

NOTES TECHNIQUES

TECHNISCHE NOTA'S

TECHNICAL NOTES

NOTAS TÉCNICAS

Microgreffage de quatre espèces ligneuses sahéliennes (*Acacia senegal*, *Faidherbia albida*, *Tamarindus indica* et *Ziziphus mauritiana*) en vue de leur rajeunissement

P. Danthu^{1,2}, B. Hane³, M. Touré³, P. Sagna², M. Sagna², S. Bâ², Marie-Anne de Troyer^{4,5} & P. Soloviev^{4,5}

Keywords: *Acacia senegal* - *Faidherbia albida* - *Tamarindus indica* - *Ziziphus mauritiana* – Micrografting - Rejuvenation – Sahel

Résumé

Cette note décrit une méthodologie de rajeunissement pour quatre ligneux sahéliens: *Acacia senegal*, *Faidherbia albida*, *Tamarindus indica*, *Ziziphus mauritiana*. Elle a consisté à prélever stérilement un explant mesurant 5-10 mm et à le microgreffer sur un jeune plant élevé in vitro. Les principaux facteurs de réussite sont l'âge du porte-greffe (de deux à six semaines selon l'espèce), le niveau de greffage (sur hypocotyle plutôt que sur épicotyle) et la nature du greffon (les apex ont une meilleure réactivité que les noeuds axillaires). La méthode a été appliquée au rajeunissement d'arbres adultes. Le critère de rejuvenilisation retenu est l'aptitude à l'enracinement des microboutures prélevées sur le greffon. L'effet rajeunissant du microgreffage dépend de l'espèce, du mode de mobilisation des premières copies végétatives et du nombre de cycle de microgreffages. Chez *F. albida* dont la mobilisation des sujets adultes est réalisée par bouturage de racines, un tiers des microboutures s'enracinent après un seul cycle et 75% après un second. Pour *Z. mauritiana* mobilisé par greffage horticole, un quart des microboutures prélevées sur les greffons a réacquis l'aptitude à l'enracinement après deux cycles de microgreffage. Aucun enracinement n'est constaté pour *A. senegal* et *T. indica* mobilisés par bouturage horticole.

Summary

Micrografting of Four Sahelian Trees (*Acacia senegal*, *Faidherbia albida*, *Tamarindus indica* and *Ziziphus mauritiana*) with a View to their Rejuvenation. This paper proposes a protocol of rejuvenation of four Sahelian ligneous species: *Acacia senegal*, *Faidherbia albida*, *Tamarindus indica* and *Ziziphus mauritiana*. It consists in aseptically removing a small scion (5-10 mm in length) and in micrografting it on to a seedling grown in vitro used as rootstock. The main elements of success are the age of the rootstock (two to six weeks depending on species), the level of grafting (on hypocotyl instead of epicotyl) and the origin of the scion (apex have higher growth after micrografting than axillary buds). The method developed was applied to the restoration of juvenile traits of adult trees. The main criterion is the rooting ability of microcuttings sampled on scions, after micrografting. Rooting competence restoration depends on the species, the nature of the first copy of the donor tree and the number of cycles of micrografting. The rejuvenation was more definite for *F. albida*, mobilised by root cuttings. In this case, one third of the microcuttings rooted after the first cycle of micrografting and 75% after the second. For *Z. mauritiana* mobilised by horticultural budding, 25% of microcuttings were rooted after the second successive micrograft. No restoration of rooting competence was obtained with *A. senegal* and *T. indica* mobilised by cutting.

Introduction

Acacia senegal Willd., *Faidherbia albida* (Del.) A. Chev., *Tamarindus indica* L. et *Ziziphus mauritiana* Lam. sont quatre ligneux des zones tropicales sèches d'Afrique dont les produits font l'objet d'un important commerce local, transfrontalier ou international. *A. senegal* produit la gomme arabique qui est exportée pour être utilisée

dans les industries cosmétiques ou alimentaires. *F. albida*, "l'arbre miracle du Sahel", est une légumineuse fixatrice d'azote à usages multiples très utilisée en agroforesterie. Le tamarinier (*T. indica*) et le jujubier (*Z. mauritiana*) sont deux espèces dont les fruits sont abondamment consommés (3, 20).

1. CIRAD-Forêt, B.P. 1716, Dakar, Sénégal

2. ISRA/C.N.R.F., URCI, B.P. 2312, Dakar, Sénégal

3. Université Cheikh Anta Diop, B.P. 5005, Dakar, Sénégal

Adresse de correspondance: Pascal Danthu - CIRAD-Forêt - B.P. 2312 - Dakar, Sénégal - Fax: +221-832-29-95 - Corriel: pascal.danthu@cirad.fr

Reçu le 04.01.01 et accepté pour publication le 14.02.01

4. Coopération APEFE Wallonie-Bruxelles, B.P. 6279, Dakar, Sénégal

5. Centre de Formation Professionnelle Horticole, B.P. 3284, Dakar Sénégal

Afin de répondre aux besoins des populations et de l'industrie, des programmes d'amélioration et de domestication de ces espèces ont été entrepris au Sénégal. Ils sont basés sur la sélection et le clonage de sujets élités, qui bien que ne constituant pas une opération d'amélioration *stricto sensu*, permet des gains génétiques importants par la fixation rapide des caractères sélectionnés (19).

La plupart des ligneux adultes sont difficiles à propager végétativement et demandent à être rajeunis avant de pouvoir être clonés. Les techniques de culture *in vitro* sont connues pour être des outils appropriés pour ce rajeunissement (2, 7). En particulier, de nombreux travaux ont montré l'intérêt du microgreffage en cascade: les greffons prélevés sur des sujets adultes réacquièrent au fur et à mesure des cycles de microgreffage sur de jeunes porte-greffe des caractères juvéniles et en particulier l'aptitude à l'enracinement (7, 9, 10, 17, 18). A ce jour, peu de travaux ont porté sur le rajeunissement des espèces de zones tropicales sèches. Seules quelques études préliminaires concernant *F. albida* ou *A. senegal* ont été menées (6, 15). Nos travaux ont pour but de définir et/ou d'optimiser les méthodes de microgreffage pour *A. senegal*, *F. albida*, *T. indica* et *Z. mauritiana*. Dans un premier temps, ils ont porté sur du matériel juvénile. La seconde partie de l'étude a concerné l'application des protocoles ainsi définis, au rajeunissement de sujets âgés mesuré par l'aptitude à l'enracinement des microboutures prélevées sur les greffons à l'issue de chaque cycle de microgreffage.

Matériel et méthodes

Origine et élevage des porte-greffe

Les porte-greffe sont des jeunes plants élevés *in vitro*. Les graines ont été récoltées au Sénégal (Tableau 1) et conservées en chambre froide jusqu'à utilisation. Un trempage dans une solution d'acide sulfurique concentré (H_2SO_4 , 95%) d'une durée adaptée à chaque espèce (Tableau 1) a permis, en une seule étape, de lever les inhibitions tégumentaires et de désinfecter les graines. Les porte-greffe sont élevés en tube sur une motte Milcap® de 3 cm de long (fibres de polypropylène tissées) imbibée par 12 ml de milieu de culture liquide. Le milieu utilisé est celui de Murashige et Skoog (14) dont

les macroéléments ont été dilués de moitié (MS/2), additionnés de saccharose (20 g.l⁻¹) et dont le pH a été ajusté à 5,7 avant autoclavage (110°C, 20 mn). Les porte-greffe ont été élevés une semaine à l'obscurité puis en jours longs (16 h de lumière par jour, 40 $\mu E.m^{-2}.s^{-1}$), 30°C le jour et 27°C la nuit.

Origine des greffons

Les microgreffons juvéniles utilisés dans la première partie de l'étude ont été prélevés sur des semis *in vitro* âgés de un mois.

Dans la seconde partie de l'étude, les greffons proviennent d'arbres adultes. Ils ont été prélevés soit dans le houppier des arbres, soit sur des copies horticoles [greffes, boutures de tiges ou boutures de racines (4, 5)] de ces mêmes arbres élevées en serre et périodiquement recépées (Tableau 1). Des fragments de tiges aoûtées ont été prélevés, désinfectés par un bref passage dans l'éthanol 70° suivi d'un trempage dans une solution de chlorure mercurique ($HgCl_2$ 0,1%, 15 mn), rincés abondamment à l'eau stérile puis débités en microboutures uninodales. Ces dernières ont été mises en culture sur le milieu MS/2 solidifié à l'agar (7 g.l⁻¹). Ce sont les pousses issues du développement des bourgeons axillaires pendant cette phase de préculture qui ont fourni les microgreffons.

Technique de microgreffage

Le microgreffage a consisté en une miniaturisation du greffage en fente terminale (10, 15). La motte Milcap portant le porte-greffe a été extraite du tube, le plant a été décapité et une fente diamétrale pratiquée au sommet. La base du microgreffon (pousse terminale ou noeud axillaire de 5 à 10 mm) taillée en simple biseau a été introduite dans la fente. La microgreffe a été ensuite ligaturée par une bande de Parafilm® stérile puis réintroduite dans le tube. Elle a été élevée à l'obscurité pendant une semaine puis en jours longs.

Induction de l'enracinement des microboutures

Les milieux d'enracinement des microboutures prélevées sur les microgreffons ont été définis à partir des résultats de travaux antérieurs. Pour *A. senegal* et *Z. mauritiana*, la phase d'enracinement a comporté une étape d'induction pendant cinq jours sur un milieu MS/2 gélosé contenant respectivement 50 μM d'ANA (acide

Tableau 1
Origine du matériel végétal utilisé dans l'étude.

Espèce	Matériel juvénile		Arbres adultes		
	Origine des semences	Traitement des graines	Origine des ortets	Age des arbres	Premières copies
<i>A. senegal</i>	Ranérou 13°58'W, 15°37'N	H_2SO_4 , 95% 15 mn	Dahra 15°30'W, 15°24'N	≈15 ans	Boutures horticoles
<i>F. albida</i>	Kagnobon 16°26'W, 12°51'N	H_2SO_4 , 95 % 30 mn	Nguekokh 17°03'W, 14°30'N	>40 ans	Boutures de racines
<i>T. indica</i>	Pamène 16°49'W, 14°6'N	H_2SO_4 , 95 % 10 mn	Bandia 17°01'W, 14°37'N	>40 ans	Greffes horticoles
<i>Z. mauritiana</i>	Kleur Sérigne Bamba 16°26'W, 13°52'N	H_2SO_4 , 95 % 5 mn	Dakar Bel-Air 17°26'W, 14°44'N	≈7 ans	Greffes horticoles

Tableau 2

Influence du niveau de greffage et de la nature du greffon sur la survie et la croissance des microgreffes (exprimées en cm) un mois après le greffage et sur la proportion de porte-greffe développant des rejets (bourgeons cotylédonnaires ou néoformés)

Espèce*	Niveau de greffage	Nature du greffon				Porte-greffe développant des rejets (%)
		Apex		Noeud axillaire		
		Survie (%)	Croissance (cm)	Survie (%)	Croissance (cm)	
<i>A. senegal</i>	Epicotyle	86	2,2±0,3	-		77
	Hypocotyle	91	3,2±0,2	91	3,7±0,9	10
<i>F. albida</i>	Epicotyle	82	3,5±0,6	-		75
	Hypocotyle	87	5,6±0,9	85	2,7±0,5	30
<i>T. indica</i>	Epicotyle	86	5,0±0,5	-		98
	Hypocotyle	91	5,7±0,3	92	4,0±0,5	0
<i>Z. mauritiana</i>	Epicotyle	90	4,2±0,5	-		35
	Hypocotyle	93	7,2±0,9	88	6,5±0,7	8

*greffes sur porte-greffe âgés de 2 semaines

Tableau 3

Effet de l'âge du porte-greffe sur la croissance des greffons (mesures faites un mois après greffage).

Espèce	Age des porte-greffe (semaine)*	Taille des greffons (cm)	Nombre de noeuds
<i>A. senegal</i>	2	2,8±0,2	3,4±0,1
	4	4,3±0,4	6,3±0,4
	6	4,6±0,5	6,2±0,3
<i>F. albida</i>	2	5,6±0,9	10,7±0,7
	4	6,1±1,0	10,3±1,0
	6	5,0±0,6	11,8±0,6
<i>T. indica</i>	2	5,7±0,5	6,1±0,3
	4	3,6±0,3	5,8±0,6
	6	3,3±0,5	4,5±0,6
<i>Z. mauritiana</i>	2	6,5±0,7	9,8±0,7
	4	6,5±0,4	9,4±0,6
	6	8,3±0,5	12,2±0,6

*: greffe sur hypocotyles

naphtalène acétique) et 50 µM d'AIB (acide indolyl butyrique) suivi d'un transfert sur un milieu dépourvu de régulateur (milieu d'expression) (1, 12). *T. indica* a été enraciné en présence de 5,7 µM d'AIA (acide indolyl acétique) (11) et *F. albida* sur un milieu contenant 2,5 µM d'ANA.

Analyses statistiques

Pour chaque condition expérimentale, les effectifs ont varié entre 40 et 48 greffes. Les intervalles de confiance des moyennes ont été calculés au seuil $P < 0,05$. Le niveau de signification du test χ^2 d'indépendance a été fixé à $P < 0,05$. Si l'hypothèse d'indépendance est rejetée, elle est notée "S" sinon elle est notée "NS".

Résultats

Le tableau 2 montre que la nature du greffon, apex ou noeud axillaire n'a pas d'effet sur la réussite du greffage ($\chi^2 \leq 2,4$; 1 ddl ; NS). Pour aucune espèce, la proportion de greffes survivantes est significativement

modifiée en fonction du niveau de greffage (sur l'hypocotyle ou l'épicotyle) ($\chi^2 \leq 1,0$; 1 ddl ; NS). Par contre, la croissance du greffon est toujours plus importante lorsque le greffage est réalisé sur hypocotyle, le gain de taille par rapport aux greffes sur épicotyle allant de 14% pour *T. indica* à 70% pour *Z. mauritiana*. Le tableau 2 montre aussi que le greffage sur épicotyle induit dans une forte proportion (de 35% pour le jujubier à 98% pour le tamarinier) le développement des bourgeons latents ou néoformés sur les porte-greffe. Le greffage sur hypocotyle élimine ce problème chez *T. indica* et le limite significativement chez les trois autres espèces ($\chi^2 \geq 11,3$; 1 ddl ; S).

Le tableau 3 met en évidence que la croissance des greffons est liée à l'âge du porte-greffe. Pour *A. senegal*, le développement du greffon est optimal si le porte-greffe est âgé de 4 ou 6 semaines au moment de la greffe. Pour *T. indica*, le greffage sur les porte-greffe les plus jeunes (2 semaines) est favorable au développement du greffon et limite la taille du cal cicatriciel qui est toujours important pour cette espèce. Pour *Z. mauritiana* la croissance optimale est obtenue sur les porte-greffe les plus âgés, alors que *F. albida* paraît relativement indifférent à l'âge du porte-greffe.

Le tableau 4 montre que, pour les quatre espèces, la survie et la croissance des greffons dépendent de l'âge de l'ortet sur lequel ils sont prélevés, selon la séquence suivante: semis *in vitro* > copie horticole d'un arbre adulte ≥ arbre adulte au champ. Pour *A. senegal* et *T. indica* aucun greffon prélevé dans le houppier d'un sujet adulte n'a survécu.

Le tableau 5 teste l'aptitude à l'enracinement des microboutures. Il montre que lorsqu'elles proviennent de copies horticoles de sujets adultes, aucun enracinement n'est constaté, sauf dans quelques cas pour *F. albida*. Si elles sont prélevées après un premier cycle de microgreffage, le pourcentage d'enracinement reste nul pour *A. senegal*, *T. indica* et *Z. mauritiana* alors que plus d'un tiers des microboutures de *F. albida* sont enracinées. Après un deuxième cycle de microgreffage, les trois-quarts des microboutures de *F. albida* se sont enracinées, proportion équivalente à celle obtenue avec le matériel juvénile ($\chi^2 = 1,2$; 1 ddl ; NS), de même qu'un quart des microboutures de jujubier. Aucun enracinement n'a été obtenu pour *A. senegal* et *T. indica*.

Tableau 4
Influence de l'origine des microgreffons sur leur survie et leur croissance estimées un mois après le greffage.

Espèce	Matériel juvénile		Arbres adultes		
	Critère mesuré	Semis <i>in vitro</i>	Copie horticole	Houppier	χ^2
<i>A. senegal</i>	Survie (%)	91	74	0	74,9 S
	Croissance (cm)	3,2 $\pm$ 0,3	0,2 $\pm$ 0,2	-	
<i>F. albida</i>	Survie (%)	92	75	25	47,3 S
	Croissance (cm)	6,7 $\pm$ 1,4	1,2 $\pm$ 0,3	0,1 $\pm$ 0,1	
<i>T. indica</i>	Survie (%)	93	25	0	73,9 S
	Croissance (cm)	4,9 $\pm$ 0,7	2,7 $\pm$ 1,7	-	
<i>Z. mauritiana</i>	Survie (%)	94	68	67	11,6 S
	Croissance (cm)	6,6 $\pm$ 0,3	4,6 $\pm$ 0,4	1,3 $\pm$ 0,6	
	χ^2 (survie)	0,5 NS	29,2 S	69,0 S	

Tableau 5
Effet du nombre de cycles de microgreffage sur l'aptitude des microboutures à s'enraciner (le pourcentage d'enracinement de microboutures prélevées sur du matériel juvénile est donné à titre de comparaison).

	Origine des microboutures	Espèce			
		<i>A. senegal</i>	<i>F. albida</i>	<i>T. indica</i>	<i>Z. mauritiana</i>
Sujet juvénile	Semis <i>in vitro</i>	66	86	39	70
Arbre adulte	Copie horticole	0	2	0	0
	1 ^{er} cycle de microgreffage	0	37	0	4
	2 ^{ème} cycle de microgreffage	0	75	0	25

Discussion

Notre étude a permis de définir une méthode de microgreffage applicable au rajeunissement et au clonage de divers ligneux des zones tropicales sèches. Cette méthode adapte les protocoles décrits par Huang *et al.* (10) ou Palma *et al.* (15). Le greffon n'est pas un méristème comme dans les protocoles d'éradication des virus (13) mais un apex ou un noeud axillaire de plus grande taille (quelques millimètres). L'utilisation d'un tel matériel végétal facilite les micromanipulations qui sont alors réalisables à l'oeil nu et permet d'obtenir des taux de survie élevés.

Le niveau de greffage (hypocotyle ou épicotyle) n'influe pas sur le taux de réussite du greffage, par contre, les greffes sur hypocotyle induisent, pour les quatre espèces, un meilleur développement du greffon. Ceci peut s'expliquer par le fait que le greffage sur épicotyle entraîne une levée de la dominance apicale permettant le débourrement des bourgeons cotylédonnaires et leur développement aux dépens du greffon. Le greffage sur hypocotyle élimine *de facto* ce risque. On note cependant le développement de bourgeons cotylédonnaires dans quelques cas de greffage hypocotylaïre chez *A. senegal* et *Z. mauritiana*. Comme l'a montré Palma-Lutjens (16), ceci s'explique par un niveau de décapitation trop haut qui n'élimine pas complètement la série verticale de bourgeons latents située à l'aisselle des cotylédons et permet le débourrement des bourgeons de niveau inférieur. Pour *F. albida*, les bourgeons développés par l'hypocotyle du porte-greffe sont très certainement issus de néoformation car ils apparaissent même si la décapitation du porte-greffe est réalisée très en

deçà du niveau cotylédonnaire. Notre étude a aussi montré que la vigueur du greffon est liée à l'âge du porte-greffe au moment du microgreffage mais sur ce point, les comportements de nos espèces sont divergents. Ainsi, *T. indica* et *F. albida* demandent à être greffés sur des porte-greffe plus jeunes que *Z. mauritiana* ou *A. senegal*. Ceci pourrait être lié au rythme de développement des plantules: très rapide pour les deux premières espèces, beaucoup plus lent pour les secondes. Nos résultats mettent aussi en évidence une différence de comportement des microgreffes liée à la nature du greffon. Le développement des greffons est plus faible si celui-ci est un noeud axillaire plutôt qu'un apex. Cette différence de réactivité *in vitro* entre les bourgeons axillaires et apicaux a souvent été notée dans les essais de micropropagation. Elle est la conséquence probable de différences physiologiques liées à des variations de niveaux de réserves nutritives ou de concentrations en régulateurs de croissance.

Nos résultats montrent que les microgreffes réalisées avec des greffons prélevés sur les arbres adultes sont significativement moins réactives que celles utilisant du matériel végétal juvénile. Les greffes réalisées avec des greffons prélevés sur des copies horticoles d'arbres adultes présentent une survie et une vigueur intermédiaire. Ce comportement déjà signalé sur *Persea americana* (17) peut s'expliquer par le fait que cette phase de mobilisation des ortets a induit un effet de rajeunissement (7). Cet effet rajeunissant est d'ailleurs souvent utilisé afin d'obtenir des explants réactifs à partir d'arbres matures (18). Parmi nos quatre espèces, c'est *F. albida* qui réacquiert une aptitude à l'enracinement le plus rapidement et le plus complètement. Ce comporte-

ment peut être mis en relation avec l'aptitude de *F. albida* à émettre des drageons dont le caractère juvénile est marqué et qui a déjà été mise à profit pour cloner cette espèce (4, 8). Le comportement des autres espèces peut être rapproché de celui de l'avocatier, du séquoia ou de certains *Citrus* chez qui jusqu'à sept cycles de microgreffage sont nécessaires pour réacquiescer un comportement juvénile (7, 9, 10, 17). *A. senegal* et *T. indica* semblent cependant particulièrement récalcitrants.

Ces premiers travaux ont ainsi permis de mettre au point une méthode de microgreffage en cascade de nos espèces qui peut être appliquée au rajeunissement de

sujets adultes. Des résultats encourageants ont été obtenus concernant *Z. mauritiana* et surtout *F. albida*, dégageant des possibilités réelles de rajeunissement de ces espèces.

Remerciements

Cette étude a été réalisée dans l'Unité Commune de Culture *In vitro* (UREC/) de Dakar, elle a été menée avec l'appui financier du C.R.D.I. (Projet Ligneux Fruitières, contrat 91.0122) et de l'Académie Africaine des Sciences (A.A.S.).

Références bibliographiques

1. Badji S., Mairone Y., Ndiaye I., Merling G., Danthu P., Neville P. & Colonna J.P., 1993. *In vitro* propagation of gum arabic tree (*Acacia senegal* (L.) Willd.). 1. Developing a rapid method for producing plants. *Plant Cell Reports* 12, 629-633.
2. Bonga J.M., 1987. Clonal propagation of mature trees: problems and possible solutions. pp 249-271 in: J.M. Bonga & D.J. Durzan (editors), *Cell and Tissue Culture in Forestry. Volume 1. General Principles and Biotechnology*. Martinus Nijhoff Publishers, Dordrecht.
3. Booth F.E.M. & Wickens G.E., 1988. Non-timber uses of selected arid zone trees and shrubs in Africa. *FAO Conservation Guide* 19. FAO, Rome., 176 p.
4. Danthu P., 1992. Vegetative propagation of adult *Faidherbia albida* by branch and root cutting. P 87-90 in: R.J. Vandenbeldt (editor), *Faidherbia albida* in the West African semi-arid tropics. ICRISAT, Patancheru.
5. Danthu P., Leblanc J.M., Badji S. & Colonna J.P., 1992. Vegetative propagation studies of gum arabic trees. 2. The vegetative propagation of adult *Acacia senegal*. *Agroforestry Systems* 19, 15-25.
6. Detrez C., Ndiaye S., Kerbellec F., Dupuy N., Danthu P. & Dreyfus B., 1992. Meristem micrografting of adult *Faidherbia albida*. pp 91-95 in R.J. Vandenbeldt (editor), *Faidherbia albida* in the West African semi-arid tropics. ICRISAT, Patancheru.
7. Franclet A., Boulay M., Bekkaoui F., Fouret Y., Verschoore-Martouzet B. & Walker N., 1987. Rejuvenation. pp 232-248 in: J.M. Bonga & D.J. Durzan (editors), *Cell and Tissue Culture in Forestry. Volume 1. General Principles and Biotechnology*. Martinus Nijhoff Publishers, Dordrecht.
8. Gassama Y.K. & Duhoux E., 1987. Micropropagation de l'*Acacia albida* Del. (*Leguminosae*) adulte. *Bulletin de l'I.F.A.N.*, série A 46, 314-320.
9. Huang L.C., Hsiao C.K., Lee S.H., Huang B.L. & Murashige T., 1992. Restoration of vigor and rooting competence in stem tissues of mature *Citrus* by repeated grafting of their shoot apices on to freshly germinated seedlings *in vitro*. *In Vitro Cell. Dev. Biol.* 28, 30-32.
10. Huang L.C., Lius S., Huang B.L., Murashige T., Mahdi E.F.M. & Van Gundy R., 1992. Rejuvenation of *Sequoia sempervirens* by repeated grafting of shoot tips on to juvenile rootstocks *in vitro*. *Plant. Physiol.* 98, 166-173.
11. Jaiwal P.K. & Gulati A., 1991. *In vitro* high frequency plant regeneration of a tree legume *Tamarindus indica* (L.) *Plant Cell Reports* 10, 569-573.
12. Mathur N., Ramawat K.G. & Nandwani D., 1995. Rapid *in vitro* multiplication of jujube through mature stem explants. *Plant Cell, Tissue and Organ culture* 43, 75-77.
13. Murashige T., Bitters W.P., Rangan T.S., Nauer E.M., Roistacher C.N. & Holliday P.B., 1972. A technique of shoot apex grafting and its utilization towards recovering virus-free *Citrus* clones. *Hortscience* 7, 118-119.
14. Murashige T. & Skoog F., 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiol. Plant* 15, 473-497.
15. Palma B., Vogt G.F. & Neville P., 1997. La microgreffe, une solution pour la multiplication *in vitro* de l'*Acacia senegal* (L.) Willd. *Ann. Sci. For.* 54, 203-210.
16. Palma-Lutjens B., 1990. Contribution à l'étude de certains aspects de la multiplication de l'*Acacia senegal* (L.) Willd. Thèse de l'Université d'Aix-Marseille, 335 p..
17. Pliego-Alfaro F. & Murashige T., 1987. Possible rejuvenation of adult avocado by graftage on to juvenile rootstocks *in vitro*. *Hortscience* 22, 1321-1324.
18. Sanchez M.C., Ballester A. & Vieitez A.M., 1997. Reinvigoration treatments for the micropropagation of mature chestnut trees. *Ann. Sci. For.* 54, 359-370.
19. Timmis R., Abbo EL-Nil M.M. & Stonecypher R.W., 1987. Potential genetic gain through tissue culture. pp 1987-215 in: J.M. Bonga & D.J. Durzan (editors), *Cell and Tissue Culture in Forestry. Volume 1. General Principles and Biotechnology*. Martinus Nijhoff Publishers, Dordrecht.
20. Vashishta B.B., 1997. *Ziziphus* for drylands - a perennial crop solving perennial problems. *Agroforestry Today* 9 (3), 10-12.

P. Danthu: Français, Docteur en sciences, généticien physiologiste. CIRAD-Forêt, B.P. 1716 Dakar, Sénégal. ISRA/C.N.R.F., URC/, B.P. 2312, Dakar, Sénégal.

B. Hane: Sénégalais, Licencié en sciences, chercheur en culture *in vitro*. Université Cheikh Anta Diop, B.P. 5005, Dakar, Sénégal.

M. Touré: Mauritanien, Licencié en sciences, chercheur en culture *in vitro*. Université Cheikh Anta Diop, B.P. 5005, Dakar, Sénégal.

P. Sagna, M. Sagna, Seynabou Bâ: Sénégalais, Techniciens en culture *in vitro*. ISRA/C.N.R.F., URC/, B.P. 2312, Dakar, Sénégal.

Marie-Anne de Troyer: Belge, Professeur d'horticulture. Coopération APEFE Wallonie-Bruxelles, B.P. 6279, Dakar, Sénégal. Centre de Formation Professionnelle Horticole, B.P. 3284, Dakar, Sénégal.

P. Soloviev: Belge, Ingénieur agronome. Coopération APEFE Wallonie-Bruxelles, B.P. 6279, Dakar, Sénégal. Centre de Formation Professionnelle Horticole, B.P. 3284, Dakar, Sénégal.