

# Influence de différentes concentrations d'acide indole-3-acétique, d'acide naphthalène-acétique, d'acide 2,4-dichlorophénoxy-acétique et de kinétine sur la callogenèse et l'organogenèse *in vitro* de fragments d'entre-nœuds de deux variétés de patate douce (*Ipomoea batatas* L. Lam.)

B. Houndonougbo

Université Nationale du Bénin, faculté des sciences et techniques, laboratoire de biologie végétale, Abomey-Calavi, B.P. 526 Cotonou; R.P. du Bénin.

(reçu le 05 novembre 1988, accepté le 20 avril 1989)

**Résumé** — L'objet de l'étude était l'influence de l'acide indole-3-acétique (AIA), de l'acide naphthalène-acétique (ANA), de l'acide 2,4-dichlorophénoxy-acétique (2,4-D) et de la kinétine, appliqués séparément ou en association, sur la callogenèse et l'organogenèse *in vitro* de fragments d'entre-nœuds de 2 variétés, «blanche» et «rose», de patate douce, en relation avec la polarité des explants et le caractère variétal.

Les différentes potentialités de callogenèse et d'organogenèse des explants mis en culture ont été analysées. La néoformation de racines et de bourgeons évoluant en pousses feuillées a été obtenue.

La tubérisation *in vitro* des racines néoformées a été également obtenue. Elle se produit exclusivement en présence de kinétine et d'une auxine.

L'intérêt agronomique des études réalisées pour la pratique de la multiplication végétale de la patate douce est souligné.

**régulateur de croissance – *Ipomoea batatas* – polarité – callogenèse – organogenèse – tubérisation**

**Summary** — Influence of different concentrations of indole 3 acetic acid (IAA), naphthalene acetic acid (NAA), 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) and kinetin on the callusing and the organogenesis *in vitro* of internode fragments of two varieties of sweet potato (*Ipomoea batatas* L. Lam.). The object of the study was the influence of indole 3 acetic acid (IAA), naphthalene acetic acid (NAA), 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) and kinetin, applied separately or in association, on the callusing and organogenesis *in vitro* of internode fragments of 2, "white" and "pink", varieties of sweet potato in relation to the polarity of explants and the varietal character.

The different callusing and organogenesis potentialities of the explants have been analysed. The neoformation of roots and buds growing into plants has been obtained.

The *in vitro* tuberization of the neoformed roots has been also obtained. It exclusively occurs in the presence of kinetin and auxin.

The agronomic interest of these results for the practice of the vegetative propagation of sweet potato is underlined.

**Growth regulator – *Ipomoea batatas* – polarity – callusing – organogenesis – tuberization**

## INTRODUCTION

Le comportement *in vitro* d'organes de patate douce a fait, dans le passé, l'objet de nombreuses investigations. C'est ainsi, par exemple, que Nakajima & Kawakami (1969), Elliott (1969),

Gunckel *et al.* (1972), Osse (1981) et Sihachakr (1982) ont réalisé la culture *in vitro* de différents organes ou fragments d'organes de patate douce et ont étudié l'action des régulateurs de croissance sur leurs potentialités de callogenèse et d'organogenèse.

L'objectif de ce travail était de mieux préciser l'influence de l'acide indole-3-acétique (AIA), de l'acide naphthalène-acétique (ANA), de l'acide 2,4-dichlorophénoxy-acétique (2,4-D) et de la kinétine, utilisés seuls ou en association, sur la callogénèse et l'organogénèse *in vitro* de fragments d'entre-nœuds de 2 variétés, «blanche» et «rose», de patate douce. Cette influence a été étudiée en relation avec la polarité des explants et le caractère variétal. La possibilité d'obtenir la tubérisation *in vitro* a également été abordée, l'objectif final était de définir l'intérêt agronomique du travail dans le cadre d'une propagation végétative rapide de la patate douce.

## MATÉRIEL ET MÉTHODES

### Matériel végétal utilisé

Les expériences ont été réalisées sur 2 variétés commerciales de patate douce originaires d'Afrique du Nord. Elles se distinguent par la couleur de la chair de leurs racines tubérisées, les unes étant à chair blanche, les autres de teinte rose-orange. Faute de connaître de dénomination exacte de ces variétés, on les appellera «blanche» et «rose» dans cet article. Le matériel végétal utilisé est constitué de portions d'entre-nœuds de tiges, prélevées sur des plantes-mères obtenues à partir de quelques tubercules plantés en serre et cultivés à la température constante de 35°C (jour naturel), 25°C la nuit (obscurité), à 80% d'humidité relative.

### Stérilisation du matériel végétal

Les portions de tiges issues des plantes mères ont été prélevées dans la serre, 30 j après la germination des tubercules, au stade de 6 à 10 feuilles. Elles ont été débarrassées de leurs feuilles, trempées ensuite dans le mercryl-laurylé à 3% pendant 10 min, puis dans un bain d'hypochlorite de calcium à 70 g. l<sup>-1</sup> pendant 20 min. Elles ont été rincées par 3 bains successifs d'eau stérile.

### Milieu et conditions de culture in vitro

Le milieu de base comporte les macroéléments et les microéléments de la solution de Heller (1953), du glucose à 30g. l<sup>-1</sup>, de la gélose à 10 g. l<sup>-1</sup>. Nous y avons ajouté des régulateurs de croissance à différentes concentrations micromolaires :

- acide indole-3-acétiques (AIA) à : 0,0057 μM, 0,057 μM, 0,57 μM, 5,7 μM, 57 μM;
- acide naphthalène-acétique (ANA) à 0,0053 μM, 0,053 μM, 0,53 μM, 5,3 μM, 53 μM;
- ou acide 2,4-dichlorophénoxy-acétique (2,4-D) à : 0,0045 μM, 0,045 μM, 0,45 μM, 4,5 μM, 45 μM;
- ou kinétine à : 0,0046 μM, 0,046 μM, 0,46 μM, 4,6 μM.

Ces régulateurs de croissance sont utilisés seuls ou en association. Le milieu de base sans régulateur de croissance sert de témoin. Les milieux, dont le pH est

ajusté à 5,5, sont répartis dans des tubes de 30 mm de diamètre et de 160 mm de hauteur (environ 20 ml par tube) bouchés par du coton hydrophile avant, autoclavage à 115°C pendant 20 min.

Les entre-nœuds sont prélevés dans la partie médiane de tiges âgées de 30 jours et sont sectionnés en fragments d'environ 30 mm de hauteur. Ils sont implantés en position verticale, la polarité étant soit maintenue (le pôle basal dans le milieu), soit inversée (pôle apical dans le milieu), et sont enfoncés d'environ 15 mm. 576 explants sont utilisés par traitement, à raison de 3 répétitions de 192. Les cultures sont placées dans une enceinte à 25±1°C, à 50% d'humidité relative, avec une photopériode de 12 heures, fournie par des tubes (Sylvania) donnant un éclairage de 5Wm<sup>-2</sup>. Une seule mise en culture a été réalisée. Les cultures ont été conservées 3 mois sans repiquage.

### Expression des résultats

À l'issue de la culture, les cals formés ont été prélevés et pesés. Le poids frais moyen des cals a été exprimé en mg par explant. Le dénombrement des racines, des bourgeons néoformés par explant a été effectué, au seuil de 1% (Schwartz, 1981). Le pourcentage des racines tubérisées, par traitement, a été calculé.

## RÉSULTATS

### Comportement des entre-nœuds dont la polarité a été maintenue in vitro

#### Callogénèse

Elle est peu importante. Les explants cultivés sur le milieu de base forment un petit cal au pôle basal 8 à 10 j après la mise en culture. Les cals sont compacts et granuleux. L'équilibre hormonal optimal pour l'induction de cals correspond à des concentrations associées de 0,45 μM de 2,4-D et de 4,6 μM de kinétine chez la variété «rose» et de 0,045 μM de 2,4-D et de 0,0046 μM de kinétine chez la variété «blanche».

#### Organogénèse

##### Néoformation de racines

Le nombre moyen de racines néoformées par explant, voisin de 2, reste faible sur le milieu de base (Tableaux I et II).

L'acide indole-3-acétique (AIA), l'acide 2,4-dichlorophénoxy-acétique (2,4-D) et la kinétine, utilisés seuls ou associés à différentes concentrations, stimulent la néoformation de racines en augmentant le nombre moyen de racines par explant. La kinétine à 0,046 μM, 0,46 μM, 4,6 μM, renforce l'action rhizogène de l'AIA et du 2,4-D en augmentant le nombre moyen de racines par explant chez les deux variétés, mais ceci est plus net chez la variété «rose» (Tableaux I et II).

*Néoformation de bourgeons*

Les explants ne produisent pas de bourgeons sur le milieu de base (Tableau III). La néoformation de bourgeons se produit seulement au niveau des cals, au pôle basal des explants de la variété «rose», cultivés sur le milieu contenant 0,046 µM de kinétine et 0,0045 µM, 0,045 µM, 0,45 µM, 4,5 µM de 2,4-D. Elle reste limitée (Tableau III).

**Comportement des entre-nœuds dont la polarité a été inversée in vitro****Callogenèse**

Elle est plus importante que dans le cas précédent. L'influence des régulateurs de croissance sur la croissance du cal a été étudiée.

**Tableau I.** Action de l'AIA et de la kinétine sur la rhizogenèse de fragments d'entre-nœuds de patate douce, variétés «rose» et «blanche», dont polarité a été maintenue: nombre moyen de racines par explant; intervalle de confiance  $\alpha = 1\%$ .

Variété	kinétine	Concentration AIA				
		0 M	0,057 µM	0,57 µM	5,7 µM	57 µM
«rose»	0 M	1,10±0,26	3,69±0,67	4,33±0,39	4,62±0,37	5,11±0,53
	0,046 µM	2,50±0,57	3,81±0,71	4,00±0,75	4,73±0,52	6,16±0,62
	0,46 µM	2,88±0,46	3,36±0,49	4,60±0,51	5,20±0,64	6,75±0,62
	4,6 µM	3,75±0,65	4,28±0,68	6,50±0,85	5,04±0,66	5,84±0,78
«blanche»	0 M	1,42±0,33	3,93±0,60	4,28±0,69	5,50±0,51	6,10±0,27
	0,046 µM	3,55±0,33	3,84±0,58	4,43±0,54	5,66±0,40	6,43±0,47
	0,46 µM	2,95±0,42	3,98±0,47	4,75±0,53	6,25±0,49	6,54±0,43
	4,6 µM	2,66±0,31	4,26±0,46	5,28±0,43	6,85±0,53	6,98±0,42

**Tableau II.** Action du 2,4-D et de la kinétine sur la rhizogenèse de fragments d'entre-nœuds de patate douce, variétés «rose» et «blanche», dont la polarité a été maintenue: nombre moyen de racines par explant; intervalle de confiance  $\alpha = 1\%$ .

Variété	kinétine	Concentration 2,4-D			
		0 M	0,0045 µM	0,045 µM	0,45 µM
«rose»	0 M	1,18±0,27	1,34±0,28	3,75±0,43	4,37±0,49
	0,0046 µM	1,50±0,16	1,63±0,19	5,25±0,21	5,88±0,23
	0,046 µM	2,65±0,25	2,97±0,42	5,50±0,43	5,83±0,50
	0,46 µM	2,84±0,33	3,15±0,42	6,83±0,30	8,60±0,44
	4,6 µM	3,81±0,33	3,10±0,20	4,16±0,40	8,27±0,42
«blanche»	0 M	1,53±0,13	2,40±0,33	6,09±0,17	2,24±0,17
	0,0046 µM	3,00±0,33	3,70±0,35	7,15±0,68	2,13±0,34
	0,046 µM	3,50±0,42	5,60±0,40	6,28±0,38	2,08±0,17
	0,46 µM	2,85±0,33	4,00±0,26	3,65±0,48	1,85±0,16
	4,6 µM	2,48±0,16	2,52±0,30	2,33±0,23	1,54±0,24

**Tableau III.** Action du 2,4-D et de la kinétine sur le bourgeonnement des fragments d'entre-nœuds de patate douce, variété «rose», dont la polarité a été maintenue: nombre moyen de bourgeon par explant; intervalle de confiance  $\alpha = 1\%$ . ( ): pourcentage d'explants portant des bourgeons.

Kinétine	Concentration 2,4-D				
	0 M	0,0045 µM	0,045 µM	0,45 µM	4,5 µM
0 M	0,00 (0)	1,05±0,09 (18)	1,10±0,14 (15)	1,00±0,09 (14)	1,00±0,14 (13)
0,046 µM	1,00±0,13 (14)	1,20±0,09 (19)	1,40±0,16 (21)	1,00±1,13 (30)	1,00±0,11 (19)

### Action des auxines

Les cals se forment aux pôles basal et apical. Les résultats obtenus sont présentés dans la Figure 1 pour la variété «rose» et dans la Figure 2 pour la variété «blanche».

#### Cas de la variété «rose»

Un apport d'AIA permet d'obtenir davantage de tissus néoformés. La stimulation est maximale en présence de 5,7  $\mu\text{M}$  d'AIA.

L'ANA exerce une action stimulante importante dès la concentration de 0,0053  $\mu\text{M}$ ; elle est maximale à 5,3  $\mu\text{M}$ .

C'est le 2,4-D qui stimule le plus la prolifération cellulaire. Cette stimulation se manifeste dès la dose de 0,0045  $\mu\text{M}$  et est maximale à 0,045  $\mu\text{M}$ , concentration pour laquelle le poids moyen de matière fraîche des cals a plus que triplé par rapport au témoin. Mais le 2,4-D provoque la nécrose des tissus à 4,5  $\mu\text{M}$  et les explants ne forment plus de cal à 4,5  $\mu\text{M}$  de 2,4-D (Fig. 1).

#### Cas de la variété «blanche»

L'AIA stimule faiblement la prolifération cellulaire à 0,0057  $\mu\text{M}$  et 0,057  $\mu\text{M}$  et, aux concentrations supérieures à 0,057  $\mu\text{M}$ , son effet est plutôt défavorable à l'induction du cal.

L'ANA stimule fortement la prolifération cellulaire. Son action s'exerce dès la dose de

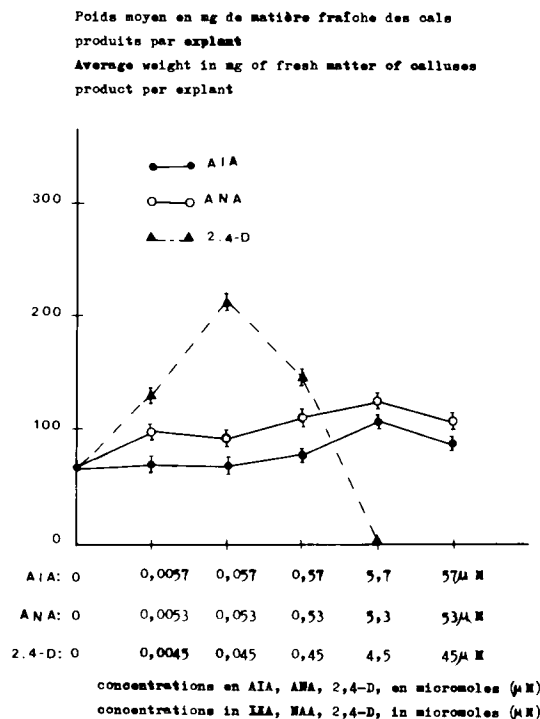


Fig. 1. Influence des concentrations en AIA, ANA, 2,4-D sur le poids moyen des cals formés sur des fragments d'entre-nœuds de patate douce, variété «rose», dont la polarité a été inversée; concentration en micromoles ( $\mu\text{M}$ ).

0,0053  $\mu\text{M}$  et les meilleurs résultats sont obtenus à 5,3  $\mu\text{M}$ .

Le 2,4-D a un rôle exclusivement inhibiteur. Il supprime tout à fait la callogenèse, dès la dose de 0,45  $\mu\text{M}$  (Fig. 2).

#### Action conjuguée de régulateurs de croissance

La kinétine, employée en absence d'auxine, stimule la prolifération cellulaire chez les 2 variétés, en particulier à la concentration de 4,6  $\mu\text{M}$  (Tableaux IV et V).

#### Cas de la variété «rose»

Il est apparu que, lorsque les fragments d'entre-nœuds de la variété «rose» sont cultivés en présence d'ALA ou d'ANA et de kinétine, la kinétine renforce l'action de l'auxine; ceci est particulièrement net en présence de 5,7  $\mu\text{M}$  d'AIA ou de 5,3  $\mu\text{M}$  d'ANA. Mais l'auxine réduit l'effet de la kinétine utilisée à la concentration de 4,6  $\mu\text{M}$ .

La kinétine renforce l'action du 2,4-D sur la prolifération du cal à 0,045  $\mu\text{M}$  et 0,45  $\mu\text{M}$  de 2,4-D (Tableau V).

#### Cas de la variété «blanche»

Nous avons observé que les concentrations 0,057  $\mu\text{M}$ , 0,57  $\mu\text{M}$  d'AIA augmentent l'effet de la kinétine utilisée à 0,46  $\mu\text{M}$ , mais le réduisent quand la concentration de kinétine utilisée est de 4,6  $\mu\text{M}$ .

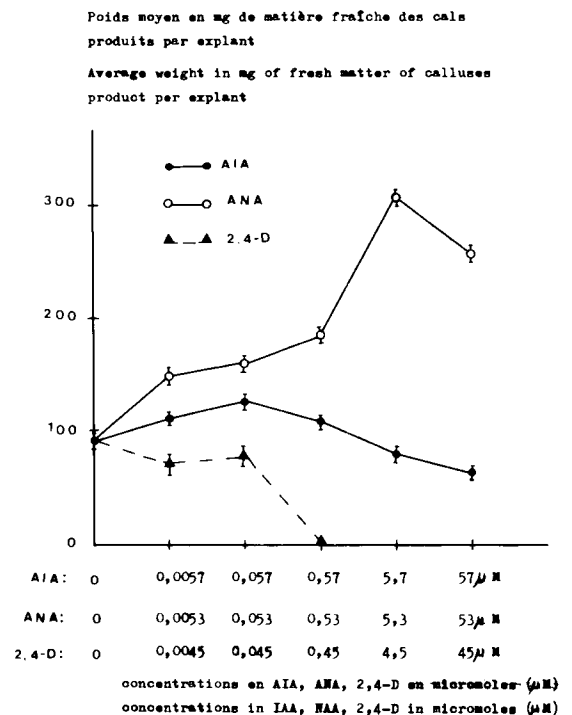


Fig. 2. Influence des concentrations de IAA, ANA, 2,4-D sur le poids moyen des cals formés sur des fragments d'entre-nœuds de patate douce, variété «blanche», dont la polarité a été inversée; concentration en micromoles ( $\mu\text{M}$ ).

**Tableau IV.** Action de l'ANA et de la kinétine sur la callogenèse de fragments d'entre-nœuds de patate douce, variété «blanche», dont la polarité a été inversée: poids moyen en mg de matière fraîche de cals produits par explant; intervalle de confiance  $\alpha = 1\%$ .

kinétine	Concentration ANA				
	0 M	0,0053 $\mu$ M	0,053 $\mu$ M	0,53 $\mu$ M	5,3 $\mu$ M
0 M	93,93 $\pm$ 1,78	136,35 $\pm$ 2,60	151,50 $\pm$ 3,38	196,95 $\pm$ 1,67	306,03 $\pm$ 3,37
0,046 $\mu$ M	136,35 $\pm$ 0,99	157,56 $\pm$ 3,19	166,65 $\pm$ 2,68	227,25 $\pm$ 1,75	287,85 $\pm$ 3,41
0,46 $\mu$ M	151,50 $\pm$ 0,66	184,83 $\pm$ 2,49	278,76 $\pm$ 3,26	303,00 $\pm$ 1,46	336,33 $\pm$ 2,93
4,6 $\mu$ M	351,48 $\pm$ 0,77	315,12 $\pm$ 1,09	363,60 $\pm$ 0,69	375,72 $\pm$ 1,63	393,90 $\pm$ 1,04

**Tableau V.** Action du 2,4-D et de la kinétine sur la callogenèse de fragments d'entre-nœuds de patate douce, variétés «rose» et «blanche», dont polarité a été inversée: poids moyen en mg de matière fraîche de cals produits par explant; intervalle de confiance  $\alpha = 1\%$ .

Variété	kinétine	Concentration 2,4-D			
		0 M	0,0045 $\mu$ M	0,045 $\mu$ M	0,45 $\mu$ M
«rose»	0 M	64,00 $\pm$ 1,82	120,00 $\pm$ 1,15	204,00 $\pm$ 3,33	140,00 $\pm$ 3,35
	0,0046 $\mu$ M	80,00 $\pm$ 2,88	92,00 $\pm$ 3,35	240,00 $\pm$ 2,57	384,00 $\pm$ 3,62
	0,046 $\mu$ M	92,00 $\pm$ 0,91	112,00 $\pm$ 1,67	260,00 $\pm$ 1,82	444,00 $\pm$ 1,67
	0,46 $\mu$ M	144,00 $\pm$ 2,57	160,00 $\pm$ 1,50	340,00 $\pm$ 3,25	544,00 $\pm$ 1,82
	4,6 $\mu$ M	360,00 $\pm$ 2,15	196,00 $\pm$ 2,93	380,00 $\pm$ 1,31	540,00 $\pm$ 3,62
«blanche»	0 M	96,96 $\pm$ 2,58	69,69 $\pm$ 2,90	81,81 $\pm$ 3,32	
	0,0046 $\mu$ M	118,17 $\pm$ 0,80	99,99 $\pm$ 2,86	124,23 $\pm$ 3,19	
	0,046 $\mu$ M	139,38 $\pm$ 1,97	78,78 $\pm$ 2,07	96,96 $\pm$ 1,15	
	0,46 $\mu$ M	151,50 $\pm$ 2,73	75,75 $\pm$ 1,46	84,84 $\pm$ 1,69	
	4,6 $\mu$ M	363,60 $\pm$ 3,44	63,63 $\pm$ 1,91	72,72 $\pm$ 1,68	

La kinétine augmente l'efficacité de l'ANA (Tableau IV).

Le 2,4-D stimule très faiblement la prolifération cellulaire en présence de 0,0046  $\mu$ M de kinétine. Mais le 2,4-D, utilisé à 0,0045  $\mu$ M et 0,045  $\mu$ M, supprime les propriétés stimulantes de la kinétine à des doses plus élevées (Tableau V).

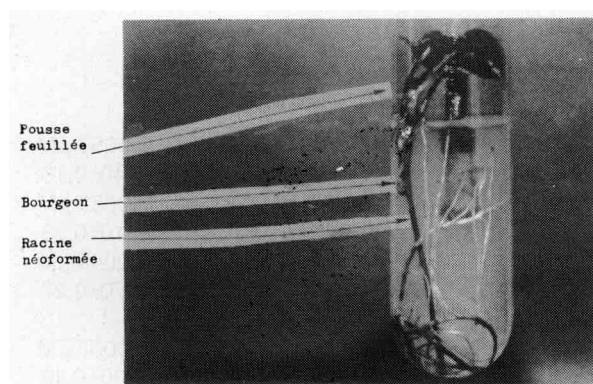
## Organogenèse

### Néoformation de racines

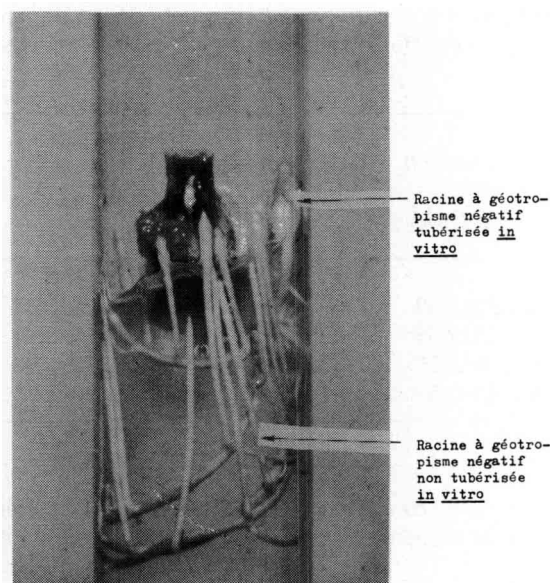
#### Action des auxines

Chez les 2 variétés, les racines apparaissent généralement sur le pourtour du cal du pôle basal, et rarement au pôle apical des explants, 1 mois après la mise en culture. Certaines présentent un géotropisme positif et s'enfoncent dans le milieu de culture, d'autres ont un géotropisme négatif et deviennent chlorophylliennes en vieillissant (Figure 3 et 4).

Chez la variété «rose» (Tableau VI), l'AIA et l'ANA stimulent l'induction rhizogène. Mais l'AIA n'est vraiment efficace que pour les concentrations supérieures à 0,57  $\mu$ M. L'activité de l'ANA



**Fig. 3.** Action de 0,46  $\mu$ M de kinétine sur la néoformation *In vitro* de bourgeons et le développement de pousse feuillée sur la racine néoformée issue de fragment d'entre-nœud de patate douce, variété «blanche» dont la polarité a été inversée.



**Fig. 4.** Action conjuguée de 4,6  $\mu\text{M}$  de kinétine et de 0,045  $\mu\text{M}$  de 2,4-D sur la tubérisation *in vitro* des racines néoformées à géotropisme négatif issues de fragment d'entre-nœud de patate douce, variété «blanche» dont la polarité a été inversée.

s'observe à 0,0053  $\mu\text{M}$ . Le 2,4-D stimule faiblement l'induction rhizogène aux concentrations de 0,0045  $\mu\text{M}$ , 0,045  $\mu\text{M}$ , 0,45  $\mu\text{M}$ , mais l'inhibe totalement à 4,5  $\mu\text{M}$  et 45  $\mu\text{M}$ .

Chez la variété «blanche», l'activité de l'ANA s'observe à 0,053  $\mu\text{M}$ . Les effets rhizogènes de l'AIA et de l'ANA sont comparables. Le 2,4-D a un effet faiblement rhizogène à 0,0045  $\mu\text{M}$ , 0,045  $\mu\text{M}$ , 0,45  $\mu\text{M}$ , mais supprime totalement l'induction rhizogène aux concentrations de 4,5  $\mu\text{M}$  et 45  $\mu\text{M}$  (Tableau VI).

### Action conjuguée des régulateurs de croissance

Il a été observé que la kinétine, utilisée en absence d'auxine, ne stimule que faiblement la néoformation des racines, mais elle augmente les propriétés rhizogènes de l'AIA et de l'ANA dans les 2 variétés.

La kinétine renforce l'effet faiblement rhizogène du 2,4-D chez la variété «rose», mais n'améliore pas l'action rhizogène du 2,4-D chez la variété «blanche».

### Néoformation de bourgeons et régénération de plantes

Les bourgeons néoformés apparaissent, 45 à 60 j après la mise en culture, sur un certain nombre d'explants, dans des proportions différentes selon les concentrations du milieu en régulateurs de croissance et la variété. La combinaison hormonale optimale pour l'induction de bourgeons est atteinte aux concentrations de 0,46  $\mu\text{M}$  de kinétine et de 0,045  $\mu\text{M}$  de 2,4-D chez la variété «rose»: 1,75 bourgeon par explant et 40% d'explants portant des bourgeons, et de 0,046  $\mu\text{M}$  de kinétine et de 0,045  $\mu\text{M}$  de 2,4-D chez la variété «blanche»: 1,83 bourgeon par explant et 67% d'explants portant des bourgeons (Tableau VII). Les bourgeons se développent aux pôles basal et apical des explants, soit au niveau des cals cicatriciels, soit directement sur les explants à proximité des zones lésées, soit sur les racines néoformées (Fig. 3). Ils évoluent en pousses feuillées et régèrent des plantes, qui sont des individus enraci-

**Tableau VI.** Action de l'AIA, de l'ANA et du 2,4-D sur la rhizogenèse de fragments d'entre-nœuds de patate douce, variétés «rose» et «blanche», dont la polarité a été inversée: nombre moyen de racines par explant; intervalle de confiance  $\alpha = 1\%$ .

Variété	Substance utilisée		Concentrations				
«rose»	AIA	0 M	0,0057 $\mu\text{M}$	0,057 $\mu\text{M}$	0,57 $\mu\text{M}$	5,7 $\mu\text{M}$	57 $\mu\text{M}$
		1,10 $\pm$ 0,12	1,40 $\pm$ 0,16	1,90 $\pm$ 0,20	2,90 $\pm$ 0,26	8,30 $\pm$ 0,24	9,50 $\pm$ 0,18
	ANA	0 M	0,0053 $\mu\text{M}$	0,053 $\mu\text{M}$	0,53 $\mu\text{M}$	5,3 $\mu\text{M}$	53 $\mu\text{M}$
		1,10 $\pm$ 0,12	3,10 $\pm$ 0,33	6,30 $\pm$ 0,47	7,60 $\pm$ 0,52	8,00 $\pm$ 0,52	8,90 $\pm$ 0,45
	2,4-D	0 M	0,0045 $\mu\text{M}$	0,045 $\mu\text{M}$	0,45 $\mu\text{M}$	4,5 $\mu\text{M}$	45 $\mu\text{M}$
		1,10 $\pm$ 0,12	1,70 $\pm$ 0,27	2,80 $\pm$ 0,36	3,80 $\pm$ 0,62	0,00	0,00
«blanche»	AIA	0 M	0,0057 $\mu\text{M}$	0,057 $\mu\text{M}$	0,57 $\mu\text{M}$	5,7 $\mu\text{M}$	57 $\mu\text{M}$
		2,00 $\pm$ 0,18	3,30 $\pm$ 0,39	4,80 $\pm$ 0,67	5,50 $\pm$ 0,76	9,20 $\pm$ 0,35	10,80 $\pm$ 0,34
	ANA	0 M	0,0053 $\mu\text{M}$	0,053 $\mu\text{M}$	0,53 $\mu\text{M}$	5,3 $\mu\text{M}$	53 $\mu\text{M}$
		2,00 $\pm$ 0,18	2,10 $\pm$ 0,25	5,60 $\pm$ 0,52	6,30 $\pm$ 0,56	9,70 $\pm$ 0,60	11,30 $\pm$ 0,51
	2,4-D	0 M	0,0045 $\mu\text{M}$	0,045 $\mu\text{M}$	0,45 $\mu\text{M}$	4,5 $\mu\text{M}$	45 $\mu\text{M}$
		2,00 $\pm$ 0,18	2,90 $\pm$ 0,44	5,10 $\pm$ 0,33	2,30 $\pm$ 0,37	0,00	0,00

**Tableau VII.** Action de la kinétine et du 2,4-D sur le bourgeonnement de fragments d'entre-nœuds de patate douce, variétés «rose» et «blanche», dont la polarité a été inversée: nombre moyen de bourgeons par explant; intervalle de confiance  $\alpha = 1\%$ . ( ): pourcentage d'explants portant des bourgeons.

Variété	2,4-D	Concentration kinétine				
		0 M	0,0046 $\mu\text{M}$	0,046 $\mu\text{M}$	0,46 $\mu\text{M}$	4,6 $\mu\text{M}$
«rose»	0 M	0,00 (0)	0,00 (0)	1,44±0,16 (28)	1,62±0,27 (32)	1,54±0,23 (37)
	0,045 $\mu\text{M}$	1,00±0,09 (26)	1,00±0,14 (29)	1,50±0,18 (38)	1,75±0,31 (40)	1,40±0,25 (46)
«rose»	0 M	0,00 (0)	0,00 (0)	1,40±0,33 (38)	1,25±0,23 (36)	1,20±0,18 (34)
	0,045 $\mu\text{M}$	1,34±0,22 (43)	1,50±0,28 (45)	1,83±0,20 (67)	1,75±0,28 (61)	1,60±0,28 (52)

nés, bien développés, aptes à être cultivés *ex vitro*. Leur comportement n'a pas été étudié au champ.

#### Tubérisation *in vitro* des racines néoformées

La tubérisation *in vitro* des racines se produit 2 à 3 mois après la mise en culture. Elle concerne un certain nombre de racines néoformées à géotropisme négatif, qui croissent sur un milieu contenant à la fois de l'auxine et de la kinétine, et s'effectue dans des proportions différentes, en fonction des concentrations en régulateurs de croissance et de la variété. L'association hormonale optimale pour l'induction de tubérisation est de 4,6  $\mu\text{M}$  de kinétine et 0,45  $\mu\text{M}$  de 2,4-D, chez la variété «rose» et de 4,6  $\mu\text{M}$  de kinétine et de 0,045  $\mu\text{M}$  de 2,4-D, chez la variété «blanche» (Fig. 4 et Tableau VIII).

**Tableau VIII.** Action conjuguée de la kinétine et du 2,4-D sur la tubérisation *in vitro* des racines néoformées issues de fragments d'entre-nœuds de patate douce, variétés «rose» et «blanche», dont la polarité a été inversée: pourcentage d'explants portant des racines tubérisées.

Variété	2,4-D	Concentration kinétine				
		0 M	0,0046 $\mu\text{M}$	0,046 $\mu\text{M}$	0,46 $\mu\text{M}$	4,6 $\mu\text{M}$
«rose»	0 M	0	0	0	0	0
	0,045 $\mu\text{M}$	0	27	34	38	44
	0,45 $\mu\text{M}$	0	36	45	47	56
«blanche»	0 M	0	0	0	0	0
	0,045 $\mu\text{M}$	0	29	38	43	52
	0,45 $\mu\text{M}$	0	26	33	37	44

## DISCUSSION ET CONCLUSION

Appliqués séparément, les régulateurs de croissance AIA, ANA, 2,4-D et kinétine n'ont pas les mêmes effets sur la callogenèse et l'organogenèse chez les 2 variétés de patate douce. L'AIA exerce une faible action sur la callogenèse, mais stimule la rhizogenèse chez les 2 variétés. L'ANA se révèle favorable à la callogenèse et à la rhizogenèse. Le 2,4-D stimule la callogenèse à faibles doses chez la variété «rose» et l'inhibe chez la variété «blanche». Il favorise la rhizogenèse à faibles doses et l'inhibe totalement à doses élevées chez les 2 variétés. La kinétine exerce une faible influence sur la rhizogenèse, en revanche elle stimule la prolifération cellulaire et la néoformation de bourgeons.

Appliqués en association, l'AIA et la kinétine exercent des effets synergiques sur la callogenèse et la rhizogenèse. La présence du 2,4-D inhibe l'effet de la kinétine sur la callogenèse chez la variété «blanche», mais l'association du 2,4-D et de la kinétine augmente la prolifération cellulaire chez la variété «rose».

Le rôle du caractère variétal se traduit par une différence de comportement des variétés «rose» et «blanche» de patate douce à l'égard des régulateurs de croissance, notamment du 2,4-D, et dans les phénomènes de callogenèse et d'organogenèse des explants.

En outre, il faut prendre en considération l'influence de la polarité. Nous avons observé une callogenèse et une organogenèse peu importantes uniquement au pôle basal des explants, quand leur polarité est maintenue. La formation de racines et d'un petit nombre de bourgeons a également été observée, d'une manière polarisée dans la région basale de l'explant. Nos résultats pourraient confirmer les hypothèses formulées par Margara (1982), selon lesquelles les

premières racines néoformées pourraient synthétiser des cytokinines indispensables à la caulogénèse. En revanche, la callogenèse et l'organogénèse sont plus importantes et se produisent aux pôles basal et apical des explants, quand leur polarité est inversée. En outre, des bourgeons se développent, soit directement sur les explants, soit sur les racines néoformées, et évoluent en pousses feuillées. La formation de racines et de bourgeons se fait d'une manière non polarisée. L'inversion de la polarité et l'apport de régulateurs de croissance dans le milieu perturbent donc la polarité d'enracinement et de bourgeonnement. Ces résultats confirment ceux de Guncel *et al.* (1972).

Le rôle des régulateurs de croissance dans la tubérisation *in vitro* de la patate douce est des plus importants. Sous nos conditions expérimentales, la tubérisation des racines néoformées nécessite l'association de la kinétine et de l'auxine. Nous avons, par ailleurs, observé que le phénomène de tubérisation *in vitro* concernait uniquement quelques racines aériennes. Ce phénomène, également signalé par Sihachakr (1982), n'est pas observé chez la patate douce cultivée en serre ou au champ, où seules les racines souterraines tubérisent. La tubérisation des racines aériennes pourrait être attribuée aux conditions particulières de culture *in vitro*.

La culture *in vitro* de fragments d'entre-nœuds des variétés «blanche» et «rose» de patate douce, en présence de régulateurs de croissance, permet d'obtenir rapidement des bourgeons néoformés sur les explants, sans passage par cal. Ces bourgeons donnent naissance à un nombre important de jeunes plantes. La culture *in vitro* a déjà été utilisée pour obtenir des jeunes plantes de patate douce (Elliot, 1969; Sehgal, 1975, 1978; Litz & Conover, 1978; Sihachakr, 1982), l'objectif étant de production d'un grand nombre de jeunes plantes dans un délai bref.

Pour compléter ce travail, il faudra poursuivre les travaux concernant les bourgeons néoformés, cultiver les plantes obtenues *in vitro*, en serre, puis au champ, et étudier leur comportement *ex-vitro*, leur conformité typique et leurs performances agronomiques.

## REMERCIEMENTS

Ce travail a été réalisé dans le Laboratoire de Physiologie végétale de Monsieur le Professeur Robert Bouriquet, à l'Université des Sciences et Techniques de Lille, à Villeneuve d'Ascq; France. J'exprime mes vifs et sincères remerciements à Monsieur le Professeur R. Bouriquet et à Monsieur R. Lefèbvre, Maître de conférences, pour leurs conseils et leur collaboration scientifique.

## RÉFÉRENCES

- Elliott R.R. (1969) Growth of excised meristem – tips of Kumara, *Ipomoea batatas* (Linn.) Poir. in axenic culture. *N. Z. J. Bot.* 7, (2), 158-166
- Guncel J.E., Sharp W.R., Williams B.W., West W.C., Drinkwater W.O. (1972) Root and shoot initiation in sweet potato explants as related to polarity and nutrient media variations. *Bot. Gaz.* 133, 254-262
- Heller R. (1953) *Recherches sur la nutrition minérale des tissus végétaux cultivés in vitro*. Thèse de Doctorat ès-Sciences Naturelles, Paris
- Litz R.E. & Conover R.A. (1978) *In vitro* propagation of sweet potato. *Hort. Science* 13, (6), 659-660
- Margara J. (1982) *Base de la Multiplication végétative*. I.N.R.A. Imprimerie alençonnaise
- Nakajima T. & Kavakami Y. (1969) Root culture and initiation of adventitious buds in cultured roots of Sweet potato, (*Ipomoea batatas* Poir.). *Proc. Crop. Sci. Soc. Jp.* 38, 454-458
- Osse A. (1981) *Quelques aspects de la morphogénèse, in vitro, du système radical de la patate douce* (*Ipomoea batatas* L. Lam., Convolvulacées). Thèse de Doctorat de 3<sup>e</sup> cycle présentée à l'Université de Paris-Sud, Centre d'Orsay
- Schwartz D. (1981) *Méthodes Statistiques à l'Usage des Médecins et des Biologistes*. Flammarion Médecine-Sciences. 3<sup>e</sup> édition et 6<sup>e</sup> tirage.
- Sehgal C.B. (1975) Hormonal control of differentiation in leaf cultures of *Ipomoea batatas* Poir. *Beitr. Biol. Pflanz.* 51, 47-52
- Sehgal C.B. (1978) Regeneration of plants from anther cultures of Sweet potato (*Ipomoea batatas* Poir.) *Z. Pflanzen. Physiol.* 88, 349-452
- Sihachakr D. (1982) Premiers résultats concernant la multiplication végétative *in vitro* de la patate douce (*Ipomoea batatas* L. Lam., Convolvulacées). *Agron. Trop.* 37 (2), 142-151