretum où leur mise en terre a été effectuée avec succès au cours du mois de juillet.



Figure 8 : Un vitroplant de *Milicia excelsa* dans un pot d'acclimatation

### 3. DISCUSSION

Les graines de *Milicia excelsa* donnent 78% de capacité de germination au bout de 10 jours en moyenne. Les traitements effectués n'ont pas amélioré ce résultat. Cette capacité de germination obtenue chez *M. excelsa* est similaire au taux de 80% après 14-18 jours (FAO, 2016) mais très élevé par rapport aux 5 à 10% obtenus par Bomisso *et al.* (2006) pour certains génotypes de forêt en Côte d'Ivoire. Dorthe en 2002 a obtenu près de 90%. La capacité de germination des graines de *Milicia excelsa* est jusqu' alors est faible comparé au taux de 100% obtenu par Sogo *et al.* (2017) pour les graines de *Mansonia altissima* après prétraitement. Certains auteurs ont rapporté que les graines d'Iroko ne sont pas dormantes, ce serait plutôt le nombre de graines immatures présentes dans les stocks utilisés qui influencerait les taux de germination. Ce

taux de germination chute à 19% après un an de conservation des graines. Dès la germination, les plants de *Milicia excelsa* sont vulnérables mais à croissance rapide durant les 2 premiers mois. Les plants de 210 jours ont 23 cm pour 18 bourgeons. Dainou *et al.* (2012) ont noté une croissance en hauteur très élevée sur certains sites concordant avec les traits des espèces pionnières. Cette vitesse de croissance est similaire à celle de 14,5 cm pour 12 feuilles en 140 jours, mesurée par Sogo *et al.* (2017) chez *Mansonia altissima*, une espèce à bois blanc tout comme l'iroko. En effet, la vitesse de croissance d'une espèce est fonction de la densité du bois mis en place, plus le bois est dense plus la vitesse de croissance est faible. Cependant la régénération *in vitro* présente de meilleurs résultats. Au cours de la mise en culture des plantules de *M. excelsa*, le taux de contamination obtenu est de 40% et le taux de débourrement est de 60% au de 35 jours de culture. Ce qui indique que le protocole de désinfection est acceptable. Ces résultats montrent que le matériel végétal (graines de *M. excelsa*) récolté dans la nature héberge des micro-organismes notamment des bactéries et champignons qui se multiplient abondamment dans le milieu de culture au détriment des explants. Une augmentation de la concentration des solutions de désinfection et une variation de la durée de trempage des explants pourraient réduire le taux de contamination. Ceci a été démontré par Etsè *et al.*, (2011) sur les explants de *Zanthoxylum zanthoxyloides*. Chez ce dernier, en variant et les concentrations des solutions de désinfection et les durées de trempage on réduit considérablement le taux de contamination au cours de la mise en culture des plantules de *Z. zanthoxyloides*. Le brunissement constaté au cours de la culture proviendrait des composés phénoliques élaborés par les vitroplants de *M. excelsa* et libérés au niveau racinaire dans le milieu de culture. Aliaki *et al.*, (2017) ont fait le même constat au cours de la régénération des plantules d'*Ocimum canum* sur le milieu MS. La solution pour empêcher le brunissement du milieu de culture est l'ajout de charbon actif dans la préparation du milieu de culture comme l'ont démontré Pitékélabou *et al.*, (2013) et Etsè *et al.*, (2011).

Quant au taux d'enracinement, il est faible. Ce résultat montre que *M. excelsa* s'enracine difficilement sur le milieu MS. Le taux d'enracinement pourrait s'améliorer comme l'ont montré Dossokpèvi *et al.*, (2015), si on ajoutait au milieu de culture une auxine comme l'Acide Indolacétique (AIA) ; qui est une phytohormone favorisant la rhizogenèse.

Pendant les 35 jours, le nombre moyen de nœuds croît et est de 12,43 au 35<sup>ème</sup> jour. Ceci implique qu'à partir d'un explant uninodal, il est possible d'obtenir 12 nouveaux vitroplants en 35 jours, soit un rythme de multiplication de 12<sup>n</sup> après n repiquages. Cette valeur est bien supérieure au taux de multiplication observés par Etsè *et al.*, (2011) chez *Z. zanthoxyloides*.

Au 35<sup>ème</sup> jour, la taille moyenne des vitroplants est 18,75 cm. Cet allongement est rapide pour une ligneuse. Chez la plupart des ligneuses cultivées *in vitro*, la croissance est généralement plus lente, comme il a été rapporté par Najiba *et al.*, (2002) sur l'olivier et ceux obtenus par Hovi, (2007) sur *Garcinia afzelii*. La croissance rapide des explants sur le milieu MS, indique que ce milieu de culture est favorable pour des essais de micropropagation *in vitro* de *M. excelsa*. Le taux de survie des plantules de *M. excelsa* de 100% obtenu à la suite de l'acclimatation a été observé par Aliaki *et al.*, (2017) pour les plantules d'*Ocimum canum*. Ceci indique une

réussite de la procédure d'acclimatation.

## CONCLUSION

Il ressort de ce travail que les contraintes à la régénération naturelle par graine sont entre autres : les techniques de récolte et de traitement des fruits pour obtenir les graines puis la perte rapide du pouvoir germinatif des graines. Ainsi, la récolte et le conditionnement des fruits déterminent la réussite de la germination. Pour une grande production de plants, les graines recommandées sont celle des fruits fraîchement récoltés. Les jeunes plants de *M. excelsa* étant fragiles dès la germination doivent être arrosés avec soin et gardés dans un milieu humide pendant les 30 premiers jours. Les résultats obtenus lors de la culture *in vitro* montrent que *M. excelsa* peut être produit à grande échelle pour la conservation au laboratoire et dans les programmes de reboisement.

## Remerciements

Nous remercions la FAO pour son soutien financier au début de ce travail qui s'inscrit dans le cadre du projet « TCP/TOG/3502 : Appui à la formulation et à la mise en œuvre du Programme National de Reboisement au Togo ». Nous témoignons notre reconnaissance au Représentant Résident de la FAO au Togo et à son Assistant.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Akpene D., Chaix G., Monteuis O., Langbour P., Guibal D., *et al.* (2014). Mise au point d'une stratégie d'amélioration des plantations de teck au Togo. Conférence Matériaux 2014 - Colloque Ecomatériau, Nov 2014, Montpellier, France. Collection ECOMATERIAU, Collection ECOMATERIAU, (2014)
- Aliaki E., Etsè K. D., Glato K., Pitékélabou R., Koba K., Aïdam A. (2017). Régénération et floraison *in vitro* des plantules d'*Ocimum canum* (Sims), une importante plante médicinale. Afrique science vol. 13 (4) pp 1-7.
- Atindogbé G., Fonton H. N., Lejeune P. (2013). Évaluation de la ressource en teck, *Tectona grandis* L.f., des plantations privées du Sud-Bénin. Bois et forêts des tropiques, N° 316 (2) 2013 p 93-103
- Bellefontaine R. et Monteuis O., 2000. Le drageonnage des arbres hors forêt: un moyen pour revégétaliser partiellement les zones arides et semiarides sahéliennes? In Verger M. Multiplication végétative des ligneux forestiers, fruitiers et ornementaux, 3<sup>ème</sup> rencontre du Groupe de la Ste Catherine, Orléans: 22-24 novembre 2000. CIRAD-INRA, Collection du Cirad. 12 p
- Bomisso, E., D. Kone et S. Ake (2006). "Caractérisation morphologique et physiologique des graines de 40 géotypes de *Milicia spp.* issus du Sud et du Nord de la Côte d'Ivoire." Agronomie africaine 18(2) : 85-94.
- Dainou, K., J.-L. Doucet, B. Sinsin et G. Mahy (2012). "Identité et écologie des espèces forestières commerciales d'Afrique centrale : le cas de *Milicia spp.* (Synthèse bibliographique)". Biotechnologie, Agronomie, Société et Environnement 16(2) : 229
- Deboux L. (1998). L'aménagement des forêts tropicales fondé sur la gestion des populations d'arbres : l'exemple du moabi (*Baillonella toxisperma* Pierre) dans la forêt du Dja, Cameroun, Gembloux : Thèse de doctorat, Faculté Universitaire des Sciences agronomiques de Gembloux

- Dorthe J. (2002). *Milicia excelsa* (Welw.) C.C. Berg. Seed Leaflet, No. 63 January 2002.
- Dossoukpèvi R., S. J. Dangou, G. Cacaï, A. Agbidinokoun, C. Agbangla, C. Ahanhanzo (2015). Production et acclimatation de plants du gros basilic (*Ocimum gratissimum*) régénérés *in vitro* : Effet de l'Acide Naphtalène Acétique (ANA) sur l'enracinement. *European Scientific Journal*, Vol. 11, (2015) 178 – 192.
- Etsè K. D., Aïdam A. V., De Zouza C., Creche J. and Lanoue A. (2011). *In vitro* propagation of *Zanthoxylum zanthoxyloides* Lam., an endangered African medicinal plant. *Acta Botanica Gallica*, 158 (1) (2011) 47 – 55
- FAO (2016). Situation des forêts du monde. Forêts et agriculture : défis et possibilités concernant l'utilisation des terres. Rome, 119 p.
- FAO (2009). Préparation du Cadre National des Priorités à Moyen Terme (CNPMT) pour le Togo (2010-2015) : Secteur des ressources naturelles renouvelables (terre, eau et forêt), Rapport final, 21 p.
- Guelly K.A. 2011. Etudes des ressources forestières. Projet TCP/TOG/3203(D). MERF/FAO
- Hovi, K., 2007 : Etude de la germination et du microbouturage *in vitro* de *Garcinia afzelii* Eng. Mémoire du DEA. Université de Lomé. 84P.
- Issa I., Wala K., Dourma M., Atakpama W., Kanda M., Akpagana K. (2018). Valeur ethnobotanique de l'espèce, *Khaya senegalensis* (Desr.) A. Juss. (Meliaceae) auprès des populations riveraines de la chaîne de l'Atakora au Togo. *Revue Marocaine des Sciences Agronomiques et vétérinaires*, 6 (1) : 64-72.
- Kaina A., Wala K., Koumantiga D., Folega F., Akpagana K. (2018). Impact de l'exploitation du bois énergie sur la végétation dans la préfecture de Tchaoudjo au Togo. *Revue de Géographie de l'Université de Ouagadougou*, N° 07, Vol. 1, octobre 2018
- Kébenzikato A. B., Wala K., Atakpama W., Dourma M., Woégan Y., A., Dimobé K., Batawila K., Akpagana K. (2015). Connaissances ethnobotaniques du baobab (*Adansonia digitata* L.) au Togo. *Biotechnol. Agron. Soc. Environ*, 19 (3) : 246-260.
- MERF (2011). Audit institutionnel du Ministère de l'Environnement et des Ressources Forestières (MERF). MERF, Lomé.
- Najiba B.; Walali L.D.M.; Abousalim A., 2002. Etude de l'effet de type et de conservation de cytokinines sur la prolifération de l'olivier (*Olea europea* L.). cv. Picholine marocaine. Actes des VIII<sup>ème</sup> journées Scientifiques – AUF – Marrakech 7 – 9 octobre 2002, Maroc, p. 118 – 120.
- Padakale E., Atakpama W., Dourma M., Dimobe K., Wala K., Akpagana K. (2015).
- Woody species diversity and structure of *parkia biglobosa* jacq. Dong parklands in the sudanian zone of Togo (west africa). *Annual Review & Research in Biology*, 6(2), 103-114.
- Pitekelabou R., Etse D. K., et Aïdam A. V. (2013). Micropropagation et rhizogenèse *in vitro* chez *Nauclea latifolia* smith (Rubiaceae). *European Scientific Journal*, 9 (24) : 296- 307, 2013.
- Séhouéto K. P., Aoudji K. N., Avocèvou-Ayisso C., Adégbidi A., Ganglo J. C., Lebailly P. (2015). Évaluation technico-économique de la production de plants de teck (*Tectona grandis* L.f.) dans les pépinières villageoises au Sud-Bénin. *Biotechnol. Agron. Soc. Environ*. 2015 19(1), 32-41
- Sogo M., Etsè K. D., Kamou H., Bammite D., Padakali E. et Guelly K. A. (2017). Caractéristiques germinatives des graines et vitesse de croissance des jeunes plants de deux espèces forestières au Togo : *Detarium senegalense* J. F. Gmel. (Fabaceae) et *Mansonia altissima* (A. chev.) A. Chev. (Sterculiaceae). *Afrique science* 13(4) (2017) 275 - 285 ISSN 1813-548X, <http://www.afriquescience.info>
- Ugoh C. S., Agarry O. O., and Garba S. A. (2014). Studies on the antibacterial activity of *Khaya senegalensis* [(Desr.) A. Juss.] stem bark extract on *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar Typhi [(ex Kauffmann and Edwards) Le Minor and Popoff]. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*. 2014 May; 4(Suppl 1) (2014): S279–S283. doi: 10.12980/APJTB.4.2014C636
- Woégan Y. A., Akpavi S., Gbogbo K. A., Dourma M., Atato A., Wala K., Akpagana K. (2013). "Gestion des agroécosystèmes sur le mont Agou en zone forestière au Togo". *Journal de la Recherche Scientifique de l'Université de Lomé*, Vol. 15, N° 3 (2013)
- Yapi A., Sessi K. (1999). Etude Economique du Secteur Forestier et de Faisabilité pour la création d'un Fonds National Forestier au Togo. FAO, Rome.