



## Contribution à l'amélioration de la production *in vitro* de deux espèces d'*Ocimum* spp (*Lamiaceae*): *Ocimum basilicum* et *Ocimum gratissimum* cultivées au Bénin

R. DOSSOUKPEVI\*, C. AHANHANZO, H. ADOUKONOU-SAGBADJA, G. CACAÏ,  
H. NAÏTCHEDE et C. AGBANGLA

Laboratoire de Génétique et des Biotechnologies de la Faculté des Sciences et Techniques de l'Université  
d'Abomey-Calavi, Benin.

\*Auteur correspondant, E-mail: [dossoukpevi\\_rene@yahoo.fr](mailto:dossoukpevi_rene@yahoo.fr)

### RESUME

*Ocimum gratissimum* et *Ocimum basilicum* sont des plantes aromatiques et médicinales de la famille des Lamiacées dont les utilisations sont nombreuses dans la thérapie traditionnelle et dans l'alimentation. Ces deux espèces d'*Ocimum* font objet d'une utilisation intensive si bien qu'à certaines périodes de l'année elles ne sont plus disponibles. Il existe des contraintes multiples et variées qui entravent la bonne productivité de ces deux espèces d'*Ocimum* par les méthodes traditionnelles de production (semis par graines, multiplication végétative). Il est alors nécessaire de développer des stratégies de production à grande échelle et aussi de conservation de ces ressources phylogénétiques. C'est pourquoi la présente étude a pour objectif général d'améliorer l'organogenèse par la culture *in vitro* d'*Ocimum basilicum* et d'*Ocimum gratissimum* cultivées au Bénin. Des explants uninodaux des deux espèces sont ensemencés sur le milieu de culture contenant 1 mg/L de Benzyl Amino Purine (BAP) en combinaison avec 0,5 ; 1 et 2 mg/L d'Acide Naphtalène Acétique (ANA). Le nombre d'explants régénérés, le nombre de pousses, le nombre de nœuds et le nombre de feuilles formées sont déterminés après quatre semaines de culture. Les résultats indiquent qu'il y a un fort taux de régénérescence et un bon développement des organes aériens sur le milieu contenant 1 mg/L d'ANA pour les deux espèces étudiées. Les nombres moyens maximum de pousses (0,2 pour OB et 0,89 pour OG) sont observés sur le milieu MS avec 1 mg/L d'ANA et 1 mg/L de BAP. Cette étude révèle une bonne aptitude pour la régénération et le développement végétatif des deux espèces d'*Ocimum* étudiées en l'occurrence pour l'espèce *Ocimum gratissimum* et ouvre ainsi la voie pour la poursuite des travaux en culture *in vitro* de ces dernières.

© 2012 International Formulae Group. All rights reserved.

**Mots clés:** *Ocimum basilicum*; *Ocimum gratissimum*; ANA; BAP; Culture *in vitro*; organogenèse.

### INTRODUCTION

Le genre *Ocimum*, appartient à la famille des Lamiacées (Adjanohoun et al., 1989 ; Aidam, 2005) et fait partie du groupe des plantes aromatiques et médicinales (Franchome, 1990). Grâce à leurs huiles

essentielles, elles sont utilisées par les populations pour les soins primaires. Elles sont utilisées comme insecticide pour se protéger des piqûres de moustique d'une part, et d'autre part semblent efficaces à tous les stades de développement des ravageurs. Ces

© 2012 International Formulae Group. All rights reserved.

DOI : <http://dx.doi.org/10.4314/ijbcs.v6i6.15>

plantes regorgent donc une forte potentialité économique pour une nation lorsqu'elles sont valorisées.

De nos jours, il existe des contraintes multiples et variées, surtout les changements climatiques, qui entravent la bonne productivité de ces deux espèces d'*Ocimum* par les méthodes traditionnelles de production (semis par graines, multiplication végétative). L'accroissement démographique de la population mondiale entraîne un accroissement de la production des céréales de base et fait oublier les espèces de plantes qui ne sont pas régulièrement utilisées dans le quotidien de l'Homme (Pimentel, 2004). Parmi ces espèces négligées, il y a les espèces du genre *Ocimum* dont *Ocimum basilicum* et *Ocimum gratissimum* qui sont beaucoup utilisées dans la thérapie traditionnelle et dans l'alimentation au Bénin. L'utilisation intensive dont font objet ces deux espèces peut, entre autre, expliquer la forte pression anthropique exercée sur elles si bien qu'à certaines périodes de l'année, elles ne sont plus disponibles dans les différentes zones agro-écologiques de leurs cultures (Ahanhanzo et al., 2009). Cette forte pression anthropique constitue sans doute, une grave menace d'extinction des ressources génétiques de ces deux espèces. Il convient ainsi de développer des stratégies de production à grande échelle et aussi de conservation de ces ressources phytogénétiques.

Les techniques classiques de la multiplication végétative des individus les plus productifs, théoriquement susceptibles de donner un nombre illimité de pieds à partir d'une seule plante, n'existe pas de façon naturelle. Depuis quelques années, cette multiplication est obtenue à partir des techniques modernes de la biotechnologie végétale dont la culture *in vitro* (culture cellulaire des tissus végétaux). Ainsi, en un an à partir de cette culture *in vitro*, on peut obtenir des millions de jeunes plants issus de la même plante mère. La culture *in vitro* fait appel à l'utilisation des régulateurs de croissance encore appelés phytohormones ou hormones végétales. Les deux principales

phytohormones qui interviennent dans le développement de l'organogenèse des explants ensemencés sur milieu artificiel sont les auxines et les cytokinines.

Aïdam (2005) a révélé que la reprise des activités morphogénétiques ne dépend pas seulement des conditions trophiques mais également des balances hormonales. Par ailleurs, Roy et Sarkar (1991), Rout et al. (2000) et Velcheva et al. (2005) ont indiqué que la présence d'auxine et de cytokinine est nécessaire pour la prolifération des jeunes pousses ou plantules.

La présente étude a pour objectif d'améliorer, par l'utilisation combinée d'Acide Naphtalène Acétique (ANA) et de Benzyl Amino Purine (BAP), la régénérescence et le développement végétatif d'*Ocimum basilicum* et d'*Ocimum gratissimum* cultivées au Bénin.

## MATERIEL ET METHODES

### Matériel végétal

Le matériel végétal est constitué de deux espèces d'*Ocimum* à savoir : *Ocimum basilicum* et *Ocimum gratissimum*. L'authenticité botanique des échantillons étudiés a été effectuée à l'Herbier National du Bénin (HNB) et ont été identifiés sous les numéros AA6436/HNB pour *Ocimum basilicum* L. et AA6437/HNB pour *Ocimum gratissimum* L. de la famille des *Lamiaceae*. Les explants qui sont des segments uninodaux des tiges des deux espèces ont été prélevés dans la serre du Laboratoire de Génétique et des Biotechnologies de la Faculté des Sciences et Techniques (FAST) de l'Université d'Abomey-Calavi (UAC).

### Méthodes

#### Préparation du matériel végétal

Les plantes mères ont été obtenues à partir des graines ensemencées dans des pots en polyéthylène remplis de terreau et disposés dans la serre du Laboratoire de Génétique de la Faculté des Sciences et Techniques (FAST) à l'Université d'Abomey-Calavi (UAC). Les pots ont été traités avec du carbodan en granulés trois jours avant semis, et les

microorganismes du sol à la dose de 4 g par pot. Les plantules ont été traitées avec du PACHA combiné à un fongicide (Topsin-M) un mois au moins après semis, les insectes à la dose de 2 ml d'insecticide et 4 g de fongicide par litre d'eau. Le terreau a été arrosé de manière à maintenir une humidité suffisante pour la germination des graines. Les plantules issues de la germination ont été entretenues dans la serre jusqu'au prélèvement des explants (fragments de tiges). Les prélèvements des explants pour l'établissement des cultures *in vitro* ont été effectués 45 jours après semis pour *Ocimum basilicum* et *Ocimum gratissimum*. La méthode utilisée pour le prétraitement des explants est celle décrite par Malaurie et al. (1995), Doukouré (2000), Ahanhanzo et al. (2003) et Aidam (2005). Les fragments de tiges prélevés ont été débarrassés de leurs feuilles, rincés à l'eau distillée stérile puis immergés dans l'alcool éthylique à 70° pendant cinq minutes. Ensuite, ils ont été trempés dans des solutions d'hypochlorite de sodium (10%) contenant quelques gouttes de Tween 20 pendant quinze minutes. Ils ont ensuite été rincés trois fois à l'eau distillée stérile. Après l'élimination d'eau par dépôt des explants sur du papier buvard stérile, les explants, morcelés à nœud unique d'environ 1,5 cm de longueur, ont été aseptiquement déposés sur le milieu de base MS (solution minérale de Murashige et Skoog, 1962). Les tubes, contenant chacun un explant ont été fermés par un couvercle en plastique et scellés avec du film transparent. Toutes ces opérations se sont déroulées sous une hotte à flux laminaire horizontale de marque FASTER. Ces tubes ont été entreposés dans une salle de culture (vitrothèque) à une température moyenne 27 °C ±1 °C avec une intensité lumineuse de 6000 lux. L'humidité relative est de 80% et la photopériode est de 12 heures de lumière par jour.

#### **Milieux de culture in vitro**

Le milieu de base utilisé est celui de Murashige et Skoog (MS) (1962). Ce milieu MS s'est révélé être plus performant pour le déclenchement de l'organogenèse, en

particulier pour la néoformation des bourgeons. De plus, la morphogenèse est influencée, dès l'initiation d'une culture, par la composition et la concentration en sels minéraux du milieu de base. Il est généralement composé d'eau distillée stérile, de macro et de micro éléments (sels minéraux), de vitamines, de sucre et de l'agar.

Pour atteindre l'objectif du présent travail, il a été ajouté simultanément au milieu MS deux phytohormones (l'ANA et la BAP) à différentes concentrations suivant les combinaisons ci-après : ANA (0,5 mg/L) et BAP (1 mg/L) ; ANA (1 mg/L) et BAP (1 mg/L) ; ANA (2 mg/L) et BAP (1 mg/L). Ce choix a été motivé par les travaux antérieurs qui ont révélé qu'il existe une forte co-relation entre le rapport auxine/cytokinine dans les milieux et la formation des pousses. Il a été prouvé qu'en synergie avec les cytokinines, l'auxine participe à la néoformation des bourgeons. Des auteurs ont travaillé séparément sur ces deux espèces d'*Ocimum* en utilisant des combinaisons hormonales similaires mais pas à des concentrations identiques à celles proposées ici.

La conception expérimentale utilisée est aléatoire et chaque traitement est constitué de différentes concentrations d'ANA (0,5 ; 1 ; 2 mg/L) en combinaison avec 1 mg/L de BAP. Chaque combinaison correspondant à un traitement est composée de trois (03) répétitions. Chaque répétition comporte 18 tubes.

#### **Paramètres d'évaluation du développement**

##### **Paramètres de régénérescence**

Après chaque ensemencement, les paramètres relatifs au débourrement et à la régénération ont été évalués. Ainsi, le nombre d'explants ayant débourré et ceux ayant régénéré ont été comptés.

##### **Paramètres de croissance**

Le comptage du nombre de pousses, de nœuds et de feuilles ouvertes sur chaque vitroplant pour *Ocimum basilicum* et *Ocimum gratissimum* a été réalisé après quatre (04) semaines de collecte de données à travers les observations et enregistrements dans la salle

de culture où ont été déposés les tubesensemencés.

#### Méthode d'analyse statistique

Pour les analyses statistiques des résultats, le logiciel SAT-ICF (1997) a été utilisé. Ainsi, le calcul des moyennes a été fait et le test de Student Newman et Keuls au seuil de 5% a servi au classement des moyennes.

### RESULTATS

#### Effet des différentes concentrations d'ANA associées à la BAP sur le débourrement et la régénérescence

Le Tableau 1 présente le nombre moyen de débourrement et de régénérescence pour les deux espèces d'*Ocimum* étudiées.

Pour le débourrement, le milieu contenant 1 mg/L d'ANA a donné le nombre moyen le plus élevé (0,65) pour *Ocimum basilicum* alors que le nombre moyen le plus faible (0,07) est obtenu sur le milieu contenant 0,5 mg/L d'ANA. Par contre, les trois milieux de culture ont produit le même nombre moyen de débourrement chez *Ocimum gratissimum* (100% de débourrement). Statistiquement, il existe une différence hautement significative au seuil de 0,1% entre les trois milieux pour *O. basilicum* tandis que pour *O. gratissimum* il n'existe aucune différence significative au seuil de 5%.

Pour la régénérescence, le Tableau 1 révèle que chez l'espèce *O. basilicum* le nombre moyen le plus faible (0,07) est obtenu sur le milieu contenant 0,5 mg/L d'ANA alors que le nombre moyen le plus élevé (0,38) est issu du milieu contenant 2 mg/L d'ANA. Par contre, pour *O. gratissimum*, la plus forte valeur moyenne de régénérescence (0,68) est obtenue sur le milieu contenant 1 mg/L d'ANA et la plus faible (0,25) par celui ayant 0,5 mg/L d'ANA. Ces résultats montrent statistiquement qu'il y a une différence significative au seuil de 5% entre les trois milieux chez les deux espèces d'*Ocimum* étudiées.

Les expériences réalisées dans le cadre du présent travail ont montré que le nombre moyen de régénérescence est toujours plus

élevé chez *Ocimum gratissimum* que chez *Ocimum basilicum*.

#### Effet des différentes concentrations d'ANA associées à la BAP sur la formation des pousses

A la fin des 4 semaines, la plus forte valeur moyenne (0,89) du nombre de pousses pour *Ocimum gratissimum* est obtenue sur le milieu contenant 1 mg/L d'ANA et sa valeur la plus faible (0,51) sur le milieu ayant 0,5 mg/L. L'espèce *Ocimum basilicum* a obtenu sa forte valeur moyenne (0,2) sur les milieux contenant 1 mg/L et 2 mg/L d'ANA. Par contre, sa plus faible valeur moyenne (0,07) est obtenue sur le milieu contenant 0,5 mg/L d'ANA. Statistiquement, il y a une différence significative au seuil de 5% entre les trois milieux. Ce qui prouve l'existence d'une interaction entre les génotypes et les régulateurs de croissance surtout l'ANA (Figures 1, 2 et 3).

#### Effet des différentes concentrations d'ANA associées à la BAP sur la formation des nœuds

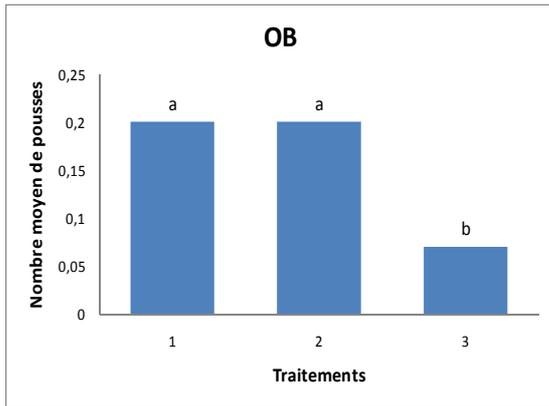
A la fin des 4 semaines, la plus forte valeur moyenne (3,50) du nombre de nœuds pour *Ocimum gratissimum* est obtenue sur le milieu contenant 1 mg/L d'ANA et sa valeur la plus faible (1,26) sur le milieu ayant 2 mg/L. L'espèce *Ocimum basilicum* a obtenu sa forte valeur moyenne (0,16) sur le milieu contenant 1 mg/L d'ANA. Par contre, sa plus faible valeur moyenne (0,07) est obtenue sur les milieux contenant 0,5 mg/L et 2 mg/L d'ANA. Statistiquement, il y a une différence significative au seuil de 5% entre les trois milieux pour l'espèce *Ocimum gratissimum*, mais elle n'en existe pas au niveau de *Ocimum basilicum*. Il en résulte qu'il existerait une interaction entre les génotypes de l'espèce *gratissimum* et les régulateurs de croissance utilisés (Figures 4, 5 et 6).

#### Effet des différentes concentrations d'ANA associées à la BAP sur la formation des feuilles

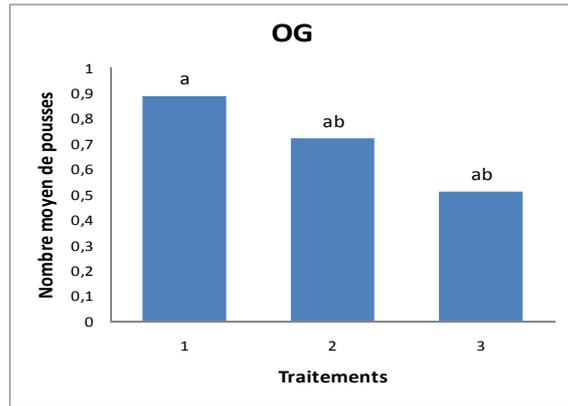
A la fin des 4 semaines, la plus forte valeur moyenne (3,06) du nombre de feuilles pour *Ocimum gratissimum* est obtenue sur le milieu contenant 1 mg/L d'ANA et sa valeur

la plus faible (1,84) sur le milieu ayant 0,5 mg/L. L'espèce *Ocimum basilicum* a obtenu sa forte valeur moyenne (1,05) sur le milieu contenant 1 mg/L d'ANA. Par contre, sa plus faible valeur moyenne (0,51) est obtenue par le milieu contenant 0,5 mg/L d'ANA. Statistiquement, il y a une différence

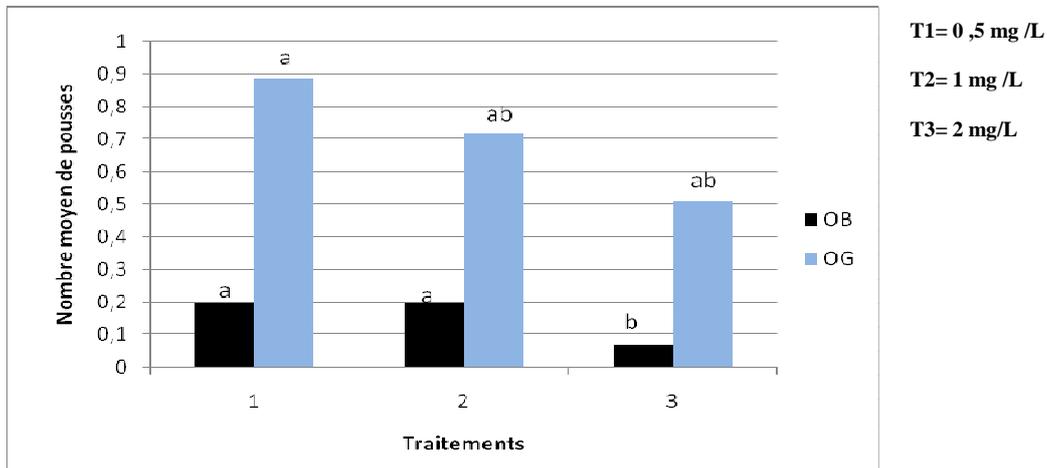
significative au seuil de 5% entre les trois milieux pour *Ocimum gratissimum*, ce qui n'est pas le cas chez l'espèce *Ocimum basilicum*. Ces résultats prouvent l'existence d'une interaction entre les génotypes de l'espèce *gratissimum* et les régulateurs de croissance surtout l'ANA (Figures 7, 8 et 9).



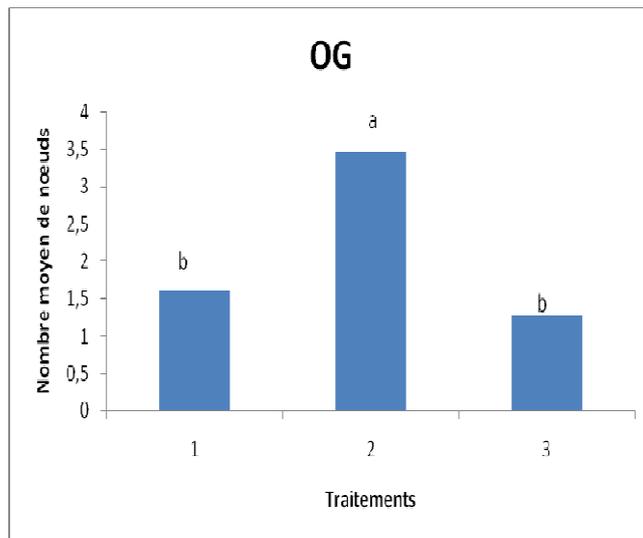
**Figure 1:** Effet des différentes concentrations d'ANA associées à la BAP sur les pousses d'*Ocimum basilicum* (OB). T1 = 0,5 mg/L ; T2 = 1 mg/L ; T3 = 2 mg/L.



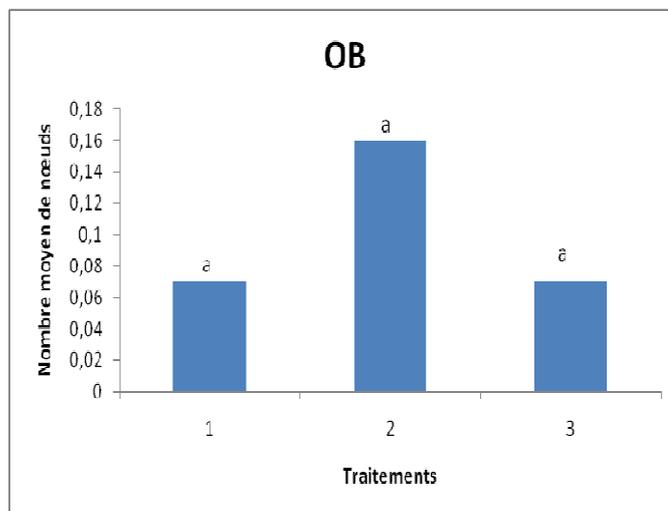
**Figure 2:** Effet des différentes concentrations d'ANA associées à la BAP sur les pousses d'*Ocimum gratissimum* (OG). T1 = 0,5 mg/L ; T2 = 1 mg/L ; T3 = 2 mg/L.



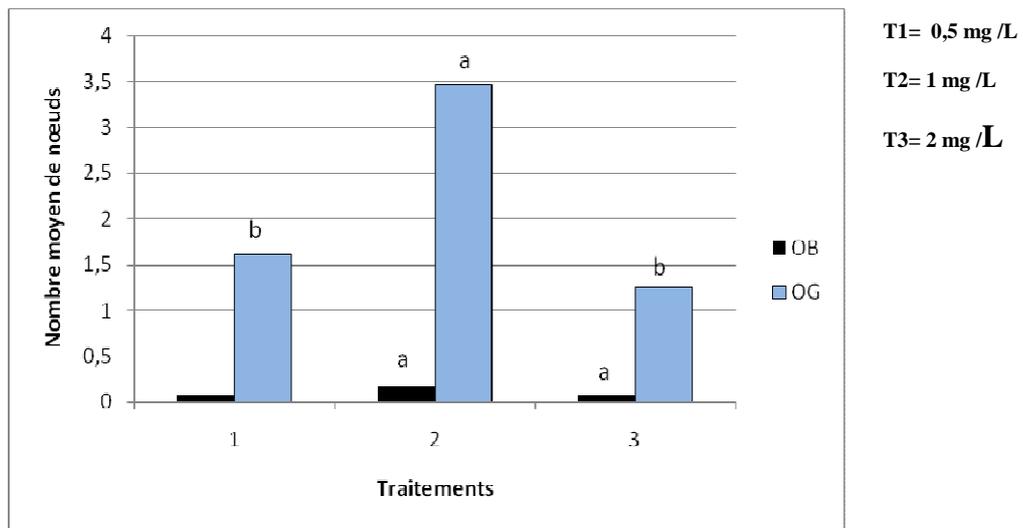
**Figure 3:** Comparaison du nombre moyen de pousses d'*Ocimum basilicum* (OB) et d'*Ocimum gratissimum* (OG).



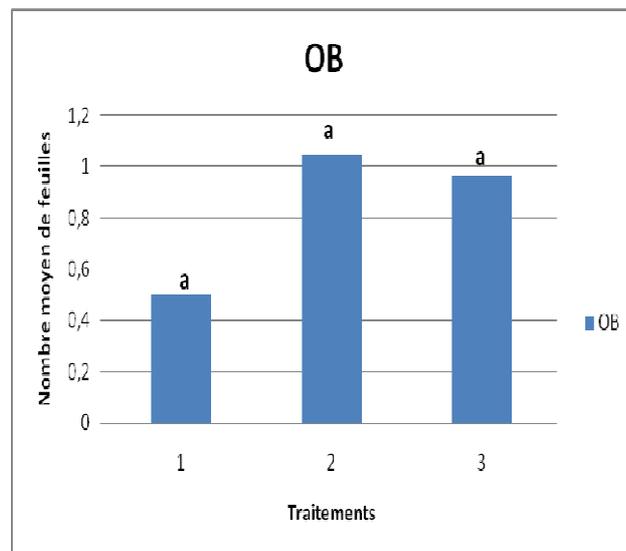
**Figure 4:** Effet des différentes concentrations d'ANA associées à la BAP sur les nœuds d'*Ocimum gratissimum* (OG). T1 = 0,5 mg/L ; T2 = 1 mg/L ; T3 = 2 mg/L.



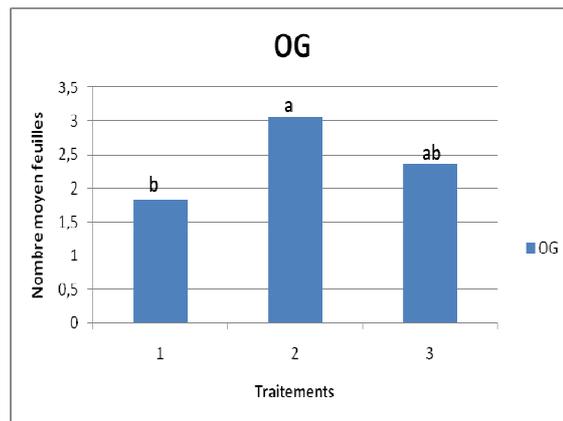
**Figure 5:** Effet des différentes concentrations d'ANA associées à la BAP sur les nœuds d'*Ocimum basilicum* (OB). T1 = 0,5 mg/L ; T2 = 1 mg/L ; T3 = 2 mg/L.



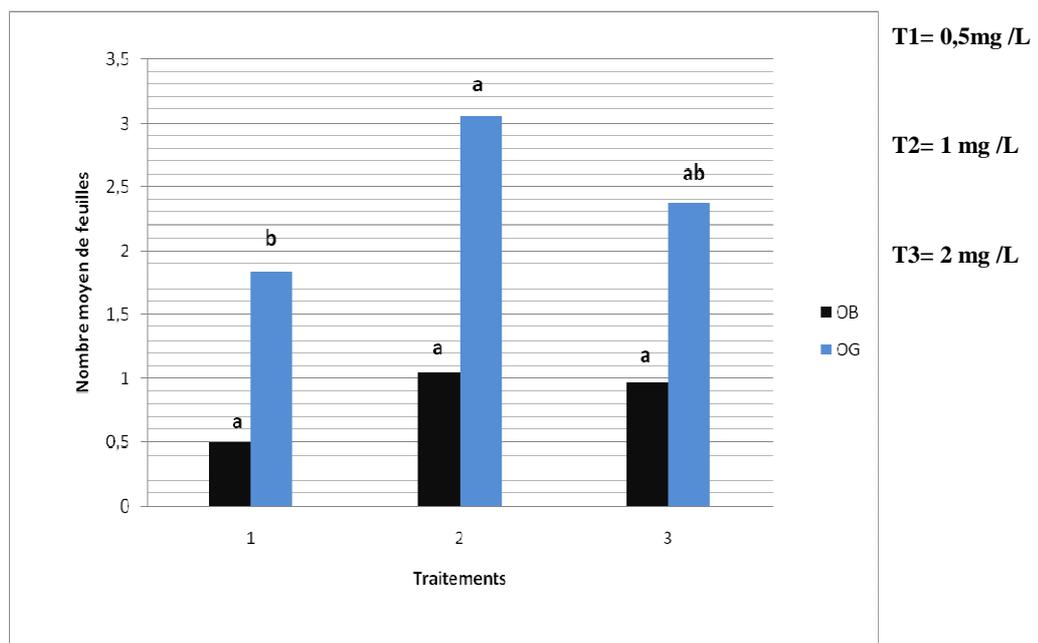
**Figure 6:** Comparaison du nombre moyen de nœuds d'*Ocimum basilicum* (OB) et d'*Ocimum gratissimum* (OG).



**Figure 7:** Effet des différentes concentrations d'ANA associées à la BAP sur les feuilles d'*Ocimum basilicum* (OB). T1= 0,5 mg /L ; T2= 1 mg /L ; T3= 2 mg /L



**Figure 8:** Effet des différentes concentrations d'ANA associées à la BAP sur les feuilles d'*Ocimum gratissimum* (OG). T1= 0,5 mg /L ; T2= 1 mg /L ; T3= 2 mg /L.



**Figure 9:** Comparaison du nombre moyen de feuilles d'*Ocimum basilicum* (OB) et d'*Ocimum gratissimum* (OG).

**Tableau 1:** Comparaison de l'effet des différentes concentrations d'ANA associées à la BAP sur des paramètres de deux espèces d'*Ocimum Spp* après 4 semaines de culture.

Espèces	Traitements	Nbre moyen débourrement	Nbre moyen Régénérescence	Nbre moyen pousses	Nbre moyen nœuds	Nbre moyen Feuilles
ANA						
<i>Ocimum</i>	1 (0,5 mg/L)	0,07 ± 0c	0,07 ± 0b	0,20 ± 0a	0,07 ± 0a	0,50 ± 0,1a
<i>Basilicum</i>	2 (1 mg/L)	0,65 ± 0a	0,27 ± 0ab	0,20 ± 0a	0,16 ± 0a	1,05 ± 0,3a
	3 (2 mg/L)	0,42 ± 0,1b	0,38 ± 0a	0,07 ± 0b	0,07 ± 0a	0,97 ± 0a
Moyenne	-	0,23 ± 0 B	0,18 ± 0 B	0,13 ± 0B	0,10 ± 0 B	0,83 ± 0,1 B
Probabilité	-	≤ 0,000***	0,013*	0,04*	0,16 ns	0,17 ns
CV%	-	17	16	37	27	38
✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
<i>Ocimum</i>	1 (0,5 mg/L)	1,0 ± 0a	0,25 ± 0,1b	0,89±0,1a	1,61 ± 0,3b	1,84 ± 0,2b
<i>Gratissimum</i>	2 (1 mg/L)	1,0 ± 0a	0,68 ± 0a	0,72±0ab	3,48 ± 1,2a	3,06 ± 0,3a
	3 (2 mg/L)	1,0 ± 0a	0,41 ± 0ab	0,51±0,2ab	1,26 ± 0,6b	2,37 ± 0ab
Moyenne	-	0,93 ± 0 A	0,35 ± 0 A	0,61±0,1 A	2,11 ± 0,5 A	2,43 ± 0,23 A
Robabilité	-	0,009**	0,015*	0,03*	0,19 ns	0,03*
CV%	-	8	25	46	46	16

La concentration de la BAP est fixe : elle est de 1 mg/L. Les moyennes suivies de la même lettre ne sont pas statistiquement différentes au seuil de 5%. \* : différence significative au seuil de 5% ; ns : différence non significative au seuil de 5% ; \*\* : différence significative au seuil de 1% ; \*\*\* : différence significative au seuil de 0,1%.

## DISCUSSION

L'initiation *in vitro* d'*Ocimum basilicum* et d'*Ocimum gratissimum* réalisée à partir de segments uninodaux de tiges montre que la reprise des activités morphogénétiques ne dépend pas seulement des conditions trophiques mais également des balances hormonales dudit milieu. En effet, l'obtention des explants ayant débourré et régénéré est variable d'une espèce à une autre suivant les différentes concentrations d'ANA (0,5 mg/L ; 1 mg/L ; 2 mg/L) associées à la BAP (1 mg/L). Les paramètres inhérents à la régénérescence sont entre autre : les pousses, les nœuds et les feuilles. Ces trois paramètres ont trait à la formation des tiges.

Au regard des résultats obtenus, il ressort qu'après quatre semaines de culture, le milieu contenant 1 mg/L d'ANA a permis un meilleur débourrement des explants primaires chez toutes les deux espèces de *Ocimum* étudiées (*Ocimum basilicum* et *Ocimum gratissimum*) et a facilité la formation et le développement des parties aériennes (nœuds,

pousses, feuilles) chez ces dernières en l'occurrence l'espèce *Ocimum gratissimum*. Ce résultat confirme d'une part les travaux réalisés par Aïdam en 2005 sur *Ocimum gratissimum* et d'autre part ceux de Jacoboni (1989) et Rugini (1984) qui ont rapporté que l'ANA à 1 g/L est la plus efficace des auxines sur le développement des microboutures. De même, les résultats obtenus par Montcho (2004) sur différents génotypes de *Dioscorea* et ceux réalisés par Darvari et al. (2010) sur des cultivars de *Musa spp.* ont montré la supériorité de la Benzyladénine par rapport aux autres cytokinines.

Les travaux antérieurs et plus précisément ceux de Aïdam (2005) ont montré que l'ANA et la BAP ont un effet stimulateur de la néoformation des bourgeons chez les explants primaires d'*Ocimum* surtout sur ceux d'*O. gratissimum*. Le rôle prépondérant des hormones dans l'orientation de l'organogenèse chez *Ocimum gratissimum* a été mis en exergue par cet auteur ainsi que par nos travaux. L'ANA considéré comme une

auxine relativement forte, agit dans une large gamme de concentrations et se montre efficace à faible dose sur la caulogénèse (Verron et al., 1995 ; Mezetti et al., 1997 ; Mehra-Palta et al., 1998). Ainsi, bien que l'ANA soit connu pour son rôle activateur sur la rhizogénèse (Gyulai et al., 1995 ; Quashie et al., 1997), cette hormone a un effet stimulateur de la caulogénèse chez les explants primaires d'*Ocimum* cités par Aïdam (2005). Par ailleurs, à l'instar de nos résultats obtenus surtout sur les pousses, Rout et al. (2000) ont observé que l'ajustement des niveaux d'auxines et de cytokinines exogènes ou de synthèse joue un rôle important sur l'induction et le développement des pousses et affecte sérieusement la morphogénèse. Des résultats similaires sont obtenus par Kalimuthu et al. (2007) sur le bananier par emploi de diverses combinaisons d'ANA et de BAP. Selon ces auteurs, l'équilibre des régulateurs de croissance dans les milieux d'induction des pousses a un effet de contrôle sur le processus de la morphogénèse.

Plusieurs auteurs ont observé une corrélation forte entre le rapport d'auxine/cytokinine dans les milieux de culture et la formation de pousses en utilisant différentes sources d'explants et génotypes (Pattnaik et Chand, 1996; Singh et Sehgal, 1999; Shahzad et Siddiqui, 2000). Phippen et Simon (2000) ont employé de fortes concentrations de cytokinine pour stimuler avec succès l'organogénèse du basilic. L'équilibre des régulateurs de croissance dans les milieux de culture d'induction de pousses a eu un effet de contrôle sur le processus morphogène. Les travaux antérieurs ont convenu que l'ajustement des niveaux exogènes d'auxines et de cytokinines joue un rôle important sur l'induction et le développement de pousses, et a rigoureusement un effet stimulateur de la morphogénèse (Rout et al., 2000).

Ces actions ne résultent pas d'un facteur exogène dû à l'application de ces

hormones, mais à une interaction synergique avec des hormones préexistantes. La présente étude a pour intérêt de montrer que le rapport auxine sur cytokinine pourrait permettre d'améliorer le développement végétatif d'*Ocimum basilicum* et d'*Ocimum gratissimum* puis de faire également ressortir que l'efficacité des régulateurs de croissance dépend de l'espèce, du cultivar ou même de la lignée utilisée.

### Conclusion

Cette étude a porté sur l'effet des différentes concentrations de l'ANA associées à la BAP sur la régénération et le développement végétatif d'*Ocimum basilicum* et d'*Ocimum gratissimum* cultivées au Bénin. Après quatre semaines de culture, les résultats ont révélé qu'il existe une différence significative entre les deux espèces d'*Ocimum* à l'égard des différentes combinaisons hormonales. Les résultats indiquent qu'il y a un fort taux de régénérescence et un bon développement des organes aériens sur le milieu contenant 1 mg/L d'ANA pour les deux espèces étudiées. Par rapport à l'espèce *O. basilicum* (0,2), l'espèce *O. gratissimum* a produit plus de pousses (0,89). Chez *O. gratissimum*, le nombre moyen de nœuds est proportionnel à la concentration en ANA. Par contre, chez *O. basilicum* le plus faible nombre moyen de nœuds est obtenu sur le milieu contenant 2 mg/L d'ANA. Comparativement à *O. basilicum*, *O. gratissimum* a eu le nombre moyen de feuilles le plus élevé au niveau des trois milieux étudiés.

### REFERENCES

- Adjanohoun EJ, Adjakidjè V, Ahyi MRA, Aké Assi L, Akoègnignou A, d'Almeida J, Apovo F, Boukef K, Chadaré M, Cusset G, Dramane K, Eyme J, Gassita J.-N, Gbaguidi N, Goudoté E, Guinko S, Houngnon P, Issa LO, Keita A, Kiniffo HV, Koné-Bamba D, Musampa Nseyya

- A, Saadou M, Sdogandji Th, De Souza S, Tchabi A, Zinsou Dossa C, Zohoun Th. 1989. *Contribution aux Etudes Ethnobotaniques et Floristiques en République Populaire du Bénin*. ACCT : Paris, France; 895p.
- Ahanhanzo C, Agbangla C, Toukourou F, Dansi A, Daïnou O. 2003. Microbouturage et conservation *in vitro* des ressources génétiques d'ignames cultivées au Bénin. *Annales des Sciences Agronomiques du Bénin*, **6**(1): 89-102.
- Ahanhanzo C, Dossoukpèvi R, Agassounon DTM, Agbangla C, Dramane K. 2009. Contribution à l'optimisation des conditions de culture *in vitro* de deux espèces d'*Ocimum spp.* (*Lamiaceae*) et étude de l'influence des manipulations *in vitro* sur la teneur et la qualité de leur acide désoxyribonucléique (ADN).
- Aïdam AV. 2005. Etablissement des cultures organisées d'*Ocimum gratissimum* L. et d'*Ocimum basilicum* L. en vue de la production de composés d'intérêts thérapeutiques et phytosanitaires. Thèse de doctorat en Physiologie et Biotechnologie végétales, Université de Lomé, Togo, 158 p.
- Boxus P. 1989. Review on strawberry mass propagation. *Acta Hortic.*, **265**: 309-920.
- Doukouré S. 2000. Amélioration de la production de l'igname par bouturage *in vitro*, chez les cultivars Florido et Brazo fuerte de *D. alata* L. Thèse de Doctorat Ingénieur, Université de Cocody, Côte d'Ivoire, 123p.
- Darvari MF, Sariah M, Puad PM, Maziah M. 2010. Micropropagation of some Malaysian banana and plantain (*Musa* sp.) cultivars using male flowers. *African Journal of Biotechnology*, **9**(16): 2360-2366.
- Franchome P. 1990. *L'Aromathérapie Exactement*. Edition R. JOLLIAS ; p.30.
- Jacoboni A. 1989. Culture *in vitro*. *Olivae*, **25**: 31-34.
- Kalimuthu K, Saravanamumar M, Senthilkumar R. 2007. *In vitro* micropropagation of *Musa sapientum* L. (Cavendish Dwarf). *African Journal of Biotechnology*, **6**(9): 1106-1109.
- Malaurie B, Pungu O, Trouslot MF. 1995. Effect of growth *Discorea cayenensis-D. rotundata complex* and *D. praezensilis*. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, **41**(3): 229-235.
- Mehra-Palta A, Koop HU, Goes S, Troidl EM, Nagi G, Tyagi S, Kofer W, Hermann RG. 1998. Tissue of wild-type, interspecific genome/plastome hybrids and plastome mutants of evening primrose (*Oenothera*): controlled morphogenesis and transformation. *Plant Cell Reports*, **17**(8): 605-611.
- Mezzetti B, Savini G, Carnevali F, Mott D, Opatrny Z, Klerk (de) GJ. 1997. Pant genotype and growth regulators interaction affecting *in vitro* morphogenesis of blackberry and raspberry. *Biologia Plantarum*, **39**(1): 139-150.
- Montcho D. 2004. Impact des facteurs chimiques sur la multiplication *in vitro* de quelques génotypes d'igname du Bénin. DEA biotechnologies, 42 p.
- Murashige T, Skoog F. 1962. A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. *Physiol. Plant.*, **15**(3): 473-497.
- Pattanaik S, Chand PK. 1996. *In vitro* propagation of the medicinal herbs *Ocimum americanum* L. syn., *O. canum* Sims. (hoary basil) and *Ocimum sanctum* L. (holy basil). *Plant Cell Repo.*, **15**: 846-850.
- Phippen WB, Simon JE. 2000. Shoot regeneration of young leaf explants from basil (*Ocimum basilicum* L.). *In Vitro Cell. Dev. Biol. Plant*, **36**: 250-254.

- Rout GR, Reddy GM, Das P. 2000. *In vitro* manipulation and propagation of medicinal plants. *Biotechnology Advances*, **18**: 91-120.
- Rugini E. 1984. *In vitro* propagation of some olive (*Olea europaea sativa* L.) cultivars with different root ability, and medium development using analytical data from developing shoots and embryos. *Sci. Hortic.*, **24**: 123-134.
- Sahoo Y, Pattnaik KS, Chand KP. 1997. *In Vitro* Clonal Propagation of an Aromatic Medicinal Herb *Ocimum basilicum* L. (Sweet Basil) by Axillary Shoot Proliferation. *In Vitro Cellular and Developmental Biology-Plant*, **33**(4): 293-296.
- Sharzad A, Siddiqui SA. 2000. *In vitro* organogenesis in *Ocimum sanctum* L. A multipurpose herb. *Phytomorphology*, **50**(1): 27-35.
- Singh NK, Sehgal CB. 1999. Micropropagation of "Holy basil" (*Ocimum sanctum* L.) from young inflorescences of mature plants. *Plant Growth Regul.*, **29**: 161-166.
- Verron P, Le Nard M, Cohat J. 1995. *In vitro* organogenic competence of different organs and tissue of lily of the Valley 'Grandiflora of Nantes'. *Plant Cell Tissue and Organ Culture*, **40**: 237-242.