

ORIGINAL ARTICLE



ÉTUDE DE L'EFFET COMBINÉ DE L'ACIDE INDOLE 3-ACÉTIQUE (AIA) ET DE LA 6-BENZYL AMINO-PURINE (BAP) SUR LA PRODUCTION DE PROTÉINES ET DE MÉTABOLITES SECONDAIRES CHEZ *Zizyphus mauritiana* Lam. DANS LES CONDITIONS DE CULTURE IN VITRO

STUDY OF THE COMBINED EFFECT OF INDOLE 3-ACETIC ACID (AIA) AND 6-BENZYL AMINO-PURINE (BAP) ON THE PRODUCTION OF PROTEINS AND SECONDARY METABOLITES IN *Zizyphus mauritiana* Lam. UNDER IN VITRO CULTURE CONDITIONS

| Mamadou Abdoulaye Konaré ^{1*} | Fatoumata Tounkara ¹ | Nouhoum Diarra ¹ | Issiaka Togola ¹ | Singou Keita ¹ | Seydou Zibba Maïga ¹ | Aboubacar Sidiki Ouattara CED ² | and | Rokia Sanogo ^{3,4} |

¹. Université des Sciences, des Techniques et des Technologies de Bamako | Faculté des Sciences et Techniques | Laboratoire de Biochimie végétale, alimentaire et de Biotechnologie | Bamako | Mali |

². Université de Ouagadougou 1 – Professeur Joseph Ki-Zerbo | Centre de Recherche en Sciences Biologiques Alimentaires et Nutritionnelles | Ouagadougou | Burkina Faso |

³. Université des Sciences, des Techniques et des Technologies de Bamako | Faculté de Pharmacie | Bamako | Mali |

⁴. Institut National de Recherche en Santé Publique | Département de Médecine Traditionnelle | Bamako | Mali |

| Received 15 July 2019 |

| Accepted 18 August 2019 |

| Published 22 August 2019 |

| ID Article | Mamadou-Ref.1-ajira150819 |

RESUME

Introduction : Au Mali, les produits de cueillette peuvent contribuer à la prise en charge de la malnutrition protéino-énergétique. Au nombre de ces produits de cueillette, figure *Zizyphus mauritiana* Lam. qui est une espèce très prisée par les populations Maliennes. Ses feuilles et ses fruits sont consommés dans l'alimentation humaine et animale. **Objectif :** L'objectif de ce travail est d'étudier l'impact de la combinaison de deux phytohormones, l'acide indole 3-acétique (AIA) et la 6-benzyl amino-purine (BAP) sur la production de protéines foliaires et de métabolites secondaires à différents stades de développement de *Zizyphus mauritiana* dans les conditions de culture *in vitro*. **Méthodes :** Des graines de cette espèce, récoltées à Niono (Ségou/Mali), sont prégermées dans les boîtes de pétri puis transférées dans un pot contenant un mélange de terreau-sable dans un rapport 1:1 (m/m). Après quatre (04) semaines, les plants sont transférés sur du milieu nutritif Murashige et Skoog (MS) enrichi en phytohormones. A chaque semaine, un screening phytochimique est réalisé et les protéines foliaires sont dosées par la méthode de Kjeldhal. **Résultats :** Le screening phytochimique n'a révélé la présence d'aucun métabolite dans les milieux de culture liquide. De la 1^{ère} à la 6^{ème} semaine, les taux de protéines ont varié de 0,02±0,01% à 1,02±0,03% pour les plants témoins contre 0,06±0,02% à 2,10±0,13% pour les plants cultivés en présence de la combinaison hormonale AIA/BAP. **Conclusion :** Ces résultats ont montré que les phytohormones ont un impact positif sur la production de protéines foliaires chez *Zizyphus mauritiana* dans nos conditions de culture *in vitro*.

Mots clés : *Zizyphus mauritiana* Lam., phytohormones, protéines, culture *in vitro*.

ABSTRACT

Introduction: In Mali, picking products can contribute to the management of protein-energy malnutrition. Among these picking products, we have *Zizyphus mauritiana* Lam. which is a very popular specie by Malian populations. Its leaves and fruits are consumed in food and feed. **Purpose:** The purpose of this work is to study the impact of the combination of two phytohormones (AIA / BAP) on the production of foliar proteins and secondary metabolites at different stages of development of *Zizyphus mauritiana* under *in vitro* culture conditions. **Methods:** Seeds of this species harvested in Niono (Segou / Mali) are pre-germinated in the petri dishes and then transferred to a pot containing a mixture of soil-sand in a ratio of 1:1 (m / m). After four (04) weeks, the plants are transferred to Murashige and Skoog (MS) nutrient medium enriched by phytohormones. Every week, a phytochemical screening is carried out and the foliar proteins are assayed by the Kjeldhal method. **Results:** Phytochemical screening revealed no metabolites in liquid culture medium. From first to sixth week, protein levels ranged from 0.02 ± 0.01% to 1.02 ± 0.03% for control plants compared to 0.06 ± 0.02% to 2.10 ± 0.13% for plants grown in the presence of the AIA / BAP hormonal combination. **Conclusion:** These results showed that phytohormones have a positive impact on leaf protein production in *Zizyphus mauritiana* Lam. in our *in vitro* culture conditions.

Keys words: *Zizyphus mauritiana* Lam., phytohormones, proteins, *in vitro* culture.

1. INTRODUCTION

Les plantes sont à elles seules une source immense de molécules chimiques complexes utilisées dans différents domaines (santé, nutrition, ...). Toutes les parties de la plante peuvent être d'une grande utilité et contribuer à l'amélioration des conditions de vie des populations autochtones [1, 2, 3]. Les productions végétales incluent non seulement les produits issus des différents organes de la plante (tige, feuilles,...) mais aussi les produits de leur métabolisme. Dans beaucoup de

cas, la production de métabolites par voie de synthèse chimique est économiquement très coûteuse. C'est pourquoi les biotechnologies connaissent un grand essor depuis une vingtaine d'années, tant leur développement semble prometteur pour la production rentable de molécules complexes ou pour la découverte de nouveaux principes actifs [4].

Les plantes comestibles sauvages contribuent considérablement à la nutrition du monde rural Ouest Africain. Parmi les organes consommés, les fruits et les feuilles sont considérés comme des suppléments alimentaires importants dans la région sahélienne pour augmenter la qualité de l'alimentation journalière des populations rurales [5, 6, 7]. Au nombre des ressources forestières à usages multiples, *Zizyphus mauritiana* apparaît comme l'une des plus importantes eu égard à son utilisation tant en médecine traditionnelle [1, 8, 9, 10] que dans l'alimentation des populations [6]. Les feuilles sont utilisées dans l'alimentation humaine et constituent un excellent fourrage pour les petits ruminants [11]. Les jeunes feuilles du jujubier sont consommées comme un légume en soupe ou dans le couscous. Les feuilles constitueraient un atout majeur dans la lutte contre l'anémie et le goitre vu leur richesse en fer et en iode. Compte tenu de leur richesse en nutriments et en composés phénoliques, les feuilles du Jujubier pourraient être davantage exploitées en confiserie, en médecine et en pharmacie [10, 12, 13].

Bien que de nombreuses études aient été entreprises ces dernières années, les feuilles de cette espèce restent peu explorées sur le plan nutritionnel et production de protéines dans les conditions de culture *in vitro* et sous l'influence de phytohormones. C'est dans cet esprit que nous avons entrepris une recherche orientée vers cette classe de molécules chimiques douées d'activités biologiques, et surtout utilisées dans la lutte contre la malnutrition protéino-énergétique au Mali. L'objectif de ce présent travail était d'étudier l'impact de la combinaison de deux phytohormones, l'Acide Indole 3-Acétique (AIA) et la 6-Benzyl Amino-Purine (BAP) sur la production de protéines foliaires et de métabolites secondaires à différents stades de développement des plants de *Zizyphus mauritiana* dans les conditions de culture *in vitro*.

2. MATERIEL ET METHODES

2.1. Matériel :

Les amandes provenant des graines de fruits de *Zizyphus mauritiana* Lam. ont été utilisées comme matériel végétal. Les fruits ont été récoltés en Février 2016 à Ranch situé dans le cercle de Niono, (Ségou) au Mali. Les échantillons de *Zizyphus mauritiana* Lam. ont été identifiés au département de médecine traditionnelle (DMT) du Mali, au niveau duquel un herbier est déposé sous le numéro 2798.

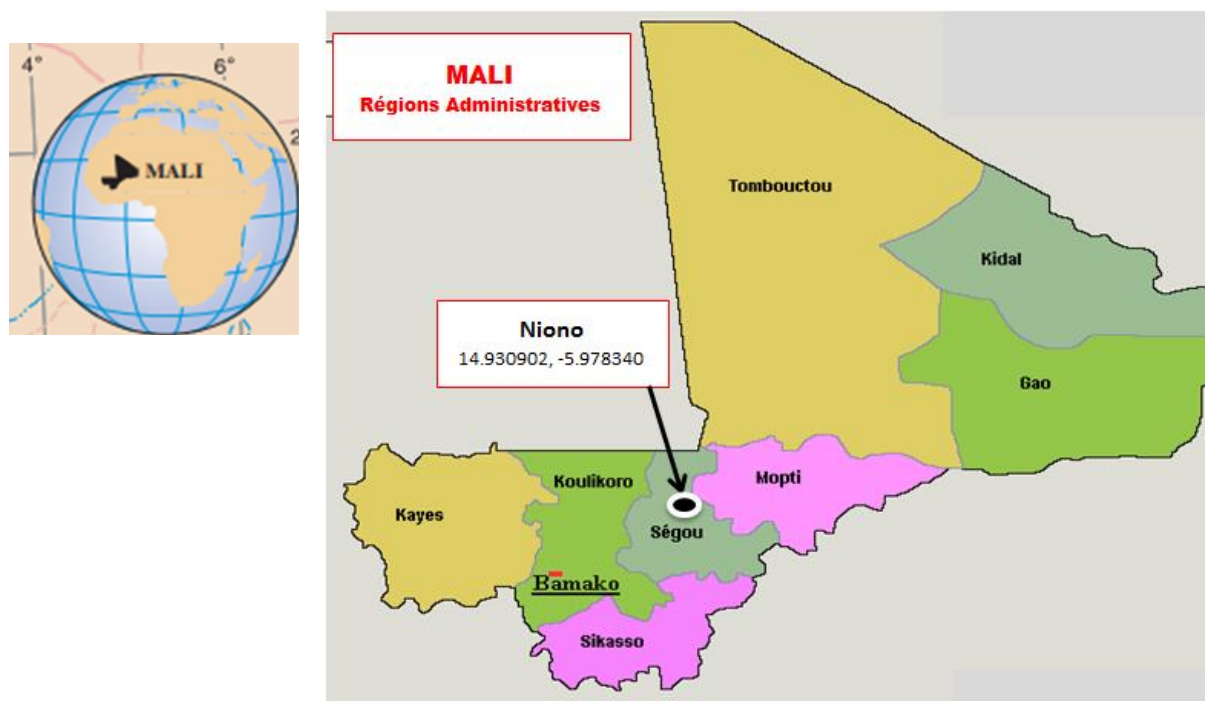


Figure 1 : La figure montre la carte du Mali avec localisation de la zone d'étude (Source : www.google.com/maps/place) [14].

2.2. Méthodes :

2.2.1. Culture *in vitro* :

La technique utilisée pour la culture *in vitro* est celle décrite par Togola et *al.*, (2019) [15].

➤ Prégermination des graines :

Les graines de *Zizyphus*, débarrassées respectivement de leurs pulpes et de leurs coques, ont été mises en germination dans des boîtes de pétri. Elles sont désinfectées à l'eau de javel à **2%** pendant cinq (5) minutes et rincées avec l'eau distillée 3 fois. Elles sont ensuite transférées dans des boîtes de pétri contenant des papiers filtres (ensemble préalablement stérilisé à l'étuve à 120°C pendant 1 heure) à l'aide d'une pince sous la hotte. Dans chaque boîte de pétri sont versés cinq millilitres (5mL) d'eau distillée stérile. Puis les boîtes sont enveloppées dans du papier aluminium et placées dans une étuve (PROLABO) à la température du laboratoire. Leur évolution est quotidiennement suivie jusqu'à la germination et au besoin de l'eau distillée stérile est ajoutée au milieu (**voir figure 2**). Sept (7) jours après l'ensemencement, les graines germées et non germées ont été dénombrées. Le taux de germination (%) se calcule selon la formule ci-dessous :

$$\text{Taux de germination (\%)} = \frac{\text{Nombres de graines germées}}{\text{Nombre de graines mises en germination}} * 100 \quad (1)$$

➤ Culture sur milieu solide :

Après la prégermination dans les boîtes de pétri, les semis sont transférés dans des pots en plastique contenant un mélange de terreau - sable (1:1 ; m/m).

Les milieux sont d'abord stérilisés à l'étuve à 120°C pendant 1 heure puis répartis dans les pots en plastique après refroidissement. Dans chaque pot sont placées trois (03) plantules. Les dispositifs sont ensuite placés dans les conditions naturelles d'éclairement et quotidiennement arrosés avec de l'eau distillée pendant 4 semaines (**voir figure 3**).



Figure 2 : Graines en prégermination.



Figure 3 : Plants en culture sur milieu solide.

➤ Culture sur milieu liquide :



Le milieu de culture utilisé dans cette étude est le milieu MS dilué deux fois. Le dispositif utilisé ici est celui mis en place par Togola et *al.* (2019) [15].

Après 4 semaines de culture sur milieu solide, les plants sont transférés dans des pots contenant de l'eau distillée stérile. Après 3 jours de sevrage, les plants sont repartis en 2 groupes (figure 4).

- **1^{er} groupe :** Les plants ont été mis en culture sur milieu témoin (MS) dilué deux fois.

- **2^{ème} groupe :** Les plants ont été cultivés sur milieu MS dilué deux fois et enrichi d'AIA à 1,5mg/L et de la BAP à 1,5mg/L.

Figure 4: Plants sur milieu liquide

Chaque pot de culture comporte deux orifices, l'un pour introduire la plante et l'autre pour assurer une bonne oxygénation de la solution nutritive et éviter une nécrose des racines. Pour créer les conditions d'obscurité au niveau des racines, les dispositifs de culture sont enveloppés dans du papier aluminium. Avant l'introduction des plants, les pots contenant le milieu de culture sont enveloppés avec du papier aluminium et stérilisé à 120°C pendant 1 heure. Après refroidissement, les plants sont introduits dans les pots.

NB : Toutes ces opérations s'effectuent dans les conditions aseptiques sous la hotte.

Les dispositifs sont ensuite placés dans les conditions naturelles d'éclairement. Leur évolution est quotidiennement suivie pendant quatre semaines. A chaque semaine, les feuilles de quelques plants et leurs milieux de culture sont récupérés et analysés dans chaque groupe.

2.2.2. Screening phytochimique : Les réactions colorées en tube et de précipitation ont été utilisées pour caractériser les groupes chimiques (tanins, alcaloïdes, saponosides et protéines) dans le milieu de culture liquide [16,17]. Ainsi, les alcaloïdes ont été mis en évidence par les réactifs de Dragendorff et de Mayer. La caractérisation des tanins s'est effectuée par le chlorure ferrique. Pour la recherche des saponosides, nous avons utilisé le test de mousse. La réaction de biuret a été utilisée pour rechercher les protéines.

2.2.3. Dosages des protéines foliaires : Les protéines ont été quantifiées par la méthode de Kjeldhal décrite par Diarra et al. (2019) [17]. 0,3 g d'échantillon ont été broyés et placés dans un matras auquel il a été ajouté 10 mL d'acide sulfurique concentré et 15 mL d'eau oxygénée. Le tout a été placé dans le minéralisateur sous la hotte à 380°C pendant une heure. Après 1h d'incubation, l'échantillon a été retiré puis refroidi pendant 15 minutes. Après refroidissement, 30 mL d'eau distillée et 60 mL de soude à 35% ont été ajoutés à l'échantillon. Le matras contenant la solution a été laissé au repos pendant 15 minutes. Ensuite, un erlenmeyer de 250 mL, contenant 50 mL d'acide borique à 1%, a été placé devant le tube de réception. Ainsi, 100 ml de distillat ont été récupérés dans l'erlenmeyer jusqu'au volume final de 150 mL (50 mL acide borique + 100 mL distillat). Enfin, le distillat a été titré à l'aide d'une burette graduée en plaçant de l'acide sulfurique à 0,1N dans l'erlenmeyer contenant le distillat jusqu'à l'obtention d'une coloration rouge persistante. Un matras ne contenant pas d'échantillon mais ayant subi les mêmes traitements a servi de blanc (témoin).

Sachant que 1g d'N correspond à 6,25 g de protéines pour le type de substance analysée, la quantité de protéines (Qp) de nos extraits (en g / 100 g) a été calculée comme suit :

$$Qp = \%N \times 6,25 \quad (2)$$

où **%N** = quantité d'azote déterminée selon la méthode Kjeldhal.

NB : Les mesures ont été faites en duplicata.

2.2.4. Analyse des données : Le logiciel Excel® (version 2013) a été utilisé pour tracer les histogrammes. Le logiciel Minitab 18.1 a servi à faire les analyses statistiques. L'analyse de variance (ANOVA) utilisant le test de Fischer a été utilisée pour comparer les moyennes de nos échantillons au seuil $\alpha = 0,05$.

3. RESULTATS ET DISCUSSION :

3.1. Germination des graines :

Tableau 1 : Pourcentage de germination des graines de *Zizyphus mauritiana* Lam.

Essais	Nombre de graines		Taux de germination
	Mise en germination	Germées	
1	20	15	75%
2	20	14	70%
3	20	14	70%
Moyenne	60	14,33	71,67 ± 0,03%

Nous avons obtenu un taux de germination de 71,67 ± 0,03%. Ce résultat est nettement supérieur à celui obtenu par Rakotondrainibe et Jeannoda (1980) qui est de 57,20% [18]. Par contre, il est inférieur à ceux obtenus par Danthu et al. (1992) et Grice (1996) qui ont obtenu respectivement des taux de 81 à 91% et de 90% [19, 20].

Ces différences entre les taux de germination trouvent leur explication dans les travaux de Diallo (2002) qui a rapporté que la vitesse et le taux de germination des grains de *Zizyphus mauritiana* varient selon la provenance, les conditions de stockage et les facteurs climatiques [21].

3.2. Screening phytochimique :

Les tests de caractérisation ont montré l'absence de protéines, de tanins, de saponosides et d'alcaloïdes dans les milieux de culture liquide Murashige et Skoog enrichi ou non de phytohormones. Ces résultats pourraient être en rapport avec nos conditions expérimentales ou les potentialités ou spécificités du *Zizyphus mauritiana*. Puisque des travaux réalisés dans les mêmes conditions ont révélé la présence de métabolites (alcaloïdes) exsudés par d'autres espèces. Togola et al., (2019) a montré que *Datura innoxia* Mill. produit des alcaloïdes dans le milieu liquide MS ; de même Bougoudogo (2013)

a révélé la présence des alcaloïdes avec *Balanites aegyptiaca* Del. dans les milieux de culture liquide en absence et en présence de phytohormones (AIA/BAP) [15, 22].

3.3. Protéines totales :

Les résultats du dosage des protéines totales sont consignés dans le tableau 2.

Tableau 2 : Teneurs en protéines totales des feuilles de *Zizyphus mauritiana* Lam.

Semaines	1	2	3	4	5	6
Plants						
Plants cultivés sur milieu MS Témoin	0,02±0,01 ^e	0,04±0,02 ^e	0,24±0,03 ^d	0,74±0,03 ^c	0,85±0,01 ^b	1,02±0,03 ^a
Plants cultivés en présence AIA/BAP	0,06±0,02 ^e	0,12±0,09 ^e	1,01±0,04 ^d	1,22±0,08 ^c	1,65±0,10 ^b	2,10±0,13 ^a

NB : Les moyennes ne partageant pas les mêmes lettres sont significativement différentes au seuil de 0,05.

AIA : Acide indole 3-acétique. BAP : 6-benzyl amino-purine.

Les données du tableau 2 sont traduites par la figure 5 ci-dessous.

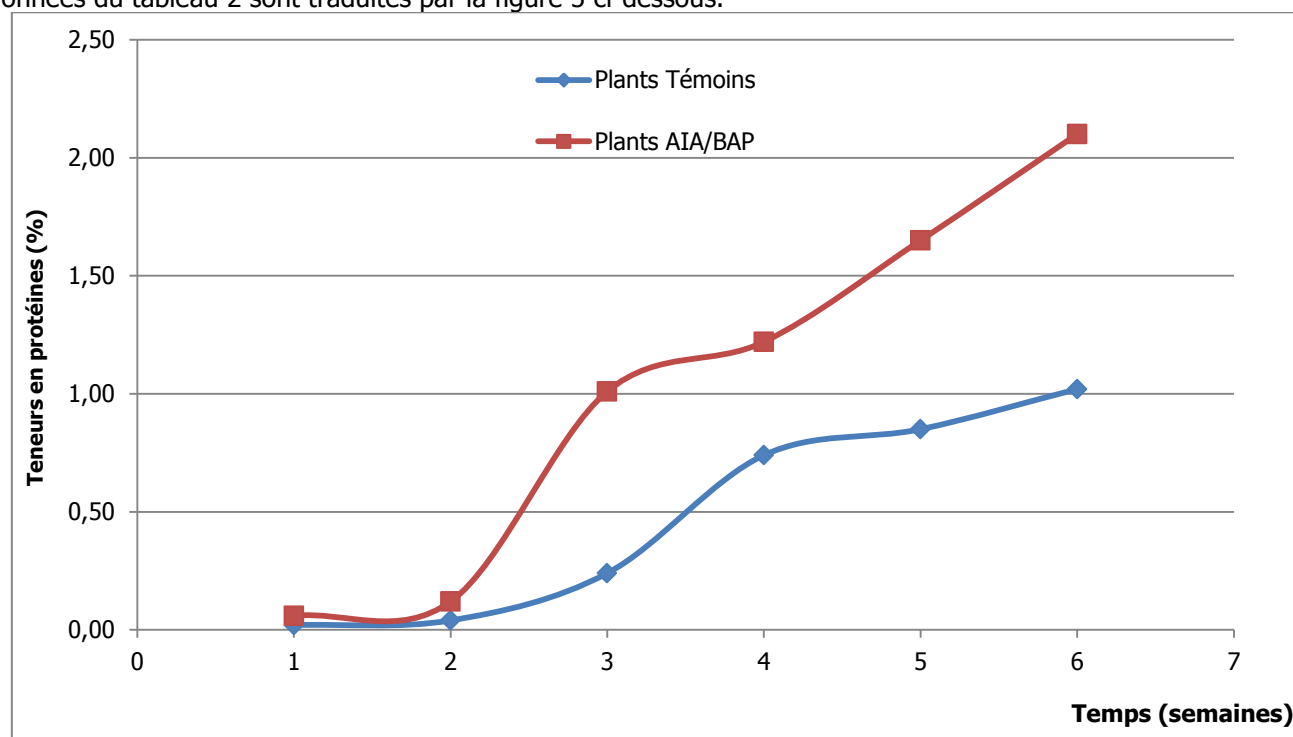


Figure 5 : Comparaison des teneurs en protéines foliaires (%) des plants témoins et des plants cultivés sur milieu enrichi d'acide indole 3-acétique (AIA) et de la 6-benzyl amino-purine (BAP).

Cette figure montre que les teneurs en protéines foliaires augmentent de la première à la sixième semaine de culture aussi bien chez les plants témoins que les plants cultivés sur milieu MS enrichi d'AIA/BAP. La combinaison hormonale AIA/BAP semble avoir induit une augmentation du taux de protéines foliaires. Le maximum de teneurs en protéines foliaires est enregistré à la sixième semaine avec 1,02±0,03% pour les plants témoins contre 2,10±0,13% pour les plants cultivés sur milieu enrichi d'AIA/BAP. Cela signifie que la teneur en protéines est élevée lorsque les feuilles sont en croissance ; ce qui pourrait s'expliquer par un influx important d'azote du milieu de culture fixé par les jeunes racines. Ces résultats confirment les travaux réalisés par Kartner (2010) [23]. Au cours de ses travaux sur le pin maritime (*Pinus pinaster*), ce dernier a montré que les profils protéiques des feuilles varient en fonction des stades de développement de la plante. Il a obtenu 5,3% (pour 100g de matière sèche) au début de croissance des feuilles et 3,9% pour les feuilles matures et début de croissance radicale.

4. CONCLUSION

Les résultats de nos tests de caractérisation ne nous ont pas permis de détecter la présence de métabolites (protéines, tanins, saponosides et alcaloïdes) exsudés dans les milieux de culture liquide en présence et en absence de la combinaison hormonale. Les résultats du dosage ont montré que, de façon générale, le taux de protéines foliaires suit une évolution croissante au cours de l'évolution des plants cultivés sur milieu MS enrichi de phytohormones AIA/BAP.

Donc la combinaison hormonale semble avoir induit une augmentation de la concentration de protéines foliaires au fil du temps. Cette augmentation pourrait être confirmée en prolongeant le temps de culture des plants. Par ailleurs, il serait nécessaire d'étendre l'étude sur l'évaluation des teneurs d'autres métabolites notamment les glucides, les vitamines et les sels minéraux sous l'influence de la même combinaison hormonale AIA/BAP.

6. REFERENCES

- [1]. Sanogo R., Keita A., et De Pasquale R. Pharmacognosie et pharmacodynamie de plantes utilisées en médecine traditionnelle au Mali. Des sources du savoir aux médicaments du futur - actes du 4e congrès européen d'ethnopharmacologie. In Fleurentin J. (ed.), Pelt J.M. (ed.), Mazars G. (ed.), Lejosne J.C. (trad.), Cabalion Pierre (COLLAB.). Paris (FRA) ; Metz : IRD ; SFE, Congrès Européen d'Ethnopharmacologie. Metz (FRA), 2000/05/11-13. 2002. 4; 383-387. ISBN 2-7099-1504-9
- [2]. Sanogo R. *Pteolopsis suberosa* Engl. et Diels (Combretaceae) : une plante à activité antiulcère et anti *Helicobacter pylori*. *Hegel*. 2014 ; 4(2): 148-153. DOI : 10.4267/2042/53781. Available on: <http://hdl.handle.net/2042/53781>.
- [3]. Aké Assi L. Quelques plantes alimentaires de cueillette de l'Afrique de l'Ouest : Leur sauvegarde et leur valorisation. Editions NEI – CEDA, 2014. Abidjan. 141 p.
- [4]. Coelho, H.E. Mémoire « Développement d'un procédé pour la culture à haute concentration de cellules végétales » Bouchard et Marchand, laboratoire polytechnique BIOPRO de Montréal - 2000.
- [5]. Glew R.S., Vanderjagt D.J., Chuang L.T., Huang Y.S., Millson M., et Glew R.H. Nutrient content of four edible wild plants from West Africa. *Plantes Hum Hum. Nutr.* 2005 ; 60(4): 187-193. Available on: www.ncbi.nlm.nih.gov.
- [6]. Diarra, N., Togola A., Denou A., Willcox M., Daou C., & Diallo, D. Etude ethnobotanique des plantes alimentaires utilisées en période de soudure dans les régions Sud du Mali. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 5(1) - 2016. pp.184-197. <https://doi.org/10.1051/fruits>.
- [7]. Sène A.L., Niang K., Faye G., Ayessou N., Sagna M.B., Cissé M., Diallo A., Cissé O.K., Gueye M., et Guisse A. Identification des usages de *Sclerocarya birrea* (A. Rich) *Hoscht* dans la zone du Ferlo (Sénégal) et évaluation du potentiel biochimique et nutritionnel de son fruit. *African. J. Food Agric. Nutr. Dev.* 2018 ; 18(2): 13470 – 13489.
- [8]. Guedeba S.H. Etude de la phytochimie et des activités biologiques de *Zizyphus mauritiana* Lam. (Rhamnaceae) utilisée dans le traitement traditionnel du diabète et de l'hypertension artérielle en Mauritanie. Thèse de Pharmacie. Université du Mali - Faculté de Médecine, de Pharmacie et d'Odonto-Stomatologie (FMPOS) du Mali. 2005.
- [9]. Diallo D., Haïdara M., Guissou I.P., Tall C., et Kassilo O.M.J. Recherche sur la médecine africaine : Hypertension.. *The African Health Monitor*. August 31, 2010; Special issue 14: 58-63.
- [10]. Keita S., Wélé M., Cissé C., Diarra N., Kirkman L. and Baba-Moussa L. Evaluation de l'activité antibactérienne et antiplasmodiale des extraits de tanins des feuilles de *Zizyphus mauritiana*. *International journal of biochemistry research and review*. 2018; 24(2): 1-8.
- [11]. Sissoko P. et Kergna, A.O. Etude diagnostique des circuits de commercialisation des produits du jujubier dans la zone sahélienne du Mali : cas de l'arrondissement de Kayes. 2^{ème} Atelier régional sur les aspects socio-économiques de l'agroforesterie au sahel. Bamako, 4-6 Mars 2002. Projet conjoint ICRAF/Sahel – Université Laval.
- [12]. Kalinganiré A. et Koné B. Conservation et utilisation durable des ressources génétiques des espèces ligneuses alimentaires prioritaires de l'Afrique subsaharienne. *SAFORGEN*. 2011 ; 11: 1-8.
- [13]. Fofie N.B.Y., Kouakou L.P.M.S., Coulibaly K., Sanogo R. et Bamba et D.K. Composition en sels minéraux et en métabolites secondaires de *Zizyphus mauritiana* Lam., une plante antihyperglycémiant. *Journal de la Société Ouest Africaine de Chimie*. 2017; 044 : 30-35.
- [14]. Données cartographiques du Mali. Disponible sur www.google.com/maps/place/. Consulté le 29 Juillet 2019.
- [15]. Togola I., Konaré M.A., Diakité M., Diarra N., Tounkara F., Sanogo R. and Dembélé D. EVALUATION DE LA TENEUR EN ALCALOÏDES TOTAUX A DIFFERENTS STADES DE DEVELOPPEMENT DE *Datura innoxia* Mill., UNE PLANTE UTILISEE DANS LA MEDECINE TRADITIONNELLE AU MALI. *American Journal of Innovative Research and Applied Sciences*. 2019; 9(2): 174-181. ISSN 2429-5396. Available on: www.american-jiras.com
- [16]. Badiaga M. Etude ethnobotanique, phytochimique et activités biologiques de *Nauclea latifolia* Smith, une plante médicinale africaine récoltée au Mali. Thèse de doctorat. Université Blaise Pascal - Clermont-Ferrand II, France (2011) - 137p.
- [17]. Diarra Nouhoum, Denou Adama, Togola Issiaka, Daou Cheickna, Doumbia Nagnouma et Konaré Mamadou A. Composition physico-chimique et biochimique des tubercules de *Plectranthus Rotundifolius* (Poir.) Spreng. (Lamiaceae) utilisés en alimentation au Mali. *American Journal of Innovative Research and Applied Sciences*. 2019; 8(6): 226-230. Available on: <http://american-jiras.com/Nouhoum-ManuscriptRef.1-ajira170519.pdf>.
- [18]. Rakotondrainibe F., et Jeannoda V.H. Quelques problèmes de morphogénèses posés par une étude dynamique de la croissance du *Zizyphus jujuba*. *Annales de l'Université de Madagascar : Série Sciences de la Nature et Mathématiques*. 1980 ; 17: 217-235.
- [19]. Danthu, P., Gaye A., Roussel, J., et Sarr, A.S. Quelques aspects de la germination des semences de *Zizyphus mauritiana* Lam. Symposium UIFRO P.2.04.00, 23 – 28 Novembre 1992 Ouagadougou, Burkina Faso, 1992; 192-197.
- [20]. Grice, A.C. Seed production, dispersal and germination in *Cryptostegia grandifolia* and *Zizyphus mauritiana*, two invasive shrubs in tropical woodlands of northern Australia. *Australian Journal Of Ecology*. 1996; 21(3): 324-331.
- [21]. Diallo, I. Etude de la biologie de la reproduction et de la Variabilité génétique chez le jujubier (*Zizyphus mauritiana* Lam) - Thèse de Doctorat -Université Cheikh Anta Diop de Dakar – Faculté des Sciences et Techniques - 2002.
- [22]. Bougoudogo K. Effet de l'acide 3-indole acétique (AIA) et de la 6-benzylaminopurine (BAP) sur la production de saponosides et d'alcaloïdes chez *Balanites aegyptiaca*. Mémoire de DEA 37p. Faculté des Sciences et Techniques. Université de Bamako - 2013.
- [23]. Kartner, E. Mise au point d'un protocole de purification de la Rubisco pour l'estimation de son turnover par traçage isotopique au ¹³C, chez les Hêtre et le pin maritime - 2010.



Citer cet article : Konaré Mamadou Abdoulaye, Tounkara Fatoumata, Diarra Nouhoum, Togola Issiaka, Keita Singou, Maïga Seydou Zibba, Ouattara Aboubacar Sidiki, and Sanogo Rokia. ÉTUDE DE L'EFFET COMBINÉ DE L'ACIDE INDOLE 3-ACÉTIQUE (AIA) ET DE LA 6-BENZYL AMINO-PURINE (BAP) SUR LA PRODUCTION DE PROTÉINES ET DE MÉTABOLITES SECONDAIRES CHEZ *Zizyphus mauritiana* Lam. DANS LES CONDITIONS DE CULTURE *IN VITRO*. *American Journal of Innovative Research and Applied Sciences*. 2019; 9(2): 210-215.

This is an Open Access article distributed in accordance with the Creative Commons Attribution Non Commercial (CC BY-NC 4.0) license, which permits others to distribute, remix, adapt, build upon this work non-commercially, and license their derivative works on different terms, provided the original work is properly cited and the use is non-commercial. See: <http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>