

08873

PREMIERS RESULTATS CONCERNANT LA MULTIPLICATION VEGETATIVE IN VITRO DE LA PATATE DOUCE (*IPOMOEA BATATAS* L. LAM., *CONVOLVULACEE*)

Darasin SIHACHAKR

RESUME — Nous avons réalisé *in vitro* par bouturage successif de nœuds une multiplication végétative intensive permettant d'obtenir rapidement un grand nombre de pieds rajeunis et conformes à l'individu de départ. Ont été analysées aussi les potentialités d'organogénèse de différents explants (entre-nœuds, feuilles ou portions de celles-ci) mis en culture. La qualité des néoformations observées et leur polymorphisme ont été analysés tant en ce qui concerne l'origine de l'explant sur lequel elles ont pris naissance que leur devenir. En outre, un certain antagonisme a pu être décelé entre le phénomène de tubérisation de racines et celui de néoformations de bourgeons. Enfin, parmi les plantes issues de ces néoformations, l'une d'entre elles a montré une morphologie particulière ce qui permet de penser que ce mode de multiplication peut conduire à un élargissement du polymorphisme de cette espèce.

Mots-clé : multiplication végétative *in vitro*, patate douce, organogénèse, tubérisation, bourgeons, polymorphisme.

INTRODUCTION

La culture de Patate douce est très répandue dans toutes les zones tropicales ou sub-tropicales du monde, voire même dans certaines régions tempérées chaudes. La propagation de cette plante se fait essentiellement par voie végétative soit à partir de tubercules, soit à partir de fragments de tiges. Cependant, ce mode de multiplication se heurte à un certain nombre d'inconvénients dont voici les plus importants :

— **difficulté de conservation des tubercules et de propagation de plants à partir de ces derniers**

Dépourvus de dormance, les tubercules peuvent germer très rapidement en conditions de milieu favorables. Aussi, afin de leur assurer une bonne conservation, doivent-ils subir des traitements appropriés (TERESHKOVICH et NEWSOM, 1964). De plus, les tubercules mères de la plupart des variétés nouvellement créées ne sont capables de fournir qu'un nombre restreint de pousses (GUNCKEL et al., 1972).

Pour ces raisons, les plantations sont réalisées préférentiellement à partir de boutures de tiges.

— **existence d'une très grande hétérogénéité au sein d'une plantation**

Des travaux réalisés chez de nombreux végétaux (NOZERAN et al., 1971) et particulièrement chez la Patate douce ont montré que les différentes parties de tiges (KRAKER et BOLHUIS, 1967) ou de tubercules (CORDNER et al., 1950) ne sont pas dotées des mêmes potentialités. Il s'ensuit qu'une part non négligeable de la variabilité peut provenir de la constitution même de la plantation (mise en place à partir de fragments de tiges ou de tubercules sans tenir compte ni de leur position ni de leur âge).

— **présence de nombreux agents pathogènes**

La Patate douce, comme toutes les plantes multipliées végétativement depuis longtemps, est attaquée par de nombreux agents pathogènes (LISZT et CONVER, 1978) qui, dans le cas de certaines viroses, peuvent affecter les rendements et même parfois entraîner la quasi extinction de variétés sélectionnées pour leur structure génétique intéressante (GUNCKEL et al., 1972).

* SIHACHAKR (D.) — Laboratoire d'Etude et d'Exploitation du Polymorphisme végétal, associé au C.N.R.S., Université Paris Sud, Bât. 360, Centre d'Orsay, F. 91405 Orsay Cédex.

Nous avons essayé, chez la Patate douce, au moyen des techniques de culture, *in vitro*, d'explorer quelques voies faisant intervenir la multiplication végétative. Celle-ci, grâce à l'utilisation d'un matériel adéquat, peut, d'une part, par bouturage simple, aboutir à une homogénéité qui se conserve au fil des générations (multiplication «conforme», NOZERAN et BANCILHON, 1972). Elle peut aussi, d'autre part, être source de polymorphisme (publication «non conforme», NOZERAN et BANCILHON, 1972) et cela en particulier au travers de néoformations caulinaires produites sur calcs.

Divers auteurs ont entrepris la culture *in vitro* de différents organes ou fragments d'organes de cette plante dans des buts différents : étude de la nutrition minérale (WILLIAM et GRANT, 1960; GREIG et SMITH, 1960), analyse de l'action de diverses substances exogènes sur les possibilités de callogénèse et d'organogénèse des explants mis en culture (NAKAJIMA et KAWAKAMI, 1969; YAMAGUCHI et NAKAJIMA, 1972; GUNCKEL et al., 1972; HOZOY, 1973; HOUNDONOUGBO, 1975; YAMAGUCHI, 1978 ...). Bien que plusieurs de ces chercheurs aient mentionné la production de bourgeons adventifs, une grande quantité de néoformations caulinaires n'a été obtenue que dans deux cas (à partir de cal de feuilles (SEHGAL, 1975) et à partir de cal d'anthères (SEHGAL, 1978; TSAY et TSENG, 1979)). De plus, la culture de méristèmes ou d'apex, entreprise le plus souvent pour débarrasser la Patate douce de ses virus (NIELSEN, 1960; LOEBENSTEIN et HARPAZ, 1960; MORI, 1971; OVER DE LINDEN et ELLIOT, 1971; ALCONERO et al., 1975), a permis aussi de réaliser une multiplication

végétative intensive (ELLIOT, 1969; LIZT et CONOVER, 1978).

Notre objectif propre a été d'étudier *in vitro* chez la Patate douce des problèmes posés par les deux volets de la multiplication végétative.

Une première partie de notre travail concerne la mise au point d'une méthode de multiplication végétative «conforme» et intensive par bouturage successif de nœuds de tiges. La deuxième est consacrée, elle, à l'obtention de néoformations, à partir de divers organes ou fragments d'organes, et à leur analyse.

MATERIEL ET METHODES

MATERIEL VEGETAL UTILISE

Nous avons travaillé sur un clone de Patate douce originaire de Guyane. Des portions apicales de tiges comportant une dizaine de nœuds prélevées sur des plantes mères cultivées en serre (16 heures de lumière par jour, 80 % d'humidité, température moyenne de 25-30°C) ont constitué le matériel de départ. Ce sont les nœuds de ces tiges qui ont servi d'explants primaires dans la multiplication végétative banale.

Pour la culture d'organes ou de fragments d'organes, les explants ont été prélevés sur des tiges de 4ème ou de 5ème repiquage provenant de multiplication végétative banale (fig. 1).

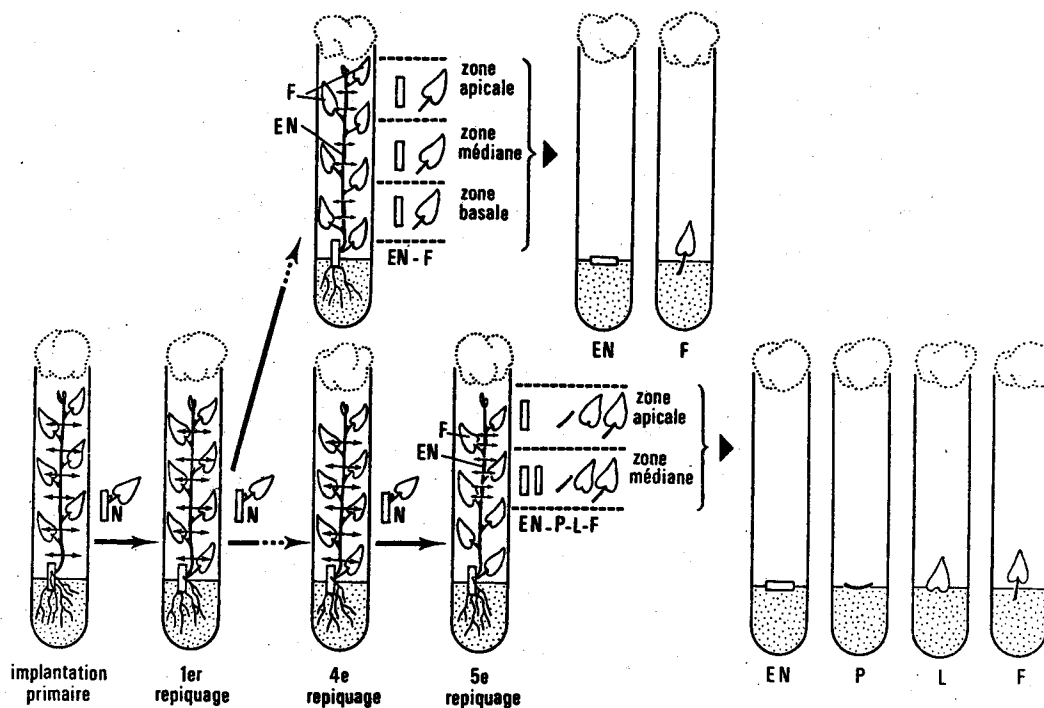


Fig. 1 — Schéma expliquant le déroulement des diverses opérations concernant la multiplication végétative banale par bouturage successif de nœuds et la culture d'organes ou fragments d'organes : entre-nœud (EN), feuille entière (F), limbe (L) et pétiole (P).

STERILISATION DU MATERIEL VEGETAL DE DEPART

Les portions de tiges issues des plantes mères ont été débarrassées de leurs feuilles, stérilisées (eau javellisée à 1 % — 30 minutes, hypochlorite de calcium à 3 % — 45 minutes), puis rincées dans trois bains d'eau stérile (15 minutes chacun). Après ces opérations, des fragments de 1,5 cm de long et comportant chacun un nœud ont été ensemencés, en position verticale, dans des tubes contenant différents milieux gélosés.

A la suite de cette méthode, les fragments sont restés vivants et on a relevé moins de 7 % d'infections.

MILIEUX ET CONDITIONS DE CULTURE

Les tubes ensemencés sont placés dans des pièces de culture à $25 \pm 1^\circ\text{C}$, avec 40 - 50 % d'humidité, 12 heures de lumière par jour et une intensité au niveau des tubes d'environ $0,9 \text{ w.m}^{-2}$.

Deux milieux de base additionnés de 20 gr de saccharose, solidifiés par 8 gr d'agar et dont le pH a été ajusté à 6,5 ont été testés : celui de Knop dilué de moitié et un milieu M.S. modifié comportant les macroéléments de MURASHIGE et SKOOG (1962) et les microéléments de HELLER (1953).

Ayant constaté la supériorité du M.S. modifié, nous l'avons par la suite toujours utilisé en lui ajoutant le complexe de vitamines de MOREL (1948) ainsi que des substances activatrices (acide indolacétique (AIA), acide naphthalène acétique (ANA), acide indolbutyrique (AIB), acide 2,4 dichlorophénoxyacétique (2,4D), kinétine, benzyladénine), à différentes concentrations et selon diverses combinaisons. Le milieu M.S. modifié, enrichi du complexe de vitamines de MOREL et de 1 mg/l d'AIA, s'est révélé être le plus satisfaisant et cela aussi bien pour la croissance des tiges issues de multiplication végétative banale que pour la production de néoformations d'organes sur les explants mis en culture.

RESULTATS

MULTIPLICATION VEGETATIVE «CONFORME» ET INTENSIVE PAR BOUTURAGE SUCCESSIF DE NOEUDS

Il est important de mentionner qu'à l'aisselle des feuilles des tiges de Patate douce obtenues en serre il y a de 1 à 3 bourgeons axillaires latents, disposés en série linéaire descendante (fig. 2). Les bourgeons de 2ème et de 3ème ordre n'apparaissent que lorsque celui de premier ordre est suffisamment grand. De plus, au niveau de chaque nœud, il existe, chez ce clone, 1 à 4 paires de racines préformées situées de part et d'autre de l'insertion du pétiole sur la tige (fig. 2). La première paire se forme très tôt au cours de la croissance de la tige : les premiers stades méristématiques de son ontogénèse sont visibles dès le 3ème nœud en-dessous de l'apex; au 4ème nœud apparaissent les ébauches de la 2ème paire et celles des

deux autres paires sont initiées dans les nœuds suivants. L'importance du développement de ces racines est fonction de leur ordre d'apparition, la première paire étant la plus longue.

Chaque nœud mis en culture *in vitro* donne naissance habituellement à une seule tige, non ramifiée, provenant généralement du développement du bourgeon axillaire supérieur du nœud. Toutefois, sur des nœuds, très certainement d'un clone différent et mis en culture dans un milieu contenant à la fois de la kinétine et de l'acide gibbérellique, HOUNDONOUGBO (1975) a pu noter le démarrage de plusieurs bourgeons axillaires (1,7 en moyenne par nœud). Dans notre expérimentation, la tige qui se développe à partir du nœud bouturé comporte, en moyenne, au bout d'un mois, 6 à 7 feuilles étalées. Chacune de ces tiges permet donc de repiquer, en moyenne, 6 à 7 nœuds d'un centimètre de long, qui donneront à nouveau des tiges dont les nœuds pourront être repiqués et ainsi de suite (fig. 1).

La présence de la feuille axillante favorise grandement le démarrage du bourgeon.

Les feuilles des tiges obtenues *in vitro* sont de petite taille mais présentent la même forme que celles des plantes mères de ce clone.

Outre la réduction de la taille des feuilles sur les tiges obtenues *in vitro*, dans la plupart des cas, les racines nodales sont absentes : aucun méristème radical préformé n'est anatomiquement visible (Pl. I, 1). Cette situation existe déjà sur les tiges issues des explants primaires. Sur de vieilles cultures, âgées de plus de cinq mois, et que l'on a laissé vieillir sans les repiquer, à certains niveaux des tiges issues de nœuds bouturés, on peut noter l'apparition de la première paire de racines nodales et uniquement de celle-là.

L'absence de racines nodales sur les tiges cultivées *in vitro* et régulièrement repiquées semble être un marqueur morphologique de la phase de jeunesse de cette plante. Chez les individus issus de graines ou de tubercules, les racines préformées ne sont visibles que lorsque les jeunes plantes atteignent une dizaine de centimètres.

Ce phénomène de rajeunissement a été observé, au laboratoire chez de nombreux végétaux en culture *in vitro* (NOZERAN et BANCILHON, 1972; NOZERAN, 1978).

L'enracinement des boutures de nœuds de Patate douce *in vitro* est facile grâce à la formation des racines nodales et internodales qui s'allongent et se ramifient abondamment. Certaines boutures sont cependant dépourvues de racines nodales.

Toutes les racines formées ont un géotropisme positif. Dans nos conditions de culture, même âgées, les boutures de nœuds n'ont jamais donné de racines tubérisées.

Cette méthode de multiplication végétative *in vitro* permet théoriquement l'obtention, en quelques mois, de

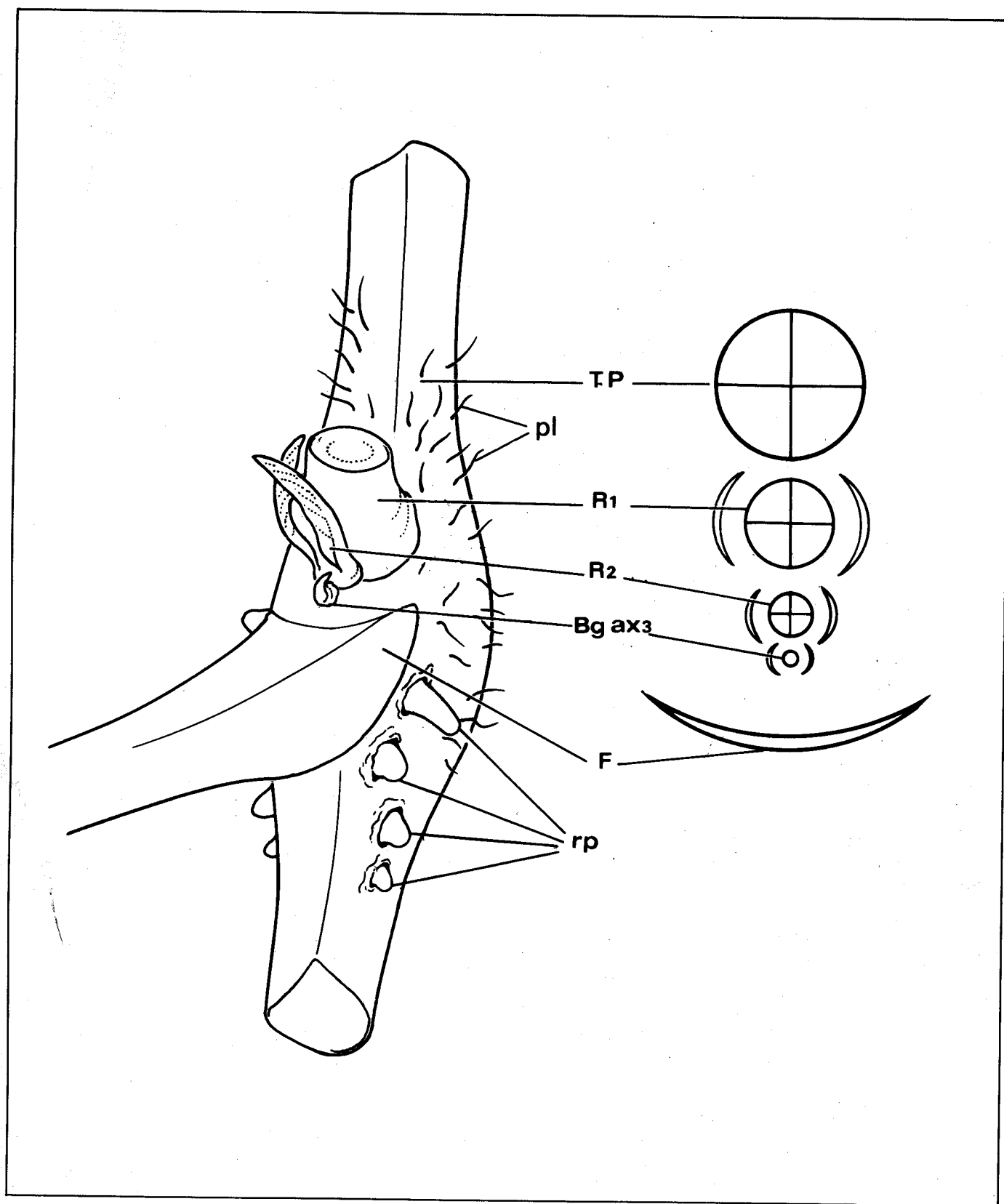


Fig. 2 — Une aisselle de tige de Patate douce du clone (GA) originaire de GUYANE.
 TP : tige principale avec poils (pl); R1 : rameau provenant du développement du 1^{er} bourgeon; R2 : rameau provenant du 2^{ème} bourgeon axillaire;
 Bgax3 : 3^{ème} bourgeon axillaire; F : feuille bractée; rp : racines nodales préformées.

plusieurs milliers de boutures, toutes rajeunies et homogènes, susceptibles d'être mises en terre et de donner des pieds adultes.

OBTENTION DES NEOFORMATIONS ET ANALYSE DES POTENTIALITES D'ORGANOGENESE DE DIFFERENTS EXPLANTS PROVENANT DE TIGES CULTIVEES *IN VITRO*

Etude des différences d'aptitude à la néoformation de racines de certains explants selon leur emplacement le long de la tige.

Pour cela, nous avons choisi 48 tiges homogènes, provenant du 4ème repiquage *in vitro*, âgées d'un mois et par conséquent comportant, en moyenne, 6 nœuds. Nous avons divisé chaque tige en trois parties (basale, médiane, apicale) comportant chacune deux feuilles étalées. Sur chacune des parties, nous avons prélevé une des deux feuilles (F) et le fragment d'entre-nœud (EN) d'une longueur de 0,5 cm compris entre elles. Au total 48 feuilles et 48 entre-nœuds ont été mis en culture pour chaque partie de la tige. Les feuilles ont été déposées verticalement dans le milieu gélosé (en enfonçant 0,5 cm de la base du pétiole), les entre-nœuds horizontalement (fig. 1).

Les racines prennent naissance, au bout de 3 à 5 jours, généralement au pôle basal des entre-nœuds et, pour les feuilles, à la base du pétiole. De petits cals se sont formés ensuite au niveau de la (ou des) zone (s) traumatisée (s) des explants et en particulier pour les entre-nœuds, au pôle basal.

Pour l'analyse des résultats, nous avons adopté une stratégie expliquée dans la légende du tableau I, à partir des données obtenues au bout de quinze jours de culture. Les feuilles présentent une proportion d'enracinement plus élevée que les entre-nœuds et en particulier pour les explants prélevés dans les zones apicales et médianes (tableau I).

Contrairement à ce que nous avons mentionné sur les nœuds de tiges, la majorité des racines néoformées, en particulier sur les entre-nœuds, sont aériennes et présentent un géotropisme négatif (Pl. I, 2 à 5). Des faits analogues ont été observés par GUNCKEL et al. (1972) sur des cultures *in vitro* de portions de tubercules.

Obtention de néoformations de bourgeons à partir de divers explants mis en culture et début d'analyse des plantes issues de ces néoformations

Compte tenu des résultats acquis ci-dessus nous avons volontairement utilisé, dans la suite de notre travail, uniquement des explants provenant des parties médianes et apicales de tiges issues, dans cette expérience, de boutures de nœuds de 5ème repiquage (fig. 1).

Quatre types d'explants ont été mis en culture :

- des fragments d'entre-nœuds (EN) et de pétiole (P) d'une longueur de 0,5 cm environ, déposés horizontalement sur le milieu;
- des feuilles entières (F) et des limbes (L), repiqués verticalement (avec environ 0,5 cm de leur base enfoncé dans le milieu).

Les fragments d'entre-nœuds ont été prélevés entre deux feuilles étalées successives dans les parties de tiges utilisées. Dans ces mêmes portions, les feuilles ont été aussi prises et ensemencées soit entières soit fragmentées en deux (limbe et pétiole) (fig. 1). Pour chaque type d'explants l'effectif a été de 144.

Une observation effectuée 45 jours après la mise en culture a permis d'observer des néoformations de bourgeons se développant en tiges (Pl. I, 2 à 5) sur un certain nombre d'explants.

L'examen du tableau II montre que la proportion d'explants avec bourgeons néoformés est significativement plus grande chez les entre-nœuds que chez les explants de nature foliaire (F, L et P). En ce qui concerne ces derniers, il n'y a pas de différence significative entre les proportions de néoformations de bourgeons issues de limbe ou de pétiole. Par contre, les feuilles entières présentent des proportions de néoformations de bourgeons significativement plus élevées que celles des limbes et de pétioles réunis (tableau II).

A partir des explants mis en culture, les bourgeons néo-formés ont pris naissance de trois façons différentes

- 1) soit le plus fréquemment au niveau de cals cicatriciels,
- 2) soit directement sur les explants à proximité des zones traumatisées,
- 3) soit à la base de racines néoformées.

Des bourgeons d'origine 1) et 3) ont déjà été signalés par GUNCKEL et al. (1972) sur des portions de tubercules et par HOUNDONUGBO (1975) sur des tissus de tubercules, de nœuds et d'entre-nœuds de tiges provenant de serre.

Les premières feuilles de ces tiges, développées à partir des bourgeons néoformés sont allongées et irrégulières; les suivantes ont une forme apparemment normale, semblable à celles de tiges provenant de multiplication végétative banale par bouturage de nœuds. Cependant, parmi les trois plantes issues de trois bourgeons néoformés à partir d'un limbe, l'une d'entre elles a présenté des panachures blanches sur sa tige et ses feuilles (Pl. I, 7 et 8). On peut penser que cette perturbation traduit une structure en chimère. On aurait donc dans le cal producteur de cette tige néoformée certaines cellules (ou tout au moins l'une d'entre elles) qui auraient été l'objet d'une modification. Bien qu'il s'agisse d'un cas isolé obtenu à partir d'un cal primaire, cette observation est intéressante car elle nous montre que, vraisemblablement, à partir de culture de tissus de diverses portions de cette plante on peut espérer obtenir un élargissement du polymorphisme de cette espèce.

Possibilités d'obtention de racines tubérisées

Au bout de neuf semaines environ de mise en culture des explants (ce sont les mêmes que dans le paragraphe précédent) certaines racines (aussi bien aériennes que plongeant dans le milieu de culture) ont acquis une croissance en épaisseur. Leur diamètre peut alors atteindre 2 mm, c'est-à-dire le double d'une racine non tubérisée formée *in vitro*. La tubérisation des racines situées à l'intérieur du milieu de culture s'arrête toujours à ce stade que nous avons appelé stade I (Pl. I, 6, TI).

Dans des cultures beaucoup plus âgées (de plus de 24 semaines), on peut observer des transformations importantes chez certaines racines aériennes tubérisées au stade I; formation d'un gros cal chlorophyllien et fort épaississement d'une courte portion sous-jacente de 6 à 7 mm de long; le diamètre de cette zone épaissie pouvant atteindre 4 mm donc le double de celui de la racine tubérisée au stade I se trouvant dans les mêmes conditions de milieu. De telles racines ont atteint alors le 2ème stade de tubérisation (Pl. I, 6, TII).

La tubérisation de certaines racines obtenues *in vitro* dépend de façon significative de la nature de l'organe ou du fragment d'organe à partir duquel elles ont pris naissance (tableau III). La proportion de telles racines est plus élevée chez les explants de nature foliaire que chez ceux d'entre-nœuds en particulier quand le limbe est présent.

Ces observations viennent confirmer le rôle primordial de la feuille et plus particulièrement du limbe dans le phénomène de tubérisation.

Si nous confrontons l'ensemble des résultats (enracinement, néoformation de bourgeons, tubérisation) nous constatons que la feuille est importante pour tout ce qui intéresse les parties radicales (enracinement et tubérisation), tandis que les entre-nœuds possèdent des tissus

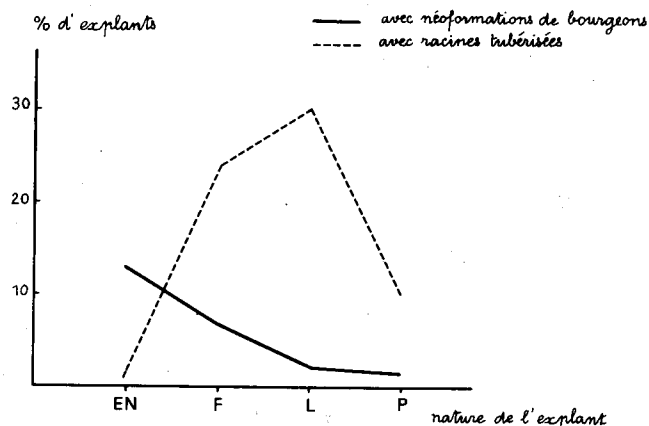


Fig. 3 — Pourcentage d'explants avec néoformations de bourgeons ou avec racines tubérisées en fonction de la nature de l'explant mis en culture : entre-nœuds (EN), feuille entière (F), limbe (L) et pétiole (P).

dont le potentiel paraît plus orienté vers la caulogénèse. Cette observation nous amène à noter une certaine opposition entre les phénomènes de néoformation de bourgeons et de tubérisation de certaines racines chez les deux types d'explants mis en culture (EN et F) (fig. 3).

Il est important de rappeler à ce sujet que, lors de multiplication végétative «conforme», nous n'avons jamais observé de racines tubérisées à partir de boutures de nœuds de tiges mis en culture *in vitro* et chez lesquelles on assiste au développement en tige du bourgeon axillaire supérieur. Cette information nous amène à penser qu'il s'agit bien, chez les explants mis en culture *in vitro*, d'un véritable antagonisme entre la production de racines tubérisées et le phénomène de caulogénèse.

DISCUSSION ET CONCLUSIONS

Par multiplication végétative banale *in vitro* (bouturage successif de nœuds), il est possible de produire, en partant d'un seul nœud, un grand nombre de boutures de Patate douce. Des potentialités élevées de production de boutures ont été également signalées au laboratoire chez diverses autres plantes telles que la Vigne (NOZERAN et BANCILHON, 1972), la Tulipe, les fraisiers, les *Citrus*, l'Ananas, le *Dahlia* (NOZERAN et ROSSIGNOL-BANCILHON, 1977), le Manioc (FERREOL, 1978) et la Pomme de terre (ROSSIGNOL-BANCILHON et al., 1980 a) ...

Ce type de multiplication *in vitro* chez la Patate douce nous a amené à constater, une fois de plus, deux faits fondamentaux qui se manifestent chez la plupart des végétaux cultivés de cette façon, à savoir la miniaturisation et le rajeunissement. Ce dernier phénomène se marque, chez les tiges de Patate douce obtenues *in vitro*, principalement par l'absence, au cours de leur premier stade de développement, des méristèmes de la première paire de racines nodales toujours présents au nœud des tiges des individus adultes. Les conditions écologiques particulières dans lesquelles sont placées ces boutures de nœuds *in vitro* amènent, en effet, une miniaturisation des tiges issues de ces explants et en particulier des méristèmes qui vont se développer en tiges. On peut penser que la réduction des méristèmes caulinaires est responsable, pour une part au moins, de leur fonctionnement suivant un mode juvénile (NOZERAN et BANCILHON, 1972; NOZERAN et ROSSIGNOL-BANCILHON, 1977). Cette hypothèse a déjà reçu un début de confirmation expérimentale en particulier chez le *Dahlia* (WATELET-GONOD et FAVRE, 1980).

A côté de cette étude de la multiplication végétative banale *in vitro* par bouturage de nœuds, ont été analysées, dans les mêmes conditions, les potentialités d'organogénèse de différents explants mis en culture (entre-nœuds, feuilles, limbes, pétioles).

Ainsi, à propos de la néoformation de racines, certains organes ou fragments d'organes (feuilles et entre-nœuds) ont des potentialités différentes selon leur lieu de

prélèvement sur la tige. Il faut signaler à ce sujet le comportement singulier de la région basale des tiges développées *in vitro*, c'est-à-dire leur rhizogénèse difficile. Des observations comparables ont été faites dans des expérimentations du même type réalisées sur la Pomme de terre (ROSSIGNOL-BANCILHON et al., 1980 a).

La culture *in vitro* d'organes ou de fragments d'organes a permis aussi d'observer que le phénomène de néoformation de bourgeons dépendait de la nature de l'explant mis en culture : c'est sur les fragments d'entre-nœud que le plus de néoformations de bourgeons, semble-t-il, peuvent être notées.

L'analyse des potentialités d'organogénèse (néoformation de bourgeons et de racines) de différents explants (portions de tubercules le plus souvent) de Patate douce mis en culture *in vitro* a déjà été effectuée par un certain nombre de chercheurs (GUNCKEL et al., 1972; HOZYO, 1973; HOUNDONUGBO, 1975; YAMAGUCHI, 1978...). Mais leur étude a surtout porté sur le rôle de la variété, l'action de diverses substances actives ajoutées au milieu de culture, l'effet de polarité de l'explant et beaucoup moins souvent sur la nature de celui-ci à l'exception toutefois de HOUNDONUGBO (1975). Ce dernier a d'ailleurs signalé, comme nous-mêmes, la plus grande aptitude à la néoformation de bourgeons des entre-nœuds. Il a même obtenu à partir de ce même matériel provenant directement de serre et cultivé sur des milieux enrichis en régulateurs de croissance un pourcentage de néoformations de bourgeons 5 à 6 fois supérieur à celui que nous avons noté sur ce même type d'explants.

Pour ce qui a trait maintenant au devenir des deux types d'organes néoformés apparus sur les explants *in vitro* on peut dire, concernant les bourgeons, qu'ils sont susceptibles de se développer en de jeunes plantes. Certains auteurs ont déjà utilisé ces techniques pour obtenir rapidement, à l'abri des insectes vecteurs et des agents contaminants, un grand nombre de jeunes individus de Patate douce. Toutefois ces derniers sont issus bien souvent d'un cal plus ou moins important prenant naissance à partir de divers tissus (feuille (SEHGAL, 1975), paroi d'anthères (TSAY et TSENG, 1979), paroi d'anthères et connectif (SEHGAL, 1978), apex méristématiques de tiges (ELLIOT, 1969; LIZT et CONOVER, 1978)). Or on sait que, d'une manière générale, une instabilité génétique se manifeste en particulier dans les cals et les cultures de cellules (NOZERAN et BANCILHON, 1972; D'AMATO, 1975, 1978; SIBI, 1976; HEINZ et al, 1977; SKIRVIN, 1978; WAKASA, 1979...). C'est d'ailleurs ce que nous avons pu vérifier aussi chez la Patate douce puisque, parmi les plantes néoformées obtenues en culture *in vitro*, l'une d'entre elles a présenté une morphologie particulière résultant vraisemblablement d'une structure en chimère.

Ainsi, si l'on veut utiliser ce type de multiplication pour obtenir une reproduction «conforme» à l'individu de départ, il faut être très prudent et analyser minutieusement chaque plante néoformée pour s'assurer qu'il en

est bien ainsi. La méthode de bouturage banal de nœuds que nous avons mise au point permet d'éviter ces risques de variation. A l'aide de plantes néoformées sur cals, on peut espérer plutôt élargir le polymorphisme de la Patate douce sans avoir recours à la sexualité. Des résultats en faveur de cette opinion sont déjà connus au laboratoire surtout en ce qui concerne la Pomme de terre (ROSSIGNOL-BANCILHON et al., 1980 b). Chez ce végétal, en effet, on peut obtenir, parmi les plantes néoformées sur cals en culture *in vitro*, des individus horticotypes différents par certaines particularités morphologiques et physiologiques de ceux provenant de multiplication végétative banale.

Quant aux racines néoformées, elles peuvent présenter, au bout d'un temps plus ou moins long, des formes de tubérisation anormales liées aux conditions de culture *in vitro* : le phénomène de tubérisation a du mal à s'exprimer à la lumière. Les feuilles (le limbe en particulier) favorisent la tubérisation des racines qu'elles ont produites.

Ces faits montrent le rôle primordial joué par la feuille dans le phénomène de tubérisation et sont en accord avec les travaux réalisés par différents chercheurs chez d'autres espèces tubéreuses telles que la Pomme de terre (GREGORY, 1956; MADEC, 1961; PERENNEC, 1966) ou le Topinambour (HAMMER et LONG, 1939; COURDUROUX, 1967).

HOUNDONUGBO (1975) avait déjà noté, en culture *in vitro*, la tubérisation des racines provenant de fragments d'entre-nœuds et même de nœuds mais uniquement lorsqu'elles étaient aériennes et à condition que le milieu de culture renferme à la fois de la kinétine et un facteur auxinique (en particulier du 2,4D).

La culture *in vitro* d'organes ou de fragments d'organes a fait apparaître enfin un antagonisme entre le phénomène de tubérisation de certaines racines formées et celui de néoformation de bourgeons. Ainsi, les entre-nœuds qui sont, parmi les explants utilisés, ceux qui semblent présenter le plus de néoformations de bourgeons donnent très peu de racines tubérisées. Lors des expériences de greffage chez la Patate douce, HOZYO (1970) avait déjà constaté une certaine opposition entre le développement des parties aériennes et la croissance des tubercules. En outre, un net antagonisme entre croissance et tubérisation a été relevé chez d'autres espèces tubéreuses telles que la Pomme de terre (PERENNEC et MADEC, 1960; MADEC, 1966; PERENNEC, 1966), le Topinambour (COURDUROUX, 1964 a et b) et la Crosne du Japon (LAGARDE, 1966).

Remerciements

J'adresse mes plus vifs remerciements à Monsieur le Professeur NOZERAN et à Monsieur et Madame ROSSIGNOL pour leurs multiples conseils et pour l'aide efficace qu'ils m'ont dispensée au cours de la réalisation de ce travail.

Bibliographie

- ALCONERO R., SANTIAGO A.G., MORALES F. et RODRIGUEZ F., 1975 : Meristem tip culture and virus indexing of sweet potatoes. *Phytopathology*, **65**, 769-773.
- CORDNER H.B., THOMPSON H. and JAYYOUSSEI M.S., 1950 : Proximal dominance and plant production in bedded tools of the sweet potato. *Proc.Amer.Soc.Hort.Sci.*, **55**, 423-426.
- COURDURoux J.C., 1964 a : Inhibition de croissance et tubérisation. *C.R.Acad.Sci.*, Paris, **259**, 4346-4349.
- COURDURoux J.C., 1964 b : Sur la présence d'une substance de tubérisation dans un extrait brut de tubercule de Topinambour. Mise au point d'un test de tubérisation. *C.R.Acad. Sci.*, Paris, **259**, 4791-4794.
- COURDURoux J.C., 1967 : Etude du mécanisme physiologique de la tubérisation chez le Topinambour (*Helianthus tuberosus* L.). *Ann.Sci.Nat., Bot.Biol.Vég.*, 12ème série, **8**, 215-256.
- D'AMATO F.D., 1975 : The problem of genetic stability in plant tissue and cell cultures in O.H. Frankel and J.G. Hawkes (Eds) *Crop Genetic Resources for to day and to morrow*, Cambridge University Press, Cambridge, 333-348.
- D'AMATO F.D., 1978 : Chromosome number variation in cultured cells and regenerated plants. Frontiers of plant tissue. *International congress of plant tissue and cell culture 4/1978 Calgary CAN Calgary : International Association for plant tissue culture*, 287-295.
- ELLIOT R.F., 1969 : Growth excised meristem tips of Kumara *Ipomoea batatas* (L.) Poir. in axenic culture. *N.Z.J.Bot.*, **7**, 158-166.
- FERREOL L., 1978 : Multiplication végétative et élimination des phénomènes de dégénérescence chez des clones de Manioc (*Manihot esculenta* Grantz) Cultivés *in vitro*. Thèse Doct.3ème Cycle, Univ.Paris Sud, Centre d'Orsay, 101 p.
- GREGORY L.E., 1956 : Some factors for tuberisation in the potato plant. *Amer. J. Bot* **43**, 281-288.
- GREIC J.K. and SMITH F.W., 1960 : Some effects of various levels of calcium, potassium, magnesium and sodium on sweet potato grown in nutrient solutions. *Proc.Amer.Soc.Hort.Sci.*, **75**, 561-569.
- GUNCKEL J.E., SHARP W.R., WILLIAMS B.W., WEST W.C. and DRINKWATER W.O., 1972 : Root and shoot initiation in sweet potato explants as related to polarity and nutrient media variation. *Bot.Gaz.*, **133**(3), 254-262.
- HAMMER K.C. and LONG E.M., 1939 : Localization of photoperiodic perception in the *Helianthus tuberosus*. *Bot. Gaz.*, **101**, 81-90.
- HEINZ D.J., KRISHNAMURTHI M., NIKELL L.G. and MARETZKI A., 1977 : Cell, tissue and organ culture in sugarcane improvement, p.3-16 in : *Applied and Fundamental Aspects of Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, Edt. by J. Reinert and Y.P.S. Bajaj, Springer Verlag, Berlin Heidelberg, new York.
- HELLER R., 1957 : Recherches sur la nutrition minérale des tissus végétaux *in vitro*. *Ann.Sci.Nat.Bot.*, **14**, 1-223.
- HOUNDONUGBO B., 1975 : Sur la culture *in vitro* de tissus de Patate douce. Thèse Doct.3ème Cycle, Univ. des Sciences et Techniques de Lille, 77 p.
- HOZOYO Y., 1970 : Growth and development of tuberous root in sweet potato. *Proc. of the 2nd Inter-Symp. on Tropical Root and Tuber Crops, Hawaii*, Vol. 1, 22-23.
- HOZOYO Y., 1973 : The callus formation on tissue explant derived from tuberous roots of sweet potato plants. *Bull.Nat.Inst.Agr.Sci.*, série D, Japan, **24**, 1-33.
- KIMBALL A.W., 1954 : Short-cut formulae for the exact partition of in contingency tables. *Biometrics*, **10**, 452-458.
- KRAKER J.P. and BOLHUIS G.G., 1967 : Propagation of sweet potato with different kinds of cuttings. In Tai : *Proc. of the 1st Inter-Symp. on Tropical Root Crops. Univ. of the West Indies, St Augustine, Trinidad*, 2-8 April, 1, III, 131-135.
- LAGARDE J., 1966 : Thermopériodisme et développement (croissance, tubérisation, «boulage») chez le Crosne du Japon. *Bull.Soc.Physiol.Vég.*, **12**, 193-210.
- LIZT R.E. and CONOVER R.A., 1978 : *In vitro* propagation of sweet potato. *Hort-Science*, **13**(6), 659-660.
- LOEBENSTEIN C. and HARPAZ I., 1960 : Virus diseases of sweet potatoes in Israël. *Phytopathology*, **50**, 100-104.
- MADEC P., 1961 : Sur la présence et la possibilité d'extraction de substances inductrices de la tubérisation chez la Pomme de terre. *Ann.Physiol.Vég.*, **3**, 209-213.
- MADEC P., 1966 : Croissance et tubérisation chez la Pomme de terre. *Bull.Soc. Fr.Physiol.Vég.*, **12**, 159-173.
- MOREL G., 1948 : Recherches sur la culture associée de parasites obligatoires de tissus végétaux. *Ann.Epiphyties*, **14**, 123-234.
- MORI K., 1971 : Production of virus-free plants by means of meristem culture. *Japan Agr.Res.Quart.*, **6**, 1-7.
- MURASHIGE T. and SKOOG F., 1962 : A revised medium of rapid growth and bioassay with tobacco tissue cultures. *Plant Physiol.*, **15**, 473-497.
- NAKAJIMA T. and KAWAKAMI Y., 1969 : Root culture and initiation of adventitious buds in cultured roots of sweet potato, *Ipomoea batatas* Poir. *Proc.Crop.Sci.Soc.Jap.*, **38**, 454-458.
- NIELSON L.W., 1960 : Elimination of the internal cork virus by culturing apical meristems of infected sweet potatoes. *Phytopathology*, **50**, 840-841.
- NOZERAN R., 1978 : La multiplication végétative chez les végétaux supérieurs. *Belgium Crops Inter.Soc. for Hort.Sci.*, Gembloux, le 9 Juin 1978, p. 5-47.
- NOZERAN R. et BANCILHON L., 1972 : Les cultures *in vitro* en tant que technique pour l'approche des problèmes posés par l'amélioration des plantes. *Ann.Améli.Plantes.*, **22**(2), 167-185.
- NOZERAN R. et ROSSIGNOL-BANCILHON L., 1977 : Multiplication végétative chez les végétaux vasculaires. Colloque de morphogénèse 7-8 Mars, Orsay, 1974. *Mém.Soc.Bot.Fr.*, **124**, 59-96.
- OVER de LINDEN A.J. and ELLIOTT R.F., 1971 : Virus infection in *Ipomoea batatas* and method for its elimination. *N.Z.J.Agr.Res.*, **14**, 720-724.
- PERENNEC P., 1966 : Induction de la tubérisation et inhibition des bourgeons chez la Pomme de terre (*Solanum tuberosum* L.). *Bull.Soc.Fr.Physiol.Vég.*, **12**, 175-192.
- PERENNEC P. et MADEC P., 1960 : Influence du tubercule sur la croissance et le développement du germe de Pomme de terre. *Ann.Physiol.Vég.*, **2**, 29-67.
- ROSSIGNOL-BANCILHON L., NOZERAN R., GREHAN S. et NGUYEN VAN UYEN, 1980 a : La multiplication végétative «conforme» de la Pomme de terre : aspects fondamentaux et utilisation agronomique. Colloque Eucarpia «Application de la culture *in vitro* à l'amélioration des plantes potagères» Versailles 16-18 Avril 1980.
- ROSSIGNOL-BANCILHON L., NOZERAN R., QURAIISHI A. et DARPAS A., 1980 b : Début d'exploitation d'un des moyens d'extension de la variabilité chez la Pomme de terre : les néoformations sur cals. Colloque Eucarpia «Application de la culture *in vitro* à l'amélioration des plantes potagères» Versailles 16-18 Avril 1980.
- SEHGAL C.B., 1975 : Hormonal control of differentiation in leaf cultures of *Ipomoea batatas* Poir. *Beitr. Biol.Pflanzen*, **51**, 47-52.
- SEHGAL C.B., 1978 : Regeneration of plants from anther cultures of sweet potato (*Ipomoea batatas* Poir.). *Z. Pflanzen Physiol.Bot.*, **88**, 349-352.
- SIBI M., 1976 : La notion de programme génétique chez les végétaux supérieurs. II. Aspect expérimental. Obtention de variants par culture de tissus *in vitro* sur *Lactuca sativa* L. Apparition de vigueur chez les croisements. *Ann.Améli.Plantes*, **26**(4), 523-547.
- SKIRVIN R.M., 1978 : Natural and induced variation in tissue culture. *Euphytica*, **27**, 241-266.
- TERESHKOVICH G. and NEWSOM D.W., 1964 : The effects of storage and recurring on development of periderm tissue in several sweet potato varieties. *Proc.Amer.Soc.Hort.Sci.*, **85**, 434-440.
- TSAY H. and TSENG M., 1979 : Embryoid formation and plantlet regeneration from anther callus of sweet potato. *Bot.Bull.Academia Sinica*, **20**, 117-122.
- WAKASA K., 1979 : Variation in the plants differentiated from the tissue culture of Pineapple. *Japan J.Breed.*, **29**(1), 13-22.
- WATELET-GONOD C. et FAVRE J.M., 1980 : Miniaturisation et rajeunissement chez *Dahlia variabilis* (variété Télévision) cultivé *in vitro*. *Ann. Sci. Nat. Bot.* Parc, 13^e série, trim. 2 et 3, 51-61.
- WILLIAM A.J. and GRANT W., 1960 : Effects of KCL and dolomitic limestone on growth and ion of sweet potato. *Soil Sci.*, **89**, 347-352.
- YAMAGUCHI T., 1978 : Hormonal regulation on organ formation in culture tissue derived from root tuber of sweet potato. *Bull.Univ.Osaka Pref.* série B, **30**, 55-88.
- YAMAGUCHI T. and NAKAJIMA T., 1972 : Effects of abscissic acid on adventitious bud formation from cultured tissue of sweet potato. *Proc.Crop.Sci.Soc.Japan*, **41**, 531-532.

Tableau I
NOMBRE D'EXPLANTS AVEC ET SANS RACINES AU BOUT DE QUINZE JOURS DE MISE EN CULTURE

	Entre-nœuds			Feuilles		
	ZA	ZM	ZB	ZA	ZM	ZB
a	33	18	10	42	41	32
b	15	30	38	6	7	16
n	48	48	48	48	48	48
%	68,8	37,5	20,8	87,5	85,4	66,7

a : explants avec racines néoformées; b : explants sans racines néoformées; n : total colonnes; % : pourcentage d'explants avec racines néoformées

Les explants sont constitués d'entre-nœuds et de feuilles prélevés sur la zone apicale (ZA), zone médiane (ZM) et zone basale (ZB) des tiges obtenues *in vitro*. On a une table de contingence multidimensionnelle 3 x 2 x 2 pour laquelle un des totaux marginaux est fixé a priori. Le X^2 global de 71,82; ddl = 5; $\alpha < 1\%$, hautement significatif permet la décomposition en interactions à 2 caractères : § 1 et 2, et 3 caractères § 3 :

- 1) Comparaison des proportions d'explants enracinés selon leur origine, table 2 x 2 : $X^2 = 42,60$; ddl = 1; $\alpha < 1\%$, très hautement significatif;
- 2) Comparaison des proportions d'explants enracinés selon leur zone de prélèvement, table 2 x 3 : $X^2 = 23,87$; ddl = 2; $\alpha < 1\%$, très hautement significatif.
- 3) Interaction obtenue par différence : $X^2 = 5,35$; ddl = 2; non significatif pour $\alpha = 0,05$ - ($\alpha = 0,07$).

Tableau II
COMPARAISON DES PROPORTIONS DE NEOFORMATIONS DE BOURGEONS
OBTENUES AU BOUT DE 45 JOURS DE CULTURE

	Nature de l'explant					X_T^2	X_1^2	X_2^2	X_3^2
	P	L	F	EN	Total				
a	2	3	10	18	33	21,18	0,06	4,82	16,30
b	142	141	134	126	543	3 ddl	1 ddl	1 ddl	1 ddl
n	144	144	144	144	576	$\alpha < 1\%$	$\alpha = 0,81$	$\alpha = 0,03$	$\alpha < 1\%$
%	1,3	2,1	6,9	12,5		THS	NS	S	THS

a : nombre d'explants avec bourgeons néoformés; b : nombre d'explants sans bourgeons néoformés; n : total colonnes; % : pourcentage de néoformations de bourgeons; ddl : degré de liberté; α = probabilité; NS : non significatif pour $\alpha = 0,05$; S, THS : significatif pour α correspondant

Ces explants proviennent d'entre-nœuds (EN), de feuilles entières (F), du limbe (L) ou de pétiole (P). La stratégie d'analyse a été faite selon la méthode de calculs de X^2 d'après KIMBALL (1954).

X_1^2 : comparaison des proportions de P et L, NS;

X_2^2 : comparaison des proportions de (P + L) et F, S;

X_3^2 : comparaison des proportions de (P + L + F) et EN, THS;

X_T^2 : X^2 total, THS.

Tableau III
COMPARAISON DES PROPORTIONS D'EXPLANTS AVEC RACINES TUBERISEES
OBTENUS AU BOUT DE 9 SEMAINES DE CULTURE

	Nature de l'explant					X_T^2	X_1^2	X_2^2	X_3^2
	L	F	P	EN	Total				
a	44	35	15	1	95	57,01	2,04	20,18	34,79
b	100	109	129	143	481	3 ddl	1 ddl	1 ddl	1 ddl
n	144	144	144	144	576	$\alpha < 1\%$	$\alpha = 0,15$	$\alpha < 1\%$	$\alpha < 1\%$
%	30,6	24,3	10,4	0,7		THS	NS	THS	THS

a : nombre d'explants avec racines tubérisées; b : nombre d'explants sans racines tubérisées; n : total colonnes; % : pourcentage d'explants avec racines tubérisées; dl : degré de liberté; α = probabilité; NS : non significatif pour $\alpha = 0,05$; S, THS : significatif pour α correspondant.

On a adopté la même stratégie d'analyse que pour le tableau II.

X_1^2 : comparaison des proportions de L et F, NS;

X_2^2 : comparaison des proportions de (L + F) et P, THS;

X_3^2 : comparaison des proportions de (L + F + P) et EN, THS;

X_T^2 : X^2 total, THS.

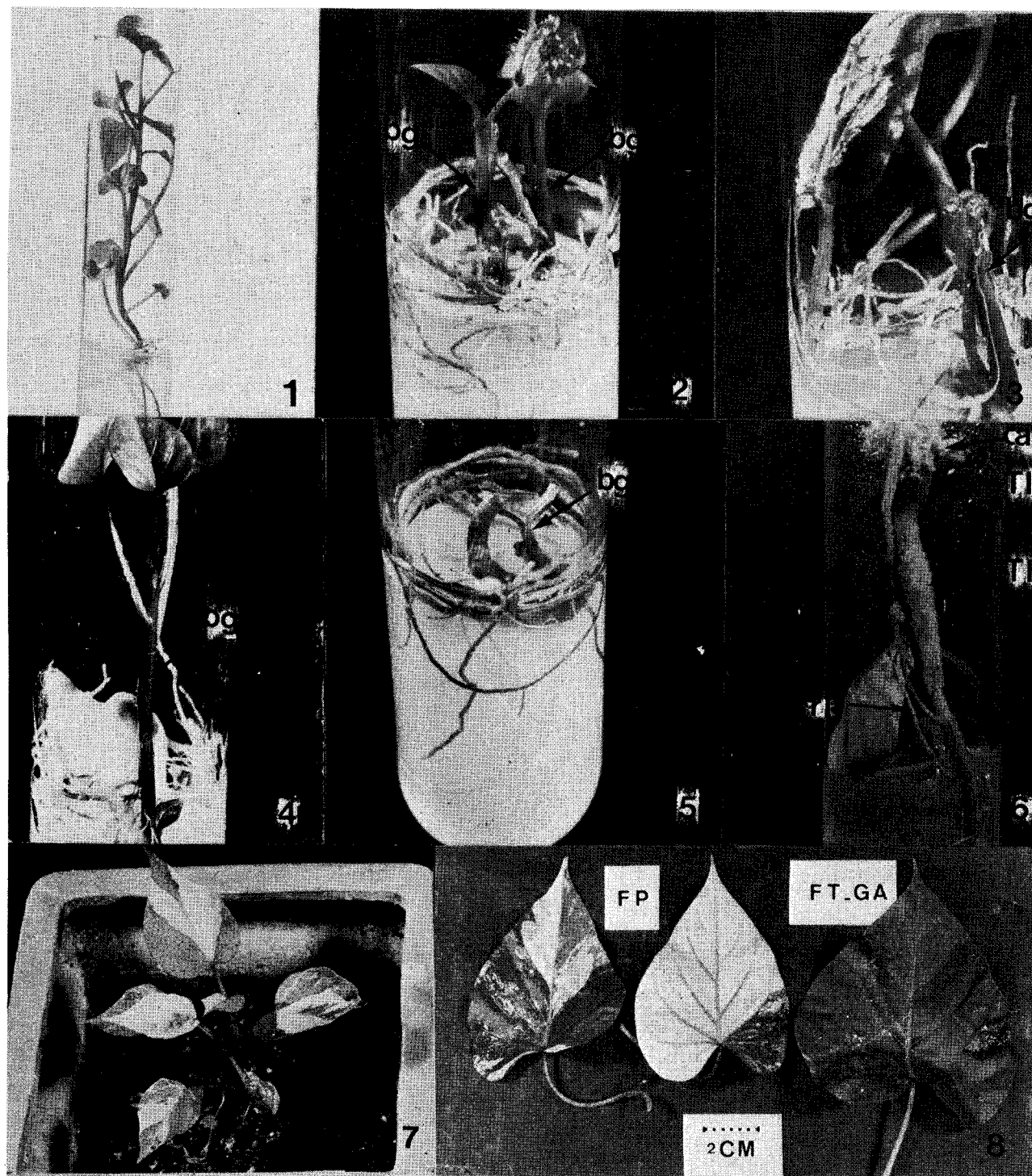


Planche I — 1) Individu rajeuni obtenu par multiplication végétative banale *in vitro*;
 2) Jeunes individus issus du développement de bourgeons néoformés (bg) sur un fragment d'entre-nœud;
 3) Jeune individu provenant du démarrage d'un bourgeon néoformé (bg) à partir d'une feuille;
 4) Jeune individu issu du développement d'un bourgeon néoformé (bg) à partir de la culture de limbe seulement;
 5) Bourgeon néoformé (bg) à partir d'un fragment de pétiole;
 6) Racine aérienne tubérisée (stade I (TI), stade II (TII)) avec racines latérales (r1) à géotropisme négatif;
 7) Jeune plante (issue d'un bourgeon néoformé sur un limbe mis en culture *in vitro* et transplantée en serre) présentant des panachures blanches sur sa tige et ses feuilles;
 8) Vue de détail de deux feuilles avec panachures blanches appartenant à la jeune plante précédente et d'une feuille d'une jeune plante témoin (provenant de multiplication végétative banale et transplantée en serre).