Zeitschrift: Archives des sciences [1948-1980]
Herausgeber: Société de Physique et d'Histoire Naturelle de Genève
Band: 20 (1967)
Heft: 1

Artikel: Recherches sur le développement des tissus végétaux cultivés in vitro dans ses rapports avec l'utilisation du glucose et l'action de la lumière

Autor: Naef, Jaques

Kapitel: V: Résultats

DOI: https://doi.org/10.5169/seals-739382

Nutzungsbedingungen
Die ETH-Bibliothek ist die Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften auf E-Periodica. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Zeitschriften und ist nicht verantwortlich für deren Inhalte. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern beziehungsweise den externen Rechteinhabern. Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen sowie auf Social Media-Kanälen oder Webseiten ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. Mehr erfahren

Conditions d'utilisation
L'ETH Library est le fournisseur des revues numérisées. Elle ne détient aucun droit d'auteur sur les revues et n'est pas responsable de leur contenu. En règle générale, les droits sont détenus par les éditeurs ou les détenteurs de droits externes. La reproduction d'images dans des publications imprimées ou en ligne ainsi que sur des canaux de médias sociaux ou des sites web n'est autorisée qu'avec l'accord préalable des détenteurs des droits. En savoir plus

Terms of use
The ETH Library is the provider of the digitised journals. It does not own any copyrights to the journals and is not responsible for their content. The rights usually lie with the publishers or the external rights holders. Publishing images in print and online publications, as well as on social media channels or websites, is only permitted with the prior consent of the rights holders. Find out more

Download PDF: 01.11.2025

ETH-Bibliothek Zürich, E-Periodica, https://www.e-periodica.ch

La culture a duré 43 jours après quoi nous avons déterminé le poids frais de chaque explantat qui avait proliféré. Ces derniers étaient ensuite stabilisés.

Le milieu de culture resté dans les tubes était repris, son volume mesuré et complété à la valeur initiale .Les dosages étaient alors immédiatement entrepris et nous obtenions la valeur du glucose résiduel par unité de volume correspondant à une colonie. Par différence avec le poids de sucre fourni initialement, nous connaissions la valeur du glucose disparu donc consommé par les tissus. Nous avons ainsi procédé à 12 dosages.

Par la suite, nous avons fait des extractions et des dosages des glucides solubles des explantats selon la méthode indiquée plus haut. Cette méthode permet donc d'obtenir le poids de glucose, de saccharose et de fructose. La totalité des tissus récoltés correspondant à une dose de glucose était utilisée pour chaque dosage. Il s'est trouvé que pour les faibles doses de glucose fournies aux tissus, la limite de sensibilité de la méthode était atteinte lorsque nous disposions de moins de 10 g de matière fraîche. Nous avons dû recourir dans certains cas à un microdosage selon la méthode de Bertrand.

Annexe

Effet d'une température différente sur les colonies de tissus de Carotte cultivées à la lumière et à l'obscurité.

Principe

Pour toutes nos expériences nous avons maintenu la température constante afin de ne pas introduire une variable supplémentaire. Toutefois nous voulions savoir si l'effet d'une température élevée pouvait être néfaste pour des colonies cultivées à la lumière.

Mode opératoire

Nous avons préparé des explantats selon la méthode classique que nous avons placés sur le milieu de culture habituel. Le glucose était fourni en doses croissantes allant de 0,25 g % à 6 g %. Pour chaque concentration de glucose nous avons préparé deux lots de 12 tubes. L'un était disposé à la lumière dans une cabine climatisée à 31° C, l'autre était mis à l'obscurité dans une autre cabine dont la température était réglée à 26° C. Nous avons déterminé le poids frais et le poids sec après 79 jours de culture dans ces conditions.

Chapitre V — RÉSULTATS

A. Souche chlorophyllienne de tissu cambial de carotte.

Rôle de la concentration du sucre offert aux tissus

Considération préliminaire.

Pour les tissus cultivés à la lumière on constate, si l'on choisit comme critère

de croissance le poids frais, que celui-ci augmente en fonction de la dose de glucose, passe par un maximum pour une dose de 3 ou 3,5 g% et diminue ensuite (voir fig. 1, 4, 6). Pour la dose la plus forte (6%) la valeur de poids frais est supérieure à celle qui

TABLEAU 2

Poids sec % mg de poids frais

Concentration de glucose fourni en g %	Moyenne des expériences A 110, 111, 117		Moyenne des expériences A 116, 118, 119	
	Tissus cultivés		Tissus cultivés	
	à la lumière	à l'obscurité	à la lumière	à l'obscurité
0,25	5,15	4,18	4,85	3,84
0,5	5,07	4,71	4,97	4,49
0,75	5,78	4,88	4,83	4,60
1	6,52	5,18	5,25	5,00
1,5	6,70	5,72	5,72	5,55
2	6,93	6,17	6,22	5,73
2,5	7,18	6,83	6,46	6,45
3	7,87	6,83	6,92	6,84
3,5	8,50	7,59	7,34	7,07
4	9,25	7,70	7,79	7,44
4,5	10,75	8,82	—	—
5	10,46	8,81	8,86	8,80
5,5	12,08	9,87	—	—
6	12,25	10,40	9,59	9,02

est obtenue pour la dose la plus faible (0,25%). Cela confirme les travaux de Gautheret [15, 19] à ce sujet. Les tissus cultivés à l'obscurité ne présentent pas un optimum net pour une concentration de sucre. Le poids frais augmente légèrement puis semble se stabiliser pour des doses comprises entre 2 et 4 g%; ensuite il diminue un peu aux concentrations plus élevées.

Rôle de la concentration du sucre offert sur la teneur en eau et le poids sec.

A la lumière, une concentration croissante de glucose diminue la teneur en eau relative, (voir tableau 3, 4). L'hydration, c'est-à-dire la quantité d'eau par unité de poids sec, diminue également (voir tableau 5).

A l'obscurité on observe également une diminution de la teneur en eau relative. De même pour l'hydratation (voir tableau 5). Réciproquement, la matière sèche augmente à la lumière en fonction de la dose glucose.

A l'obscurité on constate le même phénomène. Les valeurs obtenues sont cependant un peu plus faibles qu'à la lumière.

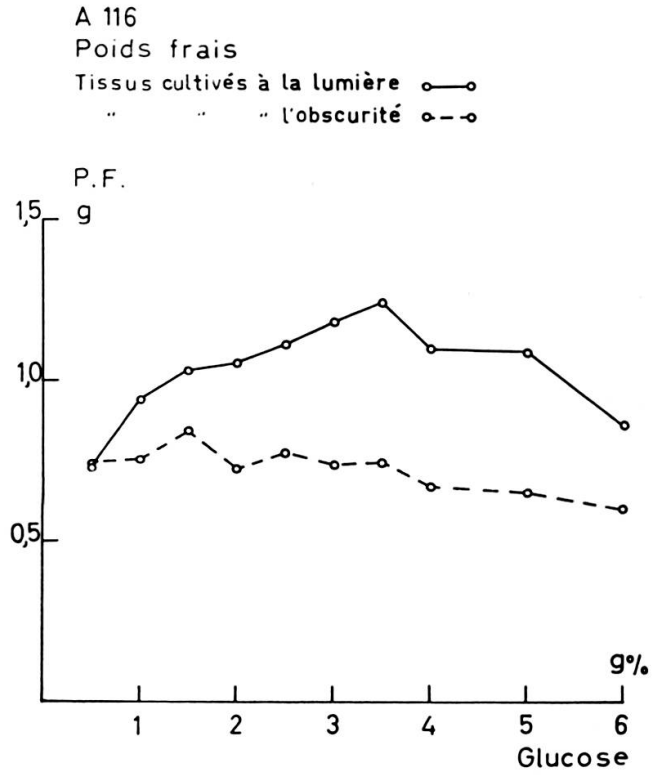

Fig. 1.
Variations de l'accroissement (poids frais) de tissus de Carotte cultivés *in vitro* dans des milieux contenant diverses doses de glucose.

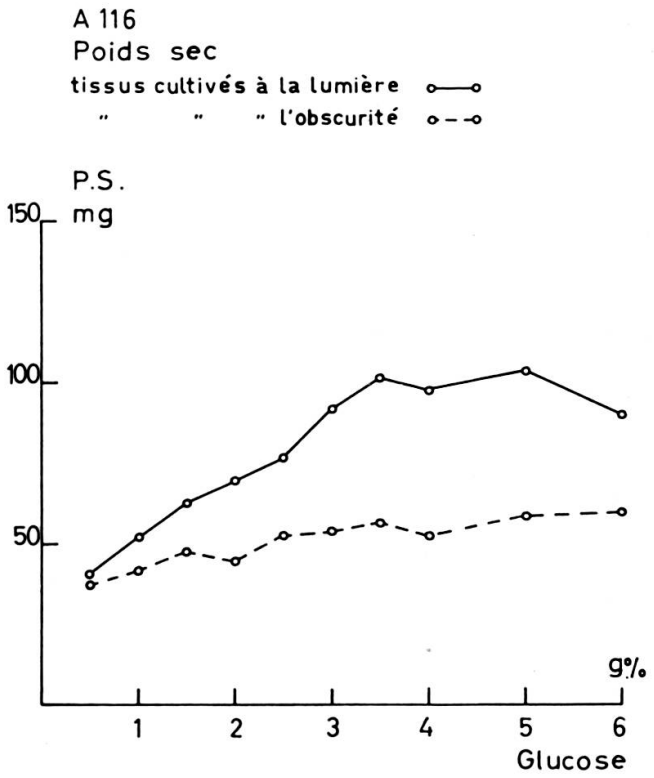

Fig. 2.
Variations de l'accroissement (poids sec) de tissus de Carotte cultivés *in vitro* dans des milieux contenant diverses doses de glucose.

TABLEAU 3

Teneur en eau des tissus

Moyenne des résultats de trois expériences: A 116, 118, 119

Concentration de glucose fourni en g %	Tissus cultivés à la lumière		Tissus cultivés à l'obscurité	
	Teneur en eau absolue en mg/colonie	%	Teneur en eau absolue en mg/colonie	%
0,25	689,9	95,96	543,3	96,15
0,5	763,9	95,14	658,4	95,66
0,75	974,9	95,30	672,8	95,43
1	939,8	94,88	718,2	95,02
1,5	1077,5	94,41	745,1	94,91
2	1136,1	94,08	743,6	94,32
2,5	1249,8	93,62	761,8	93,48
3	1280,4	93,35	775,5	92,93
3,5	1302,9	92,87	743,6	93,53
4	1251,7	92,37	677,1	92,57
5	1080,8	91,30	548,9	90,75
6	859,5	90,65	629,7	91,35

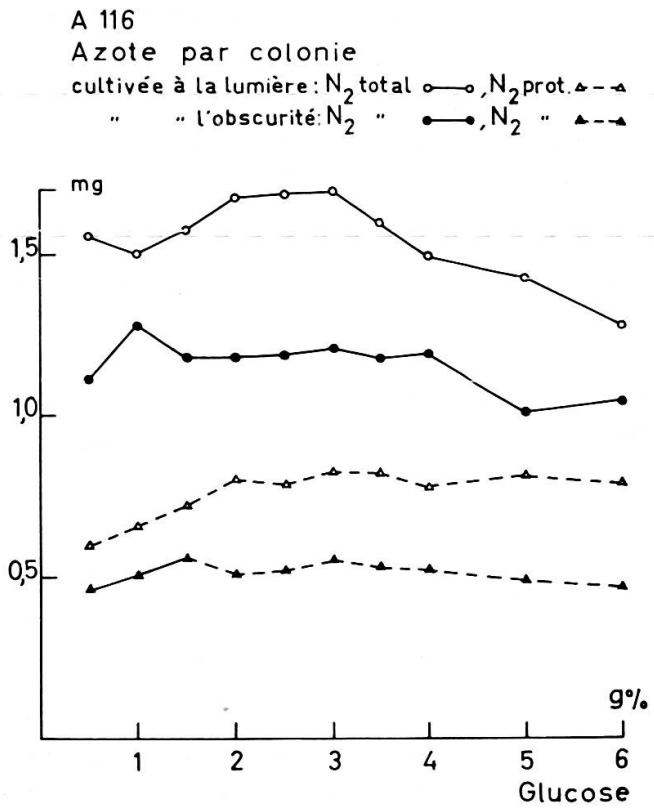

Fig. 3.

Variations de la teneur en azote par colonie tissulaire de Carotte cultivée *in vitro* sur un milieu contenant diverses doses de glucose.

TABLEAU 4

Teneur en eau des tissus

Moyenne des résultats de trois expériences: A 110, 111, 117

Concentration de glucose fourni en g %	Tissus cultivés à la lumière		Tissus cultivés à l'obscurité	
	Teneur en eau absolue en mg/colonie	%	Teneur en eau absolue en mg/colonie	%
0,25	496,2	94,83	577,9	95,51
0,5	548,7	94,90	689,5	95,29
0,75	598,5	94,22	681,5	95,11
1	634,6	93,55	804,2	95,76
1,5	786,0	93,29	750,7	94,24
2	944,8	93,05	737,8	93,85
2,5	1034,2	92,71	677,2	93,25
3	1117,4	92,17	775,2	92,78
3,5	1128,3	91,50	689,5	92,39
4	989,9	90,64	734,4	92,30
4,5	940,9	89,23	485,1	91,18
5	890,4	89,73	632,5	91,25
6	858,7	87,92	458,1	89,70

TABLEAU 5

Hydratation des tissus

Poids d'eau par mg de matière sèche

Glucose fourni g %	Moyenne des expériences A 110, 111, 117		Moyenne des expériences A 116, 118, 119	
	Tissus cultivés		Tissus cultivés	
	à la lumière	à l'obscurité	à la lumière	à l'obscurité
0,25	18,36	21,31	23,82	25,12
0,5	18,79	20,25	19,63	22,10
0,75	16,29	19,46	20,27	20,95
1	14,53	22,60	18,54	19,11
1,5	13,91	16,35	16,89	18,70
2	13,40	15,27	15,90	16,65
2,5	12,72	13,82	14,69	16,04
3	11,77	12,85	14,06	13,15
3,5	10,77	12,14	13,03	14,48
4	9,69	11,99	12,10	12,48
4,5	8,30	10,34	—	—
5	8,74	10,43	10,49	9,82
6	7,79	8,71	9,70	10,57

Rôle de la lumière sur la croissance (sensu lato) des tissus par comparaison avec ceux qui sont cultivés à l'obscurité.

Nous considérons ce rôle d'après les critères suivants: le poids frais, le poids sec, l'azote et les sucres incorporés.

La masse tissulaire prise dans son ensemble est d'abord estimée par son poids frais. Il intègre donc l'hydratation, le poids sec, l'azote et les sucres.

L'effet de la lumière sur le poids frais est le suivant: quelle que soit la concentration du sucre offert, le poids frais est plus élevé à la lumière. L'hydratation, le poids sec, l'azote et les sucres ont également des valeurs plus grandes. On remarque que la différence est surtout sensible pour des doses de sucre supérieures à 1,5%.

Nous avons choisi un autre moyen de comparaison qui consiste à exprimer le poids frais des tissus cultivés à l'obscurité pour 100 mg de matière fraîche cultivée à la lumière, ou l'inverse, soit le poids frais des tissus cultivés à la lumière pour 100 mg de tissus frais cultivés à l'obscurité. Nous avons fait de même avec le poids sec.

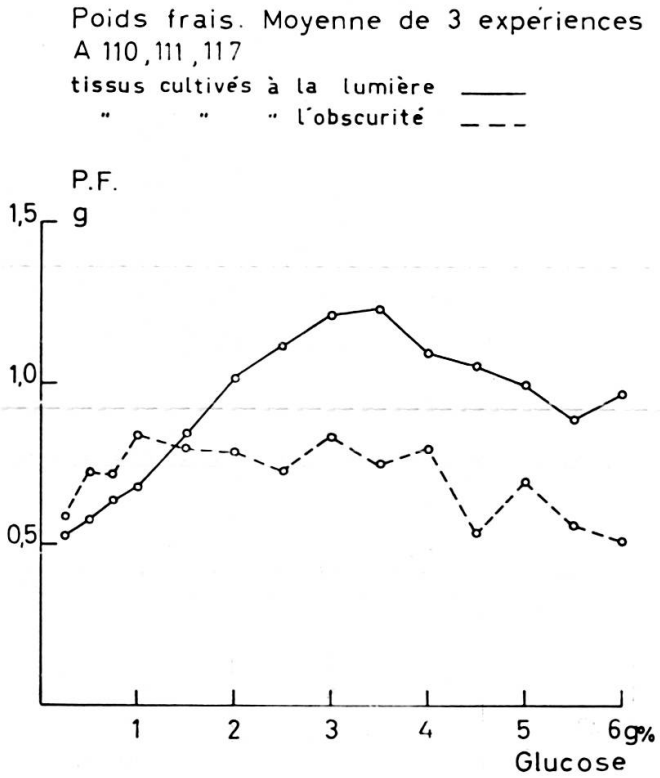

Fig. 4.

Variations de l'accroissement (poids frais) de tissus de Carotte cultivés *in vitro* pendant 60 ± 3 jours dans des milieux contenant diverses doses de glucose. Moyenne des résultats de trois expériences.

L'examen du tableau 6 montre que les tissus cultivés à l'obscurité représentent 125 et 85% du poids frais des tissus cultivés à la lumière lorsque le milieu contient 0,5% de sucre. Si la dose de glucose augmente, ce pourcentage diminue pour se stabi-

liser à partir de 2% de glucose à une valeur variant entre 50 et 60%. Il semble donc que pour de faibles doses, l'action du sucre ne soit pas très remarquable.

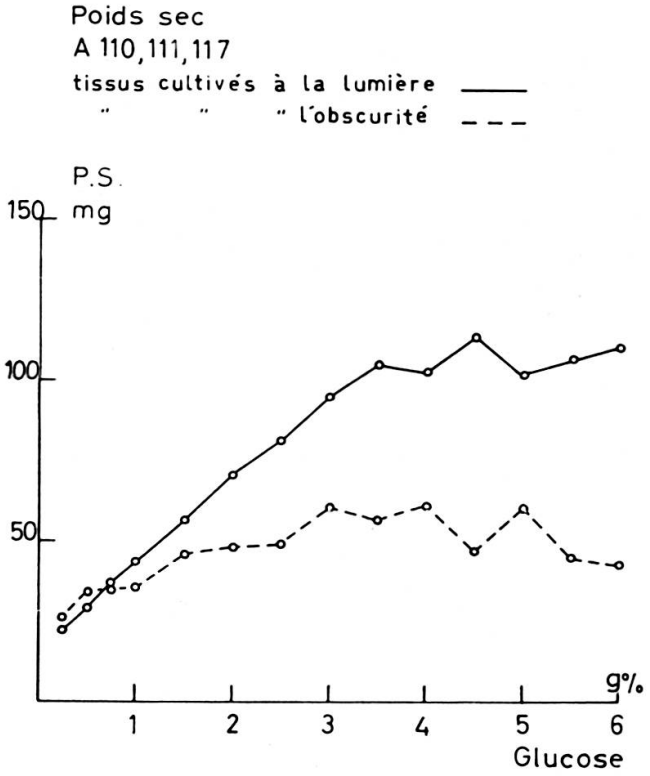

Fig. 5.
Variations de l'accroissement (poids sec) de tissus de Carotte cultivés *in vitro* pendant 60 ± 3 jours dans des milieux contenant diverses doses de glucose. Moyenne des résultats de trois expériences.

Par contre pour des concentrations plus élevées, il paraît bien que la lumière influence la croissance puisque les tissus cultivés à l'obscurité ne représentent en moyenne que le 60% du poids des tissus cultivés à la lumière.

Rôles complémentaires

Lorsqu'on compare les résultats d'une expérience à l'autre, on est obligé de prendre en considération simultanément les effets du glucose et de la lumière ou ceux du glucose et de l'obscurité. Dans certains cas nous avons donc réparti les résultats en deux groupes. L'un réunit les valeurs tirées des expériences A 110, 111, 117; il correspond à des cultures de 60 ± 3 jours. L'autre comprend les résultats acquis au moyen des expériences A 116, 118, 119; la durée était de 47 ± 2 jours (voir fig. 4 à 7).

Ce qui paraît constant, c'est que les phénomènes généraux se retrouvent dans chaque expérience à quelques différences quantitatives près. Les cultures réalisées à la lumière ont un poids frais qui semble dépendre assez régulièrement de la dose de glucose fournie. Ce poids augmente jusqu'à la dose de 3,5% puis diminue.

TABLEAU 6

Concentration de glucose fourni en g %	Poids frais des tissus cultivés à l'obscurité % g de tissus frais cultivés à la lumière		Poids sec des tissus cultivés à l'obscurité % g de tissus secs cultivés à la lumière	
	Moyenne des expériences A 110, 111, 117	Moyenne des expériences A 116, 118, 119	Moyenne des expériences A 110, 111, 117	Moyenne des expériences A 116, 118, 119
0,25	111,63	78,59	96,89	74,69
0,5	125,19	85,71	116,61	75,56
0,75	112,79	68,94	95,31	66,81
1	123,80	76,30	81,45	74,15
1,5	94,55	68,78	81,21	62,46
2	74,42	64,74	68,51	62,51
2,5	65,10	61,04	60,28	62,34
3	68,91	60,84	63,55	64,77
3,5	60,52	56,76	54,20	51,35
4	72,85	53,97	59,93	52,43
4,5	50,46	—	41,40	—
5	69,84	51,08	59,50	54,24
5,5	63,17	—	51,60	—
6	52,70	72,70	47,73	67,23

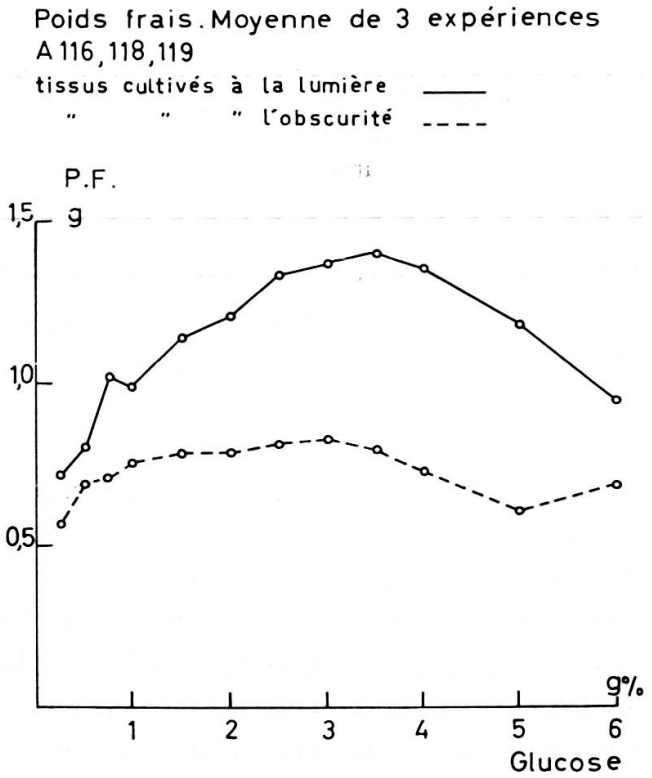

Fig. 6.

Variations de l'accroissement (poids frais) de tissus de Carotte cultivés *in vitro* pendant 47 ± 2 jours dans des milieux contenant diverses doses de glucose. Moyenne des résultats de trois expériences.

Les colonies maintenues à l'obscurité ne manifestent pas une variation très grande en fonction du sucre offert. Leur poids frais aumgente légèrement aux concentrations de glucose comprises entre 0,25 et 1 %, puis se stabilise et diminue un peu aux doses de 5 à 6 %.

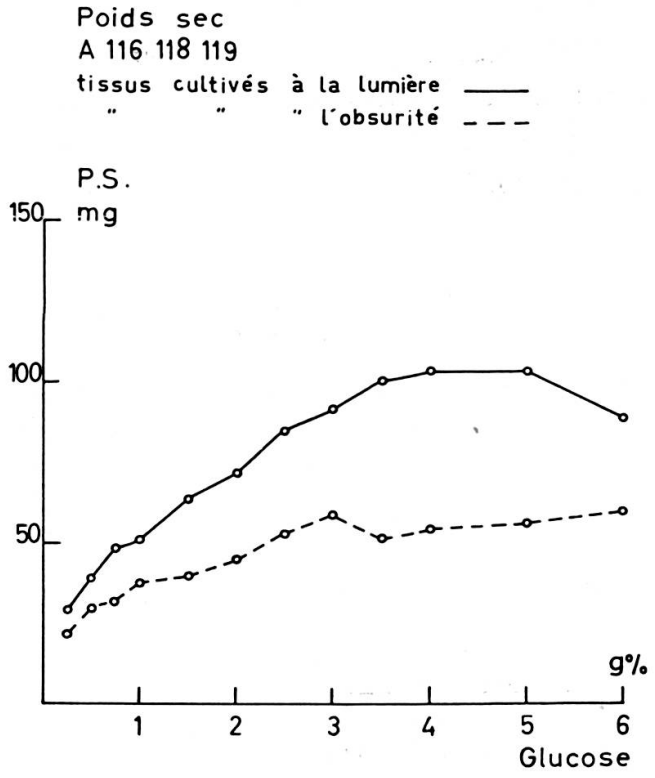

Fig. 7.
Variations de l'accroissement (poids sec) de tissus de Carotte cultivés *in vitro* pendant 47 ± 2 jours dans des milieux contenant diverses doses de glucose. Moyenne des résultats de trois expériences.

Les résultats ne sont pas exactement superposables mais il ne fait aucun doute que le lumière favorise l'augmentation du poids frais. Il semble que les colonies plus âgées ont un peu régressé puisque le maximum s'élève à 1,5 g pour les colonies de 47 jours et 1,23 pour celles de 60 jours.

Le poids sec varie dans des limites beaucoup plus étroites (voir tableau 2). A la lumière, en fonction de la dose de glucose, il augmente de façon presque exponentielle puis il se stabilise à partir d'une dose de 3,5 % ou augmente même un peu. Il diminue légèrement dans un groupe de trois expériences (A 110, 111, 117; voir fig. 5), mais sans atteindre une valeur inférieure à celle que l'on obtient avec 3 % de glucose. A l'obscurité, ces valeurs montrent aussi une augmentation en fonction de la dose de glucose mais beaucoup plus atténuée. Le poids sec augmente jusqu'à une concentration de 3 % de sucre puis il ne varie plus beaucoup. Ces valeurs restent faibles. Il semble que l'accumulation de matière sèche ne varie pas beaucoup entre des cultures âgées de 47 ou de 60 jours.

Pour ce critère également, on remarque que la production de matière est fortement stimulée par la lumière, surtout aux concentrations élevées de glucose, sans toutefois dépasser un certain niveau. Il semble que l'apport de sucre exogène se manifeste surtout à partir d'une certaine concentration et qu'il agisse en complétant l'autotrophie relative des tissus.

Les quantités d'azote dosées dans les tissus ne semblent pas être très nettement influencées par les doses de sucre fournies. Chez les colonies éclairées on distingue toutefois (voir fig. 3) un maximum pour la valeur de l'azote total à une concentration de 3% de glucose, suivi d'une baisse sensible. Chez ces mêmes tissus on voit que

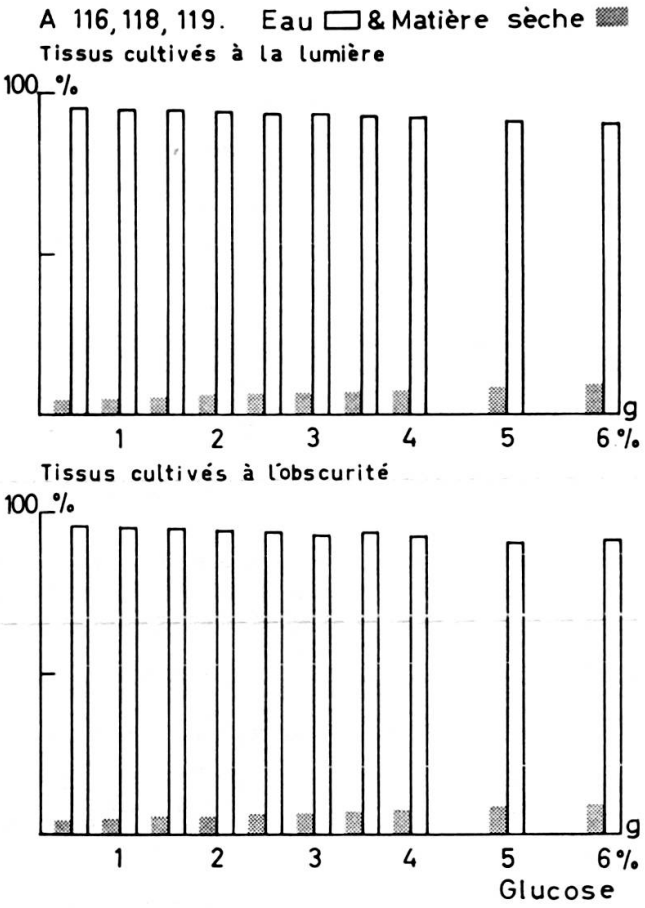

Fig. 8.

Teneur en eau et en matière sèche de tissus de Carotte cultivés *in vitro* pendant 47 ± 2 jours dans des milieux contenant diverses doses de glucose. Moyenne des résultats de trois expériences.

l'azote protéique s'élève un peu puis se stabilise. Les tissus placés à l'obscurité ont une quantité d'azote protéique preque constante, quel que soit l'apport de sucre.

Les quantités d'azote sont nettement plus élevées chez les tissus éclairés que chez ceux qui prolifèrent à l'obscurité.

Part probable de la fonction chlorophyllienne.

Dosage des chlorophylles

Nous avons dosé les chlorophylles a et b des colonies de tissu de Carotte exposées à la lumière, cultivées dans les conditions décrites antérieurement. Nous avons déjà signalé [52] d'une part que le tissu cambial de Carotte élabore de la chlorophylle en quantité appréciable et d'autre part que la quantité de chlorophylle b est importante par rapport à la chlorophylle a. Ces quantités respectives de pigments photosynthétiques sont naturellemnt faibles par rapport à la masse tissulaire mais elles sont conformes à la nature parenchymateuse des cellules. Il ne semble pas qu'il soit possible d'obtenir des souches encore plus riches en chlorophylle que celles que nous avons utilisées. Par contre, il paraît assez certain que le taux de chlorophylle varie en fonction de l'âge des cultures. En partant de colonies âgées successivement de 47, 96 et 101 jours qui provenaient d'un même repiquage, nous avons

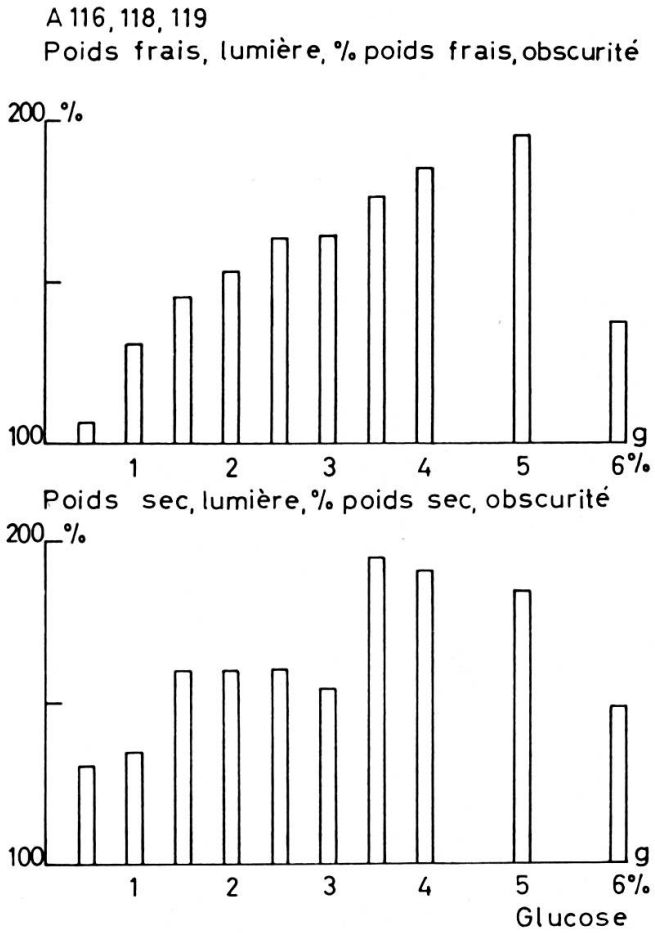

Fig. 9.

Variations de l'accroissement (poids frais et poids sec) de tissus de Carotte cultivés *in vitro* à la lumière pour 100 g de mêmes tissus cultivés à l'obscurité dans des milieux contenant diverses doses de glucose. Moyenne des résultats de trois expériences.

constaté que les tissus les plus jeunes renfermaient le plus de chlorophylle alors que les tissus plus âgés en contenaient le moins. Cependant ces résultats n'étaient pas exactement comparables à ceux d'autres dosages. Cela indique que les variations entre les prises d'essai sont assez grandes selon les extraits. Ces variations sont dues soit à des pertes qui surviennent lors de l'extraction soit surtout à cause de la variabilité des échantillons eux-mêmes.

TABLEAU 7

Teneur en chlorophylles exprimée en mg/100 g de différents lots de tissus de Carotte

	Extraits provenant d'une même série d'explantats			Extraits provenant d'explantats différents		
Age en jours .	47	91	97	49	96	101
Chy *a*	1,957	1,597	1,439	2,028	2,615	0,928
Chy *b*	0,966	0,627	0,703	0,554	1,063	0,454

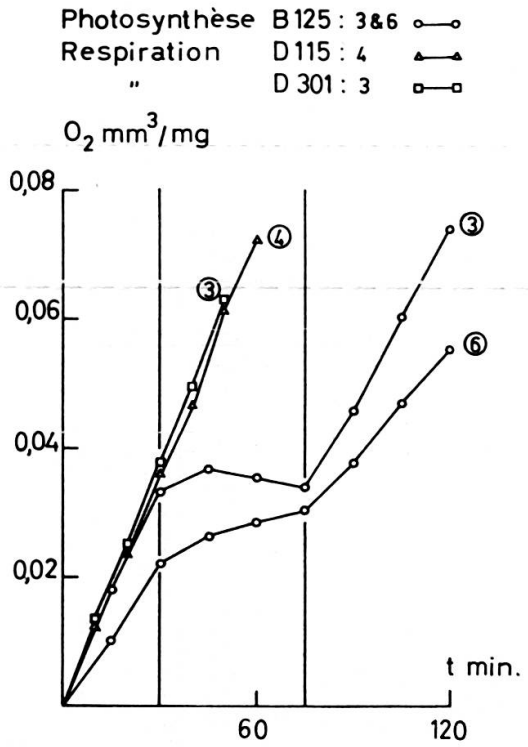

Fig. 10.

Mesure de la photosynthèse : Variations de la consommation d'oxygène par unité de tissus frais de Carotte placés à l'obscurité pendant 30 minutes, à la lumière pendant 45 minutes, puis à l'obscurité pendant 45 minutes.

Mesure de la respiration : Variations de la consommation d'oxygène par unité de tissus frais de Carotte chlorophylliens (triangles) ou étiolés (carrés) maintenus respectivement pendant 60 et 50 minutes à l'obscurité.

Il ressort de la lecture du tableau 7 que les quantités de pigment sont assez variables, mêmes si les extraits correspondent à des tissus qui ont sensiblement le même âge.

Ces dosages nous permettent de considérer la photosynthèse des tissus de Carotte sur la base d'une expression quantitative et non pas simplement en estimant l'intensité de leur couleur.

Mesures de la photosynthèse.

Résultats

De tous les essais que nous avons entrepris, seul quelques résutats suffisamment démonstratifs seront commentés.

Certains mélanges que nous avons faits pour les mesures de photosynthèse semblent avoir été favorables aux tissus, d'autres au contraire, peu ou pas du tout. Les résultats que nous avons comparés entre eux (voir fig. 10), se rapportent tous à des colonies entières plongées dans le milieu de mesure.

Pour les expériences B 110 à 116, nous avons toujours utilisé le mélange tampon d'Emerson et Chalmers (K_2CO_3 — $NaHCO_3$). Nous avons utilisé le tampon de Stauffer sans succès pour deux expériences (B 117 et 118). Dès le début des mesures, nous observions un dégagement gazeux.

Pour l'expérience B 119 nous avons préparé trois solutions différentes. Seul le mélange d'Emerson-Chalmers permettait d'observer une consommation d'oxygène importante. Dans le mélange de Pratt modifié, les colonies manifestaient des échanges très faibles et dans celui de Stauffer on n'observait que de très petites variations manométriques non constantes.

TABLEAU 8

Oxygène dégagé au cours de la photosynthèse

Expérience	O_2 dégagé ml O_2/mg/min.	Respiration O_2 absorbé ml O_2/mg/min.
B 125 n° 3	0,001113	0,00104
B 125 n° 6	0,000595	0,000840
B 125 n° 2	0,000469	0,000526
B 119 n° 9	0,000667	0,000667
B 119 n° 11	0,000795	0,000767
B 116 n° 9	0,000726	0,000616

Les deux expériences suivantes, B 120 et 121 nous ont montré que l'emploi d'un chélateur tel que l'EDTA n'est pas favorable. Le pH du milieu est bien abaissé vers une valeur se rapprochant de celle du milieu de culture, mais les

échanges gazeux sont perturbés. Nous avons observé par exemple dans certains cas une élévation manométrique pendant la période obscure au lieu d'une dépression indiquant une consommation d'oxygène.

Pour les trois dernière expériences, nous avons utilisé uniquement le mélange tampon d'Emerson-Chalmers, dans des proportions qui étaient quelque peu modifiées dans certains cas. Cela nous a permis de faire des mesures tout à fait régulières.

Les variations manométriques des trois premières expériences étaient faibles. Nous avons donc augmenté le volume du liquide dans les fioles et utilisé des colonies entières. Ceci nous a donné de meilleurs résultats. Il nous semblait que la lumière n'était pas assez forte car nous n'observions pas de dégagement gazeux au cours de la phase éclairée. Nous avons fait faire des aménagements à l'appareil dont nous disposions pour obtenir finalement un éclairement d'environ 4760 lux à 20 cm. La dernière expérience B 125 a pu être réalisée dans ces conditions et nous a donné de bons résultats (voir fig. 10).

Au cours de nos dernières expériences nous avons renoncé à modifier les mélanges tampons et nous avons utilisé celui qui nous paraissait le meilleur, bien que son pH

TABLEAU 9

Croissance du tissu cambial de Carotte sur un milieu tamponné à pH élevé. K_2CO_3 — $NaHCO_3$. Expérience A 115

Poids frais		Poids sec		Nombre de colonies
Milieu tamponné	Témoin	Milieu tamponné	Témoin	
0,9346 g	0,8076 g	58,02 mg	59,27 mg	21

soit élevé (8,75). Nous venions de constater, d'après le résultat fourni par l'expérience A 115, qu'un milieu alcalin n'avait pas d'effet néfaste sur la croissance des tissus (voir tableau 9).

La figure 10 indique les variations d'oxygène rapportées à chaque colonie. On constate que la consommation d'oxygène est très inégale d'une colonie à l'autre. Au cours de la période éclairée, les tissus ne parviennent que faiblement à dégager de l'oxygène. On observe par contre, au cours de cette période, une atténuation très sensible de la respiration. Cependant dans un cas on voit que cette dernière est maintenue au point de compensation. Ces indications, quoique d'une faible importance sur le plan énergétique, sont cependant utiles sur le plan fonctionnel. On constate que la consommation d'oxygène est fortement abaissée pendant la période d'illumination, ce qui permet aux tissus, sinon d'effectuer une synthèse réelle, du moins de diminuer leur hétérotophie. Les mécanismes biochimiques de la photo-

synthèse sont possibles; ils se manifestent faiblement au cours de la période d'illumination et on peut affirmer que ce processus favorise le développement des colonies lorsqu'elles sont cultivées à la lumière.

Respiration des tissus

En vue de contrôler si la respiration s'effectuait normalement, nous avons mesuré la consommation d'oxygène dans les conditions habituelles de mesure, c'est-à-dire dans un milieu contenant un tampon phosphate. Nous n'avons pas suivi l'évolution de la respiration en fonction du développement des tissus, mais nous l'avons comparée à celle que l'on obtient lors de la mesure de la photosynthèse au cours des périodes obscures.

Nous avons utilisé des colonies d'une souche de tissu cambial de Carotte chlorophyllienne et ceux d'une souche étiolée. L'examen de la figure 10 montre que la respiration de ces deux tissus est identique et que de plus, la consommation d'oxygène effectuée par les tissus chlorophylliens placés dans le mélange carbonate-bicarbonate est très comparable. D'autre part, les valeurs que nous avons obtenues correspondent au même ordre de grandeur que celles qui sont données pour d'autres tissus.

Conclusion

L'action de la lumière sur les tissus verts de Carotte se manifeste par une diminution de l'absorption d'oxygène, c'est-à-dire que dans le bilan nutritif, les synthèses ne sont pas suffisantes pour égaler les besoins. Cependant la photosynthèse est mesurable et s'exprime donc normalement. La consommation d'oxygène obtenue dans un mélange tampon carbonate-bicarbonate paraît tout à fait normale lorsqu'on la compare à celle que l'on obtient dans les conditions de mesure différentes et adaptées spécialement à la respiration des cellules (tampon phosphate). La critique que l'on ne peut manquer de faire à l'égard des mesures que nous avons décrites réside dans le fait que la diffusion des gaz dans les tissus complique l'interprétation des résultats tant de l'intensité respiratoire que de la photosynthèse.

Nous considérons la colonie dans son ensemble formant pas conséquent une unité physiologique qui se comporte comme telle et dont nous étudions les réactions globalement.

Si l'expression de l'intensité respiratoire paraît ne pas être le reflet exact des phénomènes pris sous l'angle physico-chimique, elle n'en reste pas moins celle d'une réalité physiologique concernant l'ensemble de la masse tissulaire considérée. Si la mesure des échanges gazeux ne semble être que globale, on peut supposer que ces derniers s'expriment de la même façon dans les conditions de culture. Les échanges gazeux doivent être probablement plus rapides et plus complets à la périphérie qu'au centre de la colonie. Après avoir remarqué une faible différence d'intensité respiratoire entre les tissus coupés en tranches et les colonies entières, nous avons préféré utiliser ces dernières comme étant des unités intactes. Nous pensons que si

dans quelques cas les tranches de tissus manifestent une intensité respiratoire plus élevée que des colonies entières, il peut s'agir d'un phénomène extra-physiologique dû au traumatisme.

Rôle du milieu alcalin utilisé pour la mesure de la photosynthèse sur les tissus de Carotte.

Il n'était pas possible de savoir si le mélange tampon utilisé pour les mesures de photosynthèse avait un effet néfaste sur les tissus, sans cultiver ces derniers sur un milieu de culture à pH élevé. Ce que l'on peut dire a priori, dans le cas des mesures manométriques, c'est que les tissus passent brusquement d'un tube de culture dont le milieu a un pH d'environ 6 dans une fiole de Warburg dont le pH est plus grand que 8 et que ces manipulations peuvent causer un certain choc physiologique.

Nous avons donc réalisé l'expérience décrite précédemment (A 115), et nous faisions parallèlement des mesures à l'appareil de Warburg en choisissant les différentes solutions décrites.

L'expérience A 115 nous a donné les résutats suivants: Les colonies de tissu cambial de Carotte ont été cultivées sur une milieu tamponné (2,5 mMole de K/l et 9,75 mMole de Na/l). Les valeurs de pH ont été mesurées avant et après l'expérience (voir tableau 10). Les explantats ont été laissés pendant 39 jour à la lumière solaire diffuse, sur ce milieu et ils y avaient très bien proliféré. Tout au plus pouvait-on remarquer que les cellules qui avaient été au contact du milieu s'étaient nécrosées un peu plus tôt et en plus grand nombre que celles des tissus témoins. Les valeurs du poids frais et du poids sec sont très voisines de ce qu'elles sont lorsque les tissus sont cultivés sur un milieu habituel. Le poids frais est un peu plus élevé que celui des témoins. Les valeurs du pH qui sont présentées dans le tableau 10 permettent de voir que l'effet tampon de la solution que nous avons utilisée n'est pas très marqué. Gautheret [18] avait remarqué que les tissus sont capables d'abaisser ou d'augmenter le pH du milieu sur lequel ils se trouvent et de tendre ainsi à le ramener près de la

TABLEAU 10

Expérience A 115. Croissance du tissu cambial de Carotte sur un milieu alcalin

Valeur de pH

	Avant stérilisation	Après stérilisation	Expérience	Témoin
Mélange tampon K_2CO_3 — $NaHCO_3$	8,74	9,10		
Milieu de culture	5,18	5,10 à 25° C		6,61 à 48° C 6,32 à 24° C
Milieu + mélange tampon	—	8,67 à 34° C	7,80 à 40° C 7,45 à 24° C	

valeur normale. En effet, le pH du milieu passe de 8,67 à 7,80 en fin de culture. Cette valeur est cependant plus élevée que celle du milieu témoin qui passe de 5,10 à 6,61. Les tissus ont donc été cultivés entièrement en milieu alcalin et cela permet de dire que si ce milieu n'était pas adapté aux colonies tissulaires de Carotte, il n'empêchait

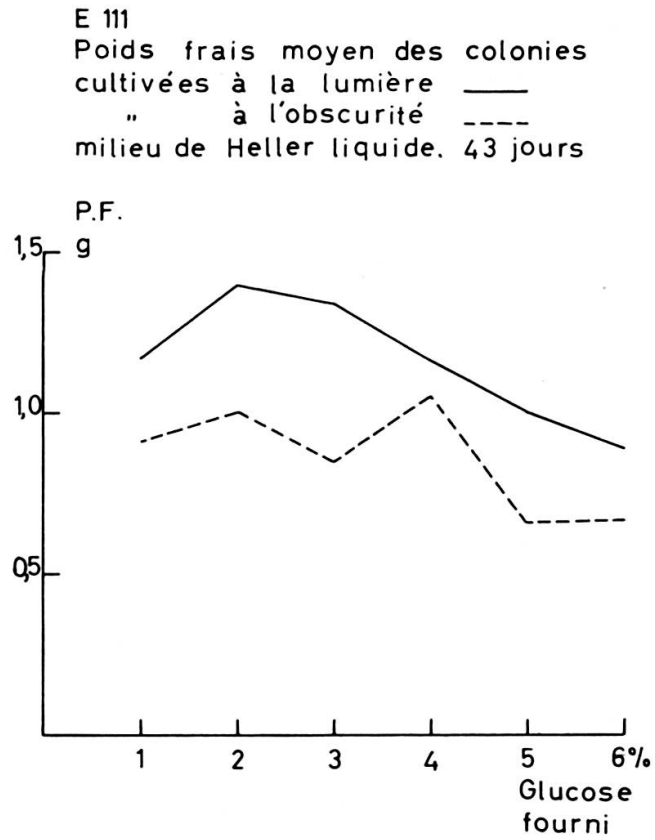

Fig. 11.
Variations de l'accroissement (poids frais) de tissus de Carotte cultivés *in vitro* sur un milieu liquide en présence de diverses doses de glucose. Tissus et milieux ont servi à effectuer des dosages glucidiques.

absolument pas la prolifération. Bien que la composition du mélange-tampon utilisé dans cette expérience ne fût pas exactement la même que celle des mélanges proposés pour la mesure de la photosynthèse, nous pensons que les effets que nous avons obtenus peuvent être généralisés.

Absorption du glucose par les tissus et composition en glucides solubles de ces derniers.

Le calcul du glucose consommé par les tissus a été effectué par différence entre le glucose offert à chaque colonie et le glucose dosé dans le milieu de culture à la fin de l'expérience (E 111).

La courbe de croissance donnée par le poids frais ne présente pas un maximum à 3 % de glucose mais à 2 % (fig. 11). Pour 6 % de glucose, le poids frais est plus faible

que pour 1 %, tant chez les tissus cultivés à la lumière que pour ceux qui sont maintenus à l'obscurité. Ces résultats sont donc un peu différents de la moyenne.

TABLEAU 11

Glucose consommé par colonie tissulaire de Carotte en fonction du glucose offert

Concentration de sucre dans le milieu	Sucre consommé pour 100 g de sucre offert	
	Tissus cultivés à la lumière	Tissus cultivés à l'obscurité
%	%	%
1	23,60	17,00
2	27,50	18,00
3	21,87	12,40
4	18,80	12,40
5	17,44	8,00
6	15,20	8,00

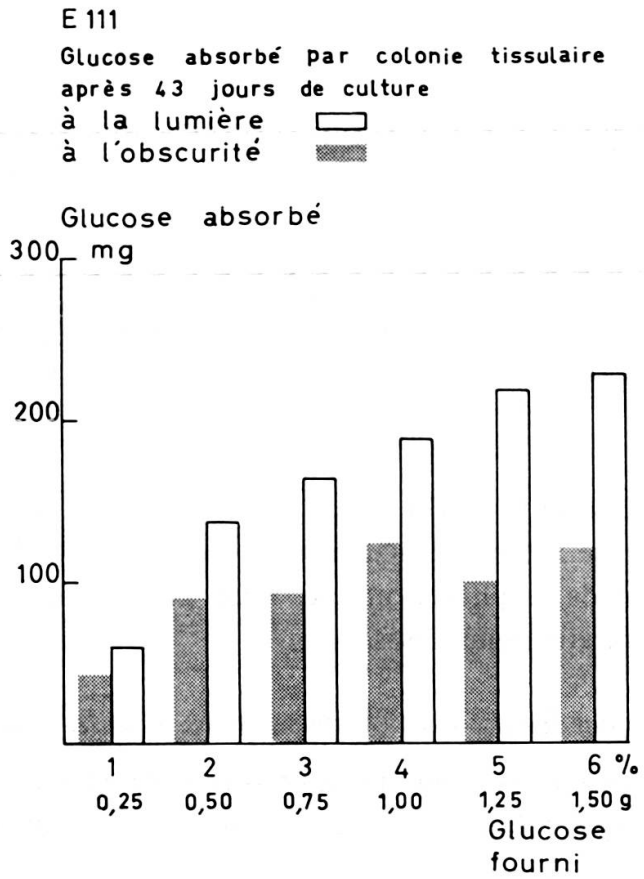

Fig. 12.

Glucose absorbé par colonie tissulaire de Carotte cultivée en présence de diverses doses de glucose après 43 jours de culture, à la lumière et à l'obscurité.

Nous avons constaté que les colonies placées à l'obscurtié consommaient moins de glucose que celles qui étaient exposées à la lumière (voir fig. 12). Cela n'avait rien d'étonnant puisque les premières ont un poids plus faible que les secondes. Plus la concentration de sucre offert s'élève, plus la consommation augmente. Ce qui nous paraît plus important encore réside dans la comparaison entre le glucose consommé

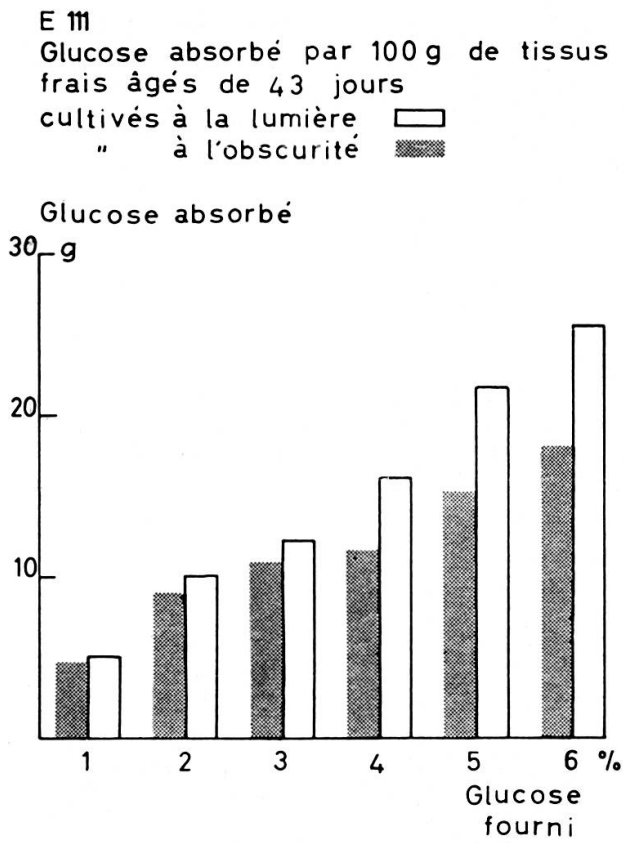

Fig. 13.
Glucose absorbé par unité de poids de tissus frais de Carotte cultivés en présence de diverses doses de glucose.

à la lumière pour 100 g de matière fraîche et le glucose consommé à l'obscurité pour la même unité de poids frais. On voit en effet (fig. 13), que la consommation relative n'est pas la même dans ces deux conditions. Il semble par conséquent que la lumière favorise l'absorption du glucose, ce qui se traduit par une augmentation du poids frais des tissus.

D'autre part on voit que les tissus ont consommé au maximum moins de 25% du glucose fourni à la concentration de 1 g % et 15% si les tissus étaiten cultivés en présence de 6 g % de sucre (voir tableau 11).

Le quotient de consommation de glucose (voir tableau 12) diminue en fonction du sucre offert. Cela fait apparaître que l'écart entre le sucre consommé à la lumière et celui qui est consommé à l'obscurité augmente progressivement (voir fig. 12, 13).

Bien que les tissus fussent placés dans des conditions d'éclairement différentes,

TABLEAU 12

Quotient de consommation de glucose

Glucose consommé à l'obscurité / 100 g de tissus frais / Glucose consommé à la lumière / 100 g de tissus frais	
Concentration de glucose dans le milieu g%	Quotient
1	0,93
2	0,88
3	0,89
4	0,73
5	0,70
6	0,70

Glucose consommé à l'obscurité par colonie / Glucose consommé à la lumière par colonie	
Concentration de glucose dans le milieu g%	Quotient
1	0,72
2	0,65
3	0,57
4	0,66
5	0,46
6	0,52

nous supposions que leur consommation de glucose serait assez silmiaire. Nous pensions, en effet, que la photosynthèse pouvait être à elle seule responsable de l'augmentation du poids des tissus cultivés à la lumière. Or il semble donc que la lumière favorise l'absorption du glucose, ce qui se traduit par un accroissement pondéral des colonies.

Les dosages des glucides intratissualires nous ont permis de confirmer en partie ce que l'on savait déjà à ce propos. Nous avons trouvé davantage de sucre totaux chez les tissus éclairés que chez ceux qui étaient placés à l'obscurité. Chez les tissus cultivés à la lumière, aux faibles concentrations de glucose fourni il y a plus de saccharose que de glucose et inversément aux fortes doses. Par contre, chez les tissus maintenus à l'obscurité il y a toujours davantage de glucose que de saccharose (voir fig. 14, 16, 17).

Contrairement à ce que Goris avait obtenu [26], nous avons trouvé une quantité de glucose assez semblable chez les tissus placés dans les deux conditions.

Le fructose est toujours très faible et n'a même pas pu être dosé à partir des tissus qui ont reçu peu de glucose. Il y en a un peu plus chez les colonies éclairées que chez celles qui sont placées à l'obscurité. Cela confirme les constatations de Goris [25].

Les quantités de sucre intratissulaires augmentent en fonction de la dose de glucose présente dans le milieu. A l'obscurité, il semble que cette quantité se stabilise à partir d'une concentration de glucose offerte de 4 %. A la lumière, il semble plutôt que les sucres continuent à s'accumuler, ceci est particulièrement net pour le saccharose.

On remarque qu'il existe une relation entre le glucose consommé et les glucides solubles accumulés. Il semble que la lumière associée à une forte concentration de glucose favorise l'absorption de ce sucre par les colonies ainsi que l'accumulation intratissulaire des sucres totaux.

Lorsqu'on compare le quotient de sucre absorbé au quotient des sucres accumulés on constate qu'il n'est pas le même. Cela montre que la proportion de glucose absorbé est plus grande que celle des sucres accumulés. En d'autres termes, il semble que la

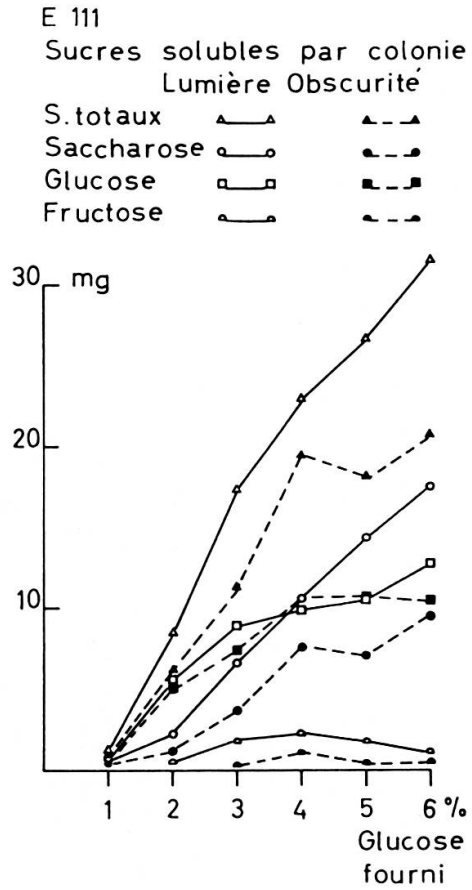

Fig. 14.
Variations des sucres solubles extraits de tissus de Carotte cultivés *in vitro* en présence de diverses doses de glucose à la lumière et à l'obscurité.

TABLEAU 13

Quotient des sucres accumulés

Glucose fourni g %	Sucres stockés à l'obscurité/100 g de tissus frais / Sucres stockés à la lumière/100 g de tissus frais
1	0,465
2	0,829
3	0,695
4	0,572
5	0,636
6	0,464

Glucose fourni g %	Sucres stockés à l'obscurité/colonie / Sucres stockés à la lumière/colonie
1	0,656
2	0,737
3	0,657
4	0,852
5	0,683
6	0,657

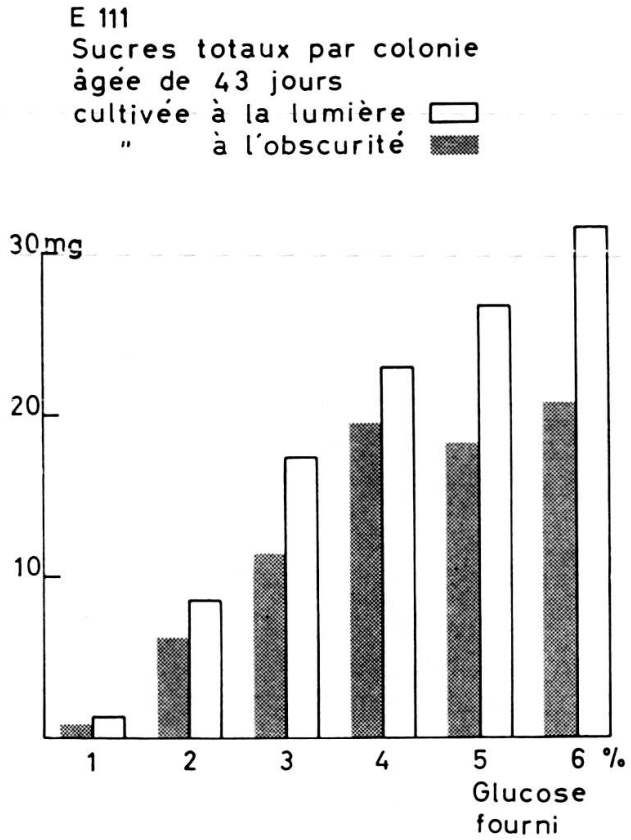

Fig. 15.

Teneur en sucres totaux par colonie tissulaire de Carotte cultivée en présence de diverses doses de glucose.

lumière favorise davantage l'absorption du glucose que son stockage, donc qu'une plus grande quantité de glucose est utilisée pour des synthèses. Cela permet de dire que la lumière stimule la croissance et non pas seulement la pénétration de la solution nutritive.

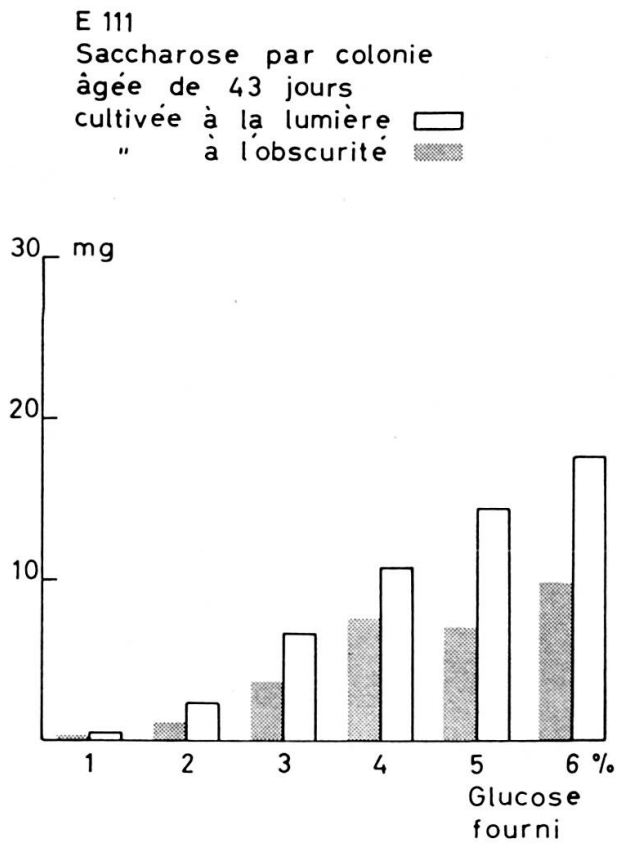

Fig. 16.

Teneur en saccharose par colonie tissulaire de Carotte cultivée *in vitro* en présence de diverses doses de glucose.

B) Souche de tissus de crown-gall de scorsonère

Variabilité des résultats

Les tissus de Crown-gall de Scorsonère ne verdissent pas de façon nette à la lumière. Par contre ils sont un peu subérifiés alors que ceux du tissu cambial de Carotte ne le sont pas.

Les résultats que nous avons obtenus ont été très irréguliers. Nous attribuons cela à deux causes. Tout d'abord le poids moyen des explantats initiaux était assez faible: 129,5 mg. Or la reprise des fragments est d'autant plus précaire que les fragments sont petits [Duhamet 12]. D'autre part, la souche de tissu de Crown-gall de Scorsonère, si elle peut proliférer abondamment et sans auxine, est quelquefois difficile à obtenir sous forme de colonies toutes semblables. Ces tissus présentent une

TABLEAU 14

Croissance des colonies de Crown-gall de Scorsonère
Poids sec exprimé en pour-cent du poids frais

Glucose fourni g %	Exp. A 210		Exp. A 211		Exp. A 212		Exp. A 214	
	lumière	obscurité	lumière	obscurité	lumière	obscurité	lumière	obscurité
1	5,12	4,70	7,36	11,50	6,47	8,00	5,12	5,28
1,5	5,48	6,55	8,17	8,93	8,17	9,74	—	—
2	6,14	6,42	7,97	8,52	9,88	7,64	5,29	5,36
2,5	6,91	6,60	7,08	9,25	9,88	11,08	5,74	5,75
3	6,91	6,69	9,67	9,01	9,07	10,55	6,59	6,39
3,5	8,65	8,76	10,24	10,71	12,78	15,08	6,99	7,44
4	10,16	8,91	9,93	10,36	13,95	11,64	7,83	8,59
4,5	9,42	9,57	10,74	13,56	16,57	16.39	8,66	9,67
5	9,72	9,03	14,12	13,68	13,01	13,05	9,66	10,06
5,5	11,46	9,92	13,80	17,24	18,54	16,17	10,62	10,97
6	11,84	11,94	14,83	16,98	15,06	13,55	11,50	11,84
6,5	—	—	16,16	19,54	20,64	18,11	—	—

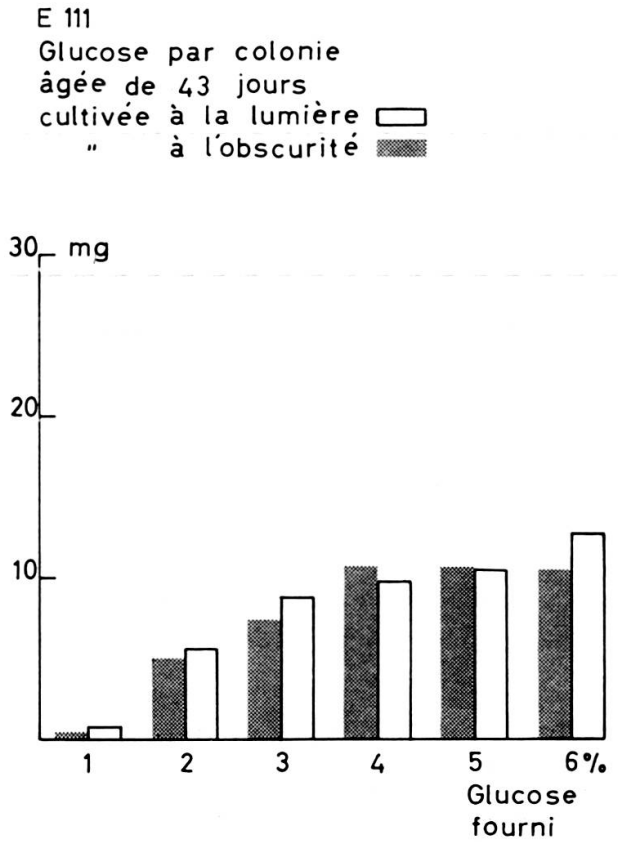

Fig. 17.

Teneur en glucose par colonie tissulaire de Carotte cultivée *in vitro* en présence de diverses doses de glucose.

texture assez serrée mais comme par ailleurs ils s'accroissent assez vite et dans toutes les directions, on trouve au centre des colonies, des régions un peu moins hydratées ou des sortes de cavernes faites d'un parenchyme plus ou moins spongieux qui parait avoir une bonne vitalité au premier abord mais qui, en fait, ne prolifère pas ou mal. Les parties périphériques sont beaucoup plus fermes mais il n'est pas facile d'en

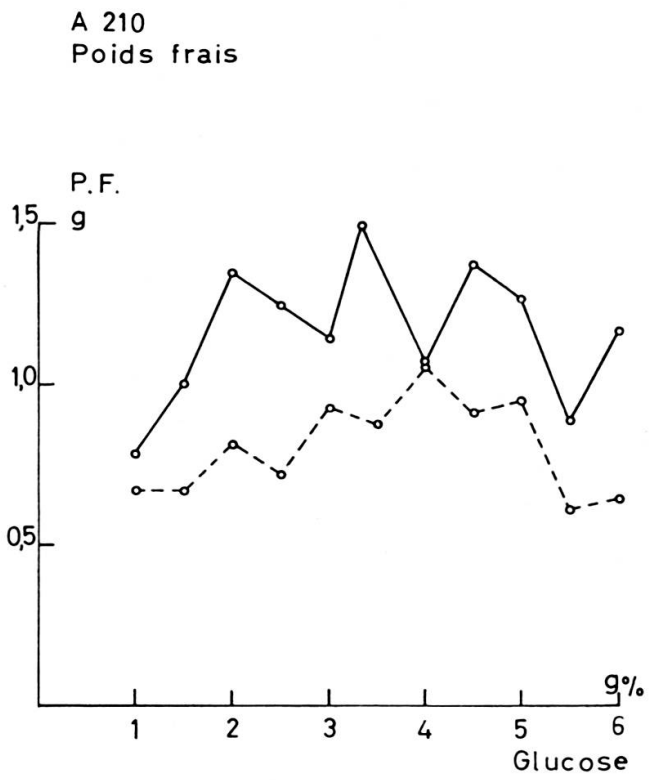

Fig. 18.

Variations de l'accroissement (poids frais) de tissus de Crown-gall de Scorsonère cultivés *in vitro* dans des milieux contenant diverses doses de glucose.
Courbe en trait plein: culture réalisée à la lumière.
Courbe en tirets: culture réalisée à l'obscurité.

faire des explantats de forme régulière. Ces réserves étant faites, on comprend mieux pourquoi des résultats quantitatifs sont difficiles à obtenir avec régularité si l'on utilise une souche de Crown-gall de Scorsonère.

Rôle de la concentration du sucre offert sur la teneur en eau et le poids sec

D'une manière générale, on observe une augmentation du poids frais et du poids sec en fonction de la dose de glucose.

La teneur en eau relative diminue (aussi bien à la lumière qu'à l'obscurité). (voir tableau 15).

La matière sèche augmente en fonction de la dose de glucose mais pas de façon très régulière. (voir tableau 14).

Rôle de la lumière et rôles complémentaires sur la croissance des tissus

Dans un premier essai (A 210), nous avons remarqué que le poids frais moyen du groupe d'explantats correspondant à une dose de glucose était très variable d'une dose à l'autre. Ce qui nous a paru le plus remarquable, c'est que les valeurs du poids frais, du poids sec et de l'azote des tissus cultivés à la lumière étaient généralement plus élevées que celles des tissus maintenus à l'obscurité (voir fig. 18, 19, 20) Nous avons alors répété cette expérience dans le but de confirmer ces premiers résultats et surtout pour essayer d'obtenir des valeurs plus régulières.

Dans une deuxième expérience (A 211), nous avons ajouté au milieu de culture de l'auxine (ABIA 10^{-8}). Le poids frais et le poids sec étaient légèrement plus élevés que dans l'expérience précédente. Comme dans l'expérience précédente, les tissus qui ont proliféré à la lumière ont une croissance plus élevée que ceux qui ont été maintenus à l'obscurité. L'écart paraît même plus important dans ce cas.

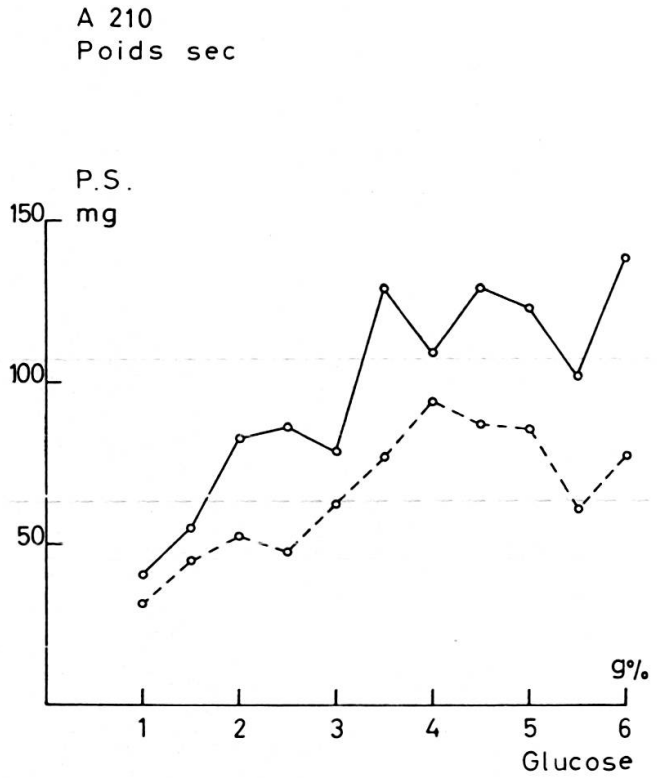

Fig. 19.
Variations de l'accroissement (poids sec) de tissus de Crown-gall de Scorsonère cultivés *in vitro* dans des milieux contenant diverses doses de glucose.
Courbe en trait plein: culture réalisée à la lumière.
Courbe en tirets: culture réalisée à l'obscurité.

Le poids frais montre un maximum pour 4% de glucose. Le poids sec augmente assez régulierement à la lumière jusqu'à la plus forte concentration de glucose. A l'obscurité, cette valeur tend à diminuer un peu.

La troisième et la quatrième expérience (A 212 et 214) ont été réalisées en cultivant les explantats sur un milieu sans auxine. Ainsi que nous l'avions déjà remarqué, le

TABLEAU 15

Croissance des colonies de Crown-gall de Scorsonère

Teneur en eau des tissus
Exp. A 210

Glucose fourni g %	Tissus cultivés à la lumière		Tissus cultivés à l'obscurité	
	g/colonie	%	g/colonie	%
1	0,744	9,48	0,640	9,52
1,5	0,947	9,45	0,627	9,33
2	1,261	9,38	0,762	9,35
2,5	1,159	9,31	9,674	9,33
3	1,061	9,31	0,868	9,33
3,5	1,365	9,13	0,799	9,12
4	0,962	8,98	0,962	9,11
4,5	1,243	9,06	0,823	9,04
5	1,142	9,03	0,861	9,10
5,5	0,786	8,85	0,549	9,00
6	1,030	8,81	0,569	8,81

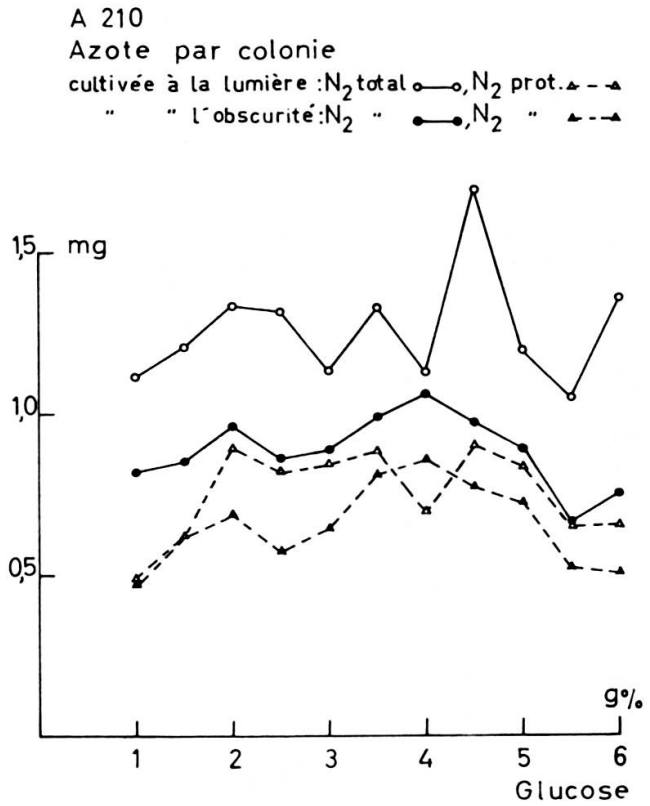

Fig. 20.

Variations de la teneur en azote de tissus de Crown-gall de Scorsonère cultivés *in vitro* dans un milieu contenant diverses doses de glucose.

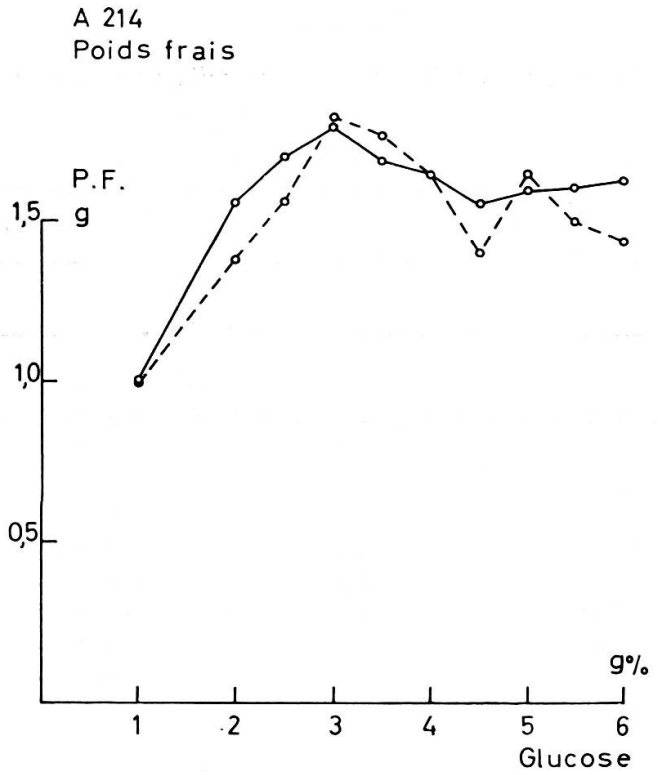

Fig. 21.

Variations de l'accroissement (poids frais) de tissus de Crown-gall de Scorsonère cultivés *in vitro* dans un milieu contenant diverses doses de glucose.

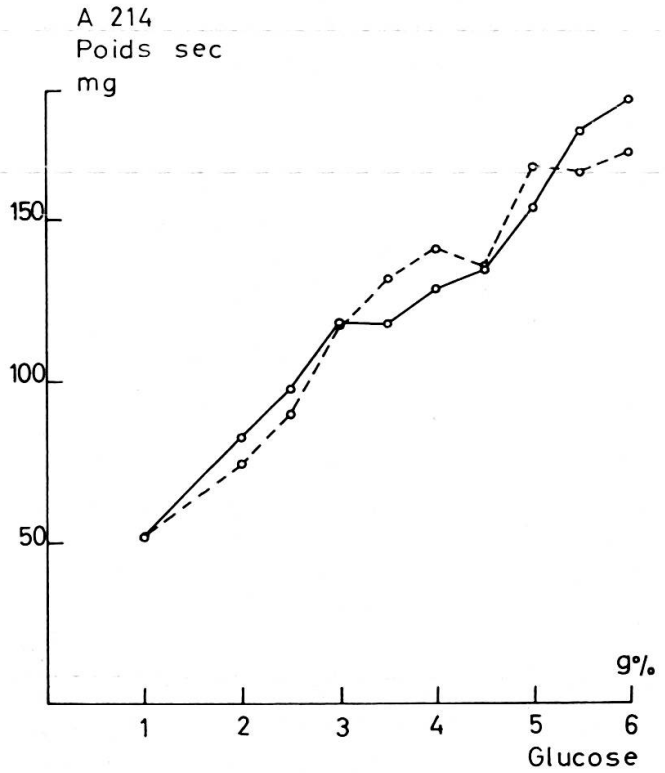

Fig. 22.

Variations de l'accroissement (poids sec) de tissus de Crown-gall de Scorsonère cultivés *in vitro* dans un milieu contenant diverses doses de glucose.

poids frais et le poids sec des tissus cultivés à la lumière est plus élevé que celui des tissus maintenus à l'obscurité. La forme de chaque courbe de croissance n'est pas régulière. Pour les tissus cultivés à la lumière, on voit que le poids frais passe par un maximum pour 3 % de glucose, et le poids sec pour 4 %. Les tissus cultivés à l'obscurité n'ont pas un maximum net pour les deux critères envisagés.

La dernière expérience (A 214) présente une particularité intéressante, qui diffère des trois premières (voir fig. 21 et 22). Le poids frais a un maximum pour 3 % de glucose. Les valeurs diminuent un peu aux fortes doses sans descendre au-dessous de celles que l'on obtient pour 2 %. Le poids sec ne cesse d'augmentre régulièrement. On ne distingue pratiquement pas de différence entre ces valeurs, que les tissus soient cultivés à l'obscurité ou non. Ceci est donc en contradiction avec les premiers résultats. Tout se passe comme si la lumière n'avait pas influencé la croissance. Ces résultats sont conformes à ceux que l'on pouvait attendre d'un tissu non chlorophyllien. Dans ce cas, comme dans celui des tissus de Carotte étudiés par Goris, il semble que la lumière, en l'absence de chlorophylle, n'ait pas d'action sur la croissance.

C) Souche caroténogène de tissu cambial de carotte

Rôle de la lumière

La croissance de ces tissus a été comparée à celle des tissus chlorophylliens. Les premières données ont trait à des colonies d'âges différents mais elles nous ont permis de remarquer que la prolifération était très différente d'une souche à l'autre. Les colonies oranges âgées de 77 jours avaient un poids frais assez voisin de celui des colonies vertes cultivées à la lumière, âgées seulement de 57 jours. Nous pouvions déjà dire que la souche chlorophyllienne avait une « avance » de 20 jours sur la souche orange, lorsque ces tissus étaient cultivés à la lumière.

Cette première constatation nous a montré que l'effet de la lumière ne se manifeste pas de façon semblable sur ces deux types de colonies. Les colonies oranges avaient une croissance évaluée en poids frais qui était beaucoup plus faible que celle des colonies vertes.

Nous avons alors réalisé une seconde expérience limitée à trois conditions expérimentales pour chaque tissu. Cette restriction était due au fait que nous avons signalé, à savoir qu'il était difficile d'obtenir des colonies oranges en bon état, et en nombre suffisant pour les découper en explantats réguliers.

La lumière semble agir sur les deux tissus différents dans le même sens, mais dans des proportions très différentes. La souche chlorophyllienne a un accroissement de poids frais et de poids sec plus élevé à la lumière qu'à l'obscurité, ainsi que nous l'avons indiqué auparavant. La souche caroténogène présente deux valeurs de poids frais qui sont plus grandes à la lumière qu'à l'obscurité. Cependant l'écart est minime et il paraît peu indiqué d'en tirer des conclusions très catégoriques. Toutefois, en

admettant cette différence entre la condition éclairée et la condition obscure, et contrairement à ce que l'on aurait pu attendre, la souche caroténogène présente, tout en étant très atténué, le même phénomène que la souche chlorophyllienne, alors qu'elle ne possède pas de chlorophylle. On est donc tenté, dans ce cas, de supposer qu'une action de la lumière s'exerce indépendamment de la photosynthèse.

Rôles complémentaires de la lumière et du glucose fourni

Les colonies vertes présentent les caractéristiques que nous avons indiquées précédemment. Elles ont un optimum de croissance en fonction de la dose de sucre fourni. Cet optimum correspond à 3 % de glucose. La souche orange présente, elle aussi, un optimum en fonction du sucre. Donc en ce qui concerne l'utilisation du

TABLEAU 16

Croissance comparée de colonies tissulaires de Carotte chlorophylliennes et caroténogènes âgées de 58 jours

Exp. A 310

Glucose fourni en g %	Souche chlorophylienne		Souche caroténogène	
	Tissus cultivés à la lumière	Tissus cultivés à l'obscurité	Tissus cultivés à la lumière	Tissus cultivés à l'obscurité
Poids frais par colonie exprimé en grammes				
3	2,177	0,630	1,055	0,775
5	1,692	0,747	0,880	0,762
6	1,122	0,485	0,480	0,473
Poids sec par colonie exprimé en grammes				
3	0,117	0,041	0,075	0,055
5	0,143	0,059	0,080	0,068
6	0,094	0,043	0,044	0,046
Poids sec en pour-cent du poids frais				
3	5,37	6,51	7,12	7,08
5	8,47	7,90	9,09	8,94
6	8,38	8,97	9,17	9,72

glucose, bien que nous n'ayons pu entreprendre cette expérience qu'en présence de trois concentrations de ce sucre, les deux souches ont un comportement assez semblable.

Pour les deux types de tissus, la teneur en matière sèche s'élève lorsque la concentration de glucose est plus forte.

Enfin, on remarque que les valeurs du poids sec exprimées en % du poids frais sont plus élevées chez les tissus oranges que chez les tissus verts. D'autre part, la valeur du poids frais des tissus oranges cultivés à la lumière pour 100 g de tissus cultivés à l'obscurité est plus faible que la même valeur donnée par les tissus chlorophylliens. (Voir tableau 16). Le poids sec montre une différence dans le même sens. Pour les tissus oranges, ces valeurs relatives permettent de mieux voir que les tissus éclairés ont un poids légèrement plus élevé que celui des colonies placées à l'obscurité.

D. Annexe 1.

Etude des caroténoïdes de deux souches tissulaires de Carotte

Nous utilisions des colonies « vertes » et « oranges » de tissu cambial de carotte, pour nos expériences. Nous avons fait des extractions de pigments à partir de ces deux tissus différents et procédé à des analyses chromatographiques. Nous avons déjà indiqué la teneur en chlorophylle des tissus verts (voir p. 50). La teneur en caroténoïdes des deux sortes de tissus de Carotte nous a donné des résultats complémentaires. Ces travaux ont été entrepris en collaboration avec G. Turian [53].

Caroténoïdes des tissus chlorophylliens

Nous avons identifié les xanthophylles ainsi que l'α-carotène et le ß-carotène (voir tableau 17). Les colonies âgées ont un taux de pigments plus élevé que les colonies jeunes. Les xanthophylles, qui dans ces dernières se trouvent en quantités plus faibles que les carotènes, dépassent très rapidement la teneur de ceux-ci dans les colonies plus âgées. L'évolution du taux de ces pigments au cours du développement des colonies, n'est donc pas parallèle.

Tableau 17

Teneur en carotènes et xanthophylles des tissus de Carotte exprimée en mg/100 g de poids frais

Caroténoïdes	Souche verte [1]		Souche orange [2]		Racine de Carotte potagère
	49 jours	97 jours	67 jours	75 jours	—
Carotènes totaux	0,165	0,126	1,400	1,665	8,247
Xanthophylles totales . .	0,180	0,151	0,254	0,174	0,163
α-carotène	—	—	0,319	0,309	0,652
β-carotène	0,165	0,126	1,081	1,046	7,595
Rapport xanthophylles/ carotènes	1,08	1,20	0,181	0,11	0,02

[1] Les résultats concernant la souche verte se rapportent à la même série d'explantats.
[2] Les résultats concernant la souche orange se rapportent à deux séries différentes d'explantats.

Les xanthophylles ont été dosées après hydrolyse, donc globalement. Nous n'avons pas cherché à distinguer les xanthophylles libres des éventuelles xanthophylles estérifiées que peuvent contenir les tissus.

Caroténoïdes des tissus caroténogènes. (Souche Eichenberger).

La principale caractéristique de la souche utilisée est l'absence de chlorophylles. Aucune analyse n'a permis de révéler ces pigments. Par contre les tissus considérés synthétisent abondament des caroténoïdes. [1] La fraction principale est représentée par les carotènes. Les xanthophylles, toujours présentes, s'y trouvent en quantité importante (9,5-15,4 % des caroténoïdes totaux). Les tissus oranges possèdent 5 à 6 fois moins de carotènes que la racine de Carotte potagère, mais ils contiennent par contre une quantité analogue de xanthophylles.

Conclusion

Les colonies vertes de tissu de Carotte ont un rapport xanthophylles/carotènes élevé. Cela signifie que leur teneur en xanthophylle se rapproche plus de celle des tissus de feuilles que de celle des tissus de racine de Carotte potagère. Les colonies oranges ont un taux élevé de carotènes et faible de xanthophylles. Pour ces tissus, le rapport xanthophylles/carotènes est donc bas. Les tissus isolés par Eichenberger ont dû subir une perturbation génétique primaire qui est à l'origine de la souche que nous avons analysée. Cela se manifeste donc par une déviation métabolique favorisant une caroténogenèse accrue et supprimant la synthèse des chlorophylles. Nous ne pouvions connaître cette dernière propriété qu'après avoir fait des analyses spectrophotométriques. Elle est très particulière et inattendue et elle nous a permis de comparer la croissance des tissus chlorophylliens et des tissus caroténogènes cultivés à la lumière. Nous disposions donc de colonies qui étaient capables ou non de réaliser un acte photosynthétique.

ANNEXE 2

Croissance des tissus de Carotte à des températures différentes.

Nous avons réalisé toutes nos expériences en plaçant les tissus dans une cabine climatisée à 23° C. Toutefois, sur la base des travaux effectués par de Capite [8], nous voulions savoir quel serait l'effet d'une température élevée sur des tissus cultivés à la lumière et à l'obscurité.

De Capite avait remarqué l'existence d'un optimum de température à 26° C pour des tissus maintenus à l'obscurité et de 31° C pour des tissus cultivés en lumière continue. Nous avons cultivé des explantats d'une souche de tissu cambial de Carotte

[1] Le spectre d'absorbtion d'un extrait dans l'éther de pétrole révèle la présence de caroténoïdes à 450 et 470 millimu et l'absence complète de chlorophylle à 660 millimu.

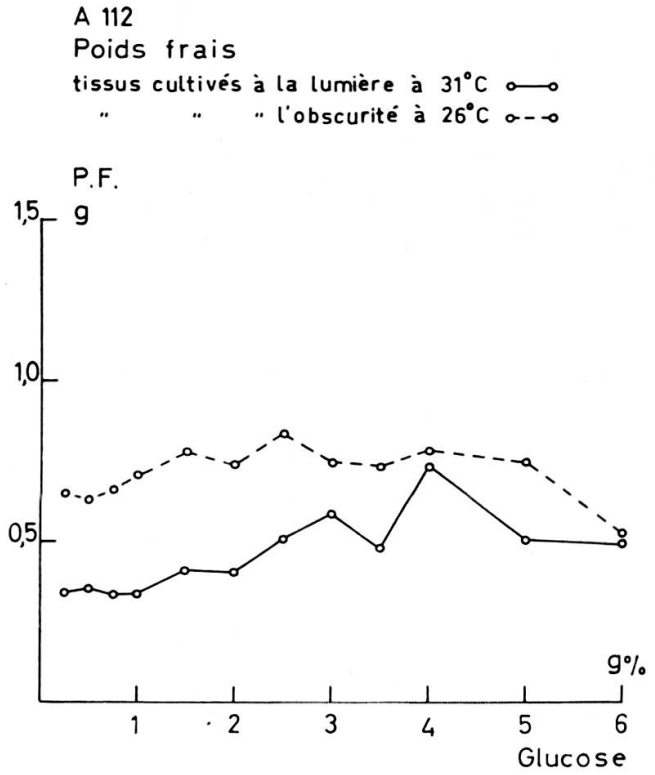

Fig. 23.

Variations de l'accroissement (poids frais) de tissus de Carotte cultivés *in vitro* dans des milieux contenant diverses doses de glucose et à des températures différentes à la lumière ou à l'obscurité

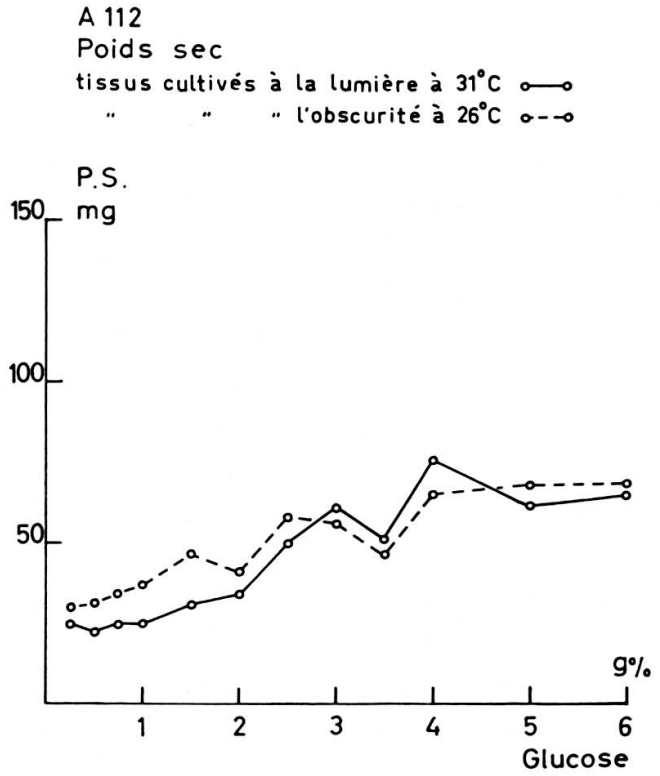

Fig. 24.

Variations de l'accroissement (poids sec) de tissus de Carotte cultivés *in vitro* dans des milieux contenant diverses doses de glucose et à des températures différentes à la lumière ou à l'obscurité.

sur le milieu de culture habituel (milieu de Knop) additionné de glucose (0,25 g % — 6 g %). Une partie des tubes préparés était placée dans une cabine dont la température était réglée à 31° C et en lumière continue. L'autre était mise à l'obscurité continue et à 26° C. Les fragments initiaux pesaient en moyenne 130,7 mg.

Les tissus ont proliféré ainsi pendant 79 jours. Nous en avons déterminé le poids frais et le poids sec. Ces valeurs sont assez irrégulières. Nous pensions que le poids frais des tissus cultivés à la lumière à 31° C serait plus élevé que celui des tissus maintenus à l'obscurtié à 26° C. Or nous avons observé le contraire (voir fig. 23,24). Le poids sec par contre, était sensiblement le même dans les deux conditions.

Il semble que la lumière n'a pas manifesté son effet stimulant car les tissus ont un poids frais et sec plus faible que ceux que nous avions obtenus en cultivant les mêmes tissus à 23° C en lumière discontinue.

Cela montre que les phénomènes que nous avons décrits ne peuvent être considérés qu'en choisissant une température bien déterminée. D'autre part, il ne semble pas que la température de 31° C soit favorable aux tissus cultivés à la lumière. Les tissus cultivés à l'obscurité à 26° C ont en règle générale des valeur de poids frais et de poids sec assez semblables à celles que l'on obtient si on les met à 23° C.

Chapitre VI — DISCUSSION ET CONCLUSIONS

A) Tissu cambial de carotte chlorophyllien.

Les expériences que nous avons entreprises sur la croissance de ces tissus comprenaient deux variables. D'une part la concentration du sucre offert et de l'autre la présence ou l'absence de lumière. Nous savions, d'après les premiers travaux réalisés dans ce domaine [Gautheret, 19], que ces tissus ne sont pas autotrophes mais semi-autotrophes. Leur régime physiologique est par conséquent mixte. Nous avons considéré en outre dans nos expériences, un régime purement hétérotrophe. Il n'était donc pas possible de dissocier a priori les deux variables qui agissaient sur les colonies. C'est ce qui rend l'interprétation des résultats plus difficile mais c'est aussi une condition biologique de base qui nous était imposée.

Nous pouvons dire que les tissus chlorophylliens ont une croissance évaluée en poids frais, poids sec et azote nettement favorisée par la lumière, quelle que soit la dose de glucose offerte. Notons cependant qu'aux faibles doses de sucre, jusqu'à 1 %, cet effet n'est pas très constant. Le poids frais des tissus éclairés passe nettement par un optimum à 3,5 % de glucose environ. Cet optimum ne paraît pas très marqué chez les tissus cultivés à l'obscurité.

Lorsqu'on suit l'évolution du poids sec des tissus cultivés à la lumière, on constate que les valeurs augmentent progressivement et semblent se stabiliser aux doses