



Contribution à la régénération de *Griffonia simplicifolia* (Baill, Fabaceae, 1866) par bouturage caulinaire

BAH Ange Marie⁽¹⁾; DEMBELE Ardjouma⁽²⁾; DOGBO Denezon Odette⁽¹⁾

⁽¹⁾ Laboratoire de Biologie et Amélioration des Productions Végétales, UFR-SN, Université NANGUI ABROGOUA, 02 BP 801 Abidjan 02, Côte d'Ivoire

⁽²⁾ Laboratoire National d'Appui au Développement Agricole (LANADA), Laboratoire Central d'Agrochimie et d'Ecotoxicologie (LCAE) 04 BP 612 Abidjan 04, Côte d'Ivoire.

Auteur correspondant : ange.bah@yahoo.com

Mots clés : Bouturage, *Griffonia simplicifolia*, débourrement, enracinement

Key words: Cuttings, *Griffonia simplicifolia*, bud break, rooting

Date of Acceptance 12/07/2021, Publication date 31/10/2021, <http://m.elewa.org/Journals/about-japs/>

1 RÉSUMÉ

Le Griffonia (*Griffonia simplicifolia*) est une plante médicinale dont les graines sont recherchées pour leur richesse en 5- Hydroxytryptophane ou 5- HTP, un acide aminé rare. Cette plante est aussi utilisée traditionnellement pour soigner certaines pathologies. Cependant, elle risque de disparaître à cause de la destruction de son milieu. Ce travail a été mené pour rechercher les meilleures conditions de sa multiplication végétative en vue de sa domestication. Pour ce faire, des boutures ont été prélevées à trois niveaux (basal, médian et apical) des tiges principales et secondaires puis ensemencées sur le sol arable de forêt et le sable de mer. Les paramètres évalués ont été le délai et le taux de débourrement, le taux de développement des bourgeons en tiges feuillées et le taux d'enracinement ont été pris en compte. Les résultats ont montré que les délais de débourrement ont été respectivement de 7 et 8 jours pour les boutures des parties basale et médiane, et de 11 jours pour celles issues de la partie apicale. Les rapports de bourgeonnement ont varié de 70 à 100 %. Les bourgeons formés ont donné des tiges feuillées avec des taux variables (13 à 76 %) dont le taux le plus élevé a été obtenu avec les bourgeons des boutures de la partie apicale des tiges secondaires. Suite à l'enracinement des tiges feuillées, 66 % de plantes entières ont été régénérées par les boutures de la partie apicale des tiges secondaires ensemencées sur le sol arable de forêt. Pour la tige principale, 36 % de plantes ont été régénérées sur les deux types de substrats à partir des boutures des parties apicales. Ce travail a permis la régénération de *Griffonia simplicifolia*. Les boutures de la partie apicale des tiges secondaires ensemencées sur le sol arable de forêt ont donné les meilleurs résultats. Cette régénération pourrait être optimisée par l'utilisation d'hormones rhizogènes.

ABSTRACT

Griffonia (*Griffonia simplicifolia*) is a medicinal plant whose seeds are sought after for their richness in 5- Hydroxytryptophan or 5- HTP, a rare amino acid. This plant is also traditionally used to treat certain pathologies. However, it also risks being found because of the destruction of its environment. This work was carried out to find the best conditions for its vegetative propagation with a view to its domestication. To do this, cuttings were taken at three levels (basal, median and apical) of the main and secondary stems and then seeded on



the arable forest soil and sea sand. The parameters evaluated were the time and rate of bud break, the rate of development of the buds into leafy stems and the rate of rooting were taken into account. The results showed that the bud break times were respectively 7 and 8 days for cuttings from the basal and middle parts, and 11 days for those from the apical part. Bud break rates ranged from 70 to 100%. The buds formed gave leafy stems with variable rates (13 to 76%), the highest rate of which was obtained with the buds of cuttings from the apical part of the secondary stems. Following rooting of the leafy stems, 66% of whole plants were regenerated by cuttings from the apical part of secondary stems sown on arable forest soil. For the main stem, 36% of plants were regenerated on both types of substrates from cuttings from the apical parts. This work allowed the regeneration of *Griffonia simplicifolia*. Cuttings from the apical part of secondary stems seeded on arable forest soil the best results. This regeneration could be optimized by the use of rhizogen hormones.

2 INTRODUCTION

Griffonia simplicifolia (M. Vahl ex DC.) Baill, (Bosch, 2008) appelé communément Griffonia, est une plante sarmenteuse de la famille des Fabaceae et originaire d'Afrique. Il est ubiquitaire de l'Afrique de l'Ouest (Libéria, Côte d'Ivoire, Ghana, Togo) et de l'Afrique centrale (Cameroun et Gabon) (Kim et al., 2009 ; Juliani et al., 2013). Griffonia est utilisé en médecine traditionnelle pour le traitement de plusieurs pathologies (troubles rénaux, ulcérations cutanées, plaies syphilitiques, de la toux, constipation, vomissements, drépanocytose, inflammations) et pour son effet aphrodisiaque (Den Boer et Westenberg, 1990 ; Larmie et Poston, 1991 ; Neuwinger, 2000 ; Brendler et al., 2010 ; Kumar et al., 2010). Au cours des dernières décennies, Griffonia a connu un essor commercial au niveau international grâce à la richesse de ses graines en 5-hydroxytryptophane (5-HTP), un acide aminé rare (Lemaire et Adosraku, 2002). Ce composé biochimique utilisé comme remède naturel contre les maladies dues au déséquilibre de la sérotonine à savoir la dépression et l'insomnie (Attele et al., 2000 ; Kim et al., 2009 ; Loftis et Turner, 2010). Le 5-HTP est également utilisé pour lutter contre l'appétit insatiable (Halford et al., 2007 ; Carnevale et al., 2011), la fibromyalgie (Birdsall, 1998) ainsi que les migraines et les céphalées (Birdsall, 1998). Par ailleurs, les graines de Griffonia contiennent des alcaloïdes comme la trigonelline, un métabolite de la vitamine B3 (Zhou et al., 2012) et la griffonine (Wang et al.,

2013), substance non encore isolée d'aucune autre plante (Wang et al., 2013). En effet, la griffonine inhibe la croissance des cellules HepG2 et de ce fait, pourrait être considérée comme un potentiel anticancéreux (Wang et al., 2013). Quant à la trigonelline, elle est potentiellement efficace contre le diabète de type 2 (Lang et al., 2013). Du fait de ces nombreuses vertus, les graines de Griffonia sont utilisées par différentes firmes pharmaceutiques. Celles-ci se les procurent en Afrique où elles sont commercialisées après leurs récoltes dans les forêts et jachères (Juliani et al., 2013). Selon Juliani et al. (2013), entre 2010 et 2012, l'exportation d'environ 8 tonnes de graines de Griffonia par le Liberia, a généré plus de 48 millions de Francs CFA de revenus au profit des communautés bénéficiaires soit l'équivalent de 82 651,76 dollars ou 73 175,56 euros. Au regard des capitaux générés et de son apport dans la santé, cette plante médicinale représente un véritable prometteur économique mais est menacée de disparition à long terme pour deux principales raisons. De toute évidence, elle est surexploitée pour fabriquer des produits pharmaceutiques, nutraceutiques, cosmétiques mais aussi des compléments alimentaires utilisés par la population (Singh et al., 2003, Ahenkan et Boon, 2008). La seconde raison est la modification de son habitat due à l'urbanisation (Joshi et Joshi, 2000), à la surexploitation des ressources forestières et à l'agriculture (Ahenkan et Boon, 2008). Toutes ces activités



anthropiques résultant de la croissance démographique vont amplifier les perturbations de son écosystème (Ahenkan et Boon, 2008 ; Prasad, 2009). Cette situation pourrait engendrer la raréfaction de Griffonia ; ce qui impose la nécessité de sa culture (Singh *et al.*, 2003, Ahenkan et Boon, 2008). Dans ce contexte, sa domestication pourrait assurer une productivité accrue pour répondre aux besoins des populations et atténuer les menaces de disparition de Griffonia. Cette domestication nécessite la disponibilité de semences (graines ou des plantules) pour la création des plantations. Sur ce point, les études effectuées sur la propagation de Griffonia par les graines fraîches ont montré un taux de germination supérieur à 80 % (Larry, 2017). Cependant, ce type de régénération conduirait à la réduction de la quantité de graines commercialisables. C'est pourquoi, il serait plus judicieux d'utiliser les plantules provenant de la multiplication végétative comme l'embryogenèse somatique ou

le bouturage. Toutefois, les techniques de la culture *in vitro* sont inaccessibles aux petits agriculteurs à cause de l'utilisation d'équipements onéreux et sophistiqués, et d'un personnel hautement qualifié. En vue de vulgariser la culture de Griffonia et permettre aux futurs agriculteurs de cette plante de disposer de semences de bonne qualité et en grande quantité, il est indispensable de trouver des techniques simples, fiables et moins coûteuses. Par conséquent, la propagation par boutures de tige serait très bénéfique. C'est pourquoi ce travail s'est fixé pour objectif général de déterminer les conditions optimales de la production des plantules par bouturage de *Griffonia simplicifolia*. De manière spécifique, il s'est agi d'évaluer l'influence (i) de la nature de la tige sur la production de plantules, (ii) du niveau de prélèvement des boutures sur la production de plantules et (iii) de la nature du substrat d'ensemencement des boutures sur la production de plantules.

3 MATÉRIEL ET MÉTHODES

3.1 Localisation du site d'étude :

L'étude a été réalisée à Azaguié- Ahoua situé au Sud-Est à 27 km de la ville d'Abidjan (Côte d'Ivoire). Le site est situé entre 5°38'21"N et 4°3'20" à 69 m d'altitude (**Figure 1**). L'environnement est chaud et humidifié avec quatre périodes dont deux pluvieuses et deux de

sécheresse. La plus longue saison des pluies dure cinq mois (Djaha et Gnahoua, 2014). La longue période de sécheresse ne dépasse pas trois mois. La pluviométrie annuelle est en moyenne de 12000 mm de pluies avec une température variant entre 23 et 28 °C (Djaha et Gnahoua, 2014).

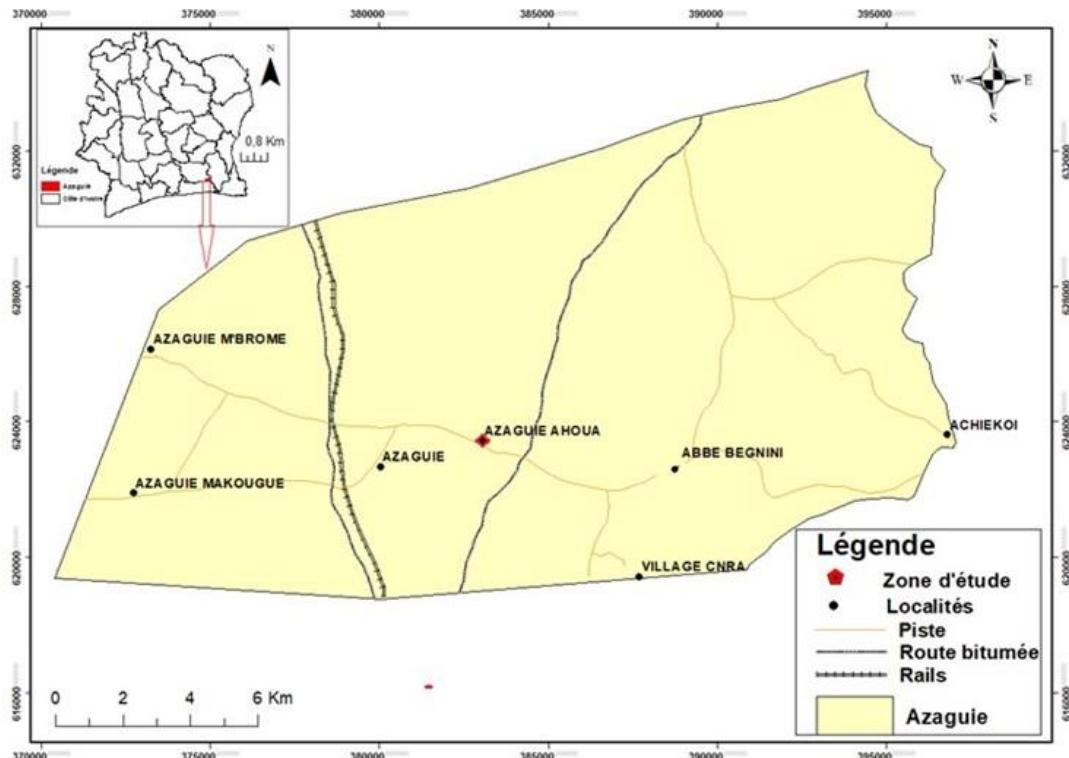


Figure 1. Localisation du site d’Azaguié-Ahoua

3.2 Matériel végétal : Le matériel végétal est constitué de tiges principales et secondaires de *Griffonia simplicifolia* (**Figure 2**).

Ces tiges ont été collectées dans les jachères d’Abbé, un village d’Azaguié Ahoua.

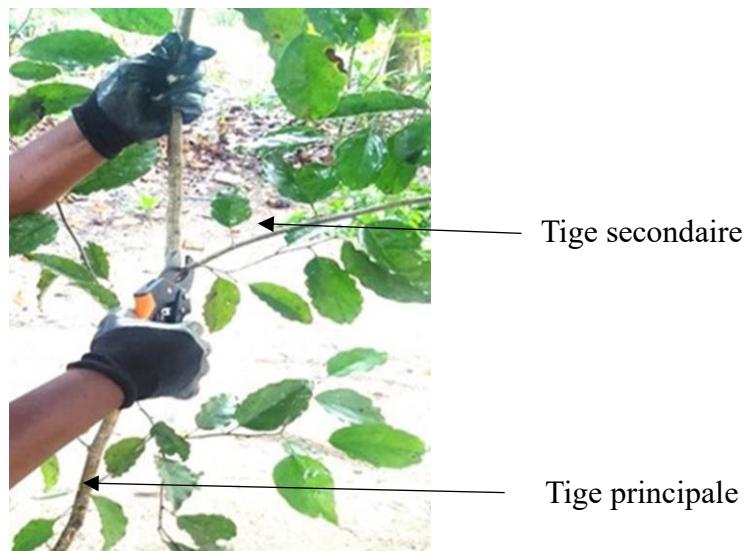


Figure 2. Tiges de *Griffonia simplicifolia*



3.3 Méthodes

3.3.1 Préparation des abris et des substrats de culture : Les abris ont été constitués de deux serres. Chaque serre mesure 10 m de long, 6 m de large et 5 m de haut. Ces serres ont été confectionnées sous de grands arbres qui ont constitué une ombrrière. Chaque serre a été construite à l'aide de bois recouvert d'un film plastique en polyéthylène. À l'intérieur

de la serre, un bac construit à l'aide d'une rangée de briques a été rempli de substrat constitué de sol arable de forêt ou de sable de mer (**Figure 3**). Le substrat a été désinfecté au moyen d'un insecticide granulé à base de Carbofuran (1G) à raison de 100 g par bac. Il a été arrosé avec 12 L d'eau, 24 heures avant le semis des boutures afin d'humidifier et favoriser la désinfection du substrat.



Figure 3. Serres utilisées pour le bouturage de *Griffonia simplicifolia*

A : serre fermée ; B : serre ouverte

3.3.2 Préparation des boutures : Les pieds de *Griffonia simplicifolia* ayant un bon état sanitaire ont été identifiés la veille de la manipulation. Le jour de l'expérimentation, les tiges ont été prélevées entre 6 heures 30 minutes et 8 heures et séparées en tiges principales et tiges secondaires. Puis, chaque catégorie de tige a été subdivisée en trois parties : les parties basale, médiane et apicale. Ces différentes portions de tiges ont été découpées de sorte à obtenir des

boutures dont la longueur moyenne a été d'environ 20 cm avec au moins trois nœuds (**Figure 4**). Ce qui a donné au total six types de boutures qui sont les boutures issues des parties basale, médiane et apicale de la tige principale et les boutures issues des parties basale, médiane et apicale de la tige secondaire. Pour chaque type de boutures ou traitement, 30 boutures ont été mises en culture. Chaque traitement a été répété 3 fois soit un total de 90 boutures par traitement.

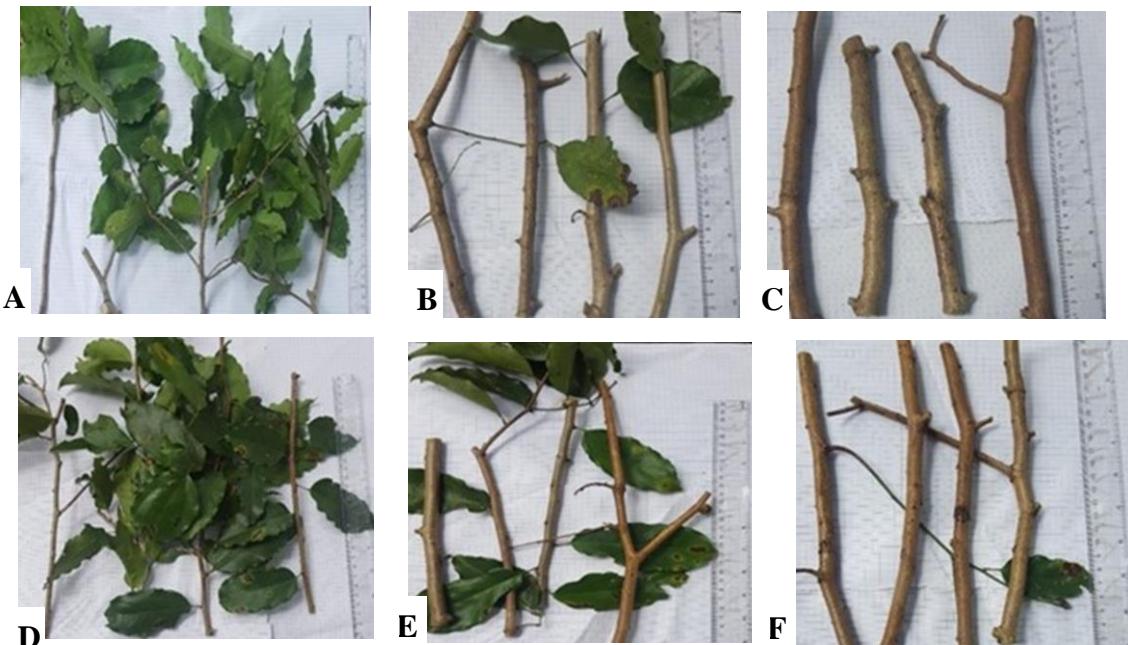


Figure 4. Différentes boutures prélevées sur les tiges principales et secondaires de *Griffonia simplicifolia*
A : boutures de la partie apicale de la tige principale ; **B :** boutures de la partie médiane de la tige principale ; **C :** boutures de la partie basale de la tige principale ; **D :** boutures de la partie apicale de la tige secondaire ; **E :** les boutures de la partie du milieu de la tige secondaire ; **F :** boutures de la partie située à la base de la tige secondaire

3.3.3 Mise en germination des boutures et suivi de la pépinière : À l'aide d'un bâtonnet cylindrique de diamètre similaire à celui de la bouture, des poquets de 3 cm de profondeur ont été réalisés dans le substrat de culture. Une bouture a ensuite été ensemencée par poquet les boutures ont été disposées par traitement dans un mécanisme de déplacement totalement arbitraire. Pour chaque traitement, 3 rangées de 10 boutures ont été établies. Sur la même ligne et entre deux lignes consécutives du même traitement, les boutures ont été distantes les unes des autres de 5 cm. Les six traitements ont été rangés dans un bloc, soit six blocs par serre. Les assemblages et les conditionnements ont été distants de 10 cm es boutures ont été arrosées tous les deux jours durant toute la période des essais à l'aide d'un pulvérisateur. Les mauvaises herbes ont été régulièrement arrachées à la main afin d'éviter toute compétition des adventices avec les jeunes pousses.

3.3.4 Évaluation de la température et de l'humidité dans la serre : La température et l'humidité de l'air ont été mesurées à l'aide d'un

thermo-hygromètre. Un appareil a été placé dans la serre et un autre sous l'ombrière pendant toute la durée de l'expérience qui s'est déroulée de juin à septembre. Les données quotidiennes de ces paramètres ont été acquises directement par observations. Les valeurs moyennes mensuelles et celles de la période de l'expérimentation ont été calculées.

3.3.5 Évaluation des cultures : Les cultures ont été évaluées à travers le délai et le taux de débourrement, le taux de développement des bourgeons en tiges feuillées et le taux d'enracinement des tiges feuillées.

3.3.6 Détermination du délai et du taux de débourrement des boutures : Le délai de débourrement est la période qui s'est écoulée entre la date du semis des boutures et l'apparition du premier bourgeon. Pour l'évaluation de ces paramètres, une observation quotidienne de la pépinière a été effectuée deux jours après le semis afin de déterminer avec précision la date de débourrement des boutures. Le taux de débourrement des boutures a été calculé selon la formule ci-après indiquée.



-Taux de débourrement = (nombre de boutures débourrées/ nombre total de boutures) x 100.

3.3.7 Détermination des taux de développement des bourgeons en tiges feuillées et d'enracinement : Ces différents taux ont été déterminés, quatre mois après le semis des boutures selon les formules ci-après indiquées.

-Taux de développement des boutures en tiges feuillées : (nombre de tiges feuillées/nombre total de boutures) x 100.

Quant au taux d'enracinement, il a été calculé à partir des tiges feuillées qui ont formé des racines.

-Taux d'enracinement : (nombre de tiges feuillées enracinées/nombre total de boutures) x 100.

3.3.8 Analyse statistique des données :

Le test U de Mann-Whitney a permis de comparer les paramètres de bouturages étudiés d'une part, en fonction du type de tige et, d'autre part, en tenant compte de la nature du substrat. Le test de Tukey a permis de comparer les différents niveaux de prélèvement des boutures. Ces deux tests ont été effectués à partir du logiciel statistica version 7,1. Le niveau de signification des tests a été arrêté à 5 %. Afin d'améliorer la normalité, les valeurs en pourcentage ont préalablement subi la transformation Arc sin \sqrt{p} (p = proportion) avant les tests d'analyse de variance.

4 RÉSULTATS

4.1 Paramètres climatiques des abris :

Les températures et les taux d'humidité mensuels calculés au cours des quatre mois de l'étude ont été consignés dans le **Tableau 1**. Les températures moyennes ont varié de 25,20 à

29,25 °C sous les serres et de 26,33 à 29,50 °C sous ombrière. Quant aux taux d'humidité, ils ont varié de 80 à 88,93 % sous les serres et de 68,50 à 83,66 % sous ombrière.

Tableau 1. Température moyenne et humidité relative de l'air des abris

Mois	Sous la serre		Sous l'ombrière	
	T (°C)	H (%)	T (°C)	H (%)
Juin	25,20 ± 0,65	88,93 ± 0,88	26,33 ± 0,55	83,66 ± 1,52
Juillet	26,20 ± 0,29	84,83 ± 0,90	26,33 ± 0,44	79,55 ± 0,29
Août	26,10 ± 0,28	84,05 ± 1,24	26,28 ± 0,47	75 ± 1,54
Septembre	29,25 ± 0,19	80 ± 2,28	29,50 ± 0,55	68,50 ± 1,55
Moyenne	26,69 ± 0,35	84,45 ± 1,32	27,11 ± 0,50	76,68 ± 1,22

T : température ; H : humidité

4.1 Effet de l'origine des tiges, du niveau de prélèvement des boutures et la nature du substrat sur le délai de débourrement : La figure 5 présente le délai de débourrement des boutures prélevées à différents niveaux des tiges principales et secondaires et placées sur le sol arable de forêt et le sable de mer. L'apparition des bourgeons a été précoce (7 à 8,33 jours) chez les boutures des parties basale et médiane quel que soit le type de tige et le type de substrat. Par contre, pour les boutures des régions apicales des tiges, les plus longs délais de débourrement

(12,66 à 14,33 jours) ont été observés chez celles qui ont été placées sur le sable de mer. Toutefois, ce délai a été réduit à 8,33 et 10 jours quand elles ont été semées sur le sol arable de forêt (Figure 5). D'une manière générale, le délai de débourrement a été court pour les boutures issues des parties basales (7,25 jours) et médianes (8,17 jours). Ces délais sont statistiquement identiques ($p>0,05$) mais significativement différents de celui des boutures issues de la partie apicale des tiges (11,33 jours) ($p < 0,05$) selon le test de Tukey (Tableau 2).

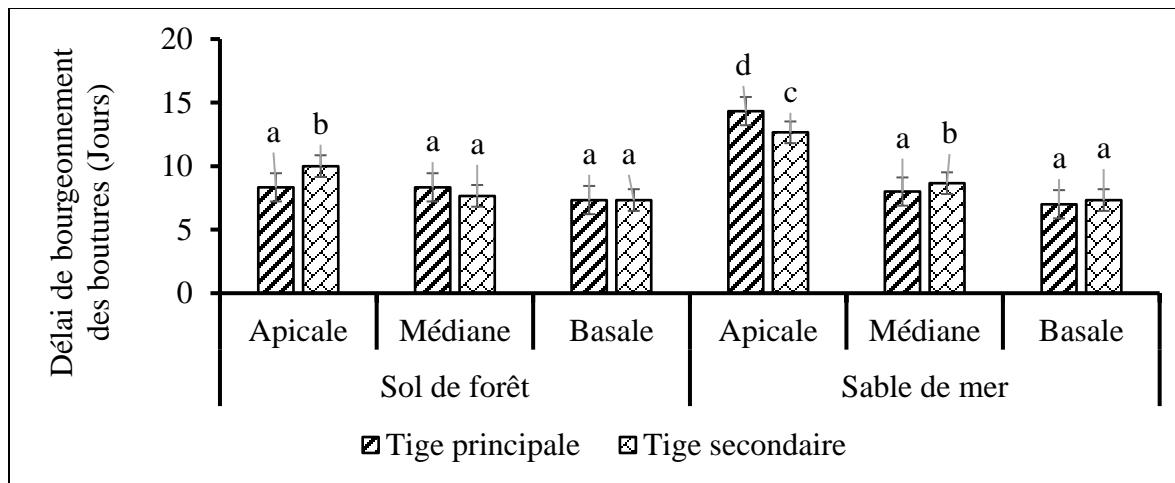


Figure 5 : Délais de débourrement des boutures en fonction de l'origine de la tige, du niveau de prélèvement sur la tige et du substrat d'ensemencement

Les histogrammes surmontés de la même lettre ne sont pas statistiquement différents au seuil de 5 % (test de Tukey) ; Apicale : bouture de la

partie apicale de la tige ; Médiane : bouture de la partie du milieu de la tige ; Basale : bouture de la partie basse de la tige

Tableau 2. Délai moyen de débourrement des boutures en fonction du niveau de prélèvement sur la tige

Niveau de prélèvement des boutures sur la tige	Délai d'apparition des bourgeons (Jours)
Apical	11,33 ± 0,73 a
Médian	8,17 ± 0,73 b
Basal	7,25 ± 0,73 b

(± σ) ; les moyennes suivies de la même lettre sont statistiquement identiques au seuil de 5% (test de Tukey)

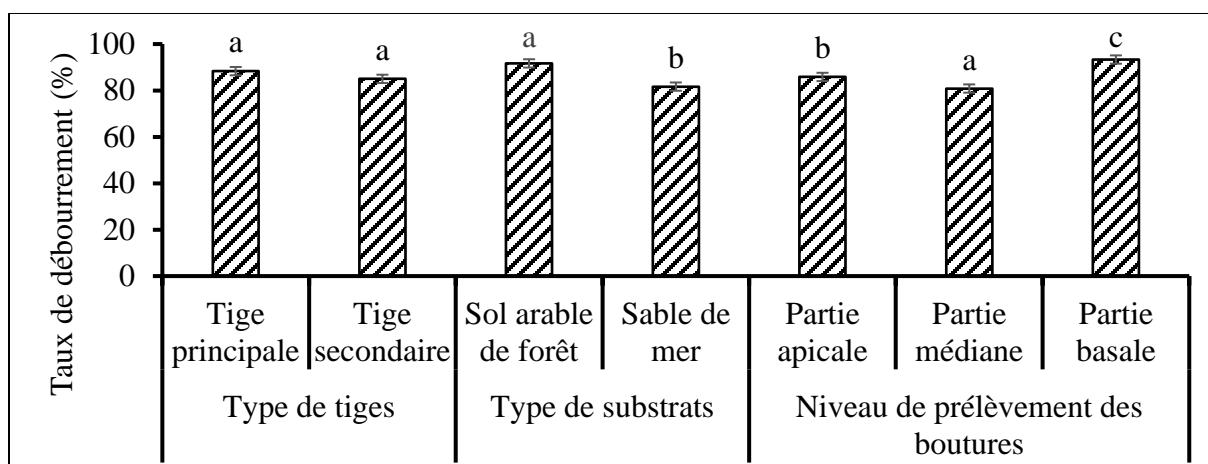
4.2 Effet de l'origine des tiges, du niveau de prélèvement des boutures et la nature du substrat sur le taux de débourrement : L'analyse des résultats consignés dans le Tableau 3 a montré que le taux de débourrement des boutures a globalement varié de 70 à 100 %. Cependant, pour un substrat donné, les taux de débourrement des boutures prélevées à différents niveaux de la même catégorie de tige (principale ou secondaire) n'ont pas présenté de différence significative selon le test de Tukey au seuil de 5 %. De même, les taux de débourrement des boutures d'un même niveau, prélevées sur les tiges principales et secondaires, et ensemencées sur les deux types de substrats n'ont pas présenté de différence

significative ($p > 0,05$). Le taux de débourrement calculé pour chaque catégorie de tige a été de 88,33 et 85 % respectivement pour les tiges principale et secondaire (Figure 6). Ces deux valeurs sont statistiquement identiques entre elles ($p = 0,388$) selon le test U de Mann-Whitney. Concernant, les substrats, les taux respectifs de 91,66 % et 81,66 % pour les boutures ensemencées dans le sol arable de forêt et le sable de mer sont statistiquement différents ($p = 0,010$) selon le test U de Mann-Whitney (Figure 6). De même, les taux de débourrement des boutures issues des parties basale (93,33 %), médiane (80,83 %) et apicale (85,83%) ont eu une différence statistique ($p < 0,05$) selon le test de Tukey (Figure 6).

Tableau 3. Taux moyen de débourrement des boutures prélevées à différents niveaux des tiges principales et secondaires et placées sur deux types de substrat.

Niveau de prélèvement des boutures	Substrats			
	Sol de forêt		Sable de mer	
	Tige principale	Tige Secondaire	Tige principale	Tige Secondaire
Apical	90 ± 10 ^{a1}	90 ± 5,77 ^{a1}	86,66 ± 6,66 ^{a1}	76,66 ± 6,66 ^{a1}
Médian	93,33 ± 3,33 ^{a1}	83,33 ± 8,81 ^{a1}	70 ^{a1}	76,66 ± 3,33 ^{a1}
Basal	100 ^{a1}	93,33 ± 6,66 ^{a1}	90 ± 5,77 ^{a1}	90 ^{a1}

Chaque valeur est la moyenne de 3 répétitions ± erreur standard. Les moyennes suivies avec les mêmes lettres alphabétiques ne sont pas statistiquement différentes à la limite de 5 % selon le test de Tukey. Dans chaque ligne, les moyennes suivies d'un même chiffre ne diffèrent pas statistiquement au seuil de 5 % selon le test de Tukey

**Figure 6.** Taux de débourrement des boutures de *G. simplicifolia* en fonction de l'origine des tiges, de la nature des substrats et du niveau de prélèvement

Les histogrammes portant la même lettre ne présentent aucune différence significative au seuil de 5% (test U de Mann-Whitney et de Tukey)

4.3 Effet de l'origine des tiges, du niveau de prélèvement des boutures et la nature du substrat sur le taux de développement des bourgeons en tiges feuillées : Les taux de développement des bourgeons en tiges feuillées obtenus après quatre mois de bourgeonnement des boutures, sont consignés dans le Tableau 4. Ces taux ont varié en fonction des différents paramètres étudiés. Les boutures prélevées sur la partie apicale des tiges secondaires et mises en culture sur le sol de forêt ont enregistré le plus fort taux de développement des bourgeons en tiges feuillées (76,66 %). Ce taux est suivi de celui des bourgeons provenant des boutures de la région apicale des tiges principales placées sur le sable de mer (56,66 %). Ces deux données ne sont pas

statistiquement identiques selon le test de Tukey à la limite de 5%. En dehors de ces deux valeurs, tous les taux de développement des bourgeons en tiges feuillées ont été inférieurs à 50 % dont le plus faible a été de 13,33 % avec les boutures prélevées à la partie basale des tiges secondaires et mises en culture sur le sable de mer (**Tableau 4**). Concernant le niveau de prélèvement des boutures, le taux de développement des bourgeons générés par les boutures des régions apicales a été plus élevé que celui des bourgeons formés par les boutures prélevées dans les parties basale et médiane des tiges (**Figure 7**). Les différents groupes décelés par le test de Tukey sont le groupe 1 correspondant à la partie apicale qui a eu le plus fort taux (50 %) et le groupe 2 qui prend en compte les parties



médiane et basale avec respectivement les taux de 28,33 et 26,66 % de formation des tiges feuillées.

Tableau 4. Taux moyen de développement des bourgeons de *G. simplicifolia* en tiges feuillées selon l'origine des boutures, le niveau de leur prélèvement sur la tige et le substrat d'ensemencement

Niveau de prélèvement des boutures	Substrats			
	Sol de forêt		Sable de mer	
	Tige principale	Tige Secondaire	Tige principale	Tige Secondaire
Partie apicale	43, 33 ± 6,66 ^{a2}	76, 66 ± 14,52 ^{c3}	56, 66 ± 3,33 ^{c2}	23, 33 ± 3,33 ^{a1}
Partie médiane	20 ± 5,77 ^{a1}	33 ± 3,33 ^{b1}	23, 33 ± 3,33 ^{a1}	36, 66 ± 12,01 ^{a1}
Partie basale	40 ± 10 ^{a1}	20 ± 5,77 ^{a1}	33, 33 ± 8,81 ^{b1}	13, 33 ± 6,66 ^{a1}

Chaque valeur est la moyenne de 3 répétitions ± erreur standard. Pour chaque les moyennes suivies avec les mêmes lettres alphabétiques ne sont pas statistiquement différentes à la limite de 5 % selon le test de Tukey. Pour chaque ligne, les moyennes suivies du même chiffre ne diffèrent pas statistiquement au seuil de 5 % selon le test de Tukey.

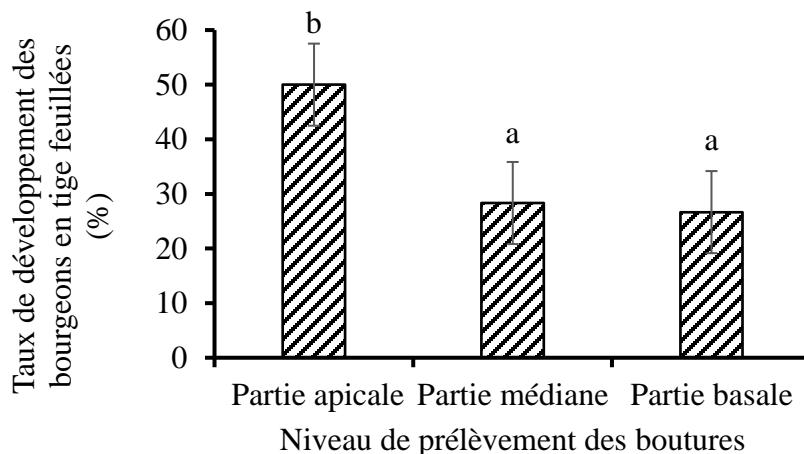


Figure 7. Taux de développement des bourgeons formés par les boutures prélevées à différents niveaux des tiges de *G. simplicifolia* en tiges feuillées. Les histogrammes portant la même lettre ne montrent aucun écart significatif à la limite 5% (test de Tukey)

4.4 Effet de l'origine de la tige, du niveau de prélèvement des boutures et de la nature du substrat sur le taux d'enracinement des tiges feuillées :

L'enracinement des tiges feuillées a permis de régénérer des plantules ou plantes entières, prêtes à être transférées au champ (**Figure 8 A**). Cependant, le taux d'enracinement a varié. L'analyse de la **figure 9** a montré trois groupes de tiges feuillées en fonction de leur taux d'enracinement. Le premier groupe renfermant

la majorité des tiges feuillées est composé de toutes celles qui ont été générées à partir des boutures médiennes et basales semées sur les deux types de substrat. À ce groupe, il faut ajouter les plantes feuillées provenant des boutures de la région apicale de la tige secondaire cultivées sur le sable de mer. Dans ce groupe, le taux d'enracinement a été inférieur à 20 %. Le deuxième groupe est composé des tiges feuillées issues des boutures prélevées dans la région apicale des tiges principales cultivées sur les deux



types de substrat. Le taux d'enracinement enregistré est inférieur à 40 % soit une valeur de 36,66%. Le troisième groupe qui ne renferme que les tiges feuillées générées par les boutures des régions apicales des tiges secondaires cultivées sur le sol arable de forêt, a eu le fort taux d'enracinement de 66,66 %. Les analyses statistiques effectuées ont montré une différence entre les trois groupes selon le test de Tukey au seuil de 5 %. Concernant le taux d'enracinement en fonction de l'origine de la tige fragmentée, les valeurs obtenues, 20 % pour les tiges principales et 22,88 % pour les tiges secondaires (**Figure 10**) sont statiquement identiques entre elles ($p = 0,371$) selon le test U de Mann-Whitney. Il en est de même pour les taux d'enracinement qui, selon

la nature du substrat de culture, ont été 25,55 % et 21,11 % respectivement sur le sol de forêt et sur le sable de mer. Ces taux n'ont pas présenté de différence significative ($p = 0,742$) selon le test U de Mann-Whitney (**Figure 10**). Cependant, le niveau de prélèvement des boutures a eu un effet significatif sur le taux d'enracinement des tiges feuillées. Ainsi, le taux le plus élevé (38,33 %) a été obtenu avec les tiges feuillées issues des boutures prélevées au niveau de la partie apicale des tiges. Ce taux est statistiquement différent des taux d'enracinement des tiges feuillées obtenues avec les boutures prélevées au niveau des parties médiane et basale qui ont été respectivement de 15,88 et 9,16 % (**Figure 10**).

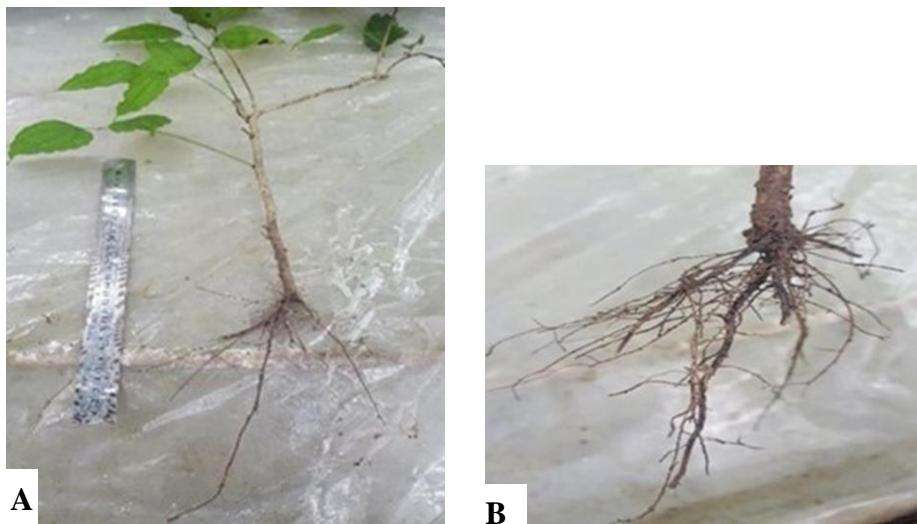


Figure 8

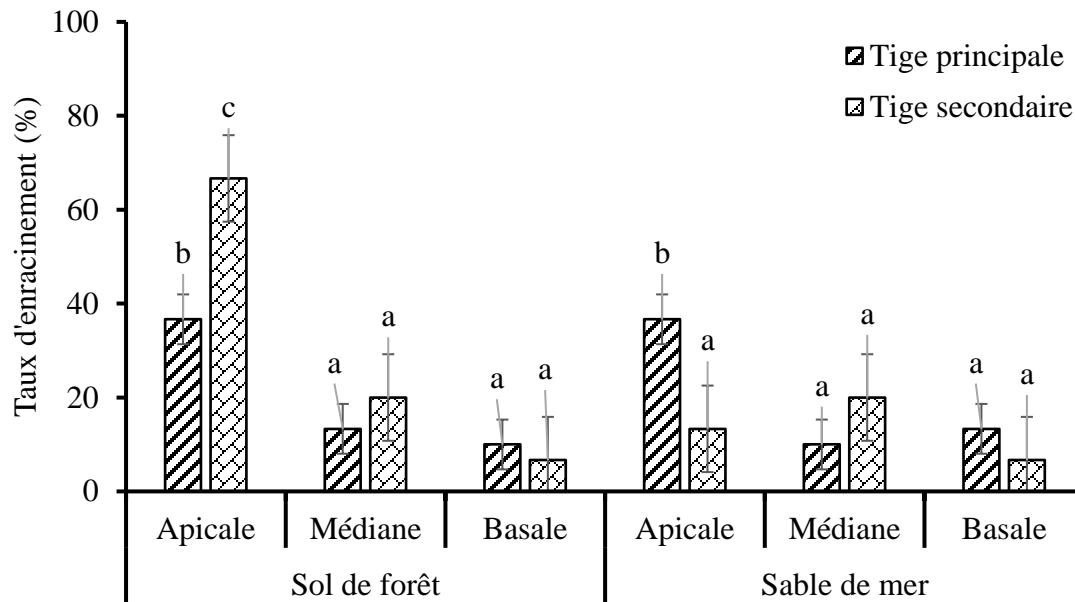


Figure 9. Taux moyen d'enracinement des tiges feuillées générées par les boutures prélevées à différents niveaux des tiges principales et secondaires et ensemencées sur deux types de substrat
Les histogrammes portant la même lettre ne montrent aucun écart significatif à la limite de 5% (test de Tukey) ; Apicale : bouture de la partie apicale de la tige ; Médiane : bouture de la partie médiane de la tige ; Basale : bouture de la partie basale de la tige

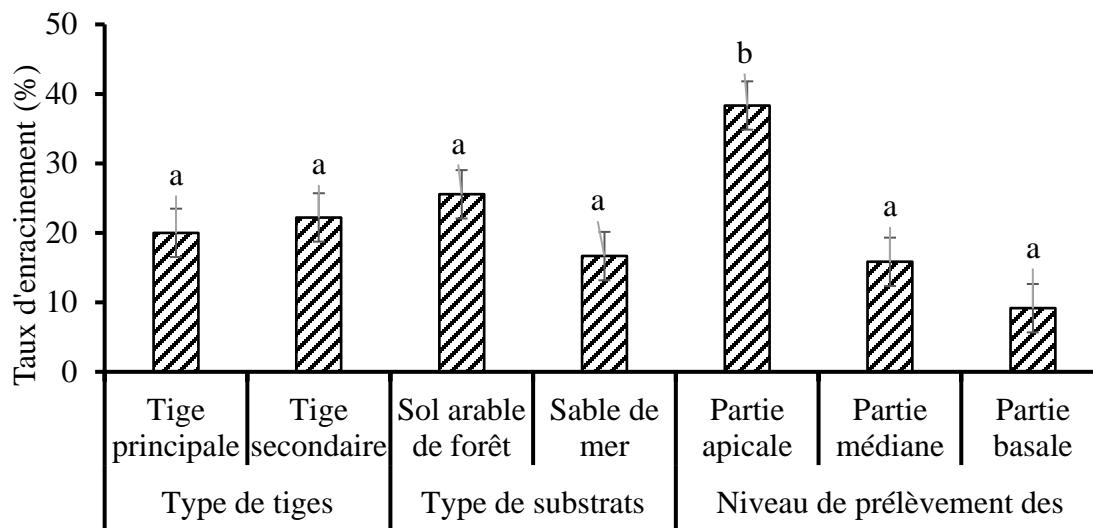


Figure 10. Taux d'enracinement des tiges feuillées de *G. simplicifolia* en fonction du type de tige, de la nature du substrat et du niveau de prélèvement

Les histogrammes portant la même lettre ne montrent aucun écart significatif à la limite de 5 % (test U de Mann-Whitney et de Tukey)



5 DISCUSSION

Le bouturage des fragments de tige ou de racine de plantes est une technique ancienne de multiplication végétative. Elle favorise l'obtention d'un nombre élevé de plantes avec les mêmes caractéristiques que la plante source. Cependant, les grandes étapes de cette méthode à savoir, le débourrement et l'enracinement, sont influencées par des facteurs endogènes modulés par les facteurs exogènes. Dans cette étude, les facteurs intrinsèques sont l'origine des tiges et le niveau de prélèvement des boutures. Outre la température et l'hygrométrie, le substrat d'ensemencement pourrait avoir une influence. Concernant la première étape, le court délai du débourrement des boutures prélevées au niveau des parties basale et médiane des tiges pourrait s'expliquer en partie par la rupture des corrélations et par les réserves stockées dans ces parties. En effet, le bourgeon apical exerce généralement une dominance nutritionnelle et hormonale sur les bourgeons axillaires. Après la suppression du bourgeon apical, les bourgeons axillaires des boutures issues des régions basale et médiane ne sont plus sous la dominance apicale (Agbogan *et al.*, 2014). De ce fait, les éléments nutritifs et les phytohormones accumulés dans ces boutures pourraient parvenir à ces bourgeons latents pour déclencher les divisions cellulaires nécessaires au débourrement c'est-à-dire à la croissance de ce dernier. Les phytohormones synthétisées par les plantes interviennent dans leur croissance en orientant leur morphogenèse (Gaspar *et al.*, 2003 ; Aliaki *et al.*, 2014). Les études conduites par Nanema *et al.* (2016) sur le contenu en phytohormones en particulier les teneurs en acide-indole3acétique (AIA-3), en gibberelline (GA3) et en kinétine des organes aériens de *Faidherbia albida* ont montré que leurs teneurs variaient en fonction des organes et de l'âge des plantes. Cela a été aussi constaté chez le bananier (Mazinga *et al.*, 2012). Cette répartition des phytohormones dirigerait l'organogenèse lors du bouturage. Ainsi, la forte concentration de l'acide-indole3acétique dans les apex et les jeunes feuilles où il est synthétisé pourrait retarder le débourrement des bourgeons des boutures issues des régions apicales (Gaspar

et al., 2003). La présence de ces substances a permis le débourrement des boutures prélevées à des niveaux différents des tiges quelle que soit leur origine. Cependant, la fluctuation du taux de débourrement (70 à 93,33 %) constatée au niveau des boutures issues de la partie médiane des tiges serait due à une mauvaise appréciation de la limite exacte de cette partie. De ce fait, certaines boutures regroupées dans cette catégorie appartiendraient soit aux boutures de la partie apicale soit à celles de la partie basale. Le taux de débourrement des boutures légèrement inférieur sur le sable serait dû au fait que ce substrat ne retenant pas suffisamment l'eau, favorise le dessèchement de la bouture qui ne peut pas absorber l'eau. Ceci pourrait perturber les divisions cellulaires nécessaires au débourrement. Le fait que le débourrement des boutures des tiges principales et secondaires soit identique pourrait suggérer une absence de dominance ou une dominance modulée chez cette espèce. Cette hypothèse pourrait se justifier par la ramification précoce des plantules obtenues ; les nutriments et les phytocomposés comme les hormones seraient alors distribués de manière équitable dans les deux types de tige. Cette explication pourrait être fournie pour ce qui concerne l'absence de différence entre les taux de débourrement des boutures prélevées à divers niveaux des tiges. Contrairement aux taux de débourrement qui a été identique chez toutes les boutures, le taux de développement de ces bourgeons en tiges feuillées a subi une variation. Le fort taux de formation des tiges feuillées observé chez les boutures issues des régions apicales pourrait s'expliquer à la fois par les nutriments accumulés et les régulateurs de croissance. En effet, les boutures issues des parties apicales des tiges comportaient des feuilles. Celles-ci ont certainement synthétisé des composés organiques comme les glucides via la photosynthèse. De plus, ces feuilles ont aussi synthétisé des phytohormones comme les auxines, les gibberellines et les cytokinines qui, en présence de nutriments, ont contribué à la croissance des bourgeons (Nanema *et al.*, 2016). Les travaux effectués par ces auteurs ont montré



effectivement que les organes aériens des plantes synthétisent les phytohormones. Ils ont pu doser l'acide indole 3-acétique (AIA-3), l'acide gibberellique 3 (GA3) et la kinétine dans les écorces, les rameaux et les feuilles de *Faidherbia albida*. La présence des feuilles a donc favorisé la formation des tiges feuillées. Chez les boutures provenant des parties médianes ou basales, le nombre réduit de feuilles ou leur absence a ralenti le développement des bourgeons. En dehors de ces réserves nutritionnelles et hormonales évoquées par Bationo (1994) dans le développement des bourgeons en tiges feuillées puis en plantules, la notion de l'âge des boutures pourrait aussi intervenir. En effet, les boutures des parties apicales contiendraient une quantité d'hormones en particulier d'auxine supérieure à celle des boutures issues des parties médianes et basales du fait que la synthèse de l'auxine s'effectue dans les organes jeunes de la plante (Roussel, 1974). Bationo (1994) qui a effectué les travaux sur les boutures caulinaires de *Guiera senegalensis* a noté que les boutures sans racine restent vivantes à cause des provisions nutritives amassées mais se terminent par s'affaiblir graduellement quand ces provisions s'amenuisent. Il en est de même pour les phytohormones comme l'acide-indole 3 acétique, la kinétine et la gibberelline qui interviennent dans les divisions cellulaires indispensables à la croissance de l'organe. Ces résultats se rejoignent à ceux des études d'Agbogan *et al.* (2014). Ces derniers ont observé que le taux de survie des segments de tige de *Sclerocarya birrea* prélevés dans les parties jeunes de la plante est supérieur à celui des segments issus des parties adultes. Il en est de même du taux d'enracinement des plantes feuillées générées par les boutures de la partie apicale qui a été également supérieur à celui des parties médiane et basale. Ce résultat s'expliquerait par l'état physiologique de ces boutures. En effet, les parties basales des tiges sont très lignifiées et

dépourvues de feuilles. Les tissus de ces boutures ne reçoivent pas de produits de photosynthèse nécessaires à la production de l'énergie métabolique et à la formation des parois pectocellulosiques. De plus, les cellules lignifiées sont très différenciées et ne peuvent pas se diviser pour que le processus de croissance soit entamé. Au total, ces boutures très lignifiées mettent difficilement en place les tiges feuillées et les racines. Les résultats de ces travaux s'apparentent à ceux d'autres chercheurs à l'instar d'Awosan *et al.* (2014) et Dao (2016). En effet, l'étude réalisée par Awosan *et al.* (2014) sur le niveau de prélèvement des boutures de *G. simplicifolia* a montré que les tiges feuillées issues des boutures des parties apicales ont obtenu le taux d'enracinement le plus élevé (20,55 %) comparativement aux taux des boutures prélevées dans les parties médiane et basale dont les taux ont été respectivement de 15,55 % et 9,44 %. Quant à l'étude de Dao (2016), elle a révélé que les boutures lignifiées de *Garinia kola* ont eu un taux d'enracinement plus faible (10 %) comparativement à celui des boutures non aoutées (53 %). Dans cette étude, si l'origine de la tige (tige principale et tige secondaire) ainsi que le type de substrat (sol de forêt et du sable) n'ont pas affecté de façon significative le délai et le taux de débourrement, le développement des bourgeons de *G. simplicifolia* en tiges feuillées et leur enracinement ont évolué selon ces facteurs. Le fort taux d'enracinement a été obtenu chez les boutures des régions apicales des tiges secondaires (66,66 %) sur sol arable de forêt. Ces résultats sont opposés à ceux de Mapongmetsem *et al.* (2012) relatifs à l'enracinement des boutures de *Vitex doniana* Sweet sur divers substrats. Ces auteurs ont montré que les substrats terre noire/sciure, terre noire/sable et sable/sciure n'ont pas influencé le taux d'enracinement des boutures de cette espèce.



6 CONCLUSION.

Au terme de cette étude, on peut retenir que la multiplication végétative de *Griffonia simplicifolia* peut être obtenue par bouturage des tiges principale et/ou secondaire. Toutes les parties des tiges produisent des bourgeons. Cependant,

ce sont les boutures issues des parties apicales qui régénèrent des taux de plus de 50 % de plantes entières. Cette technique peut être améliorée par l'utilisation de fertilisants et d'hormones rhizogènes.

7 RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Agbogan A, Bammite D, Tozo Z. et Akpagana K: 2014. Contribution à la multiplication par graines et par bouturage de segments de tiges et de racines, de trois fruitiers spontanés de la région des savanes au Togo : *Haematoxaphis barteri* hook. f., *Lannea microcarpa* engl. & k. krauss et *Sclerocarya birrea* (a. rich.) hochst. *European Scientific Journal* 10(6): 7431 – 7881.
- Ahenkan A. et Boon E: 2008. Enhancing food security, poverty reduction and sustainable forest management in Ghana through non-timber forest products farming: Case study of Sefwi Wiawso District. GRIN Verlag, Nordestedt Germany, ISBN 364014300X,
- Attele AS, Xie JT. et Yuan CS: 2000. Treatment of insomnia: an alternative approach. *Alternative Medicine Review* 5: 249-259.
- Aliaki E, Etse K D, Glato K, Pitekelabou R, Koba K, Aïdam A: 2014. Effets de deux phytohormones exogènes et du NaCl sur la morphogenèse in vitro d'*Ocimum canum* Sims *European scientific journal*, 10 (33), 433-444
- Awosan E A, Oni PI et Akinyele AO: 2014. Effect of cutting positions and growth regulators on rooting ability of *Griffonia simplicifolia* (Vahl ex DC.) Baill. *Environment and Forestry* 75 : 27588-27591
- Bationo BA : 1994, Étude des potentialités agroforestières, de la multiplication et des usages de *Guiera senegalensis*, Mémoire d'ingénieur, Institut du Développement Rural, Université de Ouagadougou, 67 p.
- Birdstall TC: 1998. 5-Hydroxytryptophan, a clinically effective serotonin precursor. *Alternative Medicine Review* 3 (4): 271-280
- Brendler T, Eloff JN, Gurib-Fakim A et Phillips L D: 2010. African Herbal Pharmacopoeia. Graphic Press Ltd : Baie du Tombeau, Mauritius, 121-126.
- Bosch CH: 2008. *Griffonia simplicifolia* (Vahl ex DC.) Baill. In: Schmelzer, G.H. & Gurib-Fakim, A. [CD-Rom]. PROTA, Wageningen, Netherlands (Editors). Prota 11(1). *Medicinal plants/Plantes médicinales* 1, 868 pp
- Carnevale G, Di Viesti V, Zavatti M. et Zanolini: 2011. Anxiolytic-like effect of *Griffonia simplicifolia* Baill. Seed extract in rats. *Phytomedicine* 18(10) : 848-851.
- DAO JP: 2016. Étude des possibilités de domestication des produits forestiers secondaires : essais de multiplication végétative par bouturage des tiges de *Garcinia kola* Heckel (Clusiaceae). Mémoire de master de production végétale, Université Nangui Abrogoua Abidjan Côte d'Ivoire. 35p
- Den Boer JA. et Westenberg HG: 1990. Behavioral, neuroendocrine, and biochemical effects of 5-hydroxytryptophan administration in panic disorders. *Psychiatric Research* 31:267-278.
- Djaha AJB et Gnathoua GM: 2014. Contribution à l'inventaire et à la domestication des espèces alimentaires sauvages de Côte d'Ivoire. *Journal of Applied Biosciences* 78, 6620-6629
- Gaspar Th, Kevers C, Faivre-Rampant O, Crèvecoeur M, Penel C, Greppin H. et Dommes J : 2003. Changing concepts in plant hormone action. *In Vitro Cellular, Developmental Biology. – Plant* 39: 85-106,
- Halford JCG, Harrold JA, Boyland JE, Lawton CL et Blundell JE: 2007. Serotonergic



- drugs: effects on appetite expression and use for the treatment of obesity. *Current Drug Targets* 67(1) : 27-56.
- Juliani HR, Amekuse L, Asante-Dartey J, Govindasamy R et Simon JE : 2013. Non-timber forest products: An Ethnobotanical Survey and Value Chain Study. People, Rules and Organizations Supporting the Protection of Ecosystem Resources (PROSPER), USAID/Liberia, Monrovia, Liberia.
- Joshi AR. et Joshi K: 2000. Indigenous knowledge and uses of medicinal plants by local communities of the Kali Gandaki Watershed Area, Nepal. *Journal of Ethnopharmacology* 73: 175 - 183.
- Kumar PS, Praveen T, Jain NP. et Jitendra B : 2010. A review on *Griffonia simplicifolia* an ideal herbal antidepressant. *International Journal of Pharmacy & Life Sciences* 1(3):174-181.
- Kim K, Juliani HR, Bucuk M, Acquaye D, Asante-Dartey J, Wu Q. et Simon J: 2009. Quality control and 5-HTP (5-Hydroxy-L-tryptophan) analysis of griffonia (*Griffonia simplicifolia* (DC.) Baill.) Seed Accessions Collected in Ghana. African Natural Plant Products: Discoveries and Challenges in Quality Control. *American Chemical Society Symposium Series* 1021, 381-390.
- Lang R, Dieminger N, Beusch A, Lee Y, Dunkel A, Suess B, Skurk T, Wahl A, Hauner H. et Hofmann T: 2013. Bioappearance and pharmacokinetics of bioactives upon coffee consumption. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 405 (26): 8487-8503.
- Larmie ET. et Poston L: 1991. The in vitro effects of griffonin and ouabain on erythrocyte sodium content obtained from normal subjects and sickle cell patients. *Planta Medica* 57(2): 116-118.
- Larry CH: 2017. An environmental and economic approach to the development and sustainable exploitation of non-timber forest products (ntfp) in Liberia. A dissertation submitted to the Graduate School-New Brunswick Rutgers, The State University of New Jersey Liberia. P 263.
- Lemaire P A. et Adosraku R K: 2002. An HPLC method for the direct assay of the serotonin precursor, 5-hydroxytryptophan, in seeds of *Griffonia simplicifolia*. *Phytochemical Analysis* 13: 333-337.
- Loftis JM. et Turner EH: 2010. Novel treatment strategies for depression in patients with hepatitis C. *Psychosomatics* 51(4):357-358.
- Mapongmetsem PM, DJoumessi MC, Fawa G, Doumara GD, Noubissie YTM, Tchiagam JB, Avana TML. et Bellefontaine R: 2012. Domestication de *Vitex doniana* Sweet. (Verbenaceae) : influence du type de substrat, de la stimulation hormonale, de la surface foliaire et de la position du nœud sur l'enracinement des boutures uninodales. *Journal of Agriculture and Environment for International Development* 106, 23- 45.
- Mazinga K.M, Godoy MJ, Longanza BL, Sikuzani UY. et Koninckxloo VM: 2012. Détermination des teneurs en phytohormones endogènes des organes caulinaires et racinaires des hybrides de bananier (*Musa* sp.). *Journal of Applied Biosciences* 58: 4243- 4250.
- Nanema SL, Nana R, Nguinambaye MM, Konate B, Badiel B, DJINET AI. et Tamini Z : 2016. Les teneurs en phytohormones des organes aériens de *Faidherbia albida* (Del) A. Chevalier au cours de la période froide et sèche au Burkina Faso. *Journal of Applied Biosciences* 107: 10395-10406.
- Neuwinger HD: 2000. African Traditional Medicine. A Dictionary of Plant Use and Applications. Medpharm Scientific Publishers, Stuttgart, Germany.
- Prasad P: 2009. Impact of cultivation on active constituents of the medicinal plants *Podophyllum hexandrum* and *Aconitum heterophyllum* in Sikkim PGR. *Newsletter FAO Biodiversity* 124: 33 - 35.



- Roussel L : 1974. Les auxines, agents essentiels de la croissance des végétaux. *Bois et Forêts des Tropiques* 158: 1- 51.
- Singh J, Singh AK. et Khanuja SPS : 2003. Medicinal plants: India's opportunities. *Pharma Bio World* 1: 59-66
- Wang XZ, Wu FH, Qu W et Liang JY : 2013. A New β -carboline alkaloid from the seeds of Griffonia simplicifolia. *Chinese Journal of Natural Medicines* 11(4) : 401-405
- Zhou J, Chan L. et Zhou S: 2012. Trigonelline: a plant alkaloid with therapeutic potential for diabetes and central nervous system disease. *Current Medicinal Chemistry* 19 (21) : 3523-3531.