

Multiplication *in vitro* par néoformation chez l'*Actinidia deliciosa*, cultivar Hayward.

Frédérique SAMMARCELLI et J.-M. LEGAVE*

IN VITRO MULTIPLICATION BY NEO-FORMATION IN *ACTINIDIA DELICIOSA*, CV. «HAYWARD».

Frédérique SAMMARCELLI and J.-M. LEGAVE.

Fruits, Jul.-Aug. 1990, vol. 45, n° 4, p. 393-401.

ABSTRACT - *In vitro* multiplication by neo-formation of cv. 'Hayward' can be carried out for almost a year using ligneous or herbaceous internodes and for a shorter period of time using petioles. The nature of the explant does not seem to affect the neo-formation rate but it does affect the speed of organogenesis. The use of longitudinally sectioned explants distinctly decreases the time required for the neo-formation process. However, a callogenesis phase preceded organogenesis in every case. High neo-formation rates were only obtained on Murashige et Skoog medium containing a mg l^{-1} of zeatin. High rooting rates were only obtained from shoots which had undergone an elongation phases followed by very short root induction on IBA (20 mg l^{-1}) followed by a root elongation phase. The final acclimatisation phase seems delicate although satisfactory rates of success were obtained with fogging and in miniature greenhouses with an aerated substrate: It can be hoped to obtain 3 to 4 acclimatised plants in less than four months by combining all these techniques.

MULTIPLICATION *IN VITRO* PAR NEOFORMATION CHEZ L'*ACTINIDIA DELICIOSA*, CULTIVAR HAYWARD.

Frédérique SAMMARCELLI et J.-M. LEGAVE.

Fruits, Jul.-Aug. 1990, vol. 45, n° 4, p. 393-401.

RESUME - Une multiplication par néoformation *in vitro* du cultivar Hayward peut être obtenue pratiquement tout au cours d'une année à partir d'entre-noeuds ligneux ou herbacés et sur une période plus restreinte à partir de pétioles. La nature de l'explant ne semble pas influencer le taux de néoformation mais elle a par contre une influence sur la rapidité de l'organogenèse. Ainsi l'utilisation d'explants sectionnés longitudinalement diminue sensiblement le temps nécessaire au processus de néoformation. Toutefois dans tous les cas une phase de callogenèse précède la phase d'organogenèse.

Des taux élevés de néoformation n'ont été obtenus que sur un milieu de culture contenant les minéraux de Murashige et Skoog associés à de la zéatine à 1 mg l^{-1} .

Des taux élevés d'enracinement n'ont été également obtenus qu'à partir de pousses ayant subi une phase d'allongement puis une très courte induction racinaire à l'AIB (20 mg l^{-1}) suivie d'une phase d'allongement racinaire.

La phase ultime d'acclimatation apparaît délicate, bien que des taux de réussite très satisfaisants aient été obtenus sous brumisation ou en minisérres en utilisant un substrat aéré.

En associant l'ensemble de ces techniques on peut espérer obtenir 3 à 4 plants acclimatés par explant mis en culture en moins de quatre mois.

INTRODUCTION

La culture du kiwi s'est développée de façon importante depuis quelques années en France et plus particulièrement en Corse, essentiellement à partir du cultivar Hayward. La création d'une gamme variétale d'intérêt agronomique apparaît donc indispensable pour mieux assurer l'avenir de cette culture. Une des voies possible est la création de mutants du cultivar Hayward. Par rapport à l'amélioration par voie sexuée, la mutagenèse induite présente l'avantage d'une part, d'éviter le passage par une phase juvénile relativement longue et d'autre part, de conserver en général les qualités du cultivar initial tout en l'améliorant (GOTTSCHALK

et WOLFF, 1983). Cette méthode présente en revanche l'inconvénient majeur de conduire très fréquemment à l'obtention de chimères, ce qui ne favorise pas l'expression et la stabilité des mutations induites. Pour limiter, voire contourner cette difficulté il faut rechercher des techniques permettant une multiplication à partir d'un massif cellulaire réduit, voire d'une seule cellule (BROERTJES et VAN HARTEN, 1978). Divers travaux ont montré qu'une multiplication par néoformation après traitement mutagène en limite l'importance (DURON et DECOURTYE, 1986). Par ailleurs une multiplication par néoformation après mutagenèse ne devrait pas conduire systématiquement à l'expression de mutations défavorables accompagnant les mutations recherchées, contrairement à une multiplication à partir d'une seule cellule qui conduit théoriquement à des isomutants et donc à une expression systématique des mutations dominantes défavorables.

* - SAMMARCELLI - Ingénieur détachée à l'INRA par le GIE AGRUMPLANT.

- LEGAVE - Station INRA De San Giuliano - 20230 SAN NICOLAO Haute Corse.

Dans le cas de l'*Actinidia deliciosa* une multiplication par néoformation semble assez aisée en utilisant la culture *in vitro*. Ainsi elle peut être obtenue à partir d'explants très variés : fragments d'entre-noeuds ou d'écorce (HARADA, 1975 ; HIRSCH et BLIGNY-FORTUNE, 1979 ; GUI, 1979 ; GUI et XU, 1982 ; BARBIERI et MORINI, 1987 et 1988), de pétioles (PAIS *et al.*, 1987), de racines (HARADA, 1975), de racines issues de filets staminateux (TRIPATHI et SAUSSAY, 1980), d'albumen (GUI *et al.*, 1982 de feuilles obtenues *in vitro* (PREDIERI *et al.*, 1988).

Diverses cytokinines et l'influence de leurs concentrations ont été testées ; la zéatine à la concentration de 1 mg l⁻¹ apparaissant tout particulièrement efficace aussi bien pour la prolifération de cal que pour l'organogenèse de pousses (HARADA, 1975 ; GUI, 1979 ; MANNINI et RYUGO, 1983 ; WESSELS *et al.*, 1984 ; LEVA, 1986 ; PAIS *et al.*, 1987 ; GONZALEZ *et al.*, 1987).

Dans certains travaux les pousses sont allongées avant la rhizogenèse. L'utilisation de la BAP à 2 mg l⁻¹ semble favoriser cet allongement (WESSELS *et al.*, 1984).

Pratiquement dans tous les cas l'enracinement est réalisé par induction puis allongement racinaire, l'hormone la plus utilisée pour la phase d'induction étant l'AIB (HARADA, 1975 ; GUI, 1979 ; STANDARDI, 1981 ; WESSELS *et al.*, 1984 ; MONETTE, 1986 ; PAIS *et al.*, 1987). L'utilisation de charbon actif dans le milieu d'allongement racinaire est préconisée à une concentration d'environ 5 g l⁻¹ par HARADA (1975) et GUI (1979). A une concentration très nettement supérieure de 100 g l⁻¹ VELAYANDOM *et al.* (1985) ne notent aucun effet bénéfique du charbon actif. D'une façon générale l'enracinement ne semble pas poser de grandes difficultés ; en revanche la phase suivante d'acclimatation, quand elle est décrite, paraît être assez délicate à maîtriser. Les résultats à ce stade diffèrent en effet sensiblement d'un auteur à l'autre. Ainsi des taux faibles d'acclimatation (11 à 30 p. 100) ont été obtenus par STANDARDI (1981), WESSELS *et al.* (1984) et PREDIERI *et al.* (1988) alors que des taux de réussite assez élevés (90 à 95 p. 100) sont présentés par STANDARDI (1983) et MONETTE (1986).

A partir de l'ensemble des données bibliographiques, nous avons cherché à préciser et maîtriser les différentes étapes d'une méthode de multiplication par néoformation permettant d'obtenir un maximum de plantes acclimatées dans un minimum de temps pour un nombre initial d'explants donné. Un programme de mutagenèse doit en effet porter sur un effectif de plantes relativement élevé et la croissance des pousses doit être la plus rapide possible pour favoriser au mieux l'extension des colonies cellulaires mutées.

MATERIELS ET METHODES

Trois types d'explants ont été retenus : fragments d'entre-noeuds herbacés ou ligneux et pétioles entiers. Ce choix a été guidé par une relative facilité à disposer de ces explants. Tous les prélèvements ont été effectués sur deux lianes adultes du cultivar Hayward.

Désinfection.

- badigeonnage au mercryl laurylé,
- trempage dans l'alcool à 70° pendant 5 minutes,
- immersion dans du benlate à 10 g l⁻¹ additionné de tween 20 pendant 60 minutes,
- immersion dans une solution d'hypochlorite de sodium à 48° chloré pendant 30 minutes pour les entre-noeuds ligneux et 5 minutes pour les entre-noeuds herbacés et les pétioles,
- cinq rinçages à l'eau stérile.

Mise en culture.

Après désinfection les entre-noeuds sont pelés et débités en tronçons d'environ 2 cm de long ; les pétioles ne sont que légèrement pelés et également tronçonnés. Dans tous les cas les différents fragments sont ensuite placés horizontalement sur le milieu de culture, soit entiers, soit sectionnés longitudinalement. Dans ce dernier cas, la face externe de l'explant est placée en contact avec le milieu.

Milieux de culture.

Pour tous les milieux le pH est ajusté à 5,7 avant l'addition de la gélose et la stérilisation à l'autoclave est réalisée à 120° pendant 20 minutes.

Le choix des différents milieux testés a été déterminé à partir des meilleurs résultats mentionnés dans la bibliographie en cherchant toutefois à préciser l'influence de quelques facteurs susceptibles d'améliorer la méthode.

Milieux de callogenèse et de néoformation.

Le milieu de base comprend les macro et microéléments de MURASHIGE et SKOOG (1962), 2 p. 100 de glucose et 0,7 p. 100 de gélose. Ce milieu sera noté MB dans tout le texte suivant. Différentes cytokinines ont été ajoutées à ce milieu de base : la BAP, la kinétine et l'IPA aux concentrations de 1, 5 et 10 mg l⁻¹ ainsi que la zéatine aux concentrations de 0,5, 1, 1,5 et 2 mg l⁻¹.

Quel que soit le milieu testé, deux repiquages successifs ont systématiquement été pratiqués respectivement à 30 et 60 jours après la mise en culture. Seuls les cals ont été repiqués et ont progressivement donné naissance à de jeunes pousses prélevées tous les 5 jours dès l'apparition de la première afin de favoriser la néoformation et la croissance d'autres pousses.

Milieu d'allongement.

Les pousses prélevées, longues d'environ 1 cm, sont allongées sur le milieu MB additionné de BAP à 2 mg l⁻¹.

Milieux d'induction et d'allongement racinaire.

Plusieurs techniques ont été testées :

- celle décrite par VELAYANDOM *et al.* (1985) qui pratiquent une induction de 48 h en milieu liquide (solution de

KNOP diluée de moitié et additionnée d'AIB à 1 mg l^{-1} . L'allongement est effectué sur un deuxième milieu liquide (KNOP dilué de moitié, microéléments de HELLER et 2 p. 100 de glucose).

- une induction pendant environ trente secondes dans une solution d'AIB à 20 mg l^{-1} (STANDARDI, 1983) et un allongement sur le milieu de MURASHIGE et SKOOG dilué de moitié, additionné de 1 p. 100 de glucose et 0,5 p. 100 de charbon actif (GUI, 1979).

- une induction identique à celle de la deuxième technique testée, suivie d'un allongement *in vivo* dans un mélange de tourbe, terreau et perlite ;

- un enracinement direct *in vivo* dans le même mélange horticole.

Conditions de culture.

Toutes les cultures sont réalisées dans les mêmes conditions de température ($25^\circ \pm 2$), d'hygrométrie (70 p. 100) et de photopériode (16 heures de jour).

Acclimatation.

Elle est réalisée suivant l'époque sous brumisation ou en miniserres dans un mélange de tourbe, terreau et perlite soit pour de jeunes plantes bien racinées soit directement à partir de pousses, suivant la technique d'enracinement utilisée.

RESULTATS

Importance des néoformations.

Elle est estimée par le pourcentage d'explants organogènes et par le nombre moyen de pousses par explant organogène comptabilisé tous les 5 jours.

- Influence de la nature de l'explant et de son époque de prélèvement.

Les potentialités de néoformation des trois types d'explants ont été comparées sur le milieu MB additionné de zéatine à 1 mg l^{-1} à trois périodes différentes (mai, juin et août). Dans le cas d'explants non sectionnés longitudinalement, les premières néoformations n'ont toujours été observées qu'après le premier repiquage à la suite d'une phase de callogenèse (figure 1). L'évolution du pourcentage d'explants organogènes et celle du nombre moyen de pousses par explant sont apparues assez similaires suivant le type d'explant ou l'époque de prélèvement. Toutefois on peut noter sur la figure 1 que les pétioles et les entre-noeuds herbacés ont présenté une organogenèse sensiblement plus précoce d'environ cinq jours que celle des entre-noeuds ligneux.

Par ailleurs les potentialités des entre-noeuds et de pétioles non sectionnés et prélevés en septembre ont été

comparées à celles de mêmes explants sectionnés longitudinalement (figure 2). On peut noter tout d'abord qu'un prélèvement en septembre conduit à des résultats similaires à ceux obtenus pour des prélèvements plus précoces. Par contre les explants sectionnés ont présenté une organogenèse nettement plus rapide que celle des explants non sectionnés. Un décalage d'environ 15 à 20 jours suivant l'explant utilisé a en effet été observé dans l'évolution tant du pourcentage d'explants organogènes que du nombre de pousses par explant (figure 2). Ainsi les premières pousses sont apparues sur le milieu initial de culture dans le cas des explants sectionnés, ce qui n'a jamais été observé pour des explants entiers.

Enfin notons que l'organogenèse sur les pétioles entiers a présenté une nette polarité. En revanche cette polarité n'a jamais été observée dans le cas des pétioles sectionnés.

- Influence de la concentration et de la nature des cytokinines.

Le milieu MB additionné de zéatine à 1 mg l^{-1} a été considéré comme le meilleur milieu d'organogenèse d'après les résultats bibliographiques. La zéatine apparaissant particulièrement efficace mais en revanche relativement coûteuse, l'influence de sa concentration a tout d'abord été testée. Une concentration de $0,5 \text{ mg l}^{-1}$ a donné des résultats moins intéressants que ceux obtenus avec une concentration de 1 mg l^{-1} , qui conduit à un taux de néoformation sensiblement supérieur comme le montrent des résultats obtenus pour une mise en culture réalisée en novembre (figure 3). Différents essais à des concentrations de 1,5 et 2 mg l^{-1} n'ont jamais conduit à une organogenèse, la phase préalable de callogenèse étant même inexistante à 2 mg et réduite à $1,5 \text{ mg}$.

La kinétine et la BAP aux concentrations étudiées n'ont donné aucun résultat dans des essais réalisés sur entre-noeuds ligneux ; seule l'IPA à la concentration de 10 mg l^{-1} a conduit à une organogenèse mais à un taux très inférieur à celui obtenu avec la zéatine à 1 mg l^{-1} .

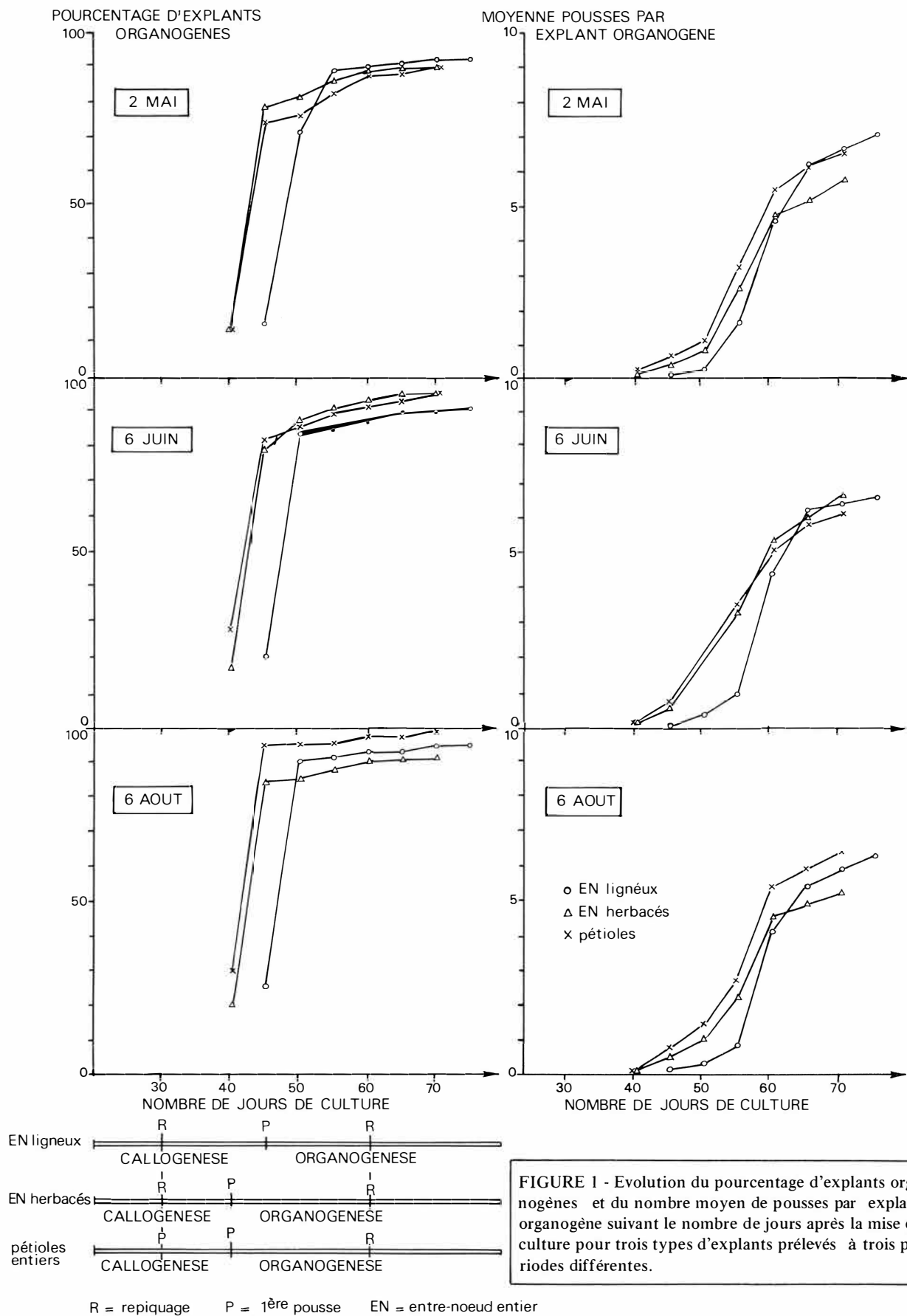
Allongement des pousses et rhizogenèse.

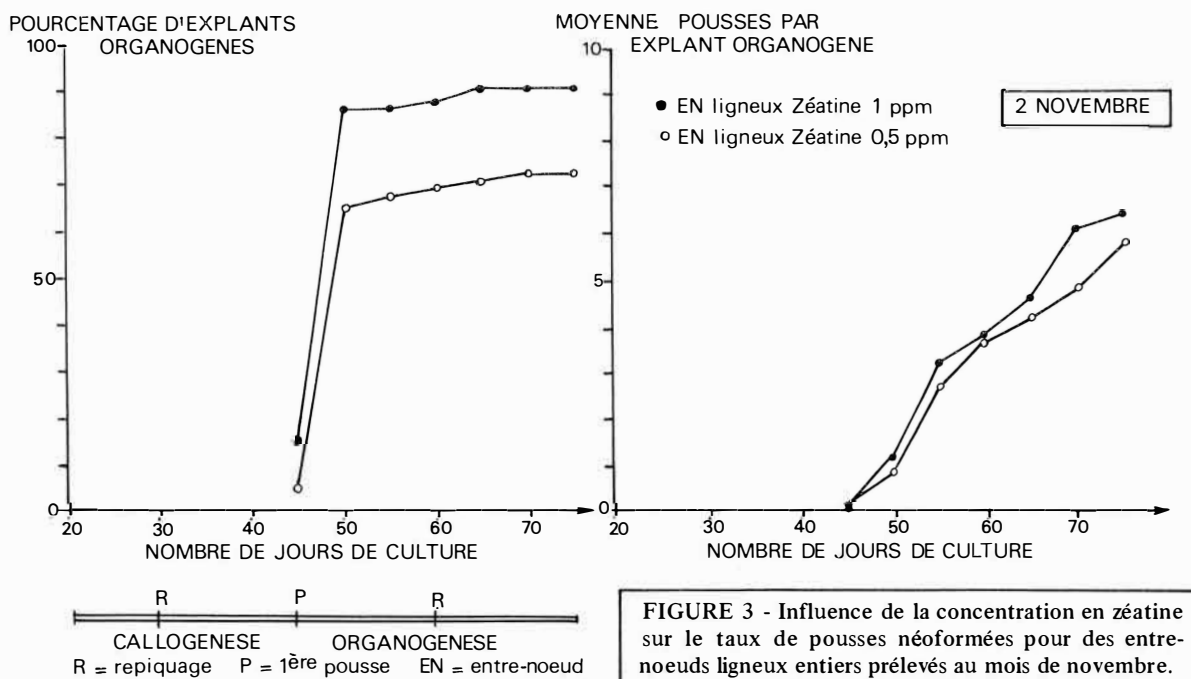
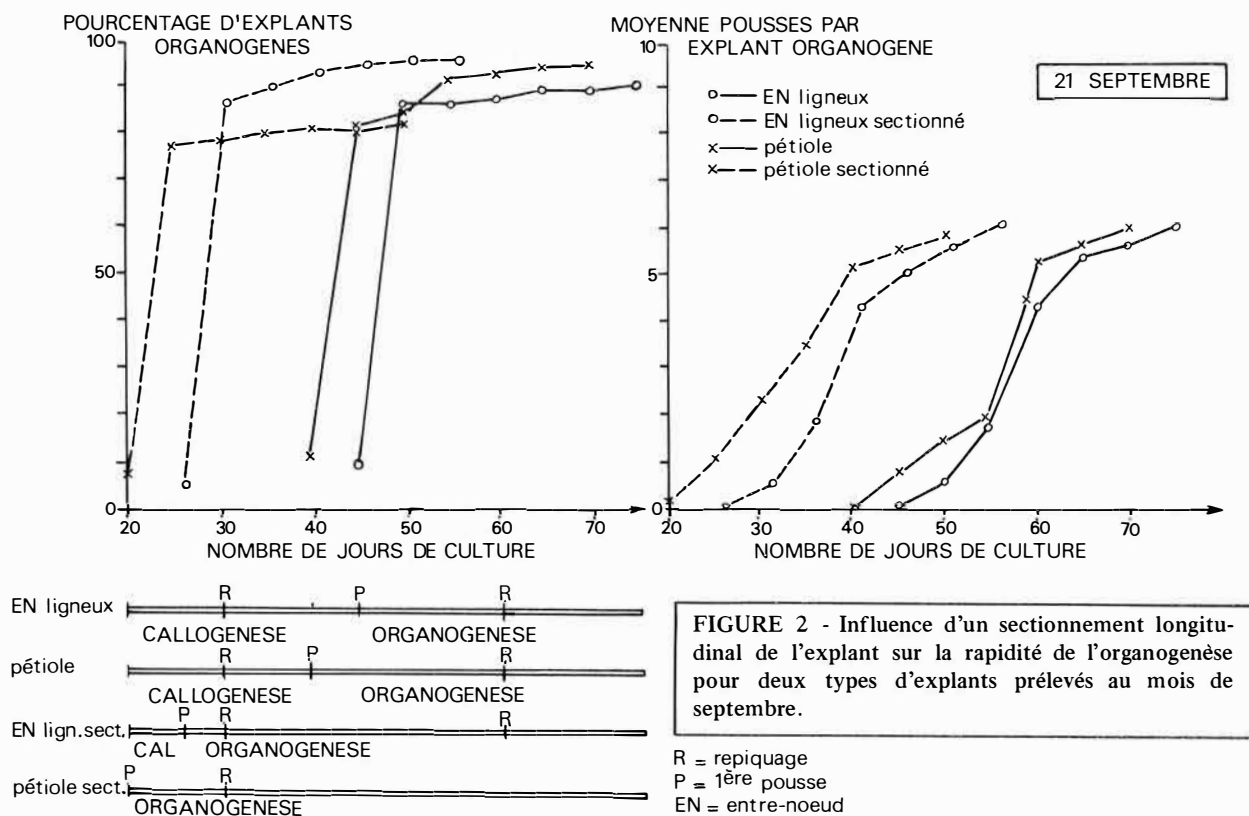
L'intérêt de l'allongement des pousses avant la phase de rhizogenèse a été testé pour une induction racinaire réalisée selon la technique de STANDARDI (1983) et un allongement racinaire selon la technique de GUI (1979).

Les résultats d'un essai présentés à titre d'exemple dans le tableau 1 font nettement apparaître la nécessité d'un allongement des pousses pour obtenir un taux élevé d'enracinement.

Pour le milieu d'allongement testé, des pousses longues d'environ 5 cm ont été obtenues après une quinzaine de jours de culture.

Le tableau 2 présente à titre d'exemple un essai de comparaison des quatre techniques d'enracinement expérimentées, pour des pousses ayant subi une phase d'allongement. On peut noter de très grandes différences de taux d'enracinement :





- la technique de VELAYANDOM *et al.* (1985) n'a donné aucun résultat ;

- un enracinement *in vivo* soit directement soit après induction racinaire selon la technique de STANDARDI (1983) n'a permis d'obtenir que des taux d'enracinement assez faibles ;

- en revanche, l'association de la technique d'induction de STANDARDI (1983) à la technique d'allongement de GUI (1979) a conduit à des taux d'enracinement tout à fait satisfaisants dépassant 80 p. 100.

Il faut cependant noter qu'un cal volumineux se forme parfois à la base de la pousse mais ne semble pas pour autant gêner la néoformation racinaire.

TABLEAU 1 - Influence de l'allongement des pousses sur l'aptitude à l'enracinement testée par induction et allongement racinaires respectivement selon les techniques de STANDARDI (1983) et de GUI (1979).

Type de pousses	nombre de pousses	p. 100 d'enracinement
non allongées	32	6,3
allongées	68	91,2

TABLEAU 2 - Comparaison de l'efficacité de quatre techniques d'enracinement pour des pousses préalablement allongées.

Technique d'enracinement	nombre de pousses	p. 100 d'enracinement
VELAYANDOM <i>et al.</i> (1985)	23	0
Directement <i>in vivo</i>	34	17,6
Induction de STANDARDI (1983) et allongement <i>in vivo</i>	33	24,2
Induction de STANDARDI (1983) et allongement de GUI (1979)	33	84,6

FIGURE 4 - Schéma retenu d'obtention de plants acclimatés.

Etape et durée	Milieu	Explant	Réaction	Taux de réussite
Mise en culture 30 jours	minéraux de MS + zéatine 1 mg l ⁻¹	entre-noeuds ou pétioles sectionnés longitudinalement	callogenèse et premières néoformations à 20 jours	90 p. 100 d'explants organogènes
un seul repiquage 30 jours	''	cals	néoformation maximale	et 5 à 7 pousses/explant organogène
allongement des pousses 15 jours en moyenne	minéraux de MS + BAP 2 mg l ⁻¹	pousses d'environ 1 cm	allongement plus ou moins rapide	100 p. 100
induction racinaire 30 secondes	AIB 20 mg l ⁻¹	pousses d'environ 5 cm	plant raciné	80 à 90 p. 100
allongement racinaire 15 jours en moyenne	1/2 MS + charbon actif 0,5 p. 100			
Acclimatation sous brumisation ou en miniserres dans un mélange tourbe-terreau-perlite.				80 p. 100

Acclimatation des plants racinés.

C'est la phase la plus délicate à maîtriser. Un plant peu allongé est très difficile à acclimater même s'il est bien raciné. Pour être facilement acclimatés les plants doivent présenter à la fois un bon allongement de la pousse et un système racinaire relativement développé.

Le substrat utilisé doit être léger et poreux afin d'éviter tout excès d'humidité. Enfin les plants doivent recevoir régulièrement une solution nutritive et des traitements antifongiques.

Dans ces conditions des taux d'acclimatation de l'ordre de 80 p. 100 ont été obtenus.

DISCUSSION ET CONCLUSION

Cette étude permet de confirmer et préciser les possibilités et les conditions optimales d'obtention de plants issus de néoformation.

Des pousses néoformées ont été obtenues à des taux élevés et très comparables pour des mises en culture éche-

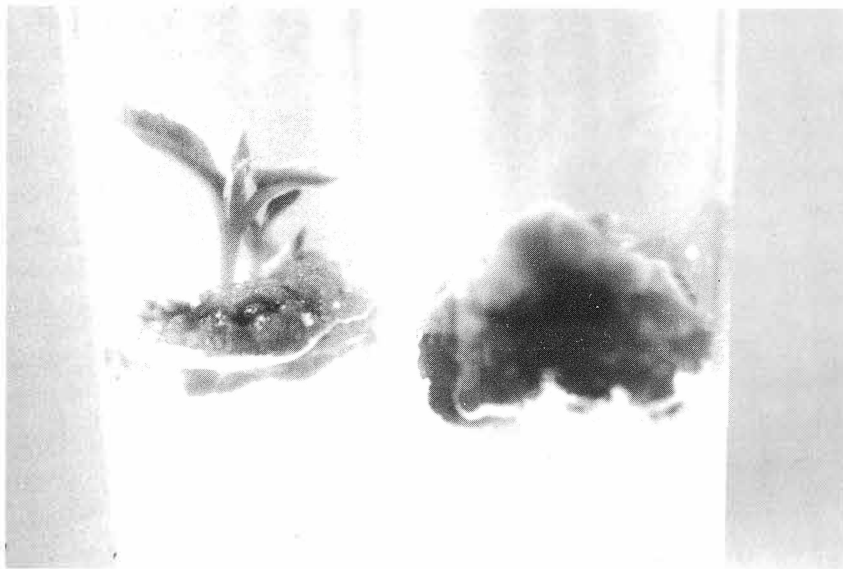


Photo 1 - Néoformations sur pétiole (à gauche) et callogenèse sur entre-noeud ligneux (à droite) à 45 jours de culture .

Photo 2 - A 25 jours de culture noter une très nette avance de la callogenèse et de l'organogénèse sur un entre-noeud ligneux sectionné (à gauche) par rapport à un entre-noeud entier (à droite).

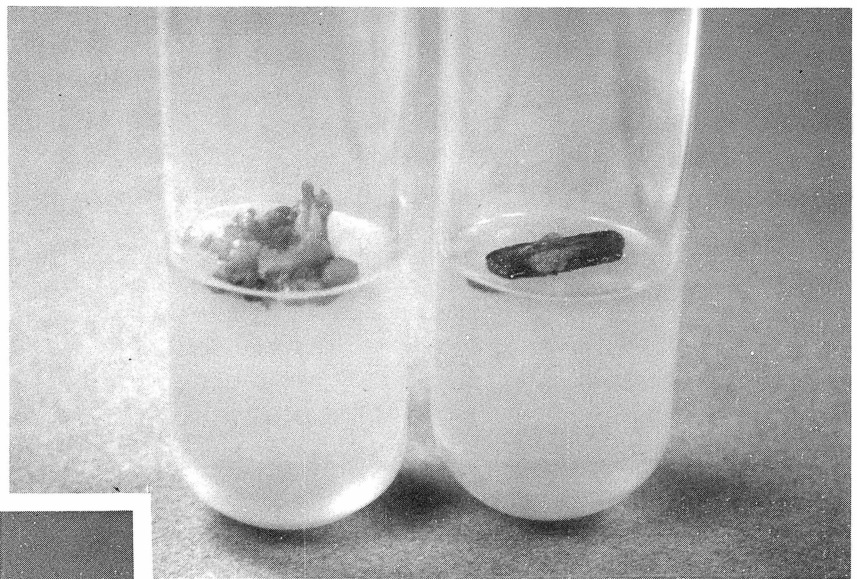
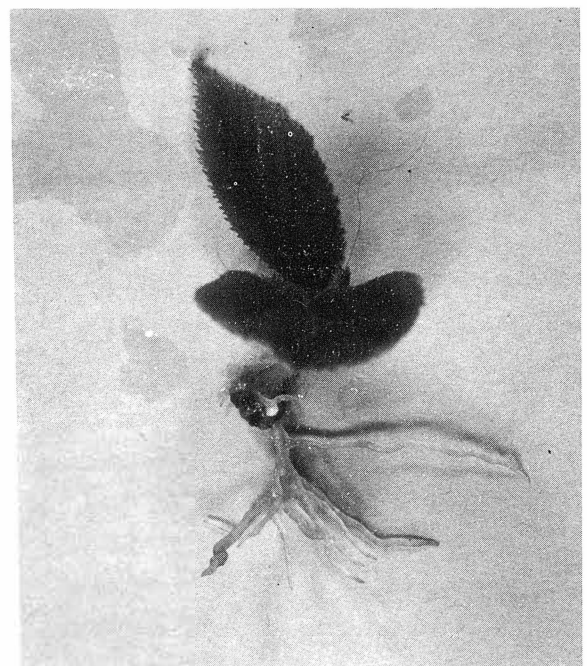
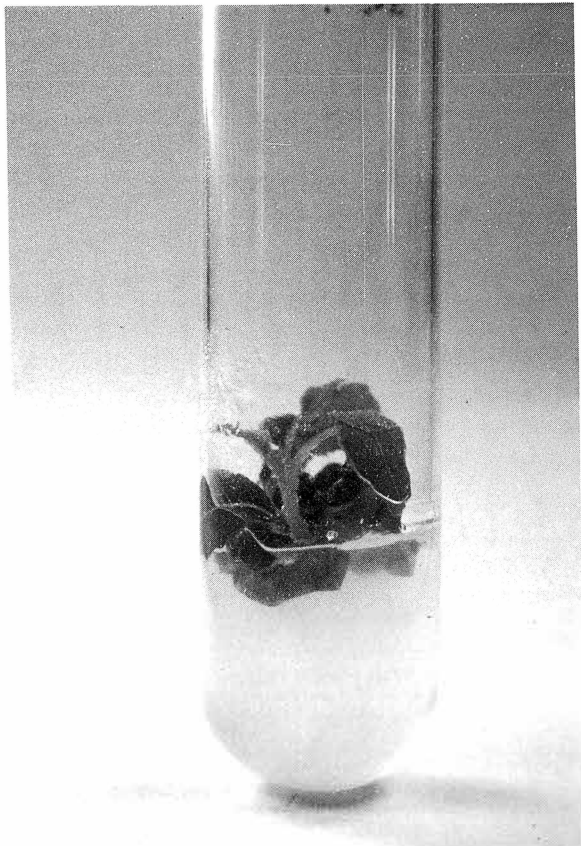


Photo 3 - Pousse néoformée en cours d'allongement.

Photo 4 - Jeune plant raciné avant acclimatation.



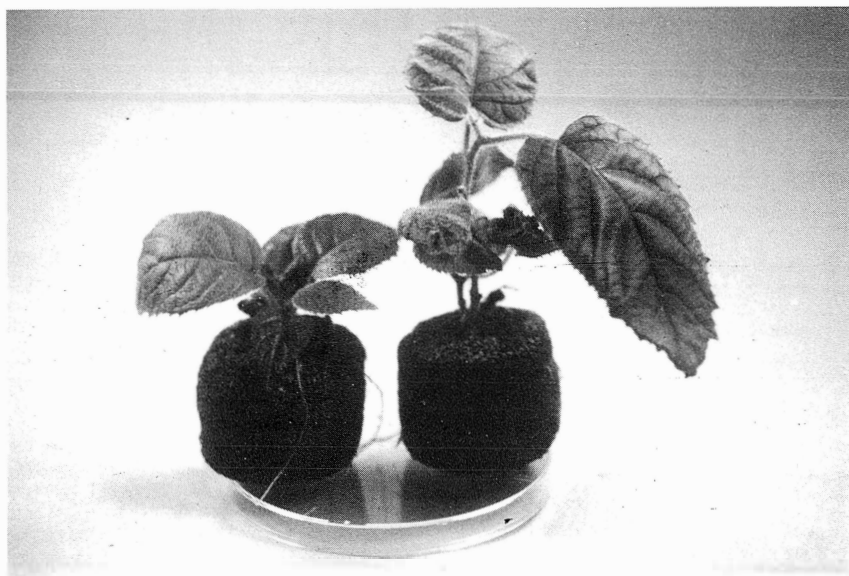


Photo 5 - Plants acclimatés moins de 4 mois après la mise en culture.

lonnées de mai à novembre tant à partir d'entre-noeuds que de pétioles. Des travaux antérieurs limités aux entre-noeuds ligneux ont montré que ces explants peuvent engendrer des pousses néoformées pour des mises en culture effectuées dès le mois de janvier (SAMMARCELLI, 1988). Les possibilités de néoformation *in vitro* apparaissent donc assez larges chez le cultivar Hayward quant à la nature et à l'époque de prélèvement de l'explant. Ces possibilités s'expriment plus ou moins rapidement suivant l'explant utilisé. Nous avons en particulier montré que des explants sectionnés longitudinalement réagissent nettement plus rapidement que des explants entiers.

En revanche l'induction de l'organogenèse semble assez exigeante quant au type et à la concentration de la cytokinine utilisée. Seule la zéatine a en effet permis d'obtenir des taux de néoformation satisfaisants, la concentration optimale étant de 1 mg l^{-1} .

En associant ces conditions optimales de milieu à la culture d'entre-noeuds ou de pétioles sectionnés longitudinalement on peut ainsi obtenir un taux d'explants organogènes de l'ordre de 90 p. 100 et un nombre moyen de 5 à

7 pousses par explant organogène environ 50 à 55 jours après la mise en culture (figure 4).

Ces pousses doivent ensuite subir une phase d'allongement d'environ 15 jours avant leur enracinement.

Dans ce cas des taux d'enracinement supérieurs à 80 p. 100 ont été obtenus par une très brève induction racinaire dans une solution d'AIB à 20 mg l^{-1} suivie d'une phase d'allongement racinaire *in vitro* d'environ 15 jours également (milieu de GUI, 1979).

En définitive en associant l'ensemble de ces techniques et en se basant sur un taux d'acclimation de l'ordre de 80 p. 100, on peut raisonnablement espérer obtenir 3 à 4 plants acclimatés par explant mis en culture en moins de quatre mois.

Des études histologiques et cytologiques complémentaires sont nécessaires pour expliquer les différences de rapidité dans la néoformation suivant l'explant utilisé et situer dans le temps les différentes étapes conduisant à la mise en place d'assises méristématiques au sein de l'explant.

BIBLIOGRAPHIE

- BARBIERI (C.) and MORINI (S.). 1987.
Plant regeneration from *Actinidia* callus cultures.
Jour. of Hort. Sci., 61 (1), 107-109.
- BARBIERI (C.) and MORINI (S.). 1988.
Shoot regeneration from callus cultures of *Actinidia chinensis* (cv. Hayward).
Acta Horticulturae, 227, 470-471.
- BROERTJES (C.) and VAN HARTEN (A.M.). 1978.
Application of mutation breeding methods in the improvement of vegetatively propagated crops : an interpretive literature review.
New York : Elsevier Sci. Publ., 316 p.
- DURON (M.) et DECOURTYE (L.). 1986.
Effets biologiques des rayons gamma appliqués à des plantes de Weigela cv. « Bristol ruby » cultivées *in vitro*.
103-111, in *Nuclear techniques and in vitro culture for plant improvement*, Vienna, IAEA.
- GONZALEZ (M.V.), REY (M.A.), REVILLA (M.A.) and RODRIGUEZ (R.). 1987.
Morphogenetic patterns in kiwi tissue culture and after agrobacterium co-culture.
International Symposium on Kiwi, Padova, 8 p.
- GOTTSCHALK (W.) and WOLFF (G.). 1983.
Induced mutations in plant breeding.
Springer Verlag Berlin, Heidelberg, New York, Tokyo, 238 p.
- GUI (Y.L.). 1979.
Induction of callus and regeneration of plantlet in stem segment culture of chinese gooseberry.
Acta Botanica Sinica, 21 (4), 339-344.
- GUI (Y.L.) and XU (T.Y.). 1982.
Studies on histology and histochemistry of the morphogenesis of stem segment in chinese gooseberry cultured *in vitro*.
Acta Botanica Sinica, 24 (4), 301-306.
- GUI (Y.L.), MU (X.J.) and XU (T.Y.). 1982.
Studies on morphological differentiation of endosperm plantlets of Chinese gooseberry *in vitro*.
Acta Botanica Sinica, 24, 216-221.

- HARADA (H.). 1975.**
In vitro organ culture of *Actinidia chinensis* Pl. as a technic for vegetative multiplication.
J. Hort. Sci., 50, 81-83.
- HIRSCH (A.M.) et BLIGNY-FORTUNE (D.). 1979.**
 Organogenèse dans les cultures de tissus de deux plantes appartenant au genre *Actinidia* (*Actinidia chinensis* et *Actinidia polygama*). Relations entre organogenèse et peroxydase.
C.R. Acad. Sc. Paris, T. 288, Série D, 1159-1162.
- LEVA (A.R.). 1986.**
 Tests on organogenesis from callus of *Actinidia chinensis*.
Acta Horticulturae, 179, 883-884.
- MANNINI (F.) e RYUGO (K.). 1983.**
 Relazioni tra il livello endogeno di gibberelline e di clorofilla ed organogenesi in calli di *Actinidia chinensis* su mezzo di coltura aggiunto di zeatina.
Incontro Frutticolo S.O.I., Udine, 567-578.
- MONETTE (P.L.). 1986.**
 Micropropagation of kiwifruit using non-axenic shoot tips.
Plant Cell Tissue Organ Culture, 6, 73-82.
- MURASHIGE (T.) and SKOOG (F.). 1962.**
 A revised medium for rapid growth and bio-assay with tobacco tissue cultures.
Physiol. Plant., 15, 473-497.
- PAIS (M.S.), OLIVEIRA (M.M.) and BARROSO (J.). 1987.**
 Use of petiole segments of *Actinidia chinensis* (kiwi) for plant differentiation and production of friable calli for protoplast isolation.
Acta Horticulturae, 212, 687-690.
- PREDIERI (S.), MEZZETTI (B.) e RANIERI (R.). 1988.**
 Rigenerazione *in vitro* da foglie di *Actinidia deliciosa* cv. Hayward.
Riv. di Frutticoltura, 1, 69-72.
- SAMMARCELLI (Frédérique). 1988.**
 Callogenèse et régénération par culture *in vitro* chez *Actinidia deliciosa* (cv «Hayward») en vue d'une amélioration variétale par mutagenèse induite.
DEA de l'Université des Sciences et Techniques du Languedoc, Académie de Montpellier, 34 p.
- STANDARDI (A.). 1981.**
 Micropropagazione dell'*Actinidia chinensis* Pl. mediante coltura *in vitro* di apici meristemati.
Frutticoltura, 43 (1), 23-27.
- STANDARDI (A.). 1983.**
 La micropropagazione y la multiplicazione dell'*Actinidia*.
Frutticoltura, 45 (2), 17-22.
- TRIPATHI (B.K.) et SAUSSAY (R.). 1980.**
 Sur la multiplication végétative de l'*Actinidia chinensis* PLANCHON «Chinese gooseberry» par culture de racines issues de filets staminateux.
C.R. Acad. Sc., Paris, T. 291, Série D, 1067-1069.
- VELAY ANDOM (L.), HIRSCH (A.M.) et FORTUNE (D.). 1985.**
 Propagation du kiwi *Actinidia chinensis* PLANCHON par microbouturage *in vitro* de noeuds.
C.R. Acad. Sc., Paris, T. 301, Série III, (12), 597-600.
- WESSELS (E.), NEL (D.D.) and VON STADEN (D.F.A.). 1984.**
In vitro propagation of *Actinidia chinensis* Pl. cultivar Hayward.
Deciduous Fruit Grower, (12), 34, 453-457.

MULTIPLICACION *IN VITRO* POR NEOFORMACION EN LA *ACTINIDIA DELICIOSA*, CULTIVAR HAYWARD.

Frédérique SAMMARCELLI y J.M. LEGAVE.

Fruits, Jul.-aug. 1990, vol. 45, n° 4, p. 393-401.

RESUMEN - Una multiplicación por neoformación *in vitro* del cultivar Hayward puede obtenerse prácticamente a lo largo de todo un año a partir de entrenudos leñosos o herbáceos y sobre un período más restringido a partir de petiolos. La naturaleza de la explanta no parece influenciar la tasa de neoformación pero, por el contrario, tiene una influencia sobre la rapidez de la organogénesis.

No se han obtenido tasas elevadas de neoformación más que sobre un medio de cultivo que contiene los minerales de Murashige y Skoog asociados a la zeatina a 1 mg l^{-1} .

Igualmente no se han obtenido tasas elevadas de enraizamiento más que a partir de brotes que han sufrido una fase de alargamiento y luego una muy corta inducción de la raíz con la AIB (20 mg l^{-1}) seguida de una fase de alargamiento de la raíz.

La fase última de aclimatación se revela delicada, aunque se hayan obtenido tasas de logro muy satisfactorias con brumización o en miniinvernaderos utilizando un sustrato aéreo.

Asociando el conjunto de estas técnicas puede esperarse obtener 3 a 4 plantas aclimatadas por explanta puesta en cultivo en menos de cuatro meses.

