



# Sauvegarde de la variété hybride PB121 de cocotier (*Cocos nucifera* L.) sous forte pression anthropique au Bénin par les techniques de culture *in vitro*

Arnaud AGBIDINOUKOUN<sup>1\*</sup>, Euloge Rimson SOMAKPE<sup>1</sup>, Florent ENGELMANN<sup>2</sup> et Corneille AHANHANZO<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratoire Central des Biotechnologies Végétales et d'Amélioration des Plantes, Faculté des Sciences et Techniques (FAST), Université d'Abomey-Calavi (UAC), 01BP526 Cotonou, Bénin.

<sup>2</sup>Institut de Recherche pour le Développement (IRD), Représentation Bénin, 08 BP 841 Cotonou, Bénin.

\*Contact auteur: [arnaudag2002@yahoo.fr](mailto:arnaudag2002@yahoo.fr), tel: 00229 95 15 23 75

## Résumé

Le cocotier (*Cocos nucifera* L.) est une espèce à grande valeur économique qui contribue considérablement à la sécurité alimentaire et à la création d'emploi et de revenus. Au Bénin, la forte pression anthropique exercée essentiellement sur les noix immatures, le vieillissement des plantations et la quasi inexistence d'un programme d'amélioration et de production de semences qualitativement et quantitativement disponibles sont à la base d'une diminution progressive des plantations. L'objectif poursuivi par ce travail est de contribuer à la sauvegarde des variétés de cocotier cultivées au Bénin et spécifiquement de l'hybride PB121 à travers la conservation *ex situ*. Pour ce faire, des fruits mûrs de l'hybride PB121 ont été sélectionnés 12 à 14 mois après pollinisation contrôlée à la station du Centre de Recherches sur les Plantes Pérennes. Des embryons zygotiques ont été prélevés de ces fruits puis désinfectés suivant quatre traitements combinant trois doses d'hypochlorite de sodium (3%, 6% et 15%) et trois durées d'immersion (5, 10 et 15 minutes) avant d'être cultivés *in vitro* sur le milieu Y3 supplémenté de 0,7% d'agar, 2,5g/l de charbon actif, 5% de sucrose. Après germination, un lot des pousses a subi la suppression de leur haustorium afin d'évaluer son impact sur la croissance des vitroplants. Le fort taux de survie a été de 80% avec 6% d'hypochlorite de sodium pendant une durée d'immersion de 20 minutes sans pré-désinfection préliminaire. La suppression de l'haustorium a significativement augmenté le nombre de feuilles ( $4,3 \pm 0,02$ ) et la hauteur des plantules ( $16,2 \pm 0,7\text{cm}$ ) comparé à ceux des embryons zygotiques entiers. Les plantules régénérées ont passé huit mois sur le milieu à charbon actif sans repiquage, ce qui constitue déjà une conservation à moyen terme. Les apex des jeunes pousses obtenues dans le présent travail seront utilisés pour développer des protocoles de conservation à long terme par cryoconservation.

**Mots clés :** Bénin, *Cocos nucifera* L., Conservation *ex situ*, Organogenèse directe, Régénération *in vitro*.

## CONTEXTE ET OBJECTIFS

L'abattement intensif des plants de cocotiers dans la région côtière de Sèmè (Sud-Bénin) ces dernières années a engendré une grande perte du matériel (plants) disponible sur la station du Centre de Recherches Agricoles Plantes Pérennes (CRAPP-Sèmè). Face à cette contrainte, il urge de sauvegarder les variétés intéressantes et qui sont sujettes à une forte pression anthropique. Les méthodes de culture *in vitro* des tissus et organes ont été largement utilisées dans la production de semences et de conservation des espèces (Engelmann et al., 2011) et d'échange de germoplasmes sains entre pays (Fuentes et al., 2006; Adkins et al., 2020).

### Objectif général

Contribuer à la sauvegarde des variétés de cocotier cultivées au Bénin par usage des techniques de culture *in vitro*.

### Objectifs spécifiques

- i: déterminer la concentration de l'hypochlorite de sodium (NaClO) et la durée d'immersion optimales pour une meilleure survie des embryons zygotiques cultivés *in vitro*;
- ii: évaluer l'impact de la suppression de l'haustorium sur la croissance des vitroplants régénérés.

## MATERIEL ET METHODES

L'expérimentation a été réalisée sur l'hybride PB121 (Nain Jaune Malais × Grand Ouest Africain) reconnu comme à haut potentiel de production et dont les noix sont très appréciées par les populations.

Les fruits mûrs ont été sélectionnés 12 à 14 mois après pollinisation contrôlée. Les embryons somatiques ont été prélevés en conditions stériles et soumis à quatre traitements de désinfection avant d'être ensemencés sur le milieu de culture Y3 modifié. Après germination des embryons, un lot a subi la suppression de leur haustorium afin d'évaluer son impact sur la croissance des pousses.

## REFERENCES

- Adkins S, Foale M, Bourdeix R. Coconut Biotechnology: Towards the Sustainability of the "Tree of Life". 2020; 1-282.
- Engelmann F, Malaurie B, N'Nan O. *In vitro* culture of coconut (*Cocos nucifera* L.) zygotic embryos. In Plant Embryo Culture. Humana Press. 2011; 63-72.
- Fuentes G, Talavera C, Desjardins Y, Santamaría JM. Protocol to achieve photoautotrophic coconut plants cultured *in vitro* with improved performance *ex vitro*. In Methods in Molecular Biology, Plant Cell Culture Protocols, Second Edition Edited by: V. M. Loyola-Vargas and F. Vázquez-Flota © Humana Press Inc., Totowa, NJ. 2006; 318:131-144.

## PRINCIPAUX RESULTATS

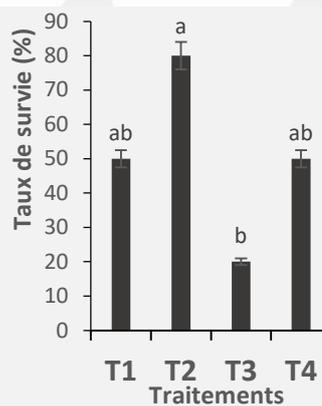


Figure 1 : Comparaison des taux de survie des embryons zygotiques en fonction des traitements

T1= 3% NaClO (pré-désinfection) + 6% NaClO (désinfection); T2= 6% NaClO (désinfection); T3= 3% NaClO (pré-désinfection) + 15% NaClO (désinfection); T4= 15% NaClO (désinfection).

- Influence hautement significative ( $p < 0.0001$ ) de la concentration du NaClO et de la durée d'immersion sur le taux de survie des embryons zygotiques.
- Meilleur traitement: T2 (6% de NaClO et 20min d'immersion sans pré-désinfection préalable avec un taux de survie de 80%.

(A) embryon extrait de la noix; (B) embryon ayant initié plumule et racicule; (C) embryon entier ayant régénéré racine et gemmule; (C') embryon excisé ayant régénéré une pousse (D) plantule régénéré à partir d'embryon entier; (D') plantule régénéré à partir d'embryon excisé.

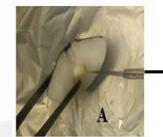


Figure 2 : Stades de développement des vitroplants au cours de la culture *in vitro* d'embryons zygotiques

- Meilleure croissance après suppression de l'haustorium des embryons zygotiques.



Figure 3: Vitroplants de cocotiers de cinq mois en phase d'acclimatation

B: Vitroplant issu de l'embryon entier

B': Vitroplant issu de l'embryon dont l'haustorium a été supprimé après germination

## CONCLUSION ET PERSPECTIVE

Les embryons zygotiques ont été désinfectés avec succès par immersion dans une solution de NaClO à 6% pendant 20 minutes sans pré-désinfection. La suppression de l'haustorium a permis d'améliorer significativement la croissance des plantules régénérées qui ont passé huit mois sur le milieu à charbon actif sans repiquage, ce qui constitue déjà une conservation à moyen terme.

Les apex des jeunes pousses obtenues seront utilisés pour développer des protocoles de conservation à long terme par cryoconservation.

