
Soumis le : 31 Août 2012

Forme révisée acceptée le : 24 Janvier 2013

Email de l'auteur correspondant :

saraharb@hotmail.fr

Micropropagation *in vitro* d'une plante à fibres : le kenaf (*Hibiscus cannabinus* L.)

Sarra Arbaoui ^a, Bruno Campanella ^b, Roger Paul ^b, Taoufik Bettaieb ^a

^a Département Agronomie et Biotechnologies Végétales, Institut National Agronomique de Tunisie, 43 avenue Charles Nicolle, 1082 Tunis Mahragène, Tunisie

^b Laboratoire de Toxicologie environnementale, Gembloux Ago Bio Tech, Belgique, 2, Passage de Déportés, 5030 Gembloux, Belgique

Résumé

Pour la production en masse d'une plante industrielle, en l'occurrence, le kenaf (*Hibiscus cannabinus* L.), des essais de multiplication *in vitro* ont été réalisés. Ces essais ont commencé à partir d'explants constitués par des microboutures de la variété « Tainung 2 », de 1 cm de long. Des régulateurs de croissance ont été ajoutés à différentes doses au milieu de culture Murashige et Skoog (1962) (MS) afin de déterminer le milieu de culture le plus favorable à la croissance et au développement des explants pendant les différentes phases. Les résultats montrent une différence de réponse des explants aux milieux de culture testés. Pour l'initiation et la multiplication, le milieu de culture le plus favorable est le milieu (MS) dépourvu d'hormones permettant la reprise de végétation *in vitro* des explants de kenaf et de produire 3,8 nœuds par explants et par mois. La rhizogenèse est fortement favorisée par l'addition au milieu MS de 0,25 mg.l⁻¹ d'AIB et de 25 mg.l⁻¹ de β -cyclodextrine qui provoquent la formation de 9,22 racines par vitroplant d'une longueur moyenne de 1,9 cm. Les vitroplants enracinés sont acclimatés à l'étouffée sous une serre avec un taux de réussite de 100 %.

Mots clés: *Hibiscus cannabinus* L.; *in vitro*; micropropagation; hormones de croissance.

Abstract

Kenaf (*Hibiscus cannabinus* L.) is an annual fiber plant of Malvacea family. The stem produces two types of fiber, a coarser fiber in the outer layer and a finer fiber in the core. It has been cultivated for the manufactures of ropes, textiles, paper and insulation and used in many industries including automobile industry. Problems encountered in the establishment of uniform, vigorously growing kenaf result from seed quality. For mass production kenaf, *in vitro* propagation tests were carried out starting from 1 cm microcuttings of "Tainung 2", variety. Growth hormones were added at various doses to culture medium Murashige and Skoog (1962) (MS) in order to determine the most favorable culture medium for growth and development of the explants during different phases. Results showed a difference in response of explants to media tested. For initiation and propagation, the most favorable is (MS) without hormones for recovery of vegetation *in vitro* explants of kenaf and produce 3,8 nodes per explants per month. Rooting was strongly favored by the addition to the medium of MS 0,25 mg.l⁻¹ IBA and 25 mg.l⁻¹ of β - cyclodextrin, which cause the formation of 9,22 roots per vitroplant and an average length of 1,9 cm. The rooted shoots are acclimated to stifle in a greenhouse with a success rate of 100%.

Keywords: *Hibiscus cannabinus* L.; *in vitro*; micropropagation; hormones.

1. Introduction

Le kenaf (*Hibiscus cannabinus* L.) est une plante industrielle, appartenant à la famille des Malvacées. Sa tige est constituée de fibres utilisées, grâce à leurs propriétés physico-chimiques particulières, dans différents domaines tels que le textile, la fabrication de pâte à papier, le cordage, la construction, l'isolation et l'automobile [1, 2]. Les essais d'introduction du kenaf en

Tunisie ont abouti à des résultats probants puisque cette plante a montré une très bonne adaptation aux conditions édapho-climatiques locales. Sa culture donne l'opportunité de l'utilisation des eaux usées [3]. En plus, son utilisation dans la phytoremédiation des sols pollués par les métaux lourds a été démontrée [4].

L'utilité de cette plante a suscité un grand intérêt des industriels qui sont à la recherche, aujourd'hui, des cultivars les plus productifs et ayant les meilleures qualités de fibres. Cependant, la multiplication sexuée de cette plante ne permet pas des cultures homogènes [5].

Dès lors, la multiplication végétative s'impose pour l'obtention de clones homogènes et productifs. Cependant, les procédés de multiplication asexuée classiques ne sont pas applicables pour cette annuelle d'où le recours à la micropropagation qui constitue le seul moyen pour produire des plantes uniformes de kenaf [6]. En effet, peu de travaux sur la micropropagation d'*Hibiscus cannabinus* L. ont été conduits. Ces travaux ont concerné la régénération *in vitro* de cette espèce à partir d'apex méristématiques [7 ; 8]. D'autres chercheurs ont régénéré le Kenaf à partir des cotylédons [6].

Le présent article présente une tentative d'optimisation d'une technique permettant la production des vitroplants d'*Hibiscus cannabinus* L.

2. Matériel et méthodes

2.1. Matériel végétal

Le cultivar d'*Hibiscus cannabinus* L. Tainung 2 constitue le matériel végétal multiplié *in vitro*. Les explants utilisés pour initier cette culture sont des microboutures, de 1 cm de longueur et portant chacune 1 nœud, prélevés à partir de plantes obtenues par semis et âgées de 45 jours (Fig. A).



A



B



C



D



E

Figure : Etapes de production de vitroplants d'*Hibiscus cannabinus* L.

- A : Explants utilisés pour initier la culture *in vitro*
 B : Vitropousses en phase de multiplication
 C : Vitroplant enraciné avant acclimatation
 D : Vitroplants acclimatés
 E : Plante d'*Hibiscus cannabinus* L.

2.2. Désinfection du matériel végétal

La désinfection des rameaux à partir desquels les explants sont prélevés, constitués par des fragments de tiges de 5 cm de longueur, est réalisée sous hotte à flux laminaire. Le protocole de désinfection a commencé par un trempage du matériel végétal dans de l'éthanol (95%) pendant 10 secondes suivi d'une immersion, pendant 5 minutes, dans une solution de HgCl₂ concentrée à 1%. Après rinçage à l'eau distillée stérile, les explants sont trempés dans une solution d'hypochlorite de sodium (12°) concentrée à 10% pendant 10 minutes sous agitation continue. Enfin, 3 bains de 5 minutes dans de l'eau distillée stérile sont effectués pour éliminer tous les produits utilisés.

2.3. Milieux de culture utilisés

Le milieu de culture de base utilisé lors des différentes phases pour produire des vitroplants d'*Hibiscus cannabinus* L. est constitué de sels minéraux et de vitamines de Murashige et Skoog (1962) (MS) [9]. Le saccharose, à raison de 30 g.l⁻¹, a été additionné à chaque milieu de culture utilisé. L'acide indole butyrique (AIB) et le benzyladénine (BA) sont les deux hormones de croissance utilisées en fonction de l'objectif de chaque étape de culture. Les milieux de culture sont solidifiés à l'agar (6 g.l⁻¹) après ajustement de leurs pH à 5,8.

Pour initier la culture *in vitro* du Kenaf, l'essai a comporté neuf traitements correspondant chacun au milieu de culture de base de Murashige et Skoog (1962) [9] seul ou supplémenté par le ou les 2 hormones à des concentrations différentes (Tab.1).

Pour les essais de multiplication et à la lumière des résultats de l'essai d'initiation, les deux milieux de culture les plus performants (milieu 4 et 6) et un milieu MS sans hormones considéré comme témoin ont été testés.

Les essais d'enracinement ont été conduits sur cinq milieux de culture qui diffèrent par leurs teneurs en sels minéraux, en AIB et dont 1 est additionné d'une substance qui contribue à une meilleure action des auxines, en l'occurrence, la β-cyclodextrine (Tab. 2).

Tableau 1
Compositions des milieux d'initiation de la culture *in vitro* d'*Hibiscus cannabinus* L.

Numéro du milieu de culture	Nature et concentration des hormones (mg.l ⁻¹)
0	MS
1	MS+ 0,25 BA
2	MS+ 0,25 AIB
3	MS+ 0,5 BA+ 0,25 AIB
4	MS+ 0,25 BA+ 0,5 AIB
5	MS+ 1 BA+ 0,25 AIB
6	MS+ 0,25 BA+ 1 AIB
7	MS+ 2 BA
8	MS+ 2 BA+ 0,25 AIB
9	MS+ 2 AIB

Tableau 2
Composition des milieux d'enracinement *in vitro* des vitropousses d'*Hibiscus cannabinus* L.

Sels minéraux	AIB (mg.l ⁻¹)	β-cyclodextrine (mg.l ⁻¹)
MS	0	-
MS	0,25	-
MS	0,5	-
MS/2	0,25	-
MS	0,25	25

2.4. Acclimatation des vitroplants

Les vitroplants produits ont été transférés dans des plaques alvéolées et séparés en cinq lots en fonction du

milieu d'enracinement dont ils sont issus. Le substrat utilisé pour l'ensemble des plantules est constitué de tourbe brune. Les plaques portant les vitroplants ont été placées à l'étouffée sous un film de polyéthylène sur une tablette de serre. La température d'ambiance avoisine 25°C et celle enregistrée au niveau du substrat a été de 20°C.

2.5. Paramètres observés

Les essais d'initiation de la culture ont été évalués après quatre semaines de culture à travers des observations qui ont porté sur le taux de reprise de la végétation *in vitro* des explants mis en culture, le bourgeonnement axillaire, la présence de cals et l'émission hâtive de racines dès ce premier stade de culture.

La multiplication *in vitro* du kenaf a été évaluée, pendant trois subcultures successives de 4 semaines chacune. Les paramètres suivis sont le nombre moyen de bourgeons axillaires, le nombre moyen de nœuds, la longueur des pousses et la présence de cals et de racines sur les vitropousses multipliées.

Pour l'enracinement *in vitro*, après 4 semaines de culture, les observations ont porté sur le taux d'enracinement, le nombre et la longueur des racines.

Concernant l'acclimatation des vitroplants, ceux survécus après leurs transferts aux conditions *ex vitro* ont été comptés après 21 jours de culture.

2.6. Récipients et conditions de culture

La phase d'initiation a été réalisée dans des tubes à essais (diamètre 16 mm, longueur 100 mm). La multiplication et l'enracinement ont été conduits dans des bocaux de 480 ml de volume. Tous les essais ont été conduits dans une chambre de culture à une photopériode de 16 heures de lumière à une intensité de 36 $\mu\text{mole/m}^2/\text{s}$ et une température de 23 ± 1 °C.

2.7. Analyses statistiques

Les essais ont été conduits selon des dispositifs expérimentaux en blocs complètement aléatoires avec trois répétitions. Le facteur de variation pour chaque essai correspond aux différentes concentrations d'hormones utilisées. Chaque unité expérimentale relative à un traitement dans un bloc a comporté 20 explants. L'analyse statistique basée sur l'analyse de la variance ANOVA est réalisée à l'aide du programme « SAS ». Le test Student au seuil de 5 % a servi pour la comparaison des moyennes.

3. Résultats et discussion

La production des vitroplants d'*Hibiscus cannabinus* L. a comporté 04 étapes, en l'occurrence, l'initiation de la culture *in vitro*, la multiplication des pousses produites lors de trois subcultures successives, l'enracinement et, enfin, l'acclimatation des plantules produites.

Lors de la première phase de culture, la reprise de la végétation des explants constitués de microboutures nodales a été générale sur tous les milieux de culture testés. Cependant, la réponse au bourgeonnement axillaire varie en fonction du milieu de culture (Tab. 2). Le nombre limité de pousses axillaires produites qui varie de 1 à 1,38 indique que la caulogénèse axillaire chez *Hibiscus cannabinus* L. est difficile malgré la présence d'une cytokinine (BA) connue comme stimulatrice du bourgeonnement axillaire [10 ; 11]. Toutefois, Ruotello *et al.* [12], montrent les effets d'une autre cytokinine, en l'occurrence, le thidiazuron sur l'induction de multiples centres méristématiques caulinaires à partir d'embryons zygotiques. L'effet du thidiazuron sur la stimulation du bourgeonnement axillaire a été rapporté également par Srivatanakul *et al.* [8]. Néanmoins, l'ajout du thidiazuron dans les milieux de culture a entraîné certains problèmes comme l'obtention des pousses vitrifiées. Dès lors, le nombre de nœuds constitue le paramètre le plus important dans la multiplication de cette espèce puisque, en absence de touffettes de pousses axillaires, les unités de multiplication vont être constituées des microboutures portant chacune un nœud. Ce paramètre varie en fonction de la concentration hormonale du milieu de culture (Tab. 3). En plus du témoin, les milieux 4 et 6 se sont montrés les plus performants puisqu'ils ont favorisé, respectivement, la formation de 2, 22, 3, 17 et 2,56 nœuds. En parallèle, les pousses les plus longues soit : 1,67, 2,67 et 2,66 cm ont été obtenues sur ces deux milieux de cultures.

Malgré la présence hâtive de racines et la présence de minicals à la base des explants, ces milieux ont été adoptés dans les essais de multiplication puisqu'ils ont donné le maximum d'unités de multiplication, en l'occurrence, les microboutures nodales. Le milieu témoin dépourvu d'hormones et ne favorisant pas la formation de cal semble le plus adapté à la multiplication de cette espèce. L'utilisation comme explants des boutures nodales dans des conditions ne permettant pas la différenciation des tissus constitue une garantie pour la conformité de la descendance [6 ; 10].

Selon les résultats présentés au Tab. 4, le comportement des vitropousses varie en fonction des milieux de multiplication en essai. Cependant, le nombre de pousses axillaires obtenues ne diffèrent pas significativement malgré la présence de BA. Cette observation confirme la récalcitrance de ce matériel végétal au bourgeonnement axillaire puisque le nombre de pousses est resté concentré aux alentours de 1. Par

contre, le nombre de nœuds (3,8) et la longueur les plus élevés ont été obtenu sur le milieu témoin (Fig B). Ces résultats corroborent ceux de Srivatanakul, M. *et al.* [8] ainsi que ceux de Hearth *et al.* [13] qui ont remarqué cette récalcitrance au bourgeonnement axillaire et ont utilisé les microboutures nodales dans leur protocole de micropropagation du kenaf. Les milieux 4 et 6 ont confirmé leur effet, favorable à l'allongement de la pousse principale et à la production de nœuds. Cependant,

Tableau 3

Effet de la BA et de l'AIB sur le développement des explants d'*Hibiscus cannabinus* L.

Numéro du milieu de culture	Nature et concentration des hormones (mg.l ⁻¹)	Reprise de Croissance (%)	Nombre des Pousses axillaires	Nombre des nœuds	Longueur des pousses (cm)	Racines (%)	Cal (%)
0	Sans hormones	100	1,38 ab	2,22 ab	1,67 ab	66,66	0
1	0, 25 BA	100	1,22 b	1,82 b	1,13 b	44,44	22,22
2	0,25 AIB	100	1,30 ab	1,15 c	0,85 c	40	0
3	0,5 BA+ 0,25 AIB	100	1,22 b	1,82 b	1,23 b	11,11	33,33
4	0,25 BA+ 0,5 AIB	100	1b	3,17 a	2,67 a	100	66,66
5	1 BA+ 0,25 AIB	100	1,44 ab	1,85b	1,85 ab	28,57	44,44
6	0,25 BA+ 1 AIB	100	1,6 a	2,56 a	2,66 a	70	70
7	2 BA	100	1,2 b	1,2 c	0,68 c	0	10
8	2 BA+ 0,25 AIB	100	1,2 b	1,4 b	0,52 c	0	70
9	2 AIB	100	1,1 b	1,6 b	1,37 b	100	0

Racines % : pourcentage d'explants ayant formé des racines. Cals % : pourcentage d'explants ayant formé des cals.

Les moyennes de la même colonne suivies de la même lettre ne diffèrent pas entre elles selon le test Student au seuil de 5 %.

Tableau 4

Effet de la BA et de l'AIB sur la multiplication in vitro de vitropousses d'*Hibiscus cannabinus* L.

Numéro du milieu de culture	Nature et concentration Des hormones (mg.l ⁻¹)	Nombre des Pousses axillaires	Nombre des nœuds	Longueur des pousses (cm)	Racines (%)	Cal (%)
0	Sans hormones	1 a	3,8 a	5,26 a	100	0
4	0, 25 BA+ 0,5 AIB	1 a	2,66 b	4,42 b	90	40
6	0,25 BA+ 1 AIB	1,2 a	2,44 b	5,21 a	90	53,33

Les moyennes de la même colonne suivies de la même lettre ne diffèrent pas entre elles selon le test Student au seuil de 5 %.

Les essais d'enracinement *in vitro* ont abouti à une rhizogénèse chez toutes les pousses mises en culture (Fig. C) (Tab. 5). Le nombre de racines le plus élevé qui atteint 9.22 racines par vitroplant est obtenu sur le milieu MS additionné de 0.25 mg.l⁻¹ d'AIB et de 25 mg.l⁻¹ de β -cyclodextrine. Les racines les plus longues ont été obtenues sur le même milieu et sur le milieu MS dilué à moitié. En effet et selon plusieurs auteurs, un milieu appauvri en sels minéraux favorise l'allongement des racines [10 ; 14]. Le milieu contenant 0,5 mg.l⁻¹ d'AIB est moins favorable à la formation et à l'allongement des racines chez les vitroplants d'*Hibiscus cannabinus* L. puisque les valeurs obtenues sont les plus faibles soit 5,5

la présence de cals à la base d'environ la moitié des vitropousses constitue un risque sur la conformité génétique des pousses produites. En effet, l'organogénèse indirecte c'est-à-dire à partir de cal est souvent l'origine d'apparition de mutants [10]. Dès lors, après confirmation de ces observations, lors de trois subcultures successives, le milieu de MS (1962) dépourvu d'hormone a été retenu pour la multiplication des vitropousses d'*Hibiscus cannabinus*. L.

racines d'une longueur moyenne de 1,29 cm. Le témoin et le milieu MS supplémenté de 0,25 mg.l⁻¹ d'AIB ont été à l'origine de résultats intermédiaires. Il est à noter, que l'auxine est connue pour ces propriétés de stimulation de la rhizogénèse. Cependant, elle peut avoir un effet inverse lorsqu'elle est additionnée à forte dose et peut même conduire à la létalité des vitropousses [10 ; 14].

D'après les résultats présentés, l'addition de β -cyclodextrine au milieu de culture améliore la rhizogénèse. Selon Bettaieb *et al.* [14], cet additif agit comme agent de prolongation de la stabilité des auxines considérées comme molécules labiles. En effet, les cyclodextrines sont des molécules-cages qui peuvent

encapsuler certaines molécules organiques grâce à leur cavité apolaire. La stabilisation énergétique de ce système, par le remplacement dans la cavité des molécules d'eau à haute enthalpie par des molécules hydrophobes créant des associations apolaires-apolaires, Tableau 5

Effet de l'AIB sur l'enracinement in vitro des vitropousses d'*Hibiscus cannabinus* L.

Sels minéraux	AIB (mg.l-1)	β -cyclodextrine (mg.l-1)	Racines (%)	Nombre des racines	Longueur moyenne des racines (cm)
MS	0	-	100	8,67 b	1,93a
MS	0,25	-	100	8,66 b	1,46 b
MS	0,5	-	100	5,50 c	1,29 b
MS/2	0,25	-	100	8,55 b	2,05 a
MS	0,25	25	100	9,22 a	1,90 a

Les moyennes de la même colonne suivies de la même lettre ne diffèrent pas entre elles selon le test Student au seuil de 5 %.

L'essai d'acclimatation a montré que les plantules de kenaf, issues des cinq milieux d'enracinement, n'ont pas de problèmes d'adaptation *ex vitro*. En effet, le taux de réussite des plantes transplantées est de 100 % quel que soit le milieu d'enracinement d'où elles proviennent et aucun signe de malformation n'a été observé sur les vitroplants d'*Hibiscus cannabinus* L. acclimatés (Figure D).

4. Conclusion

La micropropagation du Kenaf (*Hibiscus cannabinus* L.) est possible à partir de microboutures de 1 cm de longueur portant chacune un nœud. L'initiation et la multiplication *in vitro* de cette plante sont réalisées sur un milieu de base MS sans hormones qui permet l'obtention de 3,8 nœuds par explants et par mois.

L'enracinement des vitropousses est obtenu après un séjour de quatre semaines dans un MS additionné de 0.25 mg.l-1 d'AIB et de 25 mg.l-1 de β -cyclodextrine qui favorise la formation de 9.22 racines par vitroplant d'une longueur moyenne de 1,9 cm.

L'acclimatation des vitroplants d'*Hibiscus cannabinus* L., réalisée à l'étouffée sur la tourbe brune, ne pose pas de problèmes particuliers puisque la survie de plantules a été générale et la croissance a été uniforme quelque soit le milieu d'enracinement d'où ils proviennent.

Cette voie de micropropagation du Kenaf (*Hibiscus cannabinus* L.) permettant une obtention massive de vitroplants pourrait être exploitée dans les programmes de sélection clonale et dans la production de plantes uniformes.

constitue la principale force provoquant la formation de complexe cyclodextrine-molécule organique. Dès lors, cette formation, sans aucune liaison covalente, peut se dissocier et libérer la molécule encapsulée sans que ses propriétés ne soient affectées [15 ; 16].

Références

- [1] A. Khatun. Proceedings of the Application of Biotechnology in the Improvement of Jute, kenaf and Allied Fibers-Phase II. IJO Project, Dec. 15-17, Beijing, China (1999) 21-27.
- [2] D. Kumar. Possibility of commercial utilization of residual heterosis in Kenaf (*Hibiscus cannabinus* L.). Indian Journal of Genetics and Plant Breeding. May 59 (1999) 227-232.
- [3] S. Arbaoui et H. Ben Haj Salah. Effets de la qualité de l'eau d'irrigation sur le rendement et la qualité d'une plante industrielle: le kenaf (*Hibiscus cannabinus* L.). Revue de l'INAT, 26 (2012) 34-39
- [4] S.B. Babatunde et K.A. Raji . Phytoremediation potential of kenaf (*Hibiscus cannabinus* L.) grown in different soil textures and cadmium concentrations. African Journal of Environmental Science and Technology. 4 (2010) 250-255
- [5] L.G Angelini et M. Macchia. Screening of kenaf (*Hibiscus cannabinus* L.) genotypes for low temperature requirements during germination and evaluation of feasibility of seed production in Italy. Field Crops Research, 59 (1998) 73-79.
- [6] A. Khatun, N. Zabun, M. Shirin, K. Chandan et B. Shana. An efficient protocol for plant regeneration from the cotyledons of kenaf (*Hibiscus cannabinus* L.). Biotechnology, 2 (2003) 86-93.
- [7] C. Zapata , M.M. Srivatanakul, S.H. Park , B.M. Lee., M.G. Salas et R.H Smith. Improvements in shoot apex regeneration of two fiber crops: Cotton and kenaf. Plant Cell Tissue Org. Cult., 56 (1999) 185-191
- [8] M. Srivatanakul, S. Park, J. Sanders, M. Salas et R. Smith. Multiple bud regeneration of kenaf (*Hibiscus cannabinus* L.) from bud apex culture system. Plant Cell Rep, 19 (2000) 1165-1170.
- [9] T. Murashige et F. Skoog. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. Physiol. Plant., 15 (1962) 473-497.
- [10] J.M. Favre. Rhizogenèse et bouturage. In: La multiplication végétative des plantes supérieures. Ed. Chaussat R., Bigot C., Gauthier-Villars, Bordas, Paris (1980) 51-75.
- [11] T. Gaspar. Rooting and flowering, two antagonistic phenomena from a hormonal point of view. In: Aspects and prospects of plant growth regulators. Ed. B. Jeffcoat, British Plant Growth Regulator Group, Wantage, 6 (1981) 39-49.
- [12] G. Ruotolo, A. Del Toro, P. Chiaiese et E. Fillipone. Multiple buds are an alternative target to genetic manipulation of kenaf (*Hibiscus cannabinus* L.), Industrial Crops and Products, 34 (2011) 937-942.

[13] S.P Herath, T. Suzuki, K. Hattori. Multiples shoot regeneration from young shoots of kenaf (*Hibiscus cannabinus* L.), Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 77 (2004) 49-53.

[14] T. Bettaieb, M. Mhamdi et I. Hajlaoui. Micropropagation of *Nolina recurvata* Hemsl.: β -Cyclodextrin effects on rooting. Scientia Horticulturae, 117(2008) 366-368.

[15] N. Bellanger, F. Djedaini-Pillard, P. Berthault et B. Perley. Les cyclodextrines : des écrins moléculaires. Phases Magazine 9 (1992).

[16] F. Tsorteki, k. Bethanis et D. Mentzafos. Structure of the inclusion complexes of heptakis (2,3,6-tri-O-methyl)- β -cyclodextrin with indole-3-butyric acid and 2,4 dichlorophenoxyacetic acid. Carbohydrate Research 339 (2004) 233-240.