

INFLUENCE DES HORMONES DE CROISSANCE VÉGÉTALES (BAP ET ANA) SUR LA MULTIPLICATION IN VITRO DE *MORINGA OLEIFERA* LAM

Almoustapha ISSOUFOU IDÉ¹, Salifou ILLA¹
et Ibrahim SOUMAÏLA SIDDO^{2*}

¹ Université Abdou Moumouni, Institut des Radio-Isotopes, Laboratoire des
Biotechnologies Végétales et d'Amélioration des Plantes, BP 10960 Niamey, Niger

² Université Abdou Moumouni, Faculté d'Agronomie, Département Génie
Rural, Eaux et Forêts, BP 10960 Niamey, Niger

(reçu le 15 Février 2023; accepté le 20 Mai 2023)

* Correspondance, e-mail : siddo855@gmail.com

RÉSUMÉ

Moringa oleifera Lam. est une espèce très recherchée pour son utilisation polyvalente. Par contre, toutes les voies de sa propagation présentent des limites. L'objectif de cette étude est de montrer l'influence des hormones végétales de croissance (ANA et BAP) sur la multiplication in vitro de *Moringa oleifera* Lam. La méthodologie utilisée consistait à prélever des explants tiges au champ, les désinfecter avec l'alcool 70 % pendant 1 minute, suivi pendant 15 minutes d'un trempage dans NaClO à 2°, puis 3 rinçages à 15 minutes avec de l'eau distillée stérilisée. Après désinfection, les explants ont été cultivés sur 9 milieux dont : MS0 ; ANA0,05 ; ANA1 ; BAP0,05; BAP1; BAP0,05 + ANA0,05; BAP0,05 + ANA1; BAP1 + ANA0,05; BAP1 + ANA1 (mg.L⁻¹). Le taux de contamination, la longueur de ramifications et le nombre de ramifications, de nœuds et de feuilles ont été enregistrés. Les résultats montrent que les maximums du nombre de ramifications (2,12 ± 0,28), de feuilles (6,37 ± 1,68), de nœuds (7,25 ± 2,29) ainsi que la longueur de ramifications (2,32 ± 0,49cm) ont été enregistrés sur le milieu contenant la combinaison de 0,05 mg.L⁻¹ du BAP avec 0,05 mg.L⁻¹ d'ANA. En conclusion, le BAP et l'ANA sont favorables au développement de la partie aérienne des vitroplants de *Moringa oleifera* Lam. Ce qui est une alternative intéressante pour une meilleure propagation de l'espèce via la culture in vitro.

Mots-clés : hormones végétales, multiplication in vitro, *Moringa oleifera* Lam.

ABSTRACT

The influence of the vegetal hormones growth (BAP and NAA) on the in vitro multiplication of *Moringa Oleifera* Lam

Moringa oleifera Lam is the kind of species that is highly looked for because of its polyvalent usage. On the other hand, all the ways of its propagation present limits. The aim of this Study is to show the influence of the vegetal hormones of the growth (NAA and BAP) on the multiplication in vitro of *Moringa oleifera* Lam. The methodology used consisted of taking away the explant stalks from the field, disinfect them with the alcohol 70 % for 1 minute, followed by 15 minutes of soaking in NaClO at 2°, then three (3) rinsing of 15 minutes with distilled and sterilized water. After disinfection, the explants have been cultivated in nine (9) environments that are : MS0 ; NAA0,05; NAA1; BAP0,05; BAP1; BAP0,05 + NAA0,05; BAP0,05 + NAA1; BAP1 + NAA0,05; BAP1 + NAA1 (mg.L⁻¹). The contamination rate, the ramifications length and the number of ramifications, nodes and leaf have been registered. The results show that the maximum number of ramifications (2,12 + 0,28), the leaf (6,37 + 1,68), the nodes (7,25 + 2,29), together with the ramifications length (2,32 + 0,49cm), have been registered on the environment that contains the combination of 0,05mg.L⁻¹ of BAP with 0,05mg.L⁻¹ of NAA. In conclusion, the BAP and NAA are favorable to the development aerial side of the vitroplants of *Moringa oleifera* Lam. That is an interested alternative for a better propagation of the species via in vitro cultivation.

Keywords : *vegetal hormones, in vitro propagation, Moringa oleifera Lam.*

I - INTRODUCTION

Moringa oleifera Lam. est une plante qui suscite un intérêt international grandissant en raison de son importance alimentaire, mais aussi économique et social [1]. Le Niger est sans doute le second producteur de *Moringa* en Afrique de l'Ouest après le Nigeria et surement le pays où la consommation par habitant est la plus élevée [2]. L'espèce est devenue très importante du fait que pratiquement toutes ses parties (feuilles, fleurs, fruits immatures, graines, racines et écorces) sont utilisées sous différentes formes [1, 3]. Cet arbre, à croissance rapide, fait partie des feuilles les plus riches du monde. En effet, elles contiennent 18 des 20 acides aminés dont le corps humain a besoin, parmi lesquels : arginine, cystéine, isoleucine, leucine, lysine, méthionine, phénylalanine, thréonine et valine [4]. La composition chimique des feuilles de *Moringa oleifera* varie d'une zone à une autre [5]. Grâce à la qualité nutritionnelle de ses feuilles, la plante connaît actuellement des initiatives en Afrique, en Europe et aux États-Unis [1]. Car, les feuilles sont utilisées dans le

domaine nutritionnel et diététique ainsi qu'en pharmacopée [6]. Par ailleurs, les graines sont en outre recherchées pour leur teneur en huile de qualité qui varie de 38 à 40 % [7 - 9]. *Moringa oleifera* Lam. est propagé classiquement soit par les graines, soit par les boutures. Cependant, quel que soit la voie de propagation, celle-ci présente des contraintes. En effet, bien que la propagation par bouturage soit bonne pour conserver les mêmes caractères que la plante mère, les boutures ont un taux de survie faible et même si elles survivent elles produisent des racines superficielles qui ne supportent pas la plante très longtemps [8, 10]. Le taux de survie des boutures varie de 38 à 65 % selon la taille du bouture [11]. La propagation par les graines est quant à elle limitée par le faible taux de pouvoir germinatif des graines [12]. À cela s'ajoute une baisse drastique de leur pouvoir germinatif après trois mois de stockage [8, 10]. Malgré tout cela, les plantes obtenues à partir des graines peuvent changer de génotype et de phénotype conduisant à des variations de la qualité du rendement [13, 14]. Et l'utilisation des graines dans les industries constitue une menace pour la production durable de l'espèce en zone tropicale où le semi est sa voie privilégiée de propagation. La demande croissante des industriels nécessite une production plus intensive des graines de *Moringa oleifera* [15]. Pour pallier l'ensemble de ces contraintes et pouvoir accroître la production en quantité et en qualité, et en peu de temps, la culture *in vitro* est une alternative pour sa multiplication conforme et en masse présentant des caractères génétiques intéressants sur le plan agronomique, écologique et économique. C'est pourquoi, cette étude vise à établir un protocole efficace de propagation *in vitro* de *Moringa oleifera* Lam afin de résorber les défis liés à la production intensive de l'espèce.

II - MATÉRIEL ET MÉTHODES

II-1. Matériel végétal

La variété PKM1 du *M. oleifera* Lam a été utilisée. Les parties utilisées sont les explants tiges uninodales. Les prélèvements des explants au champ ont été effectués sur 4 plants de *Moringa* âgés de 75 jours. Ce sont des rameaux à deux nœuds qui ont été prélevés qui part la suite ont été sectionnés au laboratoire en des explants uninodaux. La lame utilisée pour faire le prélèvement a été trempée dans alcool à 96 % avant usage pour éviter toutes contaminations extérieures. La stérilisation des explants a été effectuée sous la hotte à flux laminaire et a été faite comme suit : les explants ont été d'abord lavés avec du savon liquide pendant environ 10 minutes et rincés trois fois avec de l'eau distillée. Puis, ils ont passé sous l'alcool 70 % pendant 1minute, après le NaClO à 2° est utilisé pendant 15minutes, plus une goutte de tween 20 puis agité à la main et enfin 3 rinçages avec de l'eau distillée pure, à raison de 5 minutes par rinçage.

II-2. Préparation du milieu de culture

Le milieu MS [16] lyophilisé en poudre conditionné en $4,42 \text{ g.L}^{-1}$ est le milieu de base choisi. Après avoir préparé 1 litre de MS_0 , on a versé 100 mL de MS_0 dans chacun de 9 bocaux qui constitue les doses d'hormones. On a prélevé 100 μl de S1 à l'aide d'une micropipette puis versé dans un bocal, on obtient une solution contenant 1 mg.L^{-1} de BAP. Ensuite, on a prélevé 5 μl de S2 à l'aide d'une micropipette et versé dans un bocal pour obtenir une solution contenant $0,05 \text{ mg.L}^{-1}$ de BAP. Le même procédé pour la préparation des milieux contenant du BAP seul est effectué pour la préparation des milieux contenant de l'ANA seul. Pour la préparation des milieux comportant une combinaison de BAP/ANA, on a utilisé le même volume que celui utilisé lors de la préparation des milieux contenant les deux hormones prises individuellement. Au total, 8 doses d'hormones sont comparées au témoin (MS_0). Trois niveaux 0 ; 0,05 et 1 mg.L^{-1} c'est-à-dire nul, faible et moyen de concentrations ont été utilisés pour chacune de deux hormones. Le **Tableau 1** illustre les différentes doses et leurs concentrations hormonales.

Tableau 1 : *Différentes concentrations d'hormones*

Milieux de culture	Concentration d'hormone (mg.L^{-1})	
	BAP	ANA
MS_0	0	0
ANA 0,05	0	0,05
ANA1	0	1
BAP 0,05	0,05	0
BAP1	1	0
BAP0,05 + ANA0,05	0,05	0,05
BAP1 + ANA0,05	1	0,05
BAP0,05 + ANA 1	0,05	1
BAP1 + ANA1	1	1

II-3. Stérilisation des milieux de culture et des matériels

La stérilisation des milieux (contenant d'hormones autoclavables ou pas) et la verrerie (bocaux et tubes à essais) s'est effectuée à l'autoclave à 121°C pendant 20mn. Tous les instruments métalliques (pinces, scalpels, lames et ciseaux) enrobés de papier aluminium ont été stérilisés dans le four Pasteur à une température de 180 à 200°C pendant deux heures au minimum.

II-4. Repiquage des explants

Après désinfection, les rameaux sont coupés en deux explants, dont un explant issu de la partie basale et un deuxième explant provenant de la partie médiane. Le repiquage des explants dans les milieux de culture a été effectué à l'aide d'un scalpel et des pinces stérilisés, près de la flamme du bec Busen électrique

à 1000°C. Les explants sont repiqués au centre du tube de façon à limiter le contact entre l'explant et la paroi du tube. Le repiquage a été fait comme suit :

- Les explants prélevés sur le plant 1 ont été repiqués dans les répétitions 1 et 2, dont les explants des parties basales dans la répétition 1 et les explants des parties médianes dans la répétition 2 ;
- Les explants prélevés sur le plant 2 dont les explants des parties basales et les explants des parties médianes, ont été repiqués respectivement dans les répétitions 3 et 4 ;
- Les explants prélevés sur le plant 3 ont été repiqués dans les répétitions 5 et 6, dont les explants des parties basales et les explants des parties médianes respectivement ;
- Les explants prélevés sur le plant 4, c'est-à-dire les explants des parties basales et les explants des parties médianes, sont repiqués respectivement dans les répétitions 7 et 8.

Au total 9 traitements (milieux de culture) et 8 répétitions sont conduits pour cette expérimentation (**Figure 1**).

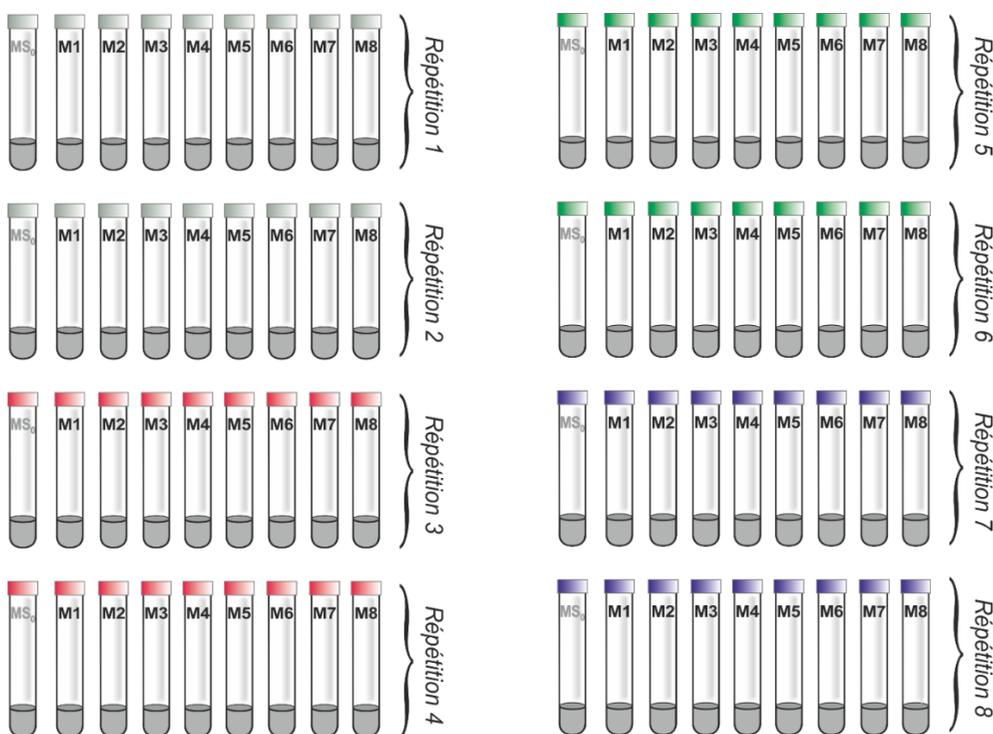


Figure 1 : Dispositif expérimental

MS₀ : témoin, *M1* : ANA0,05 ; *M2* : ANA1 ; *M3* : BAP0,05 ; *M4* : BAP1 ; *M5* : BAP0,05+ANA0,05 ; *M6* : BAP1 + ANA0,05 ; *M7* : BAP0,05 + BAP1 ; *M8* : BAP1 + ANA1. Les doses d'hormones sont en mg.L⁻¹.

II-5. Incubation des explants

Enfin les tubes ont été fermés à l'aide de bouchons. La mise en culture a été faite dans une salle de culture dans des conditions de photopériodisme de 16 h de lumière et 8 h d'obscurité. La température est réglée à 25 ± 2 °C avec une forte intensité lumineuse.

II-6. Observations et mesures effectuées

Les observations et les mesures effectuées ont été portées sur le taux de contamination, le taux de reprise des explants (émission de bourgeons et / ou de racines), le nombre de ramifications par explant, la longueur de ramifications, le nombre de nœuds et le nombre de feuilles par explant.

II-7. Analyses statistiques des données

Le logiciel GenStat 12^{ème} édition a permis de réaliser l'analyse statistique des données au seuil de 5 %. Lorsque que le test est significatif à ce seuil, on a procédé à la comparaison des moyennes à l'aide du test SNK (Student-Newman-Keuls).

III - RÉSULTATS ET DISCUSSION

III-1. Taux de contamination

Comme les milieux sont riches en éléments minéraux et le temps de culture est relativement long (1 mois), les conditions d'un développement bactérien ou fongique sont réunies. Les causes d'infection sont nombreuses. Il faut donc manipuler dans des conditions d'asepsie rigoureuses. Le taux de contamination des explants prélevés au champ sur *Moringa* est de 9,72 %. D'après les observations, la contamination débute 4 jours après la mise en culture et par la suite elle se stabilise au 11^{ème} Jour (**Figure 2**).

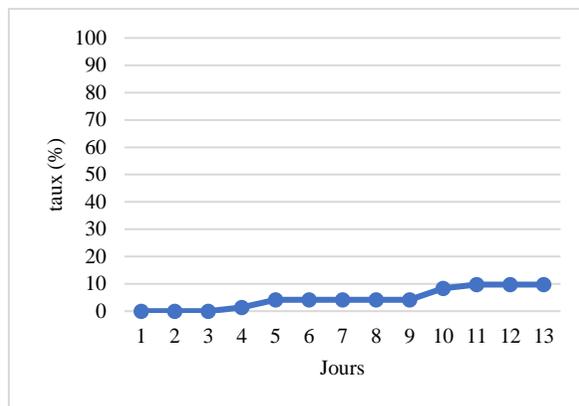


Figure 2 : Taux de contamination des explants prélevés au champ

Ce taux de contamination est inférieur à celui trouvé par [17] avec le même protocole de désinfection, soit 16,66 %. Ce taux est aussi inférieur au résultat de [18], qui a enregistré 12,5 % de contamination avec la désinfection des explants prélevés sur des plantes adultes en utilisant le chlorure mercurique à 0,2 %.

III-2. Taux de reprise des explants

La reprise étant la première réponse des explants aux milieux de culture et se manifeste par l'augmentation et la croissance du nombre de bourgeons préexistants et néoformés. Le taux de reprise des explants prélevés au champ varie de 62,5 à 100 % à 12 jours après repiquage (**Figure 3**). Le plus grand taux a été observé sur la combinaison de 0,05 mg.L⁻¹ de BAP avec 0,05 mg.L⁻¹ d'ANA. Le taux de reprise sur MS₀ (75 %) est identique à celui de 1 mg.L⁻¹ de BAP et de la combinaison BAP1+ANA1 mg.L⁻¹. S'agissant de l'hormone ANA, le taux de reprise varie de 62,5 à 87,5 % sur les milieux auxquels on a ajouté 1 et 0,05 mg.L⁻¹ d'ANA respectivement. Cependant, malgré l'écart entre les taux de reprise qui varient de 62,5 à 100 %, l'analyse de variance ne met pas en évidence une différence significative entre les milieux de culture.

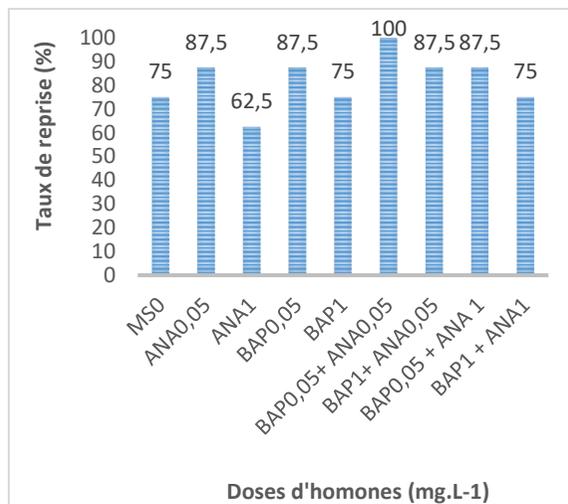


Figure 3 : Taux de reprise des explants prélevés au champ

III-3. Influence du BAP et de l'ANA sur le nombre de ramifications

Une augmentation du nombre de ramifications en fonction de la concentration et du type d'hormones a été observée. Ce nombre varie de $0,88 \pm 0,09$ à $2,12 \pm 0,28$ ramifications par explant à la date de 30 jours de culture. Cependant, l'analyse de la variance justifie que les régulateurs de croissance n'ont pas eu d'effet significatif au seuil de 5 % (**Tableau 2**). Le milieu contenant la combinaison de $0,05 \text{ mg.L}^{-1}$ du BAP avec $0,05 \text{ mg.L}^{-1}$ de l'ANA a produit le maximum de ramifications, soit $2,12 \pm 0,28$ ramifications par explant (**Tableau 2 ; Planche 1.A**) suivi de la concentration de 1 mg.L^{-1} du BAP soit $1,75 \pm 0,28$ ramifications par explant (**Tableau 2 ; Planche 1.B**). La moyenne de ramifications par explant sur le témoin est similaire à celle trouvée sur la concentration de $0,05 \text{ mg.L}^{-1}$ d'ANA qui est de $1,38$ ramification par explant (**Tableau 2**). Le plus faible nombre de ramifications ($0,88 \pm 0,09$ ramifications par explant) est observé avec la dose de 1 mg.L^{-1} d'ANA.

Tableau 2 : Effets des hormones sur l'induction des ramifications à 30 Jours Après Repiquage

Concentrations d'hormones (mg.L ⁻¹)	Nombre de ramifications
MS ₀	$1,38 \pm 0,15$
ANA 0,05	$1,37 \pm 0,13$
ANA 1	$0,88 \pm 0,09$
BAP 0,05	$1,62 \pm 0,25$
BAP 1	$1,75 \pm 0,28$
BAP 0,05 + ANA 0,05	$2,12 \pm 0,28$
BAP 1 + ANA 0,05	$1,12 \pm 0,22$
BAP 0,05 + ANA 1	$1,50 \pm 0,22$
BAP 1 + ANA 1	$1,12 \pm 0,24$

Le milieu supplémenté avec la combinaison de 0,05 mg.L⁻¹ du BAP et 0,05 mg.L⁻¹ d'ANA a permis un fort développement de ramifications (2,12 ± 0,28). Néanmoins ces résultats sont inférieurs à ceux de [19] qui ont obtenu 5,33 ± 1,45 ramifications par explant sur la même combinaison. Un développement moyen de ramifications sur les milieux comportant le BAP seul est observé. Ce développement met en exergue l'importance du BAP sur l'induction des ramifications. Les résultats de [13] ont montré une forte formation de ramifications, soit 9,00 ± 1,00 ramifications avec le BAP à une concentration de 0,56 mg.L⁻¹. Quant au [20], le maximum de ramifications obtenues était observé entre 1 à 1,5 mg.L⁻¹ de concentration de BAP. C'est pourquoi, selon [13, 20], une forte concentration de BAP inhibe le développement des ramifications. L'apparition des nouvelles tigelles sur le milieu MS₀ laisse penser que l'hormone endogène que contiennent les explants était suffisante pour déclencher la formation de ramifications et, elle a été améliorée par application du BAP et de l'ANA. Des résultats comparables ont été observés dans les travaux de [21, 22] sur *M. oleifera* et celui de [23] sur le bambou. Cependant la réponse des différents explants varie selon le milieu de culture. En effet, une prolifération importante des tigelles a été observée sur le WPM contenant de l'ANA et du BAP [24].

III-4. Influence du BAP et de l'ANA sur la longueur de ramifications

L'allongement des ramifications est fonction de la présence ou de l'absence de régulateurs de croissance dans les milieux. Les concentrations individuelles des hormones ou une combinaison du BAP et de l'ANA ont montré un effet significatif sur la longueur de ramifications (**Tableau 3**).

Tableau 3 : Effets des hormones sur l'allongement des ramifications à 30 Jours Après Repiquage

Concentrations d'hormones (mg.L ⁻¹)	Longueur de ramifications (cm)
MS ₀	0,32 ± 0,08 ^a
BAP 1 + ANA 1	0,46 ± 0,15 ^{ab}
BAP 1 + ANA 0,05	0,70 ± 0,20 ^{ab}
BAP1	0,76 ± 0,20 ^{ab}
ANA 0,05	1,10 ± 0,25 ^{ab}
BAP 0,05 + ANA 1	1,16 ± 0,26 ^{ab}
ANA 1	1,32 ± 0,35 ^{ab}
BAP 0,05	1,38 ± 0,33 ^{ab}
BAP 0,05 + ANA 0,05	2,32 ± 0,49 ^b

Les valeurs affectées des mêmes lettres ne sont pas différentes statistiquement.

Il ressort des résultats que la combinaison du BAP $0,05 \text{ mg.L}^{-1} + 0,05 \text{ mg.L}^{-1}$ d'ANA s'est démarquée au niveau de l'allongement des ramifications (**Tableau 3**). Les tailles de vitroplants enregistrées sont proches de $2,12 \pm 0,59$ cm obtenu sur des vitroplants de *M. stenopetala* avec la concentration de $0,5 \text{ mg.L}^{-1}$ de BAP [18]. Quant au [19], leurs vitroplants ont un allongement moyen de $8,33 \pm 1,87$ cm sur la combinaison du BAP $0,05 \text{ mg.L}^{-1} + \text{ANA } 0,05 \text{ mg.L}^{-1}$. La combinaison de BAP à concentration moyenne (1 mg.L^{-1}) prise individuellement ou en association avec différentes concentrations d'ANA semble avoir un effet dépressif sur la taille des ramifications. Contrairement aux résultats de ce travail, [25] avaient obtenu $4,30 \pm 0,11$ cm de longueur de ramifications avec la combinaison de 1 mg.L^{-1} de BAP + $0,5 \text{ mg.L}^{-1}$ de l'AIB. Tandis que le BAP à faible concentration a donné aussi un allongement relativement moyen.

III-5. Influence du BAP et de l'ANA sur le nombre de nœuds

L'augmentation du nombre de nœuds dépend nettement de la concentration du BAP et de l'ANA. L'effet de ces hormones est non significatif au 30^{ème} jour après semis ($P > 0,05$). La combinaison de $0,05 \text{ mg.L}^{-1}$ de BAP avec $0,05 \text{ mg.L}^{-1}$ d'ANA était meilleure, suivie de la concentration de BAP à 1 mg.L^{-1} (**Tableau 4**). La moyenne du nombre de nœuds par explant pour cette combinaison est de $7,25 \pm 2,29$ et celle sur le BAP 1 mg.L^{-1} est de $4 \pm 1,22$ (**Planche 1.B**). Par contre, sur le milieu MS_0 c'est-à-dire le témoin, cette moyenne est de $0,87 \pm 0,30$ nœud par explant. Dans le milieu contenant la combinaison de 1 mg.L^{-1} de BAP avec $0,05 \text{ mg.L}^{-1}$ d'ANA, $3,12 \pm 1,03$ nœuds par explant sont obtenus.

Tableau 4 : Effets des hormones sur la formation du nombre de nœuds à 30 jours après semis

Concentrations d'hormones (mg.L^{-1})	Nombre de nœuds par explant
MS_0	$0,87 \pm 0,30$
ANA 0,05	$2,62 \pm 0,75$
ANA 1	$1,75 \pm 0,42$
BAP 0,05	$2,50 \pm 0,72$
BAP 1	$4,00 \pm 1,22$
BAP 0,05 + ANA 0,05	$7,25 \pm 2,29$
BAP 1 + ANA 0,05	$3,12 \pm 1,03$
BAP 0,05 + ANA 1	$1,87 \pm 0,46$
BAP 1 + ANA 1	$1,87 \pm 0,77$

Le nombre de nœuds le plus élevé ($7,25 \pm 2,29$) obtenu avec le BAP ($0,05 \text{ mg.L}^{-1}$) associé à l'ANA ($0,05 \text{ mg.L}^{-1}$) serait lié à l'aspect bénéfique de cette combinaison mais aussi aux faibles concentrations utilisées. Cette action favorable de la combinaison BAP/ANA est avancée dans le travail de [19]. Quant au [26], ses résultats sont supérieurs aux nôtres pour lesquels les vitroplants ont en moyenne 10 nœuds par explant dans le milieu MS₀. [13] quant à lui, a enregistré $5 \pm 1,00$ nœuds par explant avec le milieu MS₀. Les résultats de l'étude de [20], montre que la concentration de 1 mg.L^{-1} de BAP a profondément agi sur la croissance caulinaire (débourrement et production des feuilles). Néanmoins dans la présente étude, avec la même concentration, $4,00 \pm 1,22$ nœuds par explant sont plutôt enregistrés. Par contre, le BAP à concentration moyenne (1 mg.L^{-1}) est une dose dépressive [18].

III-6. Influence du BAP et de l'ANA sur le nombre de feuilles

Le **Tableau 5** révèle que l'influence du BAP et de l'ANA est significativement différente sur le nombre de feuilles au 27^{ème} JAR, selon le test de SNK au seuil de 5 %. La combinaison de $0,05 \text{ mg.L}^{-1}$ de BAP avec $0,05 \text{ mg.L}^{-1}$ d'ANA est la plus favorable à la formation du nombre de feuilles (**Tableau 5 ; Planche 1.E**). Les concentrations de $0,05$ et 1 mg.L^{-1} de BAP ont produit en moyenne $3,50 \pm 1,28$ et $3,62 \pm 1,56$ feuilles respectivement. Le nombre de feuilles est important dans le milieu contenant $0,05 \text{ mg.L}^{-1}$ d'ANA ($2,37 \pm 0,75$ feuilles) comparé à celui contenant 1 mg.L^{-1} d'ANA ($1,62 \pm 0,44$ feuilles). Le témoin présente le nombre de feuilles le plus médiocre.

Tableau 5 : Effets des hormones sur le développement des feuilles à 30 Jours Après Repiquage (JAR)

Concentrations d'hormones (mg.L^{-1})	Nombre de feuilles par explant
MS ₀	$0,25 \pm 0,07$ a
BAP 1 + ANA 1	$1,12 \pm 0,64$ ab
BAP 1 + ANA 0,05	$2,50 \pm 1,26$ ab
BAP 0,05	$3,50 \pm 1,28$ ab
ANA 1	$1,62 \pm 0,44$ ab
BAP 0,05 + ANA 1	$1,50 \pm 0,42$ ab
ANA 0,05	$2,37 \pm 0,75$ ab
BAP 1	$3,62 \pm 1,25$ ab
BAP 0,05 + ANA 0,05	$5,62 \pm 1,68$ b

Les valeurs affectées des mêmes lettres ne sont pas différentes statistiquement.

Les résultats observés montrent que la production de feuilles est beaucoup plus importante sur la combinaison de BAP $0,05 \text{ mg.L}^{-1}$ + ANA $0,05 \text{ mg.L}^{-1}$. [27] quant à lui, la concentration de la Kin 1 mg.L^{-1} + $0,01 \text{ mg.L}^{-1}$ de l'AIB a produit

9,33 ± 10,56 feuilles par explants. Les milieux contenant 0,05 mg.L⁻¹ et 1 mg.L⁻¹ de BAP favorisent également le nombre de feuilles. Cela est confirmé par [28] qui a obtenu, avec la concentration de 1 mg.L⁻¹ de BAP, 17,67 ± 1,45 feuilles par explant. Néanmoins, [13, 28] avaient constaté qu'une forte dose de BAP inhibe le développement des feuilles. En effet, au-delà d'une concentration de 1mg.L⁻¹ de BAP la production de feuilles baisse.

III-7. Développement des vitroplants

Les résultats diffèrent selon que le milieu contient ou pas d'hormones de croissance et aussi en fonction de la concentration d'hormones. On observe que certains vitroplants qui ont bien repris lors des sept premiers jours ont vu leur croissance se ralentir ou s'éteindre et ceci le plus fréquemment dans le milieu MS₀ et celui contenant la combinaison de 1 mg.L⁻¹ de BAP avec l'ANA. Des perturbations physiologiques, à savoir la chute des feuilles (*Planche 1 ; C et F*), le raccourcissement des entrenœuds, le rabougrissement (*Planche 1.D*) et la nécrose ont été constatés sur le milieu MS₀ et sur la combinaison de 1 mg.L⁻¹ de BAP avec 1 mg.L⁻¹d'ANA. Les mêmes perturbations sur le MS₀ ont également été observées par [26].

III-8. Enracinement des vitroplants

La régénération de cette plante a montré aussi des difficultés affectant l'enracinement des explants du fait de la formation importante des cals à la base des explants. [26] a rapporté des observations similaires sur l'enracinement tardif et quasi nul des explants de *Moringa* sur le milieu MS₀. [20] ont montré également un taux d'enracinement nul sur les concentrations de 0,05 et 1 mg.L⁻¹ d'ANA, mais sur MS₀, ils ont trouvé 4 racines par explant. Cependant, [28] a observé, avec la concentration de 0,05 mg.L⁻¹ d'ANA, 2,11 ± 0,20 et 2,78 ± 0,22 racines sur les explants hypocotyles et les explants tiges nodales respectivement. Ainsi, un meilleur enracinement et de l'allongement des racines des vitroplants de moringa ont été observés respectivement sur les milieux de culture contenant de 1 et 2 mg.L⁻¹ de l' IAA [29]. Par contre une induction maximale des racines (86.6 %) a été observée sur le WPM enrichi en 2,46 µM de IBA [24].

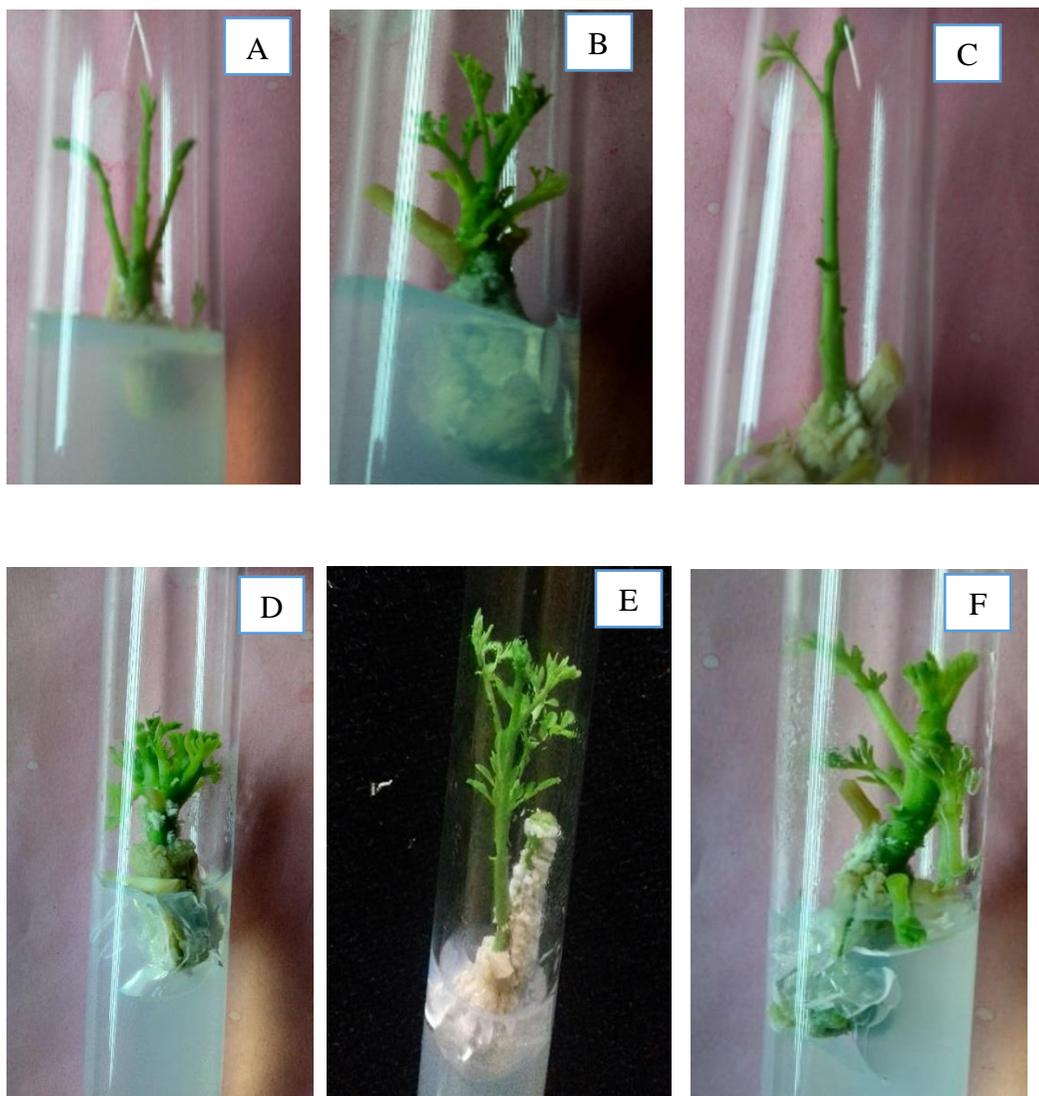


Planche 1 : Photographie de quelques vitroplants à partir de explants prelevés au champ. A : un milieu avec une combinaison du BAP 0,05+ANA 0,05 mg.L⁻¹ ; B : milieu avec concentration de 1 mg.L⁻¹ de BAP ; C : milieu avec une combinaison de BAP 0,05 + ANA 0,05 mg.L⁻¹ ; D : milieu avec une combinaison de BAP 1+ANA0,05 mg.L⁻¹ ; E : milieu avec une combinaison de BAP 0,05 + ANA0,05 mg.L⁻¹ ; F : milieu avec une concentration d'ANA 0,05 mg.L⁻¹.

IV - CONCLUSION

Les hormones de croissance végétales ont une influence en fonction de la nature et de la dose appliquée sur le comportement du végétal. La combinaison de 0,05 mg.L⁻¹ de BAP et 0,05 mg.L⁻¹ d'ANA a induit le taux de reprise maximum des explants (100 %), le nombre maximum de ramifications (2,12 ± 0,28) et le maximum de nœuds par explant (7,25 ± 2,29). Elle était également plus favorable à la formation du nombre de feuilles par explant (5,62 ± 1,68). Par contre, la dose de 1 mg.L⁻¹ d'ANA et le témoin MS0 étaient les moins favorables. Le MS0 a enregistré la plus faible longueur de ramifications et le minimum de nœuds par explant avec des valeurs respectives de 0,32 ± 0,08 cm et 0,87 ± 0,30. En conclusion, l'absence d'hormones de croissance végétales (MS0) et la combinaison des fortes doses (1 mg.L⁻¹ BAP avec 1 mg.L⁻¹ ANA) engendrent des perturbations physiologiques, à savoir la chute des feuilles, le raccourcissement des entrenœuds, le rabougrissement et la nécrose. Et la croissance végétale est favorisée par une combinaison de 0,05 mg.L⁻¹ de BAP avec 0,05 mg.L⁻¹ d'ANA.

RÉFÉRENCES

- [1] - AGROCONSULT HAÏTI SA, Analyse des potentialités de l'exploitation du Moringa en Haïti. Rapport final. Haïti, (2016) 187 p.
- [2] - F. MADY et S. CISSE, Évolution des prix de gros du *Moringa* sur les marchés de Niamey (Djémadjé et Harobanda). Note d'information, Produits du maraîchage sur les marchés de Niamey (RECA), Niger, (2017) 4 p.
- [3] - N. FOIDL, H. P. S. MAKKAR et K. BECKER, Potentiel de *Moringa oleifera* en agriculture et dans l'industrie, potentiel de développement des produits de *Moringa*, Actes de la Conférence de Dar Es Salam, tenue du 29 octobre - 2 novembre 2001. Tanzanie
- [4] - A. MELESSE, Comparative assessment on chemical compositions and feeding values of leaves of *Moringa stenopetala* and *Moringa oleifera* using *in vitro* gas production method. *Ethiop. J. Appl. Sci. Technol.*, 2 (2) (2011) 31 - 41
- [5] - M. L. MANZO, DM. HALIDOU, M. HALLAROU, A. ILLO, A. RABANI, P. DONNEN et M. DRAMAIX, Composition de la poudre des feuilles sèches de *Moringa oleifera* dans trois régions du Niger. *Afric. J. of Food Agric. Nut. And Dev.*, 16 (4) (2015) 11432 - 11442
- [6] - DE SAINT SAUVEUR et BROIN, L'utilisation des feuilles de *Moringa oleifera* contre les carences alimentaires : un potentiel encore peu valorisé. Acte de la Conférence d'Accra (Ghana), tenue du 16 -18 (novembre 2006)

- [7] - F. ANWAR et M. I. BHANGER, Analytical characterization of *Moringa oleifera* seed oil grown in temperate regions of Pakistan. *J. Agric. Food Chem.*, 51 (22) (2003) 6558 - 6563
- [8] - A. PANDEY, K. PRADHEEP, R. GUPTA, E. R. NAYAR and D. C. BHANDARI, Drumstick tree (*Moringa oleifera* Lam.) : a multipurpose potential species in India. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 58 (3) (2010) 453 - 460
- [9] - A. LEONE, A. SPADA, A. BATTEZZATI, A. SCHIRALDI, J. ARISTIL and S. BERTOLI, *Moringa oleifera* seeds and oil : characteristics and uses for human health. *International Journal of Molecular Sciences*, 17 (2016) 2141 - 2155
- [10] - M. QUASHIE et Y. TCHEZOU, Étude de la germination de *Moringa oleifera* Lam. *Afrique SCIENCE*, 05 (3) (2009) 169 - 180
- [11] - K. KOKOU, T. JOË, M. BROIN, A. AÏDAM, Recherches sur la culture de *Moringa oleifera* Lam. au Togo. *Cahiers Agricultures*, 10 (2007) 131 - 133
- [12] - C. A. NJEHOYA, S. BOUROU, P. M. D. KO AWONO et H. BOUBA, Évaluation du potentiel de germination de *Moringa oleifera* dans la zone soudano-guinéenne du Cameroun. *Journal of Applied Biosciences*, 74 (2014) 6141 - 6148
- [13] - J. M. SALEM, *In vitro* propagation of *Moringa oleifera* Lam. under salinity and ventilation conditions. *Genetics and Plant Physiology*, 6 (1-2) (2016) 54 - 64
- [14] - J. O. POPOOLA, O. A. BELLO and O. O. OBEMBE, Phenotypic intraspecific variability among some accessions of drumstick (*Moringa oleifera* Lam.). *Canadian Journal of Pure and Applied Sciences*, 10 (1) (2016) 3681 - 3693
- [15] - Q. E. MUHL, Seed germination, tree growth and flowering responses of *Moringa oleifera* Lam. (horseradish tree) to temperature. Submitted in partial fulfilment of the requirements for the degree MSc (Agric.) Horticulture In the Faculty of Natural and Agricultural Sciences University of Pretoria. South Africa, (2009) 127 p.
- [16] - T. MURASHIGE and F. SKOOG, A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiol. Plant*, 15 (1962) 473 - 497
- [17] - N. DJIMADOUM, Influence de quelques hormones de croissance sur la micropropagation de *Moringa oleifera* Lam. Mémoire de fin de cycle en vue de l'obtention de la Licence générale es-Sciences agronomiques. Faculté d'agronomie, Université Abdou Moumouni de Niamey, (2016) 35 p.
- [18] - M. SAMINOU, Étude des optimales de la multiplication *in vitro* (micropropagation) du *moringa* : *Moringa oleifera* Lam., *Moringa peregrina* Forssk. et *Moringa stenopetala* Chiov. au Niger. Mémoire de fin de cycle en vue de l'obtention du diplôme de Master II es-Sciences agronomiques. Mention Productions Végétales, Spécialité :

- Phytotechnie. Faculté d'agronomie de l'Université Abdou Moumouni de Niamey, (2013) 64 p.
- [19] - H. HUMA, P. ANJUM and M. QAISER, Micropropagation to rescue endangered plant *Moringa concanensis* Nimmo (*Moringaceae*). *Pak. J. Bot.*, 48 (1) (2016) 291 - 294
- [20] - S. ISLAM, A. MISKAT and K. RAHIMA, *In vitro* regeneration and multiplication of year-round fruit bearing *Moringa oleifera* Lam. *Journal of Biological Sciences*, 5 (2) (2005) 145 - 148
- [21] - B. STEINITZ, T. YONA, G. VICTOR, G. TANYA and V. YIFTACH, Vegetative micro cloning to sustain biodiversity of threatened *Moringa* species. *In vitro Cell. Dev. Biol.-Plant*, 45 (2009) 65 - 71
- [22] - E. C. MARFORI, Clonal Micropropagation of *Moringa oleifera* Lam. *The Philippine Agricultural Scientist*, 93 (4) (2010) 454 - 457
- [23] - A. NDIAYE, D. AMADOU, T. MAHAMADOU, N. DAME, S. MAURICE et K. YAYE, Stratégies de production de clones de *Oxytenanthera abyssinica* (a. rich.) Munro, à l'aide d'outils biotechnologiques. *Revue des CAMES*, 2 (1) (2014) 69 - 74
- [24] - S. CHAND, A. PANDEY and O. VERMA, *In vitro* regeneration of *Moringa oleifera* Lam.: A medicinal tree of family Moringaceae. *Indian J. Genet.*, 79 (3) (2019) 606 - 613
- [25] - Z. JEMAL, Micropropagation of *Moringa oleifera* from shoot tip explants. A Thesis Submitted to the School of Graduate Studies, Addis Ababa University in partial fulfillment of the requirement for the Degree of Master of Science in Biotechnology. *Ethiopia*, (2017) 53 p.
- [26] - M. QUASHIE, B. TETE et Y. TCHEZOU, Micropropagation d'une plante d'intérêt nutritionnel et pharmacologique *Moringa oleifera* Lam. *J. Rech. Sci. Univ. Lomé (Togo), Série A*, 14 (2) (2012) 7 - 17
- [27] - A. Y. ADUGNA, Optimization of growth regulators on *in vitro* propagation of *Moringa stenopetala* from Shoot explants. A Thesis Submitted to School of Graduate Studies, Addis Ababa University, in Partial Fulfillment of the Requirements for the Degree of Master of Science in Biology. *Ethiopia*, (2016) 46 p.
- [28] - U. SHAHZAD, M. J. JASKANI, S. AHMAD and F. AWAN, Optimization of the micro-cloning system of threatened *Moringa oleifera* Lam. *Pak. J. Agri. Sci.*, 51 (2) (2014) 449 - 457
- [29] - A. P. RUDIYANTO, E. DARDA, E. M. TRI, *In vitro* shoot growth and root formation enhancement of *Moringa oleifera* Lam. on DKW medium containing cytokinins and auxins. *AIP Conference Proceedings*, 2606 (1) (4 January 2023) : 040008. <https://doi.org/10.1063/5.0118345>