

Multiplication végétative, *in vitro*, des bourgeons axillaires de *Passiflora edulis* var. *flavicarpa* DEGENER et de *P. mollissima* BAILEY.

M. J. MORAN ROBLES*

MULTIPLICATION VEGETATIVE, *IN VITRO*, DES BOURGEONS AXILLAIRES DE *PASSIFLORA EDULIS* VAR. *FLAVICARPA* DEGENER ET DE *P. MOLLISSIMA* BAILEY

M.J. MORAN ROBLES

Fruits, vol. 33, n° 10, p. 693-699.

RESUME - Quatre milieux de base, avec ou sans AIA, 2,4-D et cinétine (2 mg/l) seuls ou combinés, ont été testés sur des cultures *in vitro* de bourgeons axillaires de *Passiflora edulis* var. *flavicarpa* et de *P. mollissima*, mis à l'obscurité et à la lumière. Ces expériences ont été réalisées en vue de la multiplication végétative accélérée de plantes sélectionnées.

L'influence du milieu de culture semble plus importante que l'action de l'éclairage. Les milieux de Nitsch, Blydes, Murashige et Skoog s'avèrent plus efficaces que celui de Heller.

La présence de la cinétine augmente le pourcentage de bourgeons en croissance dans la première phase de culture pour les deux espèces. La différenciation des racines, après le premier repiquage, est stimulée par la présence de l'AIA et du 2,4-D seuls ou combinés, pour la première des espèces. Pour *P. mollissima*, l'action de ces auxines est négative ; la cinétine à elle seule semble assurer la multiplication. Les amas cellulaires, formés à la base des explantats, ont été prélevés et repiqués sur les quatre milieux de base, avec combinaison des trois substances de croissance ; aucun de ces amas ne s'est différencié.

INTRODUCTION

La reproduction par voie végétative est commune chez les plantes cultivées, et différentes méthodes sont généralement utilisées chez les espèces fruitières (ALLARD, 1964). Très peu d'essais ont été réalisés sur les espèces fruitières du genre *Passiflora* *in vivo* (JARAMILLO, 1958 ; TEULON, 1977) ou *in vitro* (NAKAYAMA, 1966). LUBERT (1975) fait référence à un programme de greffage en cours, de *P. edulis* sur *P. edulis* var. *flavicarpa*, cet auteur estime prudent d'avoir plus d'information avant de se lancer dans

ce type de production. Cependant, diverses espèces de ce genre ont une importance économique ; dans notre cas *Passiflora edulis* var. *flavicarpa* est à la base de l'industrie des jus du «fruit de la passion» à Hawaï, en Australie, Brésil, etc. et *P. mollissima* constitue un des fruits trouvés fréquemment sur les marchés en Amérique tropicale (MARTIN et NAKASONE, 1970 ; CALZADA et al., 1971) ; de plus, leur distribution géographique recouvre les différentes zones de l'Amérique tropicale (LEON, 1968 ; FOUQUE, 1977). D'autre part, la culture *in vitro* devient de plus en plus un important outil pour la production agricole (MURASHIGE, 1977). Dans ce travail, nous essaierons la multiplication des bourgeons axillaires de ces deux espèces, sur différents milieux, pour diverses conditions d'éclairage, en

* - Unité de Cytogénétique, Université catholique de Louvain, Place Croix du Sud 4, 1348 Louvain-la-Neuve (Belgique).

l'absence ou en présence de deux auxines, l'acide indolacétique (AIA) et l'acide 2,4-Dichlorophénoxyacétique (2,4-D) et d'une cytokinine (la cinétine) seules ou combinées.

MATERIEL ET METHODES

Les bourgeons axillaires de *Passiflora edulis* var. *flavicarpa* DEGENER et de *P. mollissima* BAILEY, ont été prélevés à partir des plantes âgées de six mois, cultivées en serre à la température de 25°C et une humidité relative de 45 p. 100. Après leur prélèvement, les bourgeons, avec 5 mm d'entre-nœuds, ont été plongés dans l'alcool éthylique (70 p. 100) pendant une minute, ensuite trempés dans l'hypochlorite de calcium à 4 p. 100 pendant 5 minutes et rincés trois fois à l'eau désionisée stérile. La mise en culture a été faite sur les milieux de BLAYDES (1966), HELLER - avec les vitamines de White - (GAUTHERET, 1959), MURASHIGE et SKOOG (1962) et NITSCH (NITSCH, NITSCH et HAMON, 1968) en l'absence d'AIA, 2,4-D et de cinétine, ou en leur présence (2 mg/l) seuls ou combinés. Le pH des différents milieux a été ramené à 5,8 avant l'addition d'agar. Les différents milieux ont été autoclavés à 115°C pendant 15 minutes. Les expériences ont été menées à l'obscurité (les 7 premiers jours de culture et postérieurement à la lumière) et à la lumière à une intensité de 3000 lux pendant 18 h/jour, à la température de 25 ± 2°C et à une humidité relative de 65 p. 100.

RESULTATS

Dans le tableau 1, nous présentons, pour *Passiflora edulis* var. *flavicarpa* et *P. mollissima*, les résultats concernant les bourgeons encore en croissance et les explantats enracinés après 20 et 40 jours de culture respectivement, dans chacun des milieux, soit à la lumière, soit à l'obscurité, et leurs pourcentages respectifs. Chaque pourcentage de bourgeons en croissance est calculé sur 80 bourgeons mis en culture et le pourcentage d'explantats enracinés est calculé sur le nombre de bourgeons en croissance.

Après 20 jours de culture, nous pouvons observer 45,3 p. 100 de bourgeons en croissance pour *P. edulis* var. *flavicarpa* et 55,3 p. 100 pour *P. mollissima*. Pour ces deux espèces, les pourcentages de bourgeons en croissance à la lumière sont légèrement supérieurs aux pourcentages observés à l'obscurité ; en moyenne cependant, cette différence n'est pas significative pour chaque espèce. La mise à l'obscurité pendant les sept premiers jours produit dans l'ensemble une uniformisation des bourgeons en croissance.

Chez *P. edulis* var. *flavicarpa* la réponse est différente suivant le milieu de base utilisé. Ceux de BLAYDES (63,1 p. 100), NITSCH (48,8 p. 100) et MURASHIGE et SKOOG (43,8 p. 100) donnent de meilleurs résultats que celui de HELLER (17,5 p. 100).

Quant à *Passiflora mollissima* les résultats sont meilleurs, pour les bourgeons en croissance, sur les milieux de NITSCH (90,6 p. 100), BLAYDES (73,1 p. 100) et MURASHIGE et SKOOG (56,9 p. 100) que sur le milieu de HELLER (0,6 p. 100). Avec le milieu de BLAYDES (77,5 et 68,8 p. 100) et de MURASHIGE et SKOOG (70,0 p. 100 et 43,8 p. 100) la croissance de bourgeons est significativement meilleure à la lumière tandis que, pour le milieu de NITSCH (83,8 p. 100 et 97,5 p. 100) elle est plus favorable pour les bourgeons placés à l'obscurité pendant les sept premiers jours.

Une fois les bourgeons en croissance repiqués sur les mêmes milieux, et après vingt jours de sous-culture nous pouvons évaluer le pourcentage d'explantats enracinés : 9,4 p. 100 pour *P. edulis* var. *flavicarpa* et 31,6 p. 100 pour *P. mollissima*. Pour la première de ces espèces, le pourcentage des bourgeons enracinés avec traitement à l'obscurité est supérieur (11,0 p. 100) à ceux développés à la lumière (7,8 p. 100) ; pour *P. mollissima*, il n'y a pas de différences.

Pour *P. edulis* var. *flavicarpa*, les meilleurs enracinements sont observés avec le milieu de NITSCH à l'obscurité. Un résultat similaire est noté sur le milieu de BLAYDES. Le milieu de MURASHIGE et SKOOG produit un faible pourcentage d'enracinement.

Chez *P. mollissima*, les milieux de BLAYDES (53,9 p. 100) et de NITSCH (29,0 p. 100) donnent les meilleurs pourcentages d'enracinement. Le milieu de MURASHIGE et SKOOG a donné seulement 7,7 p. 100 d'explantats enracinés. Le milieu de BLAYDES (47,3 p. 100 et 59,7 p. 100) favorise l'enracinement des bourgeons mis à la lumière, tandis que le milieu de MURASHIGE et SKOOG (11,4 p. 100 et 4,3 p. 100) favorise ceux qui ont eu un prétraitement à l'obscurité.

Pour les deux espèces, le milieu de HELLER n'a produit l'enracinement d'aucun explantat.

Dans les tableaux 2 et 3, nous présentons, pour *P. edulis* var. *flavicarpa* et *P. mollissima* respectivement les pourcentages de bourgeons qui ont continué leur croissance en l'absence ou en présence (2 mg/l) d'AIA, 2,4-D et de cinétine et leurs différentes combinaisons, ainsi que les pourcentages de bourgeons qui ont développé au moins deux racines, par rapport au nombre de bourgeons qui ont été repiqués en présence des hormones combinées. Les évaluations ont été faites vingt jours après le repiquage.

Chez *P. edulis* var. *flavicarpa* aucune des trois substances de croissance n'est indispensable pour la poursuite du développement des bourgeons et pour la formation des racines. La présence d'AIA et surtout de 2,4-D diminue le pourcentage des bourgeons en croissance. Cette diminution légère dans le cas d'AIA, est significative pour le 2,4-D ; celui-ci seul ou en combinaison, réduit de moitié le pourcentage

TABLEAU 1 - Pourcentage de bourgeons en croissance et d'explantats enracinés, après vingt et quarante jours de culture respectivement, chez *P. edulis* var. *flavicarpa* et *P. mollissima*.

Espèces	Milieux				
	BLAYDES	HELLER	MURASHIGE et SKOOG	NITSCH	Moyenne
<i>Passiflora edulis</i> var. <i>flavicarpa</i>					
obscurité	57,5*	18,8	45,0	48,8	42,5
	10,9**	0,0	5,6	20,5	11,0
lumière	68,8	16,2	42,5	48,8	44,1
	5,4	0,0	5,9	15,4	7,8
moyenne	63,1	17,5	43,8	48,8	43,3
	7,9	0,0	5,7	18,0	9,4
<i>Passiflora mollissima</i>					
obscurité	68,8	0,0	43,8	97,5	52,5
	47,3	0,0	11,4	29,5	31,6
lumière	77,5	1,2	70,0	83,8	58,1
	59,7	0,0	4,3	28,4	31,7
moyenne	73,1	0,6	56,9	90,6	55,3
	53,9	0,0	7,7	29,0	31,6

* - Bourgeons en croissance et ** explantats enracinés.

TABLEAU 2 - Pourcentage de bourgeons en croissance et d'explantats enracinés chez *Passiflora edulis* var. *flavicarpa*, après 20 et 40 jours de culture.

substances de croissance (2 mg/l)		sans cinétine	avec cinétine	moyennes
sans AIA	sans 2,4-D	56,2*	63,4	60,0
		8,9**	5,9	7,3
	avec 2,4-D	25,0	35,0	30,0
		10,0	14,3	12,5
moyennes		40,6	49,4	45,0
avec AIA	sans 2,4-D	50,0	62,5	56,2
		10,0	0,0	4,4
	avec 2,4-D	21,2	32,5	26,9
		29,4	15,4	20,9
moyennes		35,6	47,5	41,6
moyennes	sans 2,4-D	53,1	63,1	58,1
		9,4	3,0	5,9
	avec 2,4-D	23,1	33,8	28,4
		18,9	14,8	16,5
moyennes		38,1	48,4	43,3
		12,3	7,1	9,4

* Bourgeons en croissance et ** explantats enracinés.

des bourgeons en croissance. De plus, avec le 2,4-D, des amas cellulaires se forment à la base de l'explantat. Trélevés et repiqués sur différents milieux avec différentes

combinaisons des trois substances de croissance, ces amas n'ont régénéré aucun organe. Par contre, la présence de cinétine augmente de façon significative le pourcentage des

TABLEAU 3 - Pourcentage de bourgeons en croissance et d'explantats enracinés, chez *Passiflora mollissima* après 20 et 40 jours de culture.

substances de croissance (2 mg/l)		sans cinétine	avec cinétine	moyennes
sans AIA	sans 2,4-D	43,7*	63,4	50,6
		37,1**	43,5	40,7
	avec 2,4-D	56,2	61,2	58,8
		35,6	22,4	28,7
moyennes		50,0	59,4	54,7
avec AIA	sans 2,4-D	58,8	68,8	63,8
		34,0	32,7	33,3
	avec 2,4-D	42,5	53,8	48,1
		26,5	20,9	23,4
moyennes		50,6	61,2	55,9
moyennes	sans 2,4-D	30,9	27,6	28,7
		51,2	63,1	57,2
	avec 2,4-D	35,4	37,6	36,6
		49,4	57,5	53,4
moyennes		31,6	21,7	26,3
		50,3	60,3	55,3
		33,5	30,0	31,6

* Bourgeons en croissance et ** explantats enracinés.

bourgeons en croissance, même en présence du 2,4-D dans le milieu. Pour le développement des racines, l'AIA et le 2,4-D augmentent le nombre d'explantats produisant des racines ; cette action n'est seulement significative qu'avec la combinaison des deux auxines ; par contre, la cinétine a une influence négative et même annule l'effet de l'AIA lorsqu'elle lui est combinée ; l'action de cette cytokinine ne neutralise pas celle du 2,4-D. La présence simultanée des trois substances de croissance, à la fin des deux étapes de culture, donne les mêmes résultats, quant au pourcentage de bourgeons enracinés, que les milieux de culture sans aucune substance de croissance.

Chez *Passiflora mollissima* également, (tableau 3) aucune des substances de croissance n'est indispensable à la poursuite du développement des bourgeons et à la formation des racines. La présence d'AIA ou de cinétine augmente le nombre de bourgeons en croissance ; leur combinaison, a le même effet, sauf la combinaison des deux auxines, pour laquelle le résultat est semblable à celui obtenu sans substance de croissance. La meilleure combinaison est celle de l'AIA et de la cinétine. Des amas cellulaires se sont formés à la base des bourgeons (photo 1) et ont parfois entouré l'explantat (photo 2) ; ces amas ont été prélevés et mis en culture sur différents milieux, avec différentes combinaisons des trois substances de croissance, aucun d'eux

ne s'est différencié. Pour le développement des racines, la présence d'AIA et du 2,4-D a réduit le pourcentage des bourgeons produisant des racines et l'action a été la plus manifeste avec leur combinaison, en l'absence ou en présence de cinétine. La présence de la cinétine, seule ou combinée avec l'AIA, semble assurer, au cours des deux étapes, l'augmentation du pourcentage des bourgeons et des racines.

DISCUSSION

Les bourgeons de deux espèces, *P. edulis* var. *flavicarpa* et *P. mollissima*, ont continué leur croissance sur tous les milieux essayés ; les pourcentages de développement ont varié, selon le tableau 1, de 17,5 p. 100 avec le milieu de HELLER, à 63,1 p. 100 avec le milieu de BLAYDES pour *P. edulis* var. *flavicarpa* et de 0,6 p. 100 avec le milieu de HELLER, à 90,6 p. 100 avec le milieu de NITSCH pour *P. mollissima*.

L'enracinement des explantats a varié de 0,0 p. 100 avec le milieu de HELLER, à 18,0 p. 100 avec le milieu de NITSCH pour *P. edulis* var. *flavicarpa* et de 0,0 p. 100 avec le milieu de HELLER, à 53,9 p. 100 avec le milieu de BLAYDES pour *P. mollissima*. Le milieu de MURASHIGE et SKOOG semble ne pas être favorable pour l'enracinement

TABLEAU 3 - Pourcentage de bourgeons en croissance et d'explantats enracinés, chez *Passiflora mollissima* après 20 et 40 jours de culture.

substances de croissance (2 mg/l)		sans cinétine	avec cinétine	moyennes
sans AIA	sans 2,4-D	43,7*	63,4	50,6
		37,1**	43,5	40,7
	avec 2,4-D	56,2	61,2	58,8
		35,6	22,4	28,7
	moyennes	50,0	59,4	54,7
		36,2	39,4	34,3
avec AIA	sans 2,4-D	58,8	68,8	63,8
		34,0	32,7	33,3
	avec 2,4-D	42,5	53,8	48,1
		26,5	20,9	23,4
	moyennes	50,6	61,2	55,9
		30,9	27,6	28,7
moyennes	sans 2,4-D	51,2	63,1	57,2
		35,4	37,6	36,6
	avec 2,4-D	49,4	57,5	53,4
		31,6	21,7	26,3
	moyennes	50,3	60,3	55,3
		33,5	30,0	31,6

* Bourgeons en croissance et ** explantats enracinés.

bourgeons en croissance, même en présence du 2,4-D dans le milieu. Pour le développement des racines, l'AIA et le 2,4-D augmentent le nombre d'explantats produisant des racines ; cette action n'est seulement significative qu'avec la combinaison des deux auxines ; par contre, la cinétine a une influence négative et même annule l'effet de l'AIA lorsqu'elle lui est combinée ; l'action de cette cytokinine ne neutralise pas celle du 2,4-D. La présence simultanée des trois substances de croissance, à la fin des deux étapes de culture, donne les mêmes résultats, quant au pourcentage de bourgeons enracinés, que les milieux de culture sans aucune substance de croissance.

Chez *Passiflora mollissima* également, (tableau 3) aucune des substances de croissance n'est indispensable à la poursuite du développement des bourgeons et à la formation des racines. La présence d'AIA ou de cinétine augmente le nombre de bourgeons en croissance ; leur combinaison, a le même effet, sauf la combinaison des deux auxines, pour laquelle le résultat est semblable à celui obtenu sans substance de croissance. La meilleure combinaison est celle de l'AIA et de la cinétine. Des amas cellulaires se sont formés à la base des bourgeons (photo 1) et ont parfois entouré l'explantat (photo 2) ; ces amas ont été prélevés et mis en culture sur différents milieux, avec différentes combinaisons des trois substances de croissance, aucun d'eux

ne s'est différencié. Pour le développement des racines, la présence d'AIA et du 2,4-D a réduit le pourcentage des bourgeons produisant des racines et l'action a été la plus manifeste avec leur combinaison, en l'absence ou en présence de cinétine. La présence de la cinétine, seule ou combinée avec l'AIA, semble assurer, au cours des deux étapes, l'augmentation du pourcentage des bourgeons et des racines.

DISCUSSION

Les bourgeons de deux espèces, *P. edulis* var. *flavicarpa* et *P. mollissima*, ont continué leur croissance sur tous les milieux essayés ; les pourcentages de développement ont varié, selon le tableau 1, de 17,5 p. 100 avec le milieu de HELLER, à 63,1 p. 100 avec le milieu de BLAYDES pour *P. edulis* var. *flavicarpa* et de 0,6 p. 100 avec le milieu de HELLER, à 90,6 p. 100 avec le milieu de NITSCH pour *P. mollissima*.

L'enracinement des explantats a varié de 0,0 p. 100 avec le milieu de HELLER, à 18,0 p. 100 avec le milieu de NITSCH pour *P. edulis* var. *flavicarpa* et de 0,0 p. 100 avec le milieu de HELLER, à 53,9 p. 100 avec le milieu de BLAYDES pour *P. mollissima*. Le milieu de MURASHIGE et SKOOG semble ne pas être favorable pour l'enracinement

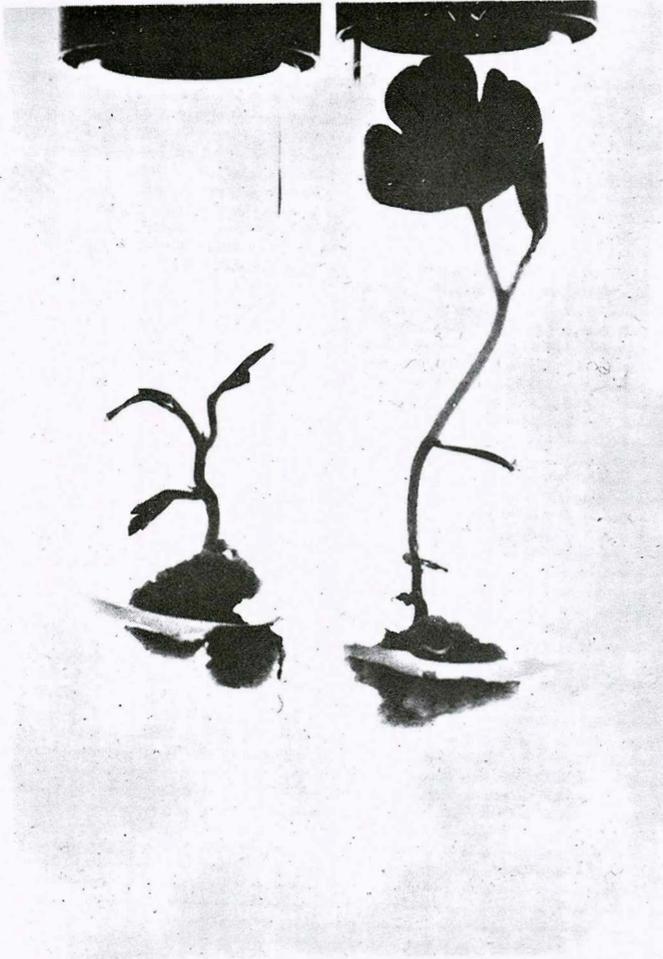


Photo 1. Amas cellulaires formés à la base des explantats, chez *P. mollissima*, en présence de 2 mg/l de 2,4-D.



Photo 2. Amas cellulaires entourant le bourgeon, chez *P. mollissima*, en présence de 2 mg/l de 2,4-D.

des deux espèces. Selon EEUWENS (1976), le milieu de HELLER limite aussi le développement de cals chez *Cocos nucifera*, suite à sa déficience en éléments minéraux. Selon NITSCH (1970) la présence de l'ion NH_4^+ est nécessaire pour amorcer le développement de tissus, à partir de fruits de pommier et du poirier. Pour la culture de méristèmes de *Pisum sativum*, KARTHA (1975) trouve qu'un milieu minéral moins riche que celui de MURASHIGE et SKOOG donne de meilleurs résultats. GAMBORG (1975) pense qu'un défaut du milieu de MURASHIGE et SKOOG est son contenu élevé en ions nitrate, potassium et ammonium, situation qui est préférée pour certaines espèces. La figure 1 représente les pourcentages de bourgeons en croissance et d'explantats enracinés sur chaque milieu et la teneur totale en équivalents milligrammes, les rapports K/Ca et $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$ pour les quatre milieux. Les milieux qui ont donné les réponses extrêmes pour la croissance des bourgeons (NITSCH et HELLER) présentent à peu près la même teneur totale (24,770 et 22,945) en équivalents milligrammes. Il nous semble que les différences sont plutôt dues à la qualité des éléments et à leur rapport (K/Ca et $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$).

Quant à la différenciation des racines, le milieu de MURASHIGE et SKOOG a un rapport $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$ similaire et un rapport K/Ca intermédiaire par comparaison aux milieux de BLAYDES et de NITSCH qui ont donné les meilleurs pourcentages d'enracinement chez *P. mollissima* et *P. edulis* var. *flavicarpa* respectivement. Nous pensons que cette réponse est un caractère spécifique, vu que le milieu de BLAYDES donne un grand écart dans sa réponse avec les deux espèces.

L'absence de substances de croissance n'a pas arrêté le développement des bourgeons jusqu'au stade de plantule, pour les deux espèces. La cinétine agit sur les deux espèces en augmentant le nombre de bourgeons en croissance ; son action favorable au développement des bourgeons a été signalée par plusieurs auteurs : pour des entrenoeuds de *P. caerulea* (NAKAYAMA, 1966), pour des entrenoeuds et noeuds de *Citrus aurantium* (BOUZID, 1975), pour des cals de tabac (OGURA, 1975), pour la moelle de tabac (BROSARD, 1976). L'action des auxines, AIA et 2,4-D, comme inhibiteurs du développement des bourgeons (NAKAYAMA, 1966 ; HUNAULT, 1973) et stimulants de la formation des racines (KARTHA, 1976 ; GEIER, 1977) s'est manifestée pour *Passiflora edulis* var. *flavicarpa* ; cependant, un effet contraire s'est manifesté chez *P. mollissima*, où ces

auxines ont stimulé le développement des bourgeons et diminué le pourcentage d'explantats différenciant des raci-

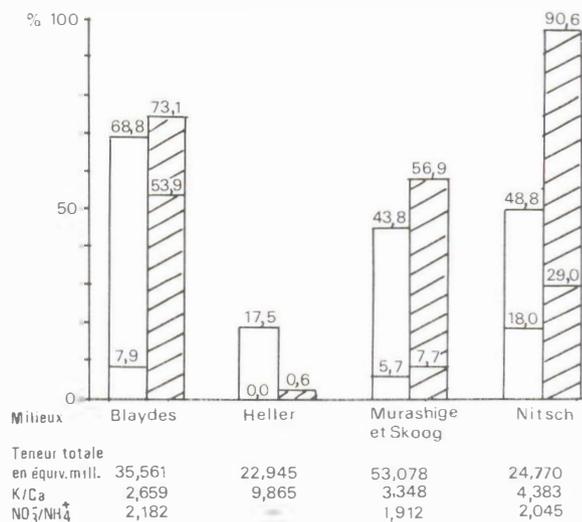


FIG. 1 • POURCENTAGES DE BOURGEONS EN CROISSANCE ET D'EXPLANTATS ENRACINÉS APRES VINGT ET QUARANTE JOURS DE CULTURE, CHEZ *PASSIFLORA EDULIS* VAR. *FLAVICARPA* (□) ET *PASSIFLORA MOLLISSIMA* (▨).

nes. On peut supposer que le rapport auxine/cytokmine dans les explantats était suffisant pour le bourgeonnement et la rhizogénèse, et que l'addition des auxines a troublé ce bilan : cet effet serait accru, d'après les résultats, par l'action synergique des deux auxines. En présence du 2,4-D les cals formés à la base des bourgeons n'ont différencié aucun organe. Ceci pourrait s'expliquer par le blocage exercé par cette auxine sur certaines espèces (HUNAULT, 1973).

CONCLUSIONS

La multiplication végétative *in vitro* des bourgeons axillaires de *P. edulis* var. *flavicarpa* et *P. mollissima* est réalisable sur les milieux de NITSCH, de BLAYDES et de MURASHIGE et SKOOG. Deux phases de culture sont nécessaires. Pour la première des espèces, les meilleurs résultats sont obtenus pour une culture en présence de cinétine suivie d'un passage sur milieu avec AIA. Pour *P. mollissima*, la présence de la cinétine pendant les deux phases est suffisante. La présence du 2,4-D n'est pas souhaitable pour la multiplication des deux espèces.

REMERCIEMENTS

Nous remercions M. le Professeur J. BOUHARMONT qui a bien voulu se charger de la lecture de notre manuscrit.

BIBLIOGRAPHIE

- ALLARD (R.), 1964.
Principles of plant breeding.
John Wiley, New York, 485 p.
- AUBERT (B.), 1975.
Précocité de la production de la grenadille violette *Passiflora edulis* SIMS à la Réunion. Perspectives de production.
Fruits, 30, 535-540.
- BLAYDES (D.), 1966.
Interaction of Kinetin and various inhibitors in the growth of Soybean tissue.
Physiol. Plant., 19, 748-753.
- BOUZID (S.), 1975.
Quelques traits du comportement de boutures de Citrus en culture *in vitro*.
C.R. Acad. Sc. Paris, 280, 1689-1692, Série D.
- BROSSARD (D.), 1976.
Influence de la concentration en Kinétine sur l'obtention et le degré de ploïdie des bourgeons néoformés à partir de la moelle du tabac cultivé *in vitro*.
Zeitschrift für Pflanzenphysiol., 78, 323-333.
- CALZADA (J.), BAUTISTA (V.), BERMÚDEZ (J.) et MORÁN (M.), 1971.
El Maracuyá. Frutal promisor para el Perú.
Boletín Técnico n° 1. Dirección de Promoción Social de la Universidad Nacional Agraria. La Molina, Lima-Perú, 46 p.
- EEUWENS (C.), 1976.
Mineral Requirements for growth and callus initiation of tissue explants excised from mature coconut palms (*Cocos nucifera*) and cultured *in vitro*.
Physiol. Plant., 36, 23-28.
- FOUQUE (A.), 1977.
Espèces fruitières d'Amérique tropicale.
Institut français de Recherches fruitières Outre-Mer (IFAC). Publication SETCO. Paris.
- GAUTHERET (R.), 1959.
La culture de tissus végétaux. Techniques et réalisations.
Masson, Paris, 863 p.
- GEIER (T.), 1977.
Morphogenesis and plant regeneration from cultured organ fragments of *Cyclamen persicum*.
Acta Horticulturae, 78, 167-174.
- HUNAUULT (G.), 1973.
Étude de l'histogénèse au cours de la formation du cal sur des fragments de tiges d'asperge (*Asparagus officinalis* L.) cultivés *in vitro*.
Rev. Cytol. et Biol. Vég., 36, 335-356.
- JARAMILLO (A.), 1958.
El cultivo de la Curuba.
Agricultura tropical, XIV, 712-717.
- KARTHA (K.), GAMBORG (O.), SHYLUK (J.) et CONSTABEL (F.), 1976.
Morphogenetic investigations on *in vitro* leaf culture of tomato (*Lycopersicon esculentum* MILL. cv. Starfire) and high frequency plant regeneration.
Zeitschrift für Pflanzenphysiol., 77, 292-301.
- LEON (J.), 1968.
Fundamentos Botánicos de los cultivos tropicales.
Instituto Interamericano de Ciencias agrícolas de la OEA, San José, Costa Rica, 487 p.
- MARTIN (F.) et NAKASONE (H.), 1970.
The edible species of *Passiflora*.
Economic Botany, 24, 333-340.
- MURASHIGE (T.), 1977.
Plant cell and organ cultures as horticultural practices.
Acta Horticulturae, 78, 17-30.
- MURASHIGE (T.) et SKOOG (F.), 1962.
A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures.
Physiol. Plant., 15, 473-497.
- NAKAYAMA (F.), 1966.
Cultivo «*in vitro*» de tejidos de *Passiflora caerulea*.
Rev. Fac. Ag. Nac. La Plata, 42, 63-74.
- NITSCH (J.), ASAHIRA (T.), ROSSINI (L.) et NITSCH (C.), 1970.
Bases physiologiques de la production de chair de pomme et de poire *in vitro*.
Bull. Soc. Bot. Fr., 117, 479-492.
- NITSCH (J.), NITSCH (C.) et HAMON (S.), 1968.
Réalisation expérimentale de l'androgénèse chez divers *Nicotiana*.
C.R. Soc. Biol. (Paris), 162, 369-372.
- OGURA (H.), 1975.
Morphactin-Kinetin interaction on growth and shoot formation in tobacco callus cultures.
Plant and Cell Physiol., 16, 563-569.
- TEULON (J.), 1971.
Propagation of Passion fruit (*Passiflora edulis*) on a *Fusarium* resistant rootstock.
The Plant Propagator, 17, 4-5.
- WESSELS (D.), GROENEWALD (E.) et KOELEMAN (A.), 1976.
Callus formation and subsequent shoot and root development from leaf tissue of *Haworthia planifolia* var. cf. var. *setulifera* v. Poelln.
Zeitschrift für Pflanzenphysiol., 78, 141-145.

