

D.E.A. Amélioration des plantes
Rapport de stage

La multiplication végétative par culture
de tissus foliaires chez le palmier à huile
Elaeis Guineensis Jacq.

Effet des auxines sur la production des cals

Rapport de D.E.A. : La multiplication végétative par culture de
tissus foliaires chez le palmier à huile
Elaeis Guineensis Jacq.

Effet des auxines sur la production des cals

- Introduction : I) Le palmier à huile est une plante pérenne à
===== reproduction uniquement sexuée. Le schéma
d'amélioration de sa production est basé sur
la recherche d'hybrides entre origines non
apparentées et à caractères complémentaires,
en utilisant une méthode de sélection réccu-
rente réciproque inspirée des travaux sur le
maïs.
- 2) Le matériel utilisé pour les plantations in-
dustrielles est constitué des meilleurs hy-
brides trouvés ; pour obtenir suffisamment de
semences, on est obligé de "reproduire" ces
hybrides à partir des autofécondations de leurs
parents. Il s'agit donc d'hybrides entre popu-
lations hétérozygotes présentant une certaine
variation.
- 3) La longueur d'une génération (10 ans) est un
handicap pour l'amélioration de cette plante,
mais plus encore pour la vulgarisation des
matériels sélectionnés.
- 4) La multiplication végétative conforme du pal-
mier à huile est une technique présentant de
nombreux avantages pour l'amélioration de la
plante.

- Augmentation du rendement en reproduisant les meilleurs individus des meilleurs hybrides.
- Amélioration de l'homogénéité des plantations.
- Vulgarisation plus rapide du matériel obtenu par la sélection.
- Elle permet de plus l'utilisation de géotypes particuliers (résistance aux maladies, qualité d'huile, adaptation, etc...), soit pour leur vulgarisation, soit pour faciliter la réalisation de programmes d'amélioration.
- La conservation des meilleurs géotypes occupant 70 m² par géniteur en plantation, n'en utilisera que 10 cm² sous forme de culture de tissus, constituant ainsi une véritable banque de gène miniature.

5) Il existe d'autres utilisations des cultures de tissus (création de nouveaux matériels, étude in vitro de la tolérance aux maladies) dont l'application peut être envisagée pour le palmier à huile.

La possibilité de pratiquer une multiplication végétative du palmier à huile par culture de tissus a été démontrée par Rabéchault et Martin (1976) travaillant dans les laboratoires de l'O.R.S.T.O.M. La méthode consiste à prélever des explantats foliaires sans affecter la survie de la plante, puis à les cultiver sur un milieu contenant des auxines ; des cals se forment alors au niveau des nervures, sont isolés puis repiqués sur un milieu d'entretien ; ces cals non organogènes et à croissance lente peuvent donner naissance à des cals à croissance beaucoup plus rapide et organogènes : repiqués sur un milieu contenant un équilibre auxine/cytokinine favorable à la différenciation, ces cals peuvent en effet donner des bourgeons se développant en jeunes plantes. Les études actuellement poursuivies, ont pour but une amélioration de ce procédé pour le rendre plus efficace et plus fiable.

I - OBJET de l'ETUDE

Cette étude vise à améliorer la production de cals à partir d'explantats foliaires de palmiers ; l'amélioration de cette phase apparaît nécessaire dans un double but :

I°) La possibilité d'obtenir des jeunes plantes à partir d'un arbre passe par l'obtention d'au moins un cal organogène à croissance rapide ; l'apparition d'un tel cal à partir d'un cal primaire est un événement rare ; sa certitude est donc

liée au nombre de cals primaires fournis par l'arbre. L'obtention d'un plus grand nombre de cals primaires à partir d'un arbre est donc nécessaire à l'amélioration globale du procédé.

- 2°) La transformation d'un cal primaire en cal organogène, pourrait être étudiée et améliorée par la suite, augmentant alors la probabilité de cet évènement sans augmenter le nombre de cals.

Ces études mettant en jeu des expérimentations à partir de cals primaires, devraient être facilitées par un approvisionnement abondant en cals primaires.

Parmi les facteurs susceptibles d'influencer la formation des cals, nous avons retenu l'action des auxines, en fonction de leur concentration dans le milieu de culture. La plupart des études, en effet, montrent que les tissus cultivés in vitro réagissent différemment suivant la dose d'auxine utilisée. Outre l'effet de la dose, il nous a semblé intéressant de pouvoir révéler d'éventuels effets de séquences. Habituellement, en effet, en réponse à une dose permanente de 1 mg/l de chacune des deux auxines 2-4 D et TCP*^{*}, nous constatons deux faits :

. Environ 70 à 80 % des explantats en culture ne présentaient aucun phénomène de callogenèse,

. Une partie des explantats présentaient un début de formation de cals, mais qui une fois induits, ne proliféraient plus. Ces observations nous ont conduits à formuler deux hypothèses dont cet essai a cherché à tester la véracité :

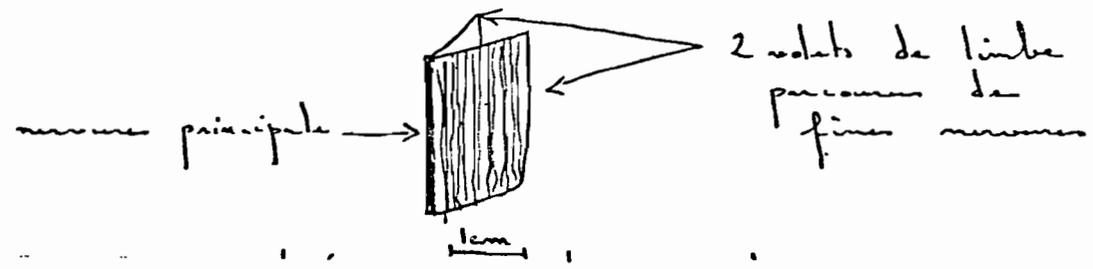
- 1°) La population d'explantats mis en culture était contrairement aux apparences assez hétérogène, comme le montre la différence de comportement entre les 20 à 30 % produisant des cals et les autres ; on pourrait espérer modifier ces proportions en utilisant une dose d'auxine différente ; Certains explantats pourraient en effet s'avérer plus exigeants, ne donnant des cals que pour des concentrations en auxines bien précises ; d'autres au contraire moins sensibles, produiraient des cals pour un plus large intervalle de concentration ; existerait-il donc une concentration pouvant satisfaire les premiers sans troubler les seconds ?

- 2°) Les doses d'auxines employées habituellement (1 mg/l), s'avéraient dans certains cas favorables à l'induction des cals, mais pouvaient ne plus correspondre à la dose permettant leur prolifération, suggérant l'idée d'une évolution de la sensibilité du cal à l'auxine au cours de sa croissance. La vérification de cette deuxième hypothèse impliquait l'intervention d'une séquence d'auxine à des doses croissantes ou décroissantes à la fin du phénomène d'induction.

II - MATERIEL & METHODES

A Le matériel végétal

Les explantats ont été prélevés dans la partie basale des jeunes feuilles, enserrées verticalement dans la flèche de l'arbre (tab. n° 2)



Avec le traitement utilisé habituellement, la formation des cals variait pour une part suivant deux composantes :

- 1°) le palmier : différence significative entre individus d'un même âge et d'une même lignée.
- 2°) le niveau de prélèvement par rapport à l'apex : le pourcentage de cals produits variait entre les niveaux, maximum pour les niveaux du centre et minimum aux niveaux extrêmes. Il paraissait donc logique de constituer des blocs homogènes quant à leur comportement vis à vis de la production de cals, en choisissant comme bloc un ensemble d'individus issus du même niveau de la même feuille d'un même palmier. A partir de 4 palmiers différents, présentant chacun deux feuilles disponibles, nous avons prélevé 6 niveaux de 2 cm d'épaisseur chacun ; nous disposions donc de

$$4 \times 2 \times 6 = 48 \text{ blocs}$$

B Définition des traitements

Le milieu de base, liquide pendant les 54 premiers jours, et gélosé par la suite, correspond au milieu de Murashige et Skoog modifié (selon Martin et Rabéchault). En milieu liquide, les explantats étaient agités sur roues planétaires à l'obscurité ; en milieu gélosé, une photopériode de 8 h par 24 h à 400 W/m² a été appliquée aux explantats randomisés sur les étagères.

Par ailleurs, nous avons choisi de ne pas désinfecter les explantats pour éviter un traumatisme de plus. Compte-tenu des hypothèses à tester, nous avons choisi les traitements suivants :

	AI	A2	BI	B2	B3	CI	C2
[2.4D] * et [TCPP] * mg/1 durant 1ère phase (0 à 35j)	5			I			0,2
2.4D et TCPP mg/1 durant 2ème phase	5	I	I	5	0,2	0,2	I

* 2.4D : acide 2.4 dichlorophenoxyacétique

TCPP : acide 3.4.5 trichlorophénoxypropionique

B Application des traitements sur le matériel

Chaque bloc a pu fournir entre 8 et 23 explantats avec une moyenne de 13,5. Une randomisation des 7 traitements sur le matériel a été effectuée successivement à l'intérieur de chaque bloc.

ex : le bloc n° I (Ier niveau de la première feuille du premier palmier) a fourni 17 explantats ; les 7 premiers ont été distribués successivement dans les 7 traitements suivant un ordre aléatoire :

CI, BI, B2, C2, B3, AI, A2 ; les 7 suivants ont été répartis de la même façon :

AI, BI, CI, B2, C2, A2, B3 ; quant aux trois restants, ils ont été répartis dans un ordre aléatoire à 3 des 7 traitements tirés au hasard : B3, CI, AI.

Cette méthode appliquée pour chacun des 48 blocs, nous a donc fourni 7 échantillons d'environ 92 individus chacun, issus de façon aussi représentative que possible, de tous les niveaux de chaque feuille des 4 palmiers. La puissance de comparaison des 7 traitements devrait être supérieure à ce qu'elle aurait été dans le cas d'un échantillonnage non stratifié. Par ailleurs, ce dispositif devrait permettre de mieux valoriser l'information visuelle qualitative, en évitant les écueils de la subjectivité et du manque de fidélité de ces observations.

Pour un caractère donné en effet, l'appréciation qualitative les uns par rapport aux autres, des explantats d'un même bloc ayant subi chacun un traitement différent, conduira à opérer un classement des 7 traitements pour ce bloc ; dans un grand nombre de cas, ce classement sera fidèle et même objectif car n'importe quel observateur sera mieux à même d'opérer un classement relatif qu'un jugement absolu.

Cette comparaison intra-bloc, répétée pour chaque bloc, donnera lieu à un classement moyen des traitements pour ce caractère, statistiquement interprétable à l'aide du test de Friedman.

III - RESULTATS & DISCUSSION

A Contaminations - L'absence de désinfection a entraîné un certain nombre de contaminations, plus nombreuses dans les niveaux extrêmes (tableaux n^{os} I et 2). Les pourcentages seront calculés sur le nombre d'explantats non contaminés lors de la mise en culture.

B Aspect des explantats

La méthode du classement intra-bloc des traitements, répétée à tous les blocs (47 blocs complets), a été effectuée pour le brunissement des explantats au bout de 38 j., mais globalement le test de Friedman n'a pas révélé de différences significatives entre les 7 traitements ; néanmoins, il a été possible grâce à une autre méthode, de trouver des différences d'aspect entre les explantats soumis aux différents traitements. Les explantats ont pu en effet être regroupés par catégorie de ressemblance sur les mêmes portoirs ; le tableau n^o 3 identifie ces catégories et indique la répartition des explantats suivant le traitement appliqué et la catégorie. Les tableaux n^{os} 4 et 5 montrent notamment que :

1^o) La concentration en auxines la plus élevée (5 mg/l) a entraîné un brunissement plus fréquent que les autres doses.

2^o) L'augmentation de la dose d'auxine appliquée au bout de 35 j. aux explantats, a entraîné l'apparition plus fréquente de zones translucides (traitement B2). Nous avons constaté par ailleurs, que les explantats verdissaient plus précocément sur les traitements CI et C2 que sur les autres ; par contre, aucun verdissement ne s'est produit sur AI ; sur A2, un timide verdissement n'est apparu que tardivement.

C Production de cals

1^o) % de cals produits. La lecture des tableaux N^{os} 6 à II montre que :

a/ La dose la plus élevée (5 mg/l) inhibe la formation des cals tant qu'elle est appliquée (traitement AI), provoque la nécrose des cals obtenus à une dose inférieure (B2), mais ne bloque pas toute possibilité de formation de cals par une baisse tardive de la dose (traitement A2) ; elle ne semble donc agir qu'en même temps qu'elle est appliquée.

b/ La concentration la plus faible (0,2 mg/l), permet une sortie plus précoce des cals et donc un pourcentage de cals plus élevé à une date donnée (traitement CI) ; appliquée tardivement à des explantats préalablement placés sur la dose témoin (B3) cette concentration ramène ceux-ci à un comportement proche des explantats maintenus à 0,2 mg/l depuis le début.

L'augmentation de 0,2 mg/l à 1 mg/l opérée à 35 j. sur l'échantillon C2, s'est accompagnée d'un ralentissement de la production des cals par rapport à CI.

Le test du Khi deux, quoique ignorant l'information contenue dans les blocs, a néanmoins suffi pour prouver l'existence de différences significatives entre la plupart des traitements (tableaux n^{os} I2, I3, I4). Cependant, les différences observées à 81 j. d'une part entre BI et B3 et d'autre part entre CI et C2, insuffisantes en valeur absolue pour être différenciées par le test du Khi deux, ont été trouvées significatives par un test plus puissant. A partir du regroupement de certains niveaux, nous avons pu recomposer 13 blocs ; à l'intérieur de chacun de ces blocs, les nombres d'explantats donneurs et non donneurs de cals ont été calculés pour les deux traitements à comparer ; ces deux nombres ont permis, grâce à la transformation de Frieman et Tukey, d'obtenir une valeur ayant une distribution normale, et fonction croissante du pourcentage de cals. Un test de Student a comparé les différences intra-couple entre les valeurs de chaque traitement. Ce test (tableaux n^{os} I5 et I6) conclue finalement qu'à 81 j., les pourcentages de cals produits par B3 et CI sont respectivement supérieurs à ceux de BI et C2. Par contre, le même test n'a pas trouvé de différences entre B3 et C2 à 81 j.

2°) Aspect des cals. Les cals produits semblaient plus volumineux sur les traitements CI, C2, B3 que sur le témoin ; une double pesée du flacon récepteur, avant puis après le dépôt des cals, n'a permis que de dégager une tendance (tableau n° I7) ; une perte de poids du flacon lors du repiquage des cals dans ces flacons, a rendu impossible la comparaison des poids pour les cals les plus petits (60 mg) ; le tableau n° I8 montre néanmoins que des cals de plus de 100 mg n'ont pu être isolés que sur les traitements B3, CI, C2.

D Discussion. L'action des auxines, extériorisée au niveau de la formation des cals et sur l'aspect des explantats, pourrait s'interpréter comme la juxtaposition de deux actions :

1°) Stimulation des divisions de certaines cellules encore peu différenciées et inhibition de la différenciation de ces cellules ; il semble bien (Rabéchault c.v.) que les cals prennent naissance au milieu des faisceaux procambiaux

des nervures. Une étude histologique de la réponse au 2.4 D de fragments de feuilles d'une monocotylédone (*Sansevieria Laurentii* de Wild) a montré que les cals se formaient à partir des cellules du parenchyme périvasculaire (Toponi 1962).

Les cellules du cal ne feraient-elles que refléter l'état des cellules initiales, méristématiques, cambiales ou parenchymateuses suivant leur origine tissulaire ?

Y aurait-il au contraire, accompagnant ces divisions, une évolution progressive des cellules vers un état aussi peu différencié que la première cellule embryonnaire ?

Tout en stimulant les divisions cellulaires, les auxines rétabliraient-elles la liberté d'expression pour certains gènes ?

2°) La toxicité du 2.4 D et du T.C.P.P. à dose élevée, révélée par le brunissement des tissus et leur incapacité à verdier, pourrait résulter du blocage de certaines voies métaboliques essentielles.

Shewry (1971) a montré que sur des feuilles d'orge, le 2.4 D inhibait la production de chlorophylle, ce phénomène résulterait d'après cet auteur, d'une inhibition de la synthèse de protéines chloroplastiques.

Par ailleurs, de nombreuses études ont montré que le 2.4 D employé à dose faible, stimulait la synthèse de l'A.R.N., ainsi que l'activité de la ribonucléase (Key 1969) ; d'après cet auteur, des doses létales de 2.4 D peuvent inhiber la synthèse ainsi que la décomposition de l'A.R.N. Le blocage, ou le ralentissement du turn-over de l'A.R.N. compromettrait-il la synthèse de protéines essentielles ?

IV - CONCLUSION

La présente étude a donc permis de répondre aux deux hypothèses avancées :

1°) Une modification de la concentration en auxines s'est accompagnée d'une variation de la fréquence et des délais d'apparition des cals. En particulier, réduire de 5 fois la dose par rapport au témoin a permis de doubler le nombre d'explantats donnant des cals à 81 j. ; un plus grand nombre de cals volumineux s'en est également suivi.

2°) La vitesse d'apparition des cals à partir d'une date donnée (0 ou 35 j. dans le cas étudié), semble n'être qu'une fonction décroissante de la concentration en auxines appliquée à partir de cette date ; la concentration appliquée antérieurement ne semble pas influencer le comportement ultérieur des explantats dans l'hypothèse où ces explantats sont intacts au début de cette phase.

Les phases d'induction et d'expression des cals ont donc montré les mêmes exigences en auxines.

Cette étude demande à être prolongée dans deux directions :

1°) Généraliser cet effet de la dose à d'autres lignées, aux arbres adultes ainsi qu'aux hybrides interspécifiques (Guineensis x Melanococca). A l'heure actuelle, des explants ayant été prélevés sur un arbre adulte en Côte d'Ivoire, commencent à donner des cals sur le traitement comportant la dose d'auxines de 0,2 mg/l ; il semble donc qu'il n'y ait pas lieu de craindre des différences de sensibilité à l'auxine entre des jeunes arbres de pépinière et des arbres de plus de 10 ans.

2°) Approfondir cette étude.

La courbe d'action des auxines (% de cals/concentration en auxines) passe donc actuellement par quatre points connus (le point 0,0 a déjà été testé, Rabéchault c.v.) ; on peut à priori supposer cette courbe continue et à maximum unique ; la dose optimale unique devant se trouver nécessairement entre 0 et 1 mg/l et vraisemblablement proche de 0,2 mg/l, reste donc à déterminer. Un essai comparatif de doses encadrant de près la dose de 0,2 mg/l, actuellement en cours, permettra d'affiner cet optimum. Désorganiser sans détruire exige un sens de l'équilibre à la mesure de la sensibilité de l'être touché.

A N N E X E
T A B L E A U X

**EXPLANTATS CONTAMINES
LORS DE LA
MISE EN CULTURE**

N° du palmier Niveau	4		5		6		7		Total 4 palmiers % contami- nation
	contaminés c	non contam. c	c	c̄	c	c̄	c	c̄	
I	0	27	2	35	7	21	10	9	17,1
2	0	25	0	40	5	31	2	18	5,7
3	2	27	0	43	1	33	0	23	2,3
4	0	25	0	36	0	24	12	10	11,2
5	9	16	0	44	11	6	15	11	31,2
6	24	0	0	44	11	3	14	15	44,1
total sous niveaux % contamina- -tion		21,5		0,8		22,8		38,1	18,8

TABLEAU N° 1

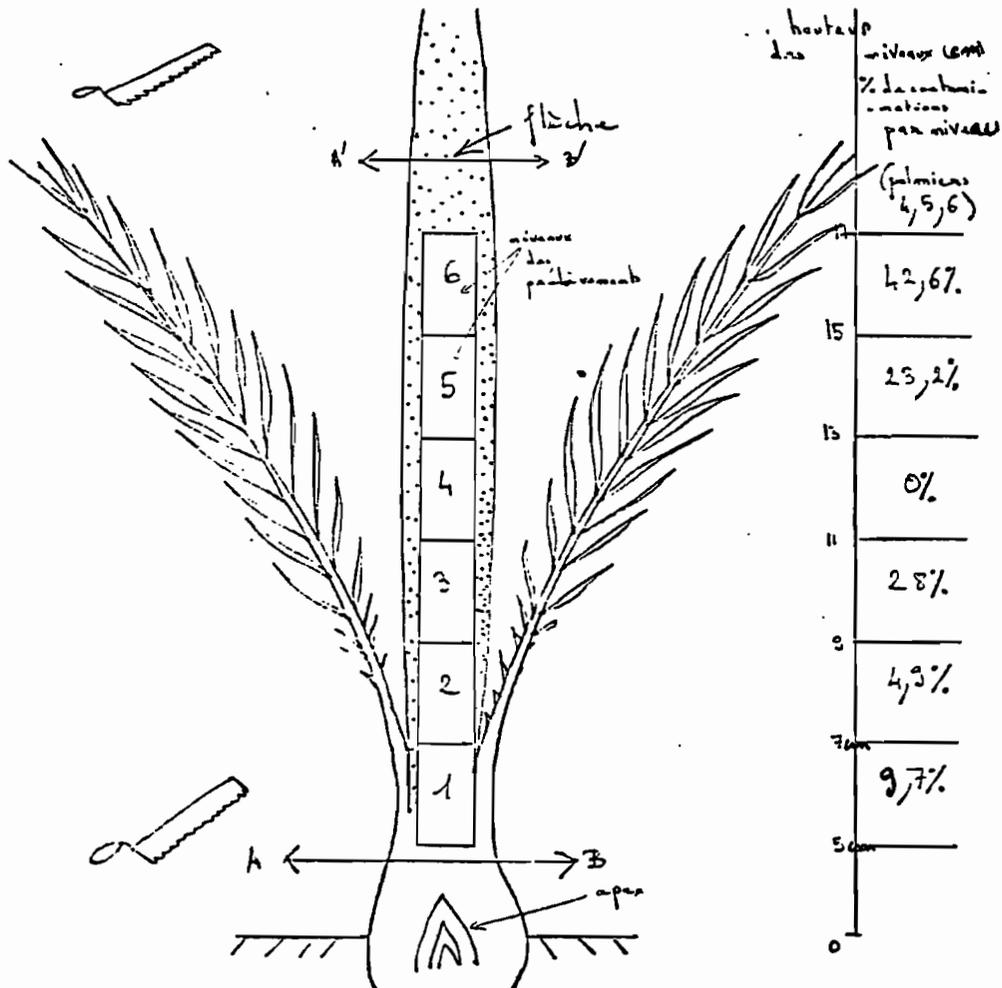


TABLEAU N° 2

Niveaux des prélèvements (I à 6)
et contaminations

Aspect des explantats ; variation entre traitements

à 50 j.

classe \ traitement	AI	A2	BI	B2	B3	CI	C2
	(I)	0	0	II	8	II	I2
(2)	I	I	I6	6	IO	27	I5
(3)	IO	5	I	0	2	0	0
(4)	I8	I3	I5	II	9	II	23
(5)	I4	I9	7	7	6	6	3
(6)	I3	I5	8	6	8	9	6
(7)	I	I	5	I5	3	2	4
(8)	7	7	I	I3	II	6	9
(9)	4	3	I	0	3	I	0

TABLEAU N° 3

- (I) Beau ; sans tache brune ni tache translucide ; blanc ou vert
- (2) Beau ; quelques zones brunes localisées aux bordures
- (3) Explantat jaune bistre, parsemé de mouchetures brunes
- (4) {Présence de taches brunes en dehors des bords ou des limites
de coupures ; brunissement toutefois limité à moins d'un
quart de la surface
- (5) Idem que (4) mais brunissement couvrant 1/4 à 1/2 de la surface
- (6) Idem que (4) mais très brun (50 à 100% de la surface brune)
- (7) Beau ; mais présence d'une zone translucide + brune
- (8) Explantat totalement translucide + brun
- (9) Reste ; explantats très gaufrés et mouchetés de brun

Aspect des explantats à 50 j. ; comparaison des traitements 2 à 2

9X

	AI	BI	B2	B3	CI	C2	(AI,autres) I	B3, CI 2	CI, C2 3	(BI, B2) 4	(B2, CI) 5	(B2, C2) 6	
(I) + (2) "beaux"	I	27	I4	2I	39	26	**	$\chi^2 = 5,18$	$\chi^2 = 3,78$	$\chi^2 = 6,29$	$\chi^2 = 14,7$	$\chi^2 = 3,92$	Autres non signif.
Autres	67	38	52	42	35	45		$\chi^2 = 5,1\%$	*	**	*		

	AI	BI	B2	B3	CI	C2	(AI, B2) 7	(BI, B2) 8	(BI, B3) 9	(B2, B3) 10	(B2, CI) 11	(B2, C2) 12	
(7) + (8) "translucide"	8	6	28	I4	8	I3	$\chi^2 = 16,08$	$\chi^2 = 18,77$	$\chi^2 = 4,09$	$\chi^2 = 5,99$	$\chi^2 = 18,25$	$\chi^2 = 9,48$	Autres non significatives
Autres	60	59	38	49	66	58	**	**	*	*	**	**	

	AI	BI	B2	B3	CI	C2	(AI,autres) I3	(B2, CI) I4					
(I) + (2) "beaux"	I	27	I4	2I	39	26	**	$\chi^2 = 4,77$	Autres différences non significatives				
(3)+(4)+(5) + (6) + (9) "bruns non translucide"	59	32	24	28	27	32		*					

TABLEAUX N° 4

Aspect des explantats à 50 j. ; comparaison des traitements
2 à 2 ; récapitulatif du tableau n° 4

2ème désigné	A I	A 2	B I	B 2	B 3	C I	C 2
A I	=	<u>~</u>	+ brun (I et I3)	+ brun (Voir Tableau n° 4 colonnes I et I3)	+ brun	+ brun	+ brun
A 2	<u>~</u>	=	+ brun	+ brun	+ brun	+ brun	+ brun
B I	- brun I et I3	- brun	=	- transl. 8	- transl. 9	<u>~</u>	<u>R</u>
B 2	- brun I3 + transl. 7	- brun + transl.	+ transl. 8	=	+ transl. 10	+ transl. II brun I4	+ transl. I2
B 3	- brun I et I3	- brun I	+ transl. 9	- transl. 10	=	- de beaux:	<u>~</u>
C I	- brun I et I3	- brun	<u>~</u>	- transl. II brun I4	+ de beaux:	=	+ de beaux 3
C 2	- brun I et I3	- brun I et I3	<u>~</u>	+ de beaux 5 - transl. I2	<u>~</u>	- de beaux 3	=

TABLEAU N° 5

~ différences non significatives à 5 %

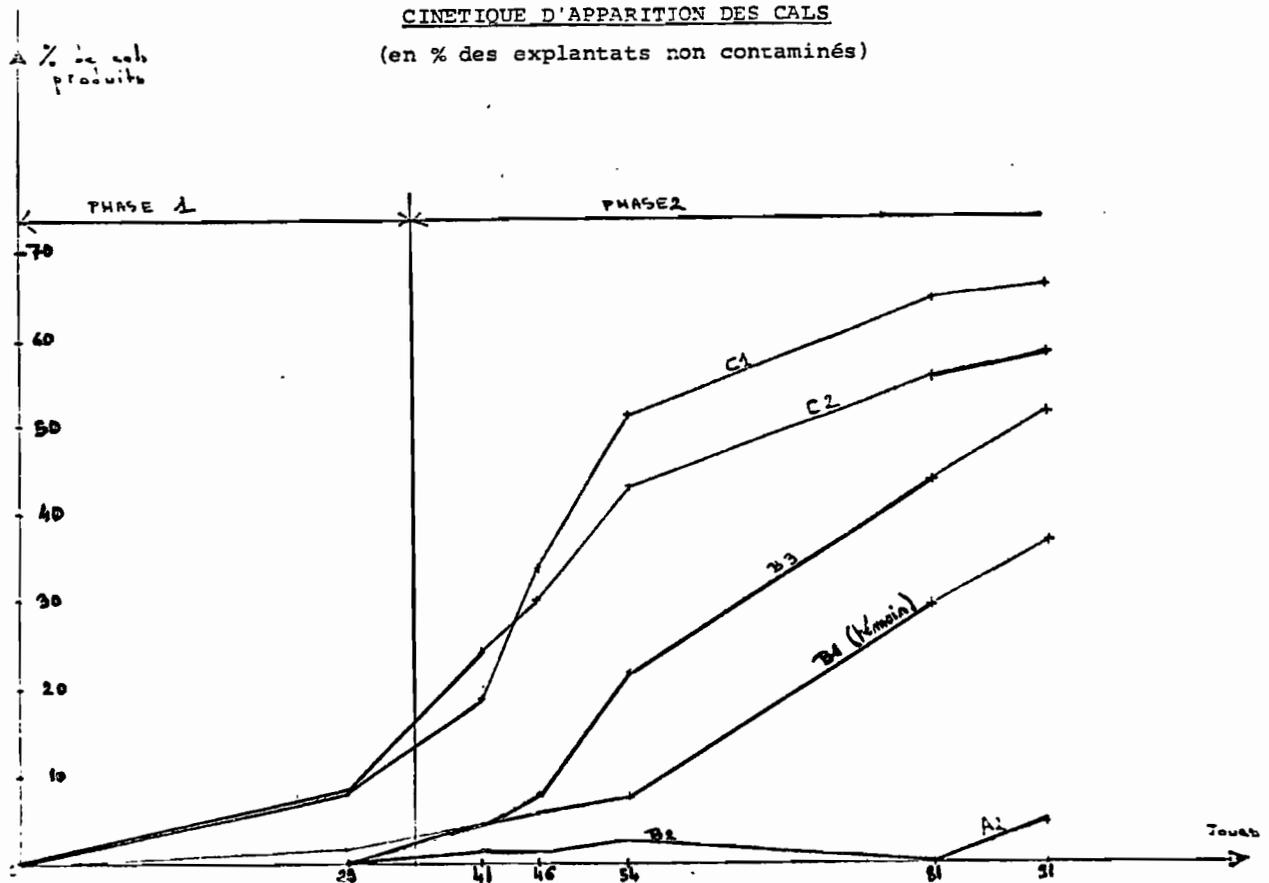
9 renvoie à la colonne 9 du tableau n° 4

POURCENTAGES des explantats
porteurs de cals à une
date donnée (Palmiers 4 + 5 + 6)

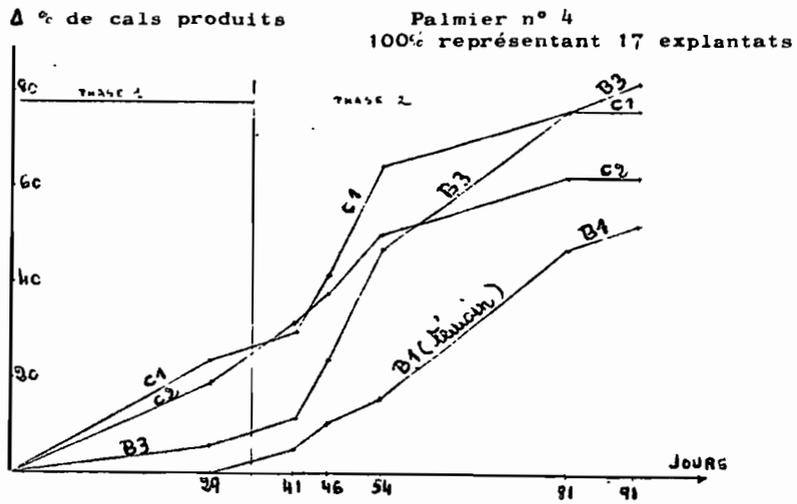
traite- ment date	A I	A 2	B I	B 2	B 3	C I	C 2
29j.	0	0	0	0	1,5	8,1	8,5
41j.	0	0	4,2	1,4	4,7	18,9	24,3
46j.	0	0	5,6	1,4	7,8	33,8	30
54j.	0	0	8,4	2,8	21,8	51,3	42,8
81j.	0	0	29,5	0	43,7	64,8	55,7
91j.	0	4,4	36,6	0	51,5	66,2	58,5
nombre d' explantats non contaminés (base 100 du %)	69	67	71	69	64	75	70

TABLEAU N° 6

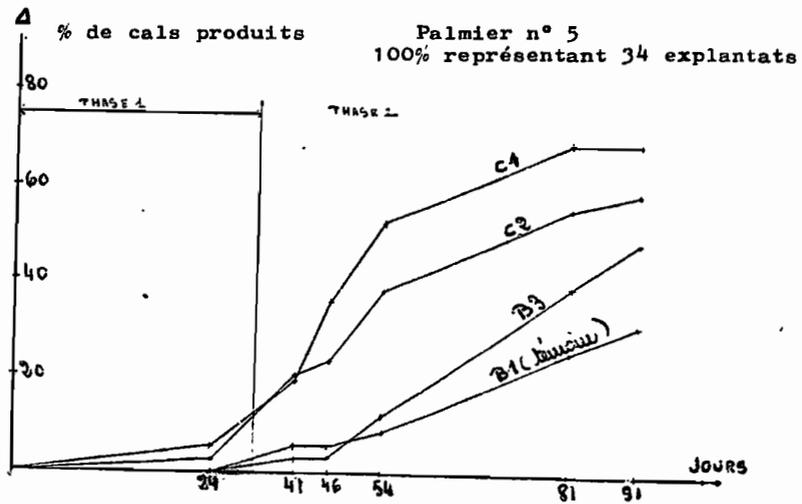
TABLEAU N° 7
CINETIQUE D'APPARITION DES CALS
(en % des explantats non contaminés)



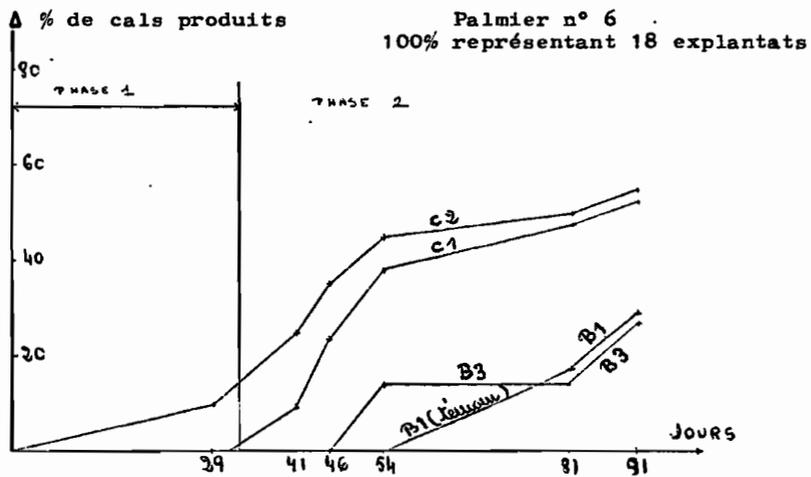
**TABLEAU
N° 8**



**TABLEAU
N° 9**



**TABLEAU
N° 10**



**TABLEAU
N° 11**

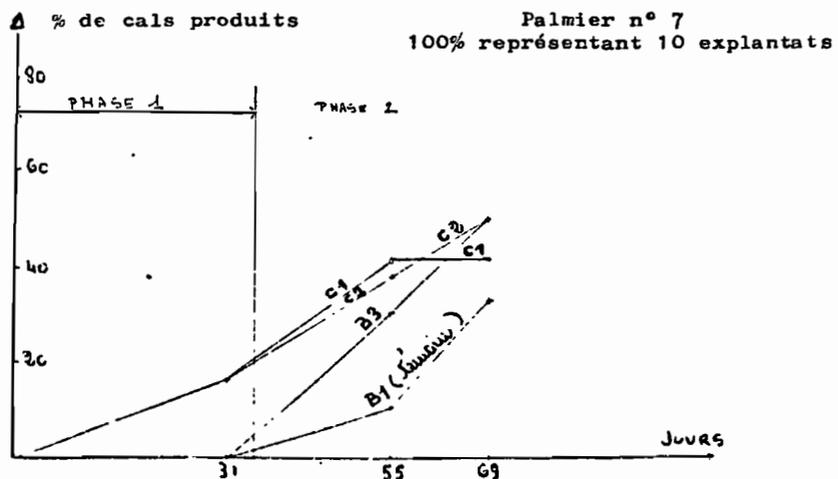


TABLEAU N° 12

% DE CALS PRODUITS ; COMPARAISONS STATISTIQUES
TEST DU χ^2

	B 1	B 3	C 1	C 2	Degrés de liberté	Khi deux calculé
Explantats porteurs de cal à 54 j	6	14	38	30	3	** 37,9
Explantats non porteurs de cal à 54 j	65	50	36	40		H.S.
Explantats porteurs de cal à 81 j	21	28	48	39	3	** 20,1
Explantats non porteurs de cal à 81 j	50	36	26	31		H.S.

TABLEAU N° 13

	ddl	Khi deux calculé	signification
Comparaison des % de cals à 54 j pour B3, C1, C2	2	13,00 **	0,001
Comparaison des % de cals à 81 j pour B3, C1, C2	2	6,19 *	P = 0,045

TABLEAU N° 14

% DE CALS PRODUITS ; COMPARAISON DES TRAITEMENTS DEUX A DEUX

	B 1	B 3	C 1	C 2
B 1		2,92 N.S	18,08 **	9,85 **
B 3	4,80 *		6,18 *	1,91 N.S
C 1	31,5 **	12,69 **		1,25 NS
C 2	21,9 **	6,67 **	1,04 N.S	

Valeurs des Khi-deux pour les 12 tableaux de contingence (tableaux à 2 lignes et 2 colonnes, tirés du tableau n° 12)

- * significatif au niveau 5 %
- ** significatif au niveau 1 %

TABLEAU N° 15

Pourcentage de cals produits par B1 et B3 à 81 j, test de Student sur les %
après transformation de Freeman et Tukey

Répétition	B 1		B 3		*	*	Δ (2)-(1)
	x 1	n 1	x 2	n 2	X (B1) (1)	X (B3) (2)	
1	1	2	1	2	1,57	1,57	0
2	5	9	8	9	1,67	2,35	+ 0,68
3	1	3	1	2	1,30	1,57	+ 0,27
4	1	2	1	2	1,57	1,57	0
5	1	6	2	3	0,95	1,83	+ 0,88
6	2	8	3	9	1,10	1,26	+ 0,16
7	1	3	2	3	1,30	1,83	+ 0,53
8	1	3	2	3	1,30	1,83	+ 0,53
9	1	4	2	3	1,14	1,83	+ 0,69
10	1	7	3	6	0,88	1,57	+ 0,69
11	4	7	1	8	1,69	0,83	- 0,86
12	1	10	1	8	0,746	0,81	+ 0,08
13	2	7	1	6	1,18	0,95	- 0,23
$\bar{\Delta}$							+ 0,26
écart ty- pe de Δ							0,47
t							1,98
P (T > t)							< 3,7 %

$$* X = \arcsin \sqrt{\frac{x}{n+1}} + \arcsin \sqrt{\frac{x+1}{n+1}}$$

x : nombre d'explantats porteurs de cals
n : nombre d'explantats totaux.

TABLEAU n° 16

Pourcentage de cals produits par C1 et C2 à 81 j, test de Student sur les %
après transformation de Freeman et Tukey

Répétition	C 1		C 2		X (C1) (1)	X (C2) (2)	Δ (1)-(2)
	x 1	n 1	x 2	n 2			
1	7	8	4	8	2,3108	1,5707	0,7401
2	2	3	3	4	1,8325	1,9932	-0,1607
3	2	3	2	3	1,8325	1,8325	0
4	12	13	9	11	2,4834	2,1974	0,286
5	3	6	2	6	1,5707	1,2776	0,2931
6	4	5	1	5	2,1055	1,3060	0,7995
7	2	5	4	6	1,4008	1,8639	-0,4631
8	3	4	2	3	1,9932	1,8325	+0,1607
9	3	4	1	3	1,9932	1,3089	+0,6843
10	6	8	6	7	2,0352	2,2566	-0,2214
11	3	5	1	4	1,7407	1,1483	0,5924
12	2	3	1	2	1,8325	1,5707	0,2618
13	3	8	3	8	1,3452	1,3452	0
$\bar{\Delta}$							0,228
Δ							0,395
t							2,075
P (T > t)							3 %

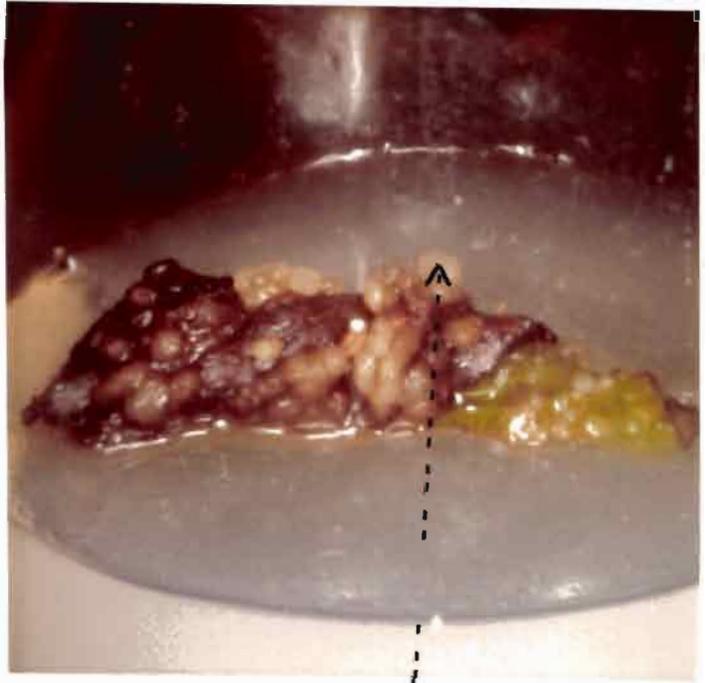
TABLEAU N° 17

COMPARAISON DES POIDS DES CALS ISOLES SUR LES EXPLANTATS
 (CLASSEMENT DU PLUS LEGER (1) AU PLUS LOURD (121).-

	B 1	B 3	C 1	C 2	ddl	X ²
Somme des rangs	759	1.592,5	3.294,5	1.705	3	(Kruskall et Wallis) 5,74 (P=12,4%)
Nombre de cals	17	28	46	30		N.S.

TABLEAU N° 18

Catégorie de poids en mg	B 1	B 3	C 1	C 2
0 à 30	14	19	26	20
30 à 60	1	5	6	3
60 à 100	2	2	6	3
100 à 200	0	2	4	3
200	0	0	4	1



calc

BIBLIOGRAPHIE

- (Joe L. KEY) Hormones and nucleic acid metabolism
Annual Revue of Plant Physiology Vol 20, 449-474, 1969
- Freeman M.F. and Tukey (J.W.) - Transformations related to the
angular and square root
Ann. Math. Stat. 21, 1950
- Friedman M. - The use of ranks to avoid the assumption of normality
implicit in the analysis of variance
Journ. Amer. Statist. Ass. 32, 675-701, 1937
- Rabéchault H. et Martin J.P. - Multiplication végétative du palmier
à huile (*Elaeis Guineensis* Jacq.) à l'aide de cultures
de tissus foliaires
C.R. Acad. Sc. Paris t. 283, 1976
- Shewry P.R., Pinfield N.J. and Stobart A.K.
The effect of 2-4 Dichlorophenoxyacetic acid and
(2-chloroethyl) - triméthylammonium chloride on
chlorophyll synthesis in Barley leaves
Planta (Berl.) 101, 352, 359, 1971
- Toponi M. - Développement et étude histologique de fragments de
feuilles de *Sansevieria Laurentii* de Wild cultivés
in vitro
C.R. Acad. sc. 255, 1228-1230
