

# Protéger

Le génie des plantes en action !

Expérimentation test bouturage #1  
Rapport final

Mira Eléonore, Lucie Labbouz

10/01/2020



## Table des matières

1	Objectifs de l'expérimentation test .....	3
2	Matériel et méthode .....	4
2.1	Conditions expérimentales .....	4
2.2	Collecte du matériel vegetal .....	5
2.2.1	Période et choix des sites de prélèvement.....	5
2.2.2	Réalisation des prélèvements, préparation et plantation des boutures.....	6
2.2.3	Plantation et suivi des boutures.....	8
2.2.4	Marcottage de Ficus citrifolia .....	9
2.2.5	Difficultés rencontrées lors des prélèvements .....	10
2.3	Excavation.....	10
3	Résultats.....	11
3.1	Emission de bourgeons.....	11
3.2	Dépérissement des boutures .....	14
3.3	Mort des bourgeons/feuilles émis.....	14
3.4	Phytophagie .....	15
3.5	Développement fongique .....	15
3.6	Emission de racines .....	16
4	Conclusions et perspectives .....	18
5	Annexe .....	20

La composante scientifique et technique du projet Protéger repose sur la succession de 3 expérimentations concernant la multiplication végétative, la germination ainsi que le suivi de croissance et de traits fonctionnels de plantules. Ces expérimentations seront menées sur un maximum de 40 espèces indigènes dont les caractéristiques liées à leur multiplication (végétatives ou sexuée) sont peu, voire pas connues, en intégrant de nombreux répliquats. Afin de pouvoir optimiser le dimensionnement d'une partie de ces expérimentations, une expérimentation « test » a été mise en place.

**Ce rapport vise à présenter de façon la plus exhaustive possible les objectifs et la méthode choisis pour ce test ainsi que les résultats en découlant.**

*Les données présentées dans ce rapport sont confidentielles et ne peuvent être communiquées sans l'accord de l'ensemble des co-pilotes du projet.*

## 1 Objectifs de l'expérimentation test

L'objectif principal de cette phase était d'évaluer le potentiel de multiplication végétative des espèces ligneuses et héliophytes ciblées (n=31) selon des modalités expérimentales simples et peu coûteuses, s'approchant des conditions dites « de chantier » (la liste des espèces considérées est disponible section 3.1).

Des objectifs secondaires de cette phase consistaient à évaluer le temps de mise en place des structures expérimentales, de définir et d'obtenir le matériel nécessaire aux prélèvements, à la mise en culture et au suivi du développement des boutures, ainsi que d'évaluer l'effort de terrain requis pour la collecte des prélèvements. Ce test a aussi permis d'évaluer l'étendue et l'effectif des populations et la possibilité de collecte sur certaines espèces à enjeux de conservation sans compromettre leur avenir (ex : *Hirtella pendula*).

## 2 Matériel et méthode

### 2.1 Conditions expérimentales

Une série de 31 pots de 70l a été remplie avec un mélange effectué manuellement de  $\frac{1}{4}$  de terre agricole,  $\frac{3}{4}$  de sable noir de carrière lavé et une poignée de charbon broyé (anti-fongique). Les 16 premiers pots ont été préparés par E. Mira et L. Labbouz, les 14 pots suivants ont été préparés par Franck Solvar, technicien INRA dont une partie du temps de travail est dédiée au projet « PROTÉGER ». Les pots ont été disposés dans un petit bac de rétention d'une hauteur de 5 cm réalisé à partir de gouttières et d'une bâche de 5x3m et sous une ombrière (3x10m) retenant 60% de la lumière incidente. Un arrosage automatique, relié à un goutte-à-goutte a été mis en place pour garantir une bonne irrigation des pots à raison d'un cycle quotidien de 2h programmé de 18h à 21h. L'irrigation a été adaptée en fonction des précipitations quotidiennes et suspendue en cas de pluie.



*E. Mira mélangeant le substrat*



*Programmateur automatique*



*L. Labbouz transportant un pot*

## 2.2 Collecte du matériel végétal

### 2.2.1 Période et choix des sites de prélèvement

La collecte du matériel végétal a été menée du 1/07/2019 au 1/08/2019 août par E. Mira (INRA), accompagnée dans certaines de ces sorties par A. Rousteau (UA), L. Labbouz (PNG) partenaires du projet et par Jean-François Bernard, botaniste bénévole. Les premiers prélèvements ont été réalisés de façon opportuniste, aux alentours du centre « INRA », à Duclos Petit Bourg et aux abords de la Grande rivière à Goyave. Ils ont concerné les espèces les plus communes présentes dans ce secteur et dont les individus étaient faciles d'accès. Les secteurs des sorties suivantes ont été ciblés en s'appuyant sur les résultats issus de la phase 1 du projet qui indiquaient la localisation des espèces sur les zones inventoriées. Une analyse SIG, conduite sous le logiciel Qgis, identifiant les secteurs les plus riches en espèces cibles a été menée et actualisée au fur et à mesure des prélèvements afin de limiter les trajets. 13 journées de collectes sur le terrain ont donc été nécessaires à l'obtention du matériel végétal (Tableau 1).

*Tableau 1 Dates, secteur et participants des sorties de terrain effectués pour la collecte du matériel végétal nécessaire à l'expérimentation test*

Date de sortie	Secteur de sortie	Préleveurs
01/07/2019	Petit Bourg, Capesterre	L. Labbouz, E. Mira
03/07/2019	Deshaies Bouillante Vieux Habitant	A. Rousteau, E. Mira
05/07/2019	Capesterre Baie Mahault	JF. Bernard, E. Mira
08/07/2019	Deshaies bouillante Vieux Habitant	L. Labbouz, E. Mira
09/07/2019	Deshaies	A. Rousteau, E. Mira
15/07/2019	Goyave-Baie Mahault	L. Labbouz, E. Mira
16/05/2019	Vieux fort, Saint Claude, Vieux Habitant	L. Labbouz, E. Mira
18/07/2019	Lamentin, Goyave	L. Labbouz, E. Mira
22/07/2019	Petit Bourg, Goyave	A. Rousteau, E. Mira
25/07/2019	Vieux fort, dolé	L. Labbouz, E. Mira
30/07/2019	Gosier Abymes	E. Mira
31/07/2019	Deshaies Pointe Noire Bouillante	L. Labbouz, E. Mira
01/08/2019	Vieux fort, Monts caraibes, Trois Rivière	A. Rousteau, E. Mira

### 2.2.2 Réalisation des prélèvements, préparation et plantation des boutures

Les prélèvements ont concerné au minimum 4 individus adultes par espèce dans un état sanitaire jugé satisfaisant et pouvant supporter le prélèvement d'une branche d'important diamètre sans compromettre leur survie. 125 individus ont été prélevés et géolocalisés à l'aide d'un GPS Garmin 64s (Figure 1).

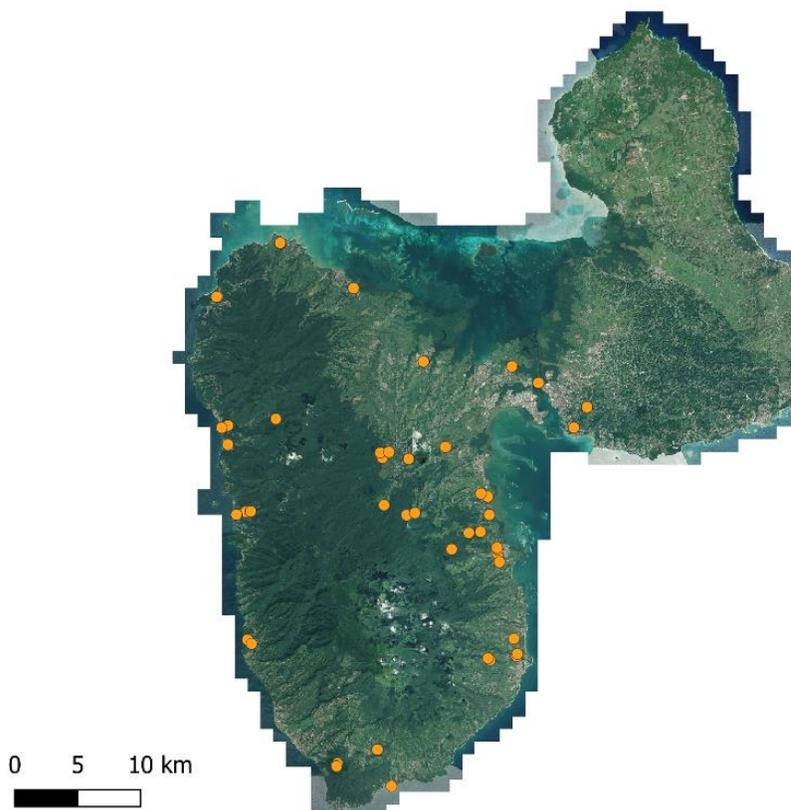


Figure 1 Localisation géographique de chacun des 125 individus prélevés. Fond de carte BD ORTHO 2010 IGN

Les prélèvements ont été réalisés à la scie télescopique (Wolf, portée maximale de 4m) ou, lorsque c'était possible, au sécateur à enclume sur des branches saines. Ils ont été préférentiellement effectués avant midi, afin de garantir un bon état hydrique des branches prélevées. Suite à la coupe des branches,

les feuilles ont été immédiatement coupées au sécateur à main afin d'éviter la transpiration et de tacher de maintenir les boutures dans un bon état hydrique. L'objectif initial était de collecter des boutures de 60 cm intégrant au minimum 4 nœuds et d'un diamètre entre 3 et 4 cm pour chaque individu. Cet objectif a été amendé compte tenu de l'importance des prélèvements à réaliser pour obtenir des boutures ayant les caractéristiques précitées. Nous avons donc prélevé, dès la deuxième sortie, des segments plus distaux, d'un diamètre inférieur à 3cm et d'une longueur de 60 cm afin de pouvoir évaluer la potentialité de reprise en fonction de l'âge de la partie bouturée tout en valorisant l'intégralité du prélèvement (Figure 2). Lorsque cela a été possible, le méristème apical a été conservé sur les boutures distales dont le degré de lignification a été noté.

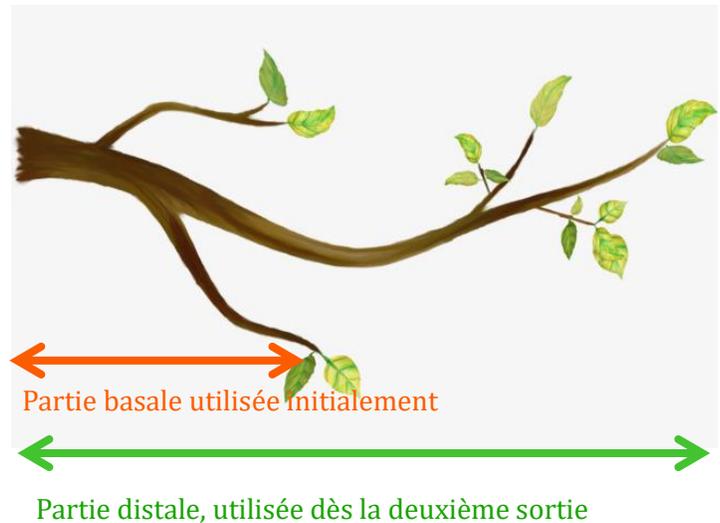


Figure 2 Schéma illustratif des segments prélevés pour élaborer les boutures

Une fois coupées, les boutures ont été identifiées (première lettre du genre, deux premières lettres de l'espèce, numéro de l'individu, position sur la branche) sur un morceau de chatterton placé sur la partie distale afin d'en repérer la polarité. L'ensemble des boutures d'un même individu ont été attachées en fagot afin de faciliter les manipulations ultérieures.

Pour certaines espèces montrant des particularités architecturales, telles que celles appartenant au genre *Piper* (la croissance initiale orthotrope devient plagiotrope sur les rameaux distaux), 3 boutures de chaque type de branche ont été prélevées. *Tabebuia heterophylla* montre une importante polymorphie foliaire, là encore, des boutures issues de 3 individus de chaque morphotype a été considérée.

### 2.2.3 *Plantation et suivi des boutures*

La plantation des boutures s'est faite dans l'après-midi suivant leur prélèvement, après avoir retailé la partie basale en biseau à l'aide d'un sécateur à enclume ou d'une scie à main et effectué des mesures morphométriques (diamètre, longueur).

Pour les espèces à latex ou à résine (Ficus, Pterocarpus), la plantation a été effectuée suite à la coagulation des exsudats (dans l'après-midi pour Ficus, le lendemain matin pour Pterocarpus).

Les boutures ont été insérées dans le substrat à une profondeur de 2/3 de leur longueur, soit 40cm. Afin d'éviter des interaction interspécifiques allélopathiques potentielle, l'ensemble des boutures d'une même espèce ont été plantées dans un même pot (Figure 3). Chaque bouture a été identifiée avec une étiquette à graver en aluminium afin d'en conserver la traçabilité. Tous les deux à trois jours, les boutures en pots ont fait l'objet d'observations détaillées. Ont été reportées la date d'émission de leur premier bourgeon (qui a aussi été photographié), la chute ultérieure de feuilles émises, la présence de pathogènes ou phytophage etc...).



Figure 3 Dispositif expérimental avec les boutures plantées

#### 2.2.4 Marcottage de *Ficus citrifolia*

Un mois après leur plantation, les boutures de *F. citrifolia* n'ont montré aucun signe de reprise mais semblent plutôt dépérir : attaque de la moelle par des fourmis, développement fongique visible sur toute la partie épigée (voir illustration section 3.5). La littérature reporte une multiplication végétative des Ficus par marcottage. Cette espèce présentant des caractéristiques d'intérêt pour le Génie végétal, nous avons donc choisi de mener un test de marcottage sur 3 individus localisés sur le centre INRA (2 marcottes par individus). Un sachet en plastique a été rempli d'un mélange de compost et de terre agricole en proportion égale. Les branches sélectionnées montraient un diamètre situé entre 1.5 et 2 cm. Elles ont été partiellement écorcées sur un segment de 4 cm avant d'être positionnées dans le sachet préalablement fendu afin que l'intégralité de la surface écorcée soit en contact avec le substrat. Un film plastique alimentaire et de la ficelle ont été utilisés pour consolider l'ensemble. L'irrigation sera régulièrement effectuée à la seringue pour maintenir le substrat humide.



Figure 4 : marcotte installée sur branche de *Ficus citrifolia*

### 2.2.5 Difficultés rencontrées lors des prélèvements

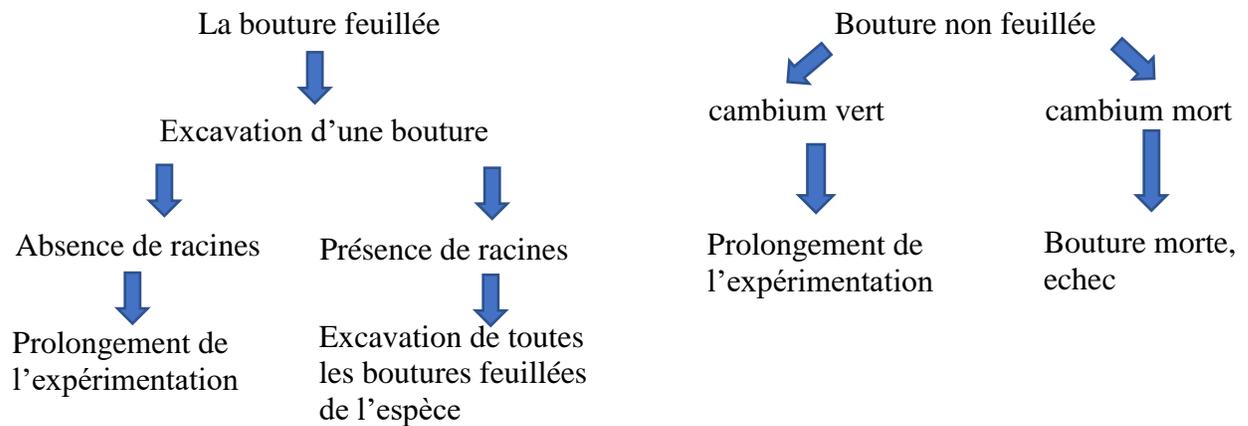
Certaines espèces (*Margaritaria nobilis*, *Sloanea dentata*, *Inga laurina*, et *Hirtella pendula*) ont dû faire l'objet de prospections supplémentaires dédiées, coûteuses en temps et pas toujours concluantes. Ces prospections ont ciblé d'une part les berges identifiées lors de la phase 1 et d'autre part, se sont plus largement étendue dans leur secteur, en analysant les éléments écologiques potentiellement favorables à l'installation de l'espèce (présence d'autres rivières/ravine à proximité, remontée à l'amont ou descente à l'aval du point où l'espèce avait été observée lors de la phase 1, degré de dégradation de la zone etc...). Il est à noter que le passage de l'ouragan Maria à la suite de la livraison des résultats de la phase 1 a impacté certaines espèces/individus qui n'ont pu être retrouvés telle que *M. nobilis*, la majeure partie des stations identifiées lors de la phase 1 ont été fortement impactées par le passage de Maria qui a rendu leur accès difficiles et l'espèce n'a pu y être retrouvée.

*Sloanea dentata* et *Inga laurina*, présentes en abondance en cœur de PNG le sont beaucoup moins hors cœur. De plus, lorsque les individus étaient présents sur un site préalablement identifié, leur prélèvement n'était pas toujours possible (individus dont les premières branches se situaient à une hauteur supérieure à 4m ou localisés dans une zone de prélèvement dangereuse). Afin de faciliter leur prélèvement lors de la mise en place de l'expérimentation « bouturage », une demande d'autorisation de prélèvement en cœur de PNG peut être envisagée. Cependant, compte tenu du fait que ces espèces peuvent être prélevées hors cœur de PNG et que nous n'avons actuellement aucune certitude concernant leur capacité de bouturage, rien ne garantit l'obtention de cet accord de la part du service instructeur. Si à l'issue de la phase test ces espèces montrent cette capacité, cette requête réglementaire sera plus argumentée ce qui augmentera ses chances d'acceptation.

La précision des observations découlant des prospections infructueuses effectuées sur les stations de la phase 1 est reporté en annexe 2.

## 2.3 Excavation

L'excavation des boutures ayant maintenu leurs feuilles a débuté au moins 3 mois après leur date de plantation (soit fin septembre 2019), excepté les espèces à développement observé rapide ayant été excavées 13 jours après plantation (*C. hirta*, *L. hyssopifolia*, *H. amplexicaulis*). L'excavation des boutures s'est effectuée selon le schéma décisionnel présenté ci-dessous:



Les boutures enracinées issues de cette expérimentation test ont été replantées *in situ* sur le site de l'INRAE Duclos.

### 3 Résultats

#### 3.1 Emission de bourgeons

Après leur plantation, 23 espèces sur les 31 prélevées ont rapidement émis des bourgeons avec une vitesse variable, dépendant de l'espèce (Tableau 2, Figure 5), ces résultats restent néanmoins provisoires car les prélèvements venant tout juste d'être finalisés, il y a de fortes chances que l'effectif de boutures bourgeonnantes augmente.

Tableau 2 Nombre de jour précédant l'émission des premiers bourgeons, nombre de boutures ayant émis des bourgeons et nombre de boutures plantées par espèces.

Espèce	Initiation de l'émission de bourgeons (j)	Nombre de bouture feuillée	Nombre total de boutures plantées	Taux d'enracinement des boutures de diamètre minimum de 2 cm (%)
<i>Andira inermis</i>	10-25	4	10	0
<i>Annona glabra</i>	13-21	4	12	0
<i>Ceiba pentadra</i>	14-23	4	13	0
<i>Chimarrhys cymosa</i>	11-19	4	12	50
<i>Chrysobalanus icaco</i>	10-18	3	8	0
<i>Chrysophyllum argenteum</i>	10-23	8	12	0
<i>Citharexylon spinosum</i>	8-20	6	7	50
<i>Clidemia hirta</i>		0	4	100
<i>Cordia coloccoca</i>	10-15	7	15	0
<i>Cordia sulcata</i>	10-21	4	6	0
<i>Dieffenbachia seguine</i>			4	100
<i>Ficus citrifolia</i>			4	?
<i>Homalium racemosum</i>	8-12	2	3	100
<i>Hymenachne amplexicaulis</i>			5	100
<i>Hymenaea courbaril</i>	8-14	9	12	0
<i>Inga ingoides</i>	14	1	4	0
<i>Inga laurina</i>	8-12	2	12	0
<i>Ischnosiphon arouma</i>				0
<i>Lonchocarpus heptaphyllus</i>	3-10	2	11	0
<i>Lonchocarpus roseus</i>	14-17	2	4	0
<i>Ludwigia hyssopifolia</i>	5-7	4	4	100
<i>Margaritaria nobilis</i>	5-9	5	15	0
<i>Montrichardia arborescens</i>			4	0
<i>Phyllanthus mimosoides</i>	15	1	8	?
<i>Piper dilatatum</i>	9-13	6	6	25
<i>Piper dussii</i>	7-9	5	8	50
<i>Pterocarpus officinale</i>	14-16	2	13	0
<i>Rhizophora mangle</i>			14	0
<i>Senna alata</i>	6	1	5	100
<i>Sloanea dentata</i>		3	11	?
<i>Tabebuia heterophylla</i> feuilles composées	14-21	3	3	0
<i>Tabebuia heterophylla</i> feuilles simples	14-17	3	3	0
<i>Thelypteris reticulata</i>			4	100



Figure 5 Emission de bourgeons des boutures

### 3.2 Dépérissement des boutures

Certaines boutures des deux espèces de Piper considérées ont montré des signes de dépérissement (Figure 6) une vingtaine de jour après leur plantation et pour certaines, après l'émission de feuilles. Les boutures issues d'axes plagiotropes, de diamètre inférieur, semblent plus soumises au dépérissement que celles issues d'axes orthotropes. La majeure partie des boutures apicale de diamètre inférieur à 5mm tendent aussi à dépérir.



Figure 6 Boutures plagiotropes de *P. dussii* et *P. dilatatum* mortes

### 3.3 Mort des bourgeons/feuilles émis

Chez *Andira inermis* et *Lonchocarpus heptaphyllus*, deux légumineuses, 15 à 20 jours après l'émission des bourgeons et l'expansion foliaire, les folioles sont tombés (Figure 7).



Figure 7 Boutures d'*A. inermis* perdant ses folioles

### 3.4 Phytophagie

Des signes d'attaques ont été observés chez *Citharexylum spinosum* et *Senna alata* (Figure 8)



Figure 8 Signes de consommation des feuilles sur *C. spinosum* (à gauche) et sur des feuilles de *Senna alata* (à droite).

### 3.5 Développement fongique

Un développement fongique a été observé sur l'ensemble des boutures de *Ficus citrifolia* et *Inga ingoides* (Figure 9).



Figure 9 Développement fongique sur des boutures de *F. citrifolia* (à gauche) et *I. ingoides* (à droite)

### 3.6 Emission de racines

Plusieurs boutures d'espèces herbacées, arbustives ou arborescentes ont montré des reprises racinaires (Tableau 3). Deux espèces héliophytes, *L. hyssopifolia* et *H. amplexicaulis* et un arbuste, *C. hirta* ont été excavées 13 jours après leur plantation (Figure 10).

Les boutures de trois espèces d'arbres, cinq espèces d'arbustes et trois espèces herbacées ont montré une capacité à s'enraciner (Tableau 3, Figure 10). Les tests de marcottage de *Ficus citrifolia* ont montré un taux de reprise de 25% (deux marcottes sur le même individu).

Tableau 3 Espèces dont les boutures se sont enracinées. Sont indiqué dans le tableau le pourcentage de taux de reprise, le type biologique, et l'écologie des espèces.

Espèce	Taux de reprise des boutures (%)	degré de lignification	priorité	type biologique	héliophyte	hauteur approx (m)	Zone humide	Forêt du littoral	Forêt xérophile	Forêt mésophile	Forêt hygrophile
<i>Chimarrhis cymosa</i>	50	ligneux	1	arbre	non	15				x	x
<i>Citharexylum spinosum</i>	50	ligneux	1	arbre	non	8			x		
<i>Clidemia hirta</i>	100	non ligneux	1	arbuste	non	1				x	x
<i>Dieffenbachia seguine</i>	100	non ligneux	1	herbe	oui	1,5	X	x		x	
<i>Ficus citrifolia</i>	25	ligneux	1	arbre	non	15	x	x	x	x	
<i>Homalium racemosum</i>	100	ligneux	1	arbre	non	15			x	x	x
<i>Hymenachne amplexicaulis</i>	100	non ligneux	1	herbe	oui	1,5	X			x	
<i>Ludwigia hyssopifolia</i>	100	non ligneux	1	herbe	oui	1,5	X			x	
<i>Phyllanthus mimosoides</i>	25	ligneux	1	arbre	non	1,5				x	x
<i>Piper dilatatum</i>	25	semi ligneux	1	arbuste	non	2			x	x	x
<i>Piper dussii</i>	50	semi ligneux	1	arbuste	non	2			x	x	
<i>Thelypteris reticulata</i>	75	Non ligneux	1	herbe	non	1				x	x

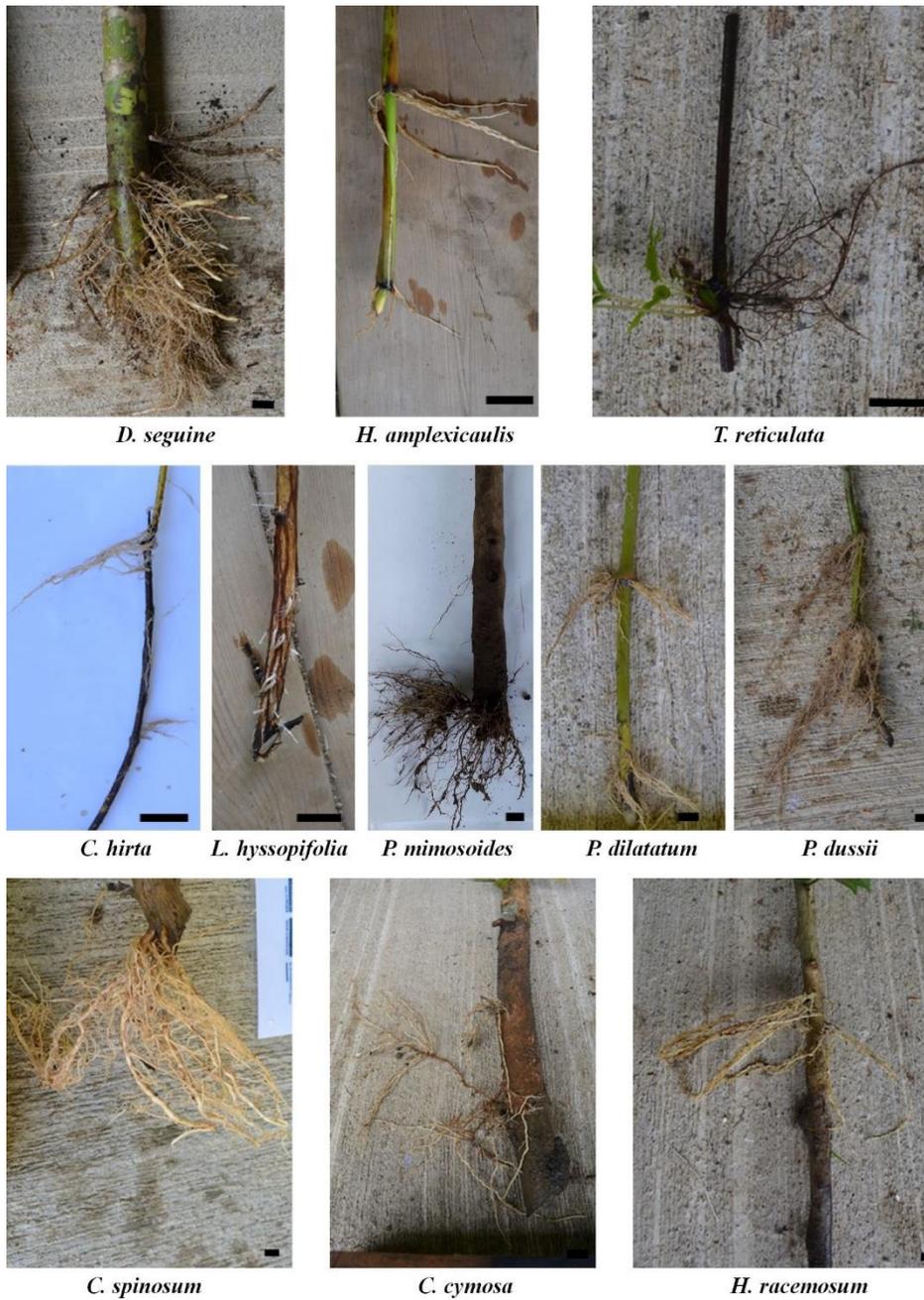


Figure 10 : Systèmes racinaires observés au bout de trois mois exceptés pour *C. hirta*, *H. amplexicaulis*, *L. hyssopifolia* ayant été excavés au bout de 13 jours.

## 4 Conclusions et perspectives

- Le matériel préalablement acquis pour effectuer les prélèvements était adapté et suffisant, toutefois, quelques éléments complémentaires seront acquis pour la mise en place de l'expérimentation bouture au champ (annexe 1).
- 13 journées de terrain, intégrant la recherche de population, le prélèvement, la préparation et la plantation des boutures ont été nécessaires pour les 125 individus considérés. Une moyenne quotidienne de 10 individus peut donc servir de repère concernant l'effort de terrain à fournir pour la mise en place de l'expérimentation "reboot". Il est à noter que l'effort de terrain peut être plus important s'il intègre une recherche complémentaire de population afin de diversifier les sources génétiques des boutures prélevées.
- Une demande d'autorisation de prélèvement en coeur du Parc National de la Guadeloupe pourra être effectuée pour alléger l'effort de terrain concernant certaines espèces.
- La fourniture en matériel végétal peut être limitante dans le cadre de la mise en place d'un chantier requérant un nombre important de bouture. Les populations naturelles connues de certaines espèces ne pourront soutenir de tels prélèvements ou un effort de terrain trop coûteux en temps devrait être effectué pour identifier des populations complémentaires ce qui reste en marge du projet. Cet aspect sera à considérer dans le choix des espèces cibles de l'expérimentation "germination".
- Ces premiers résultats sont prometteurs et confirment la possibilité d'utiliser les espèces natives ciblées dans des chantiers de Génie Végétal en Guadeloupe et dans le Caraïbe.

- Le faible effectif d'arbres ayant montré une capacité à bouturer dans les conditions expérimentales choisies implique la nécessité de mener des expérimentations supplémentaires, l'utilisation d'hormone et son impact sur la capacité d'enracinement de boutures d'arbres sera donc testée.

## 5 Annexe

Liste des espèces recherchées à partir des résultats de la phase 1 et non retrouvées.

Espèce	Code Berge	Observations
Inga laurina	Gran_1AV_2MI_G	L'espèce n'a pas été retrouvée
Inga laurina	Péro_2MI_2MI_G	L'espèce n'a pas été retrouvée
Hirtella pendula	sans code	Une seule population a pu être trouvée mais les individus sont trop jeune et leur effectif trop faible (n=3) pour permettre un prélèvement sans menacer la population
Margaritaria nobilis	Lost_2MI_2MI_D	L'espèce n'a pas été retrouvée (prospection effectuée avec A. Rousteau)
Margaritaria nobilis	LaRa_3AM_3AM	L'espèce n'a pas été retrouvée (prospection effectuée avec A. Rousteau)
Margaritaria nobilis	LaRa_3AM_2MI_D	L'espèce n'a pas été retrouvée (prospection effectuée avec A. Rousteau)
Margaritaria nobilis	LaRa_3AM_1AV_D	L'espèce n'a pas été retrouvée (prospection effectuée avec A. Rousteau)
Margaritaria nobilis	LaRa_1AV_3AM_D	L'espèce n'a pas été retrouvée (prospection effectuée avec A. Rousteau)
Sloanea dentata	Gran_3AM_3AM_D	L'espèce est présente sur le site mais les individus sont soit trop haut pour permettre le prélèvement, soit trop jeunes
Sloanea dentata	Gran_3AM_1AV_G	L'espèce est présente sur le site mais les individus sont soit trop haut pour permettre le prélèvement, soit trop jeunes
Sloanea dentata	Péro_2MI_3AM_G	L'individu observé lors de la phase 1 n'a pu être retrouvé, en revanche un individu trouvé plus à l'aval, prélevé et un autre trop haut pour l'être.