

Recherches sur la culture *in vitro* des embryons de palmier à huile (*Elaeis Guineensis* Jacq.)

XII. — Effets de substances de croissance à des doses supraoptimales. Relation avec le brunissement des tissus

H. RABECHAULT (1), J. AHEE (1) et G. GUENIN (1)

Résumé. — Trois auxines AIA, ANA et 2,4-D et une cytokinine, la kinétine, ont exercé une action inhibitrice partielle ou totale sur le développement et l'allongement de la partie aérienne ou de la racine des embryons extraits de graines réhydratées et cultivés *in vitro*. L'ANA et le 2,4-D ont provoqué l'augmentation du diamètre de l'haustorium et dans le cas du 2,4-D (conc. 10^{-6}) la formation de nodules composés de cellules dédifférenciées le long des faisceaux procambiaux. Par contre, la kinétine a stimulé l'allongement de l'haustorium. Le brunissement des tissus s'est accentué et la teneur en phénols des milieux de culture a augmenté graduellement avec la concentration en régulateurs de croissance, et de façon brusque avec 10^{-4} d'AIA. La kinétine est la substance qui a provoqué le brunissement le plus important des tissus et des milieux de culture.

Mots clés : Palmier à huile, Embryons, Culture de tissus, Substances de croissance.

Nous avons montré précédemment [Rabéchault, 12] que la présence d'auxine : acide β -indolyl-acétique (AIA) aux concentrations 10^{-7} à 10^{-6} améliorait l'organogenèse des embryons en culture *in vitro* lorsqu'ils étaient extraits de graines non réhydratées. En fait, ces embryons de graines sèches constituent un matériel très hétérogène qui rend difficiles les études de l'effet des hormones ou de la nutrition sur l'organogenèse parce que leur développement ultérieur après excision dépend en premier lieu de leur état d'hydratation dans la graine [Rabéchault, 13]. Or, cette teneur en eau varie d'une graine à l'autre, selon la grosseur, le lot, le temps de stockage après la récolte, le palmier producteur, etc. La réhydratation des graines, et surtout leur stockage à humidité constante, tendent à égaliser les chances du développement ultérieur des embryons [Rabéchault *et al.*, 15].

Dans cette étude, nous avons comparé les effets de divers régulateurs de croissance : acide β -indolyl-acétique (AIA), acide α -naphtalène-acétique (ANA), acide 2,4-dichlorophénoxyacétique (2,4-D) et 6-furfurylaminopurine ou kinétine (K) sur la croissance et le développement d'embryons extraits de graines réhydratées, et cultivés *in vitro*.

Au-delà d'une certaine concentration, les auxines inhibent en général la croissance et le développement des végétaux [Pilet, 11], provoquent une dédifférenciation des tissus [Buvat, 2 ; Gautheret, 5], puis deviennent toxiques et provoquent le brunissement et la mort.

Pour apprécier la toxicité relative de ces substances, il nous a donc semblé intéressant en complément de nos observations morphologiques, de procéder au dosage des polyphénols qui sont impliqués dans le brunissement des tissus.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Les embryons ont été extraits de graines réhydratées récoltées à la Station I. R. H. O. de Pobé (Rép. popu-

laire du Bénin, ex-Dahomey) sur des palmiers de la lignée DA 40.

La réhydratation des graines jusqu'à une teneur en eau optimale (21,5 p. 100 par rapport à la matière sèche) a été effectuée selon des modalités décrites précédemment [Labro *et al.*, 8 ; Rabéchault *et al.*, 17].

Après un stockage de 4 jours à humidité constante dans des sacs en matière plastique placés à 27 °C à l'obscurité, les embryons ont été extraits aseptiquement selon une technique décrite précédemment [12] et mis en culture *in vitro* dans des milieux nutritifs liquides à raison de 20 embryons par traitement (dose). Les tubes de cultures, 24 x 160 mm, recouverts d'un capuchon en verre, étaient agités par rotation sur des clinostats tournant à 10 tr/mn sous des tubes fluorescents « Gro-lux » Sylvania de 40 W qui dispensaient un éclairage de 5 000 lux au niveau de la culture pendant 10 h par jour. La température de la salle de culture était de 27 °C + 0,2 °C.

a) Milieux de culture.

Pour la comparaison des effets des régulateurs de croissance, nous avons ajouté à un milieu nutritif de base, constitué par des éléments nutritifs selon la formule de Heller [7] et par 20 p. 1 000 de saccharose, soit de l'AIA, soit de l'ANA, soit du 2,4-D, soit de la kinétine à des doses variant de 10^{-8} à 10^{-4} . Le pH était ajusté à 5,8. Afin d'éviter un appauvrissement en substance active, les embryons étaient repiqués tous les 15 jours sur de nouveaux milieux.

b) Observations.

Nous avons mesuré la croissance des embryons, de la partie aérienne et des racines, dénombré les stades de développement atteints dans chaque traitement et apprécié le brunissement des embryons et du milieu de culture.

Les observations sur l'intensité du brunissement ont été complétées par le dosage des phénols totaux qui ont été diffusés dans les milieux de culture, à l'aide de la méthode de Folin et Ciocalteu [14] selon Bray et Thorpe [1].

(1) Laboratoire de Physiologie végétale des services scientifiques centraux de l'ORSTOM, 70, route d'Aulnay, 93140 Bondy (France).

23 MAI 1986

C.R.S.E.O.M. Fonds Documentaire

N° : 80 209, ex 2.

Cote : B.

Collection de Référence

66 B.B.V.
CR

30 AOÛT 1977

RÉSULTATS

A. — Comparaison des effets des régulateurs de croissance.

1) La croissance des embryons :

La croissance en longueur (limbe + pétiole cotylédonaire) après 15 et 30 jours de culture est indiquée dans le tableau I.

L'examen de ce tableau montre qu'au bout de 15 jours de culture, c'est-à-dire pendant la phase active de la croissance, l'AIA et la kinétine ont présenté un optimum à 10^{-7} , mais seule la croissance provoquée par la concentration 10^{-7} de kinétine était supérieure au témoin. L'AIA, l'ANA et la kinétine ont exercé une action inhibitrice très nette pour une concentration égale ou supérieure à 10^{-6} (1 mg/l) et le 2,4-D dès 10^{-7} (0,1 mg/l).

Après 30 jours de culture, l'effet inhibiteur s'est

maintenu pour l'AIA et la kinétine, il s'est estompé pour le 2,4-D et pour l'ANA qui restait nettement inhibiteur à 10^{-4} .

A 30 jours, l'effet stimulateur sur l'allongement de l'embryon s'est étendu aux concentrations 10^{-7} et 10^{-6} avec la kinétine. En réalité, cette stimulation a affecté surtout l'haustorium (limbe cotylédonaire) qui représente la majeure partie de la longueur de l'embryon.

Après 15 jours de culture, l'étude statistique, effectuée en tirant au hasard un même nombre de points observés, selon l'ordre indiqué par les « Tables of Random Permutations » de Moses et Oakford [10], indique tout d'abord que l'effet des substances étudiées était significatif. L'utilisation des coefficients polynomiaux nous a permis d'évaluer les termes des courbes de régression. La décomposition orthogonale entre les composantes montre, au tableau II, que la relation allongement-dose est linéaire pour le 2,4-D.

TABLEAU I. — Longueur moyenne de l'embryon (limbe + pétiole cotylédonaire)

	Longueur en mm après			Longueur en mm après	
	15 j	30 j		15 j	30 j
	de culture			de culture	
Témoin	15,75 ± 0,88	17,77 ± 1,43	15,75 ± 0,88	17,77 ± 1,43
AIA 10^{-8}	14,22 ± 1,14	15,81 ± 1,58	2,4-D 10^{-8}	14,29 ± 1,41	15,05 ± 1,76
10^{-7}	14,53 ± 1,24	15,40 ± 1,52	10^{-7}	12,74 ± 1,15	15,97 ± 1,82
10^{-6}	12,90 ± 1,02	13,86 ± 1,15	10^{-6}	9,06 ± 1,05	11,71 ± 1,38
10^{-5}	6,59 ± 1,22	9,25 ± 1,81	5.10^{-6}	8,91 ± 1,05	11,26 ± 1,32
10^{-4}	3,89 ± 0,23	3,89 ± 0,23	10^{-5}	8,28 ± 0,44	10,00 ± 0,63
ANA 10^{-8}	14,50 ± 1,23	15,53 ± 1,73	K 10^{-8}	15,69 ± 1,67	16,97 ± 1,54
10^{-7}	13,32 ± 0,76	15,30 ± 0,78	10^{-7}	19,22 ± 1,06	21,11 ± 1,36
10^{-6}	11,52 ± 0,81	15,87 ± 1,14	10^{-6}	15,43 ± 3,17	22,37 ± 2,24
10^{-5}	10,61 ± 1,15	16,33 ± 1,81	10^{-5}	5,93 ± 1,17	7,35 ± 1,49
10^{-4}	4,40 ± 0,55	4,40 ± 0,55	10^{-4}	4,75 ± 0,60	8,64 ± 1,20

TABLEAU II. — Analyse de la variance :

Allongement de l'embryon-doses

F tabulaire = 4,055 pour P 0,05, et 7,23 pour P 0,01

Sources de variation	F calculé			
	AIA	ANA	2,4-D	Kinétine
Variation due à la :				
régression linéaire	132,96**	208,16**	47,99**	81,82**
régression quadratique	15,85**	11,92**	1,0	12,55**
régression cubique	7,35*	9,87**	1,0	14,82**
régression 4° degré				2,83

* significatif.

** hautement significatif.

Pour l'AIA, l'ANA et la kinétine, l'élément cubique est significatif et le 3° degré suffit comme approximation aux courbes observées.

Il résulte de la comparaison de l'allongement moyen de l'embryon par rapport au témoin, à l'aide du test de Dunett [Dejardin et Quoi, 3] après 30 jours de culture (fin de croissance) que les traitements 10^{-8} à 10^{-6} d'AIA, 10^{-8} à 10^{-5} d'ANA, 10^{-8} et 10^{-7} de 2,4-D et 10^{-8} de kinétine n'étaient pas significativement différents du témoin, tandis que 10^{-7} et 10^{-6} de kinétine étaient significativement supérieurs au témoin, et AIA, 10^{-5} , 10^{-4} ; ANA 10^{-4} ; 2,4-D 10^{-8} et 10^{-6} à 10^{-5} et la kinétine 10^{-5} , 10^{-4} significativement

inférieurs et par conséquent nettement inhibiteurs de la croissance.

2) Croissance de l'haustorium :

Sur la planche 1, nous avons réuni les embryons représentatifs des effets des 4 substances étudiées comparativement au témoin (à gauche sur chaque photographie) pour les 5 doses utilisées, à savoir (de gauche à droite) : 10^{-8} , 10^{-7} , 10^{-6} , 10^{-5} et 10^{-4} . Pour le 2,4-D la concentration 10^{-4} a été supprimée et on a ajouté la concentration intermédiaire 5.10^{-6} . Ces photographies rendent compte des réponses obtenues en ce qui concerne l'haustorium, partie principale de l'embryon au début du développement.

On remarquera, planche 1, AIA (embryon témoin T) que l'haustorium (h), ou limbe cotylédonaire, qui pendant la germination normale est le sucoir grâce auquel l'embryon puise dans l'albume les éléments nutritifs nécessaires à son développement, est composé de 2 parties.

A l'extrémité, une partie fusiforme (d) est la région active de l'haustorium. Elle est recouverte d'une assise de cellules digestives [Rabéchaux et Cas, 16] et c'est à son niveau que s'opère la digestion des matières de réserves de l'albume. C'est elle qui grossit le plus pendant les premiers stades de la germination car elle prend la place de l'albume dont elle remplace peu à peu tout le volume. En culture *in vitro*, le développement de la « partie digestive » est limité sans doute parce qu'elle n'a pas le même rôle à jouer. La zone digestive fusiforme de l'haustorium est reliée

à l'embryon proprement dit ou pétiole cotylédonaire (e) par une *portion cylindrique ou pédoncule* (p) plus étroite par structure et par nécessité, car elle est chargée de véhiculer les éléments digérés de la partie digestive vers l'embryon proprement dit qui se trouve, après la germination, à l'extérieur de la graine, ceci en passant par le pore germinatif de la coque dure et épaisse de la graine. Or, le diamètre de ce pore n'excède pas 1 mm.

On remarquera sur la planche 1 que l'embryon (e) proprement dit, d'où sortent les feuilles et les racines, est moins atteint que l'haustorium. S'il est inhibé par de fortes doses et que la partie aérienne et la racine sont inhibées, il ne change pas beaucoup de volume. Il verdit ou reste blanchâtre mais brunit rarement. Tandis que l'haustorium est beaucoup plus sensible. Sa structure spongieuse se laisse en effet facilement pénétrer par les substances étudiées.

L'allongement de l'haustorium est stimulé surtout par la kinétine aux concentrations 10^{-7} et 10^{-6} (planche 1), il est inhibé par l'AIA et l'ANA légèrement de 10^{-8} à 10^{-5} et totalement à 10^{-4} . Lorsque l'inhibition est partielle, c'est surtout le pédoncule qui est atteint avec l'ANA.

Avec le 2,4-D et la kinétine, il n'y a pas eu d'inhibition totale. Elle était partielle pour toutes les concentrations utilisées à partir de 10^{-7} pour le 2,4-D et pour 10^{-5} et 10^{-4} avec la kinétine.

Nous avons observé une augmentation du diamètre de l'haustorium significativement supérieure au témoin pour l'ANA 10^{-8} à 10^{-5} et le 2,4-D pour toutes les concentrations utilisées. Enfin, l'ANA à 10^{-8} (13 p. 100 des embryons) et 10^{-5} (61 p. 100 des embryons) a provoqué des fentes longitudinales et des abscissions transversales du limbe (partie digestive) (planche 1).

Après un à deux mois de culture en présence de 2,4-D (surtout à la concentration 10^{-6}) des petits nodules blancs sont apparus (planche 1, flèche) crevant la surface de la partie digestive de l'haustorium.

L'augmentation du volume de l'haustorium est due à l'auxésis des cellules du parenchyme de l'organe et à une dédifférenciation des cellules des faisceaux procambiaux qui se multiplient et forment des nodules de cellules juvéniles. Ces nodules augmentent de volume et percent la surface des tissus. Ils apparaissent en lignes longitudinales correspondant au trajet des faisceaux procambiaux. L'étude cytologique de cette dédifférenciation est en cours.

3) Croissance de la partie aérienne :

Les mesures de l'allongement de la partie aérienne



Planche 1.

sont indiquées dans le tableau III pour les époques 30 et 60 jours de culture.

La comparaison statistique des allongements a été effectuée selon les méthodes du chapitre précédent.

L'examen du tableau III et de la planche 1 permet de constater l'inhibition totale du développement de la partie aérienne en présence d'AIA ou d'ANA aux concentrations 10^{-4} . Cette inhibition se produit pour des concentrations plus faibles des deux autres substances : pour le 2,4-D à partir de 10^{-6} et pour la kinétine à partir de 10^{-5} . L'inhibition était : partielle avec 10^{-5} puis totale avec 10^{-4} d'AIA ; partielle à 10^{-7} et 10^{-6} puis totale à 10^{-5} et 10^{-4} pour l'ANA ; totale de 10^{-6} à 10^{-5} pour le 2,4-D ; partielle à 10^{-6} (dans les 15 premiers jours) et totale à 10^{-5} et 10^{-4} pour la kinétine.

On note un retard dans l'apparition de la gemmule à 10^{-7} de 2,4-D et 10^{-5} d'ANA, qui n'a pu être mesurée qu'à 60 j de culture.

La comparaison des moyennes à l'aide du test de Keuls montre que nous sommes en présence de deux groupes homogènes : un groupe supérieur (englobant

TABLEAU III. — Longueur moyenne de la partie aérienne après 30 et 60 jours de culture

	Longueur en mm après			Longueur en mm après	
	30 j	60 j		30 j	60 j
	de culture			de culture	
Témoin	17,93 ± 1,98	39,59 ± 7,01		17,93 ± 1,98	39,59 ± 7,01
AIA 10^{-8}	18,26 ± 1,99	40,56 ± 6,35	2,4-D 10^{-8}	17,20 ± 2,65	38,53 ± 7,70
10 ⁻⁷	16,39 ± 1,33	38,33 ± 6,20	10 ⁻⁷	—	3,54 ± 1,29
10 ⁻⁶	13,24 ± 1,89	36,17 ± 6,96	10 ⁻⁶	—	—
10 ⁻⁵	7,50 ± 1,37	18,26 ± 3,66	5.10 ⁻⁶	—	—
10 ⁻⁴	—	—	10 ⁻⁵	—	—
ANA 10^{-8}	18,33 ± 2,04	43,93 ± 7,11	K 10^{-8}	12,60 ± 2,27	22,33 ± 7,59
10 ⁻⁷	11,62 ± 1,83	23,55 ± 4,88	10 ⁻⁷	19,74 ± 2,69	37,76 ± 12,86
10 ⁻⁶	3,38 ± 0,89	9,38 ± 2,16	10 ⁻⁶	10,75 ± 3,14	22,25 ± 8,98
10 ⁻⁵	—	5,65 ± 1,27	10 ⁻⁵	—	—
10 ⁻⁴	—	—	10 ⁻⁴	—	—

le Témoin) à l'intérieur duquel les moyennes peuvent être classées par ordre croissant : AIA 10⁻⁶ ; AIA 10⁻⁷ ; 2,4-D 10⁻⁸ ; Témoin : AIA 10⁻⁸ ; K. 10⁻⁷ et ANA 10⁻⁸ et un groupe significativement inférieur au premier et qui comprend par ordre croissant : ANA 10⁻⁶ ; 2,4-D 10⁻⁷ ; AIA 10⁻⁵ ; ANA 10⁻⁵ ; ANA 10⁻⁵ ; ANA 10⁻⁷ et K. 10⁻⁶.

Ce dernier groupe représente donc les traitements

pour lesquels l'inhibition de la partie aérienne était partielle et significativement différente du témoin.

4) Le système racinaire :

L'allongement des racines et le pourcentage de plantules parvenues au stade V (plantules racinées) sont consignés dans le tableau IV.

TABLEAU IV. — Longueur moyenne de la racine après 60 j de culture et pourcentage d'embryons parvenus au stade V

	Longueur en mm	Stade V p. 100		Longueur en mm	Stade V p. 100
Témoin	20,72 ± 6,36	100	20,72 ± 6,36	100
AIA 10 ⁻⁸	26,91 ± 10,71	100	2,4-D 10 ⁻⁸	31,19 ± 11,52	85,00
10 ⁻⁷	22,84 ± 6,71	100	10 ⁻⁷	0	0
10 ⁻⁶	20,28 ± 8,76	95,24	10 ⁻⁶	0	0
10 ⁻⁵	3,42 ± 0,66	59,09	5.10 ⁻⁶	0	0
10 ⁻⁴	—	0	10 ⁻⁵	0	0
ANA 10 ⁻⁸	25,94 ± 9,05	100	K 10 ⁻⁸	8,63 ± 3,09	100
10 ⁻⁷	12,91 ± 3,90	95,45	10 ⁻⁷	31,13 ± 7,18	85,71
10 ⁻⁶	1,70 ± 0,27	21,74	10 ⁻⁶	11,71 ± 15,18	47,67
10 ⁻⁵	0	0	10 ⁻⁵	0	0
10 ⁻⁴	0	0	10 ⁻⁴	0	0

Les moyennes de l'allongement sont affectées de coefficients de variation importants qui vont de 43,29 à 92,50 p. 100, ce qui traduit une grande hétérogénéité. Cependant leur comparaison à l'aide du test de Keuls

permet d'en faire 5 groupes homogènes à l'intérieur desquels les différences n'étaient pas significatives et qui sont indiqués ci-dessous à l'aide d'accolades :

2,4-D 10 ⁻⁸	K 10 ⁻⁷	AIA 10 ⁻⁸	ANA 10 ⁻⁸	AIA 10 ⁻⁷	Témoin	AIA 10 ⁻⁶	ANA 10 ⁻⁷	K 10 ⁻⁸
31,19	31,13	26,91	25,94	22,84	20,72	20,28	12,91	8,63

L'inhibition du système racinaire commence à la concentration 10⁻⁵ pour l'AIA ; 10⁻⁶ pour l'ANA ; 10⁻⁷ pour le 2,4-D et 10⁻⁶ pour la kinétine. Le système racinaire est donc beaucoup plus sensible aux auxines que la partie aérienne ; c'est un phénomène bien connu [Pilet, 11]. L'inhibition est plus progressive avec l'AIA, l'ANA et la kinétine qu'avec le 2,4-D qui provoque une inhibition complète dès 10⁻⁷ (0 p. 100 de stade V).

B. — Brunissement des embryons et des milieux de culture.

Sous l'influence des régulateurs de croissance utilisés, la partie de l'embryon qui brunit le plus est l'haustorium, sans doute parce que c'est l'organe préférentiel de l'absorption [Rabéchault, 14]. Sa structure est aussi moins ferme et se laisse pénétrer facilement par les substances en solution dans le milieu de culture.

Les embryons ont été préservés dans une certaine mesure par la réhydratation préalable des graines ; ceux de graines non réhydratées utilisés dans d'autres expériences ont brunis davantage en présence des auxines.

Aux fortes concentrations l'ANA et la kinétine font brunir le plus les embryons de graines réhydratées. Le brunissement est maximum (100 p. 100 des embryons)

pour la concentration 10⁻⁴ d'AIA et d'ANA. Si l'on fait abstraction de cette concentration pour toutes les substances, les pourcentages moyens d'embryons à haustorium brun étaient les suivants : témoin, 25,30 ; AIA, 20,82 ; ANA, 28,38 ; 2,4-D, 31,55 et kinétine, 44,20 p. 100. Dans l'ensemble, l'AIA a donc un effet éclaircissant sur l'embryon, l'ANA ne diffère pas du témoin. Le brunissement le plus important de l'embryon a été obtenu avec la kinétine.

Le dosage des phénols et réducteurs totaux diffusés par l'embryon dans le milieu de culture a donné les résultats consignés dans le tableau V.

TABLEAU V Phénols totaux en µg/ml de milieu

	Teneur moyenne (10 dosages)		Teneur moyenne (10 dosages)
Témoin	17,58		
AIA 10 ⁻⁸	17,58	2,4-D 10 ⁻⁸	26,83
10 ⁻⁷	20,00	10 ⁻⁷	29,42
10 ⁻⁶	26,25	10 ⁻⁶	32,25
10 ⁻⁵	27,58	5.10 ⁻⁶	32,25
10 ⁻⁴	80,50	10 ⁻⁵	44,92
ANA 10 ⁻⁸	21,50	K 10 ⁻⁸	34,08
10 ⁻⁷	21,50	10 ⁻⁷	34,08
10 ⁻⁶	22,92	10 ⁻⁶	36,25
10 ⁻⁵	24,92	10 ⁻⁵	54,50
10 ⁻⁴	40,00	10 ⁻⁴	55,08

La teneur des milieux de culture en phénols totaux augmente avec le brunissement pour tous les régulateurs de croissance utilisés. De faibles concentrations en AIA et ANA (10^{-8} et 10^{-7}) ne provoquent pas d'accumulation de phénols significativement différente du témoin. Mais cette accumulation a augmenté brusquement avec la concentration 10^{-4} d'AIA.

Dans l'ensemble, c'est la kinétine qui provoque le brunissement des milieux le plus intense, et ceci depuis la plus faible concentration. La production de phénols est proportionnelle à la concentration du milieu en 2,4-D.

DISCUSSION ET CONCLUSIONS

Les embryons extraits de noix de palme réhydratées constituent un bon matériel pour déterminer les effets des régulateurs de croissance sur l'organogenèse grâce à l'absorption active de leur haustorium. Une faible concentration en AIA de l'ordre de 10^{-7} qui stimulait l'organogenèse et en particulier la rhizogenèse des embryons extraits de graines *non réhydratées* [12] n'a pas eu d'effet ici puisque la réhydratation a permis en principe à l'embryon de recevoir les doses optimales de régulateurs naturels de la croissance et de substances excitoformatrices nécessaires à son développement. On peut donc penser que tout apport de ces substances

dans le milieu a pour résultat de dépasser l'optimum nécessaire.

C'est sans doute la raison pour laquelle, l'AIA mis à part, les trois autres substances se sont montrées inhibitrices dès la concentration 10^{-7} . L'apport d'AIA a en effet été mieux toléré mais il est possible aussi dans ce cas qu'une certaine proportion ait été détruite avant d'avoir pu agir.

Nous avons observé toutefois une légère stimulation de la croissance de la partie aérienne à la dose la plus faible 10^{-8} avec l'AIA et l'ANA. L'ANA a eu comme propriété intéressante de provoquer l'augmentation du volume de l'ensemble de l'haustorium même lorsqu'il n'était pas encore inhibiteur de la partie aérienne et de la rhizogenèse. Le 2,4-D a eu le même effet, mais après 30 j de culture il a provoqué en outre l'apparition de petits nodules (10^{-6}) le long des faisceaux procambiaux de l'haustorium; ces petits nodules ont percé la surface des tissus de l'haustorium. L'étude cytologique en cours a montré que ces nodules avaient pour origine les cellules procambiales entourant les faisceaux libéro-ligneux.

La kinétine ne provoque pas une augmentation du diamètre, mais de la longueur de l'haustorium.

On peut donc penser que pendant la germination normale de la graine, l'augmentation spectaculaire du volume de la partie digestive de l'haustorium est due en grande partie au concours des auxines et des cytokinines endogènes.

BIBLIOGRAPHIE

- [1] BRAY H. C. et THORPE W. V. (1954). — In D. Glick, *Methods in Biochemical Analysis*, 1, p. 27-57.
 [2] BUVAT R. (1944). — *Ann. Sci. Nat.*, 11^e sér., 5, p. 1-130.
 [3] DEJARDIN J. et QUOI N. N. (1964). — *Quelques tests de comparaison deux à deux des moyennes de traitements. Docum. multigr.*, 18 p. + tables. IRAT, Nogent-sur-Marne.
 [4] FOLIN O. et GIOCALTEU V. (1927). — *J. Biol. Chem.*, 73, 73, p. 627-650.
 [5] GAUTHERET R. J. (1959). — *La culture des tissus végétaux. Techniques et réalisations*, Masson Edit., Paris, 963 p.
 [6] GOULDEN C. H. (1952). — *Methods of Statistical analysis*, Chapman and Hall, London.
 [7] HELLER R. (1953). — *Ann. Sci. nat.*, 11^e sér., Bot. et Biol. vég., 14, p. 1-219.
 [8] LABRO M.-F., GUENIN G. et RABÉCHAULT H. (1964). — *Oléagineux*, 19, 12, p. 757-765.
 [9] MORICE E. et CHARTIER F. (1954). — *Méthode statistique*. 2^e partie (Impr. Nat.), Paris, 555 p.
 [10] MOSES L. E. et OAKFORD R. V. (1963). — *Tables of Random Permutations*, Stanford Univ. Press. Calif., U. S. A., 233 p.
 [11] PILET P. E. (1961). — *Les phytohormones de croissance*. Masson et Cie Edit., Paris, 774 p.
 [12] RABÉCHAULT H. (1962). — *Oléagineux*, 17, 10, p. 757-764.
 [13] RABÉCHAULT H. (1967). — *C. R. Acad. Sci.*, Paris, 264, sér. D, p. 276-279.
 [14] RABÉCHAULT H. (1969). — *Cahiers ORSTOM*, sér. Biol., n° 7, p. 89-98.
 [15] RABÉCHAULT H., AHÉE J. et GUENIN G. (1968). — *Oléagineux*, 23, 4, p. 233-237.
 [16] RABÉCHAULT H. et CAS S. (1974). — *Oléagineux*, 29, 2, p. 73-78.
 [17] RABÉCHAULT H., GUENIN G. et AHÉE J. (1967). — *Cahiers ORSTOM*, sér. Biol., n° 4, p. 31-41.
 [18] RABÉCHAULT H., GUENIN G. et AHÉE J. (1969). — *Cahiers ORSTOM*, sér. Biol., n° 7, p. 99-113.

SUMMARY

Research into the culture *in vitro* of oil palm embryos (*Elaeis guineensis* Jacq.). XII. — Effects of growth substances at supra-optimum rates. Relationship with browning of the tissues.

H. RABÉCHAULT, J. AHÉE and G. GUENIN, *Oléagineux*, 1976, 31, N° 4, p. 159-163.

Three auxins, AIA, ANA and 2,4-D, and one cytokinin, kinetin, had a partially or totally inhibitory action on the development and lengthening of the aerial part or the root of embryos extracted from rehydrated seeds and cultured *in vitro*. ANA and 2,4-D caused an increase in the diameter of the haustorium, and in the case of 2,4-D (conc. 10^{-6}) the formation of nodules composed of dedifferentiated cells along the procambial strands. On the contrary, kinetin stimulates lengthening of the haustorium. Browning of the tissues is accentuated, and the phenol content of the culture media increased gradually with the concentration in growth regulators and sharply with 10^{-4} of AIA. Kinetin provoked the greatest browning of the tissues and culture media.

RESUMEN

Investigaciones sobre el cultivo *in vitro* de los embriones de palma aceitera (*Elaeis guineensis* Jacq.). XII. — Efectos de sustancias de crecimiento en dosis supra-óptimas. Relación con el pardeamiento de tejidos.

H. RABÉCHAULT, J. AHÉE y G. GUENIN, *Oléagineux*, 1976, 31, N° 4, p. 159-163.

Tres auxinas AIA, ANA, 2,4-D y una citokinina, la kinetina, han tenido una acción de inhibición parcial o total sobre el desarrollo y alargamiento de la parte aérea o de la raíz de los embriones extraídos de semillas rehidratadas y cultivadas *in vitro*. La ANA y la 2,4-D llevaron el aumento del diámetro del « haustorio » y en el caso de la 2,4-D (concentración 10^{-6}), la formación de nódulos integrados por células desdiferenciadas a lo largo de los haces procambiales. En cambio la kinetina estimuló el alargamiento del « haustorio ». Se acentuó el pardeamiento de tejidos y el contenido de fenoles de los medios de cultivos aumentó poco a poco con la concentración de reguladores de crecimiento, y en forma repentina con 10^{-4} de AIA. La kinetina es la sustancia que llevó el mayor pardeamiento de los tejidos y de los medios de cultivo.