Zeitschrift: Berichte der Schweizerischen Botanischen Gesellschaft = Bulletin de la

Société Botanique Suisse

Herausgeber: Schweizerische Botanische Gesellschaft

Band: 56 (1946)

Artikel: La culture des tissus végétaux

Autor: Nobécourt, Pierre

DOI: https://doi.org/10.5169/seals-39773

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: 27.11.2025

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

La culture des tissus végétaux.

Par Pierre Nobécourt. Chargé de cours à la Faculté des sciences, Grenoble.

Manuscrit reçu le 14 octobre 1946.

On peut définir une culture de tissus : « un ensemble de cellules somatiques qui, isolées d'un organisme complet, s'accroît sans se différencier en organe morphologiquement caractérisé ». La croissance peut cesser au bout d'un certain temps, ce qui indique qu'il manque dans le milieu nutritif une ou plusieurs substances indispensables : une croissance limitée peut cependant s'effectuer grâce aux réserves de ces substances contenues dans l'explant mis en culture. Au contraire, la croissance illimitée indique que les cellules se trouvent dans des conditions complètement favorables. Seules, les cultures illimitées sont, selon C a r r e l , de véritables cultures de tissus.

C'est Haberlandt qui, en 1902, eut le premier l'idée « de cultiver en milieu nutritif convenable, les cellules végétales isolées de plantes supérieures ». Mais ses tentatives, ainsi que celles de nombreux autres chercheurs, échouèrent complètement. Plusieurs botanistes arrivèrent cependant à cultiver des racines isolées, mais il s'agissait là de cultures d'organes et non de cultures de tissus. Ces cultures de racines donnèrent toutefois lieu à de très intéressants travaux et un résultat capital fut obtenu lorsque White, en 1934, put réaliser la culture illimitée de racines de tomate.

Cependant plusieurs auteurs obtenaient des proliférations plus ou moins considérables et prolongées de tissus végétaux in vitro. Le premier en date est le célèbre phytopathologiste Erwin S m i t h qui, dans le but d'étudier le cancer des plantes, observait la prolifération de fragments aseptiques de pommes de terre placés sur du coton humide en atmosphère saturée.

Plus tard, au cours de nos recherches sur l'immunité chez les végétaux, publiées en 1927, nous remarquions que des tranches de carotte, placées aseptiquement sur de la gélose au salep, prolifèrent en donnant de volumineuses excroissances. Puis, en collaboration avec M^{lle} D u s s e a u , nous constations qu'elles prolifèrent de même sur coton imbibé d'eau distillée, par « croissance résiduelle » aux dépens des réserves contenues dans les tissus préexistants (figures 1 et 2). Des faits analogues étaient également constatés par des médecins étudiant sur des végétaux le problème du cancer.

De leur côté, Gautheret (1934) et Gioelli (1938) réussissaient à faire proliférer des fragments du tissu cambial de divers arbres, en les plaçant sur du liquide de Knop glucosé et gélosé. Mais ces cul-

tures, de durée limitée, ne pouvaient être repiquées.

Or, Kögl ayant mis en évidence, en 1934, les remarquables propriétés de l'acide indol-β-acétique, nous avons eu l'idée d'appliquer cette substance à la culture des tissus végétaux. Nous avons été ainsi conduits à constituer, en 1937, un milieu de culture comprenant une partie solide et une partie liquide. La partie solide est préparée en additionnant de 2 % de glucose une solution minérale dérivant du liquide de Knop complété par les éléments oligodynamiques préconisés par Albert Berthelot, et en ajoutant de la gélose. Après solidification en plan incliné dans des tubes à essais, on ajoute la partie liquide au fond du tube, d'où elle diffuse dans la gélose, en agissant progressivement sur les fragments végétaux qui y sont placés. De plus, sa présence entretient un état hygrométrique très favorable à la prolifération. Cette partie liquide a la même composition que la partie solidifiée, mais elle contient, en outre, de l'acide indol-acétique et du chlorhydrate de cystéine (dont les travaux de plusieurs auteurs semblaient indiquer une action favorisant la prolifération cellulaire). Sa stérilisation s'effectue par filtration sur bougie, pour éviter toute altération par la chaleur. Ce milieu nous a permis d'entretenir une souche de tissus de carotte depuis le 6 septembre 1937 et de réaliser ainsi, pour la première fois, la culture illimitée d'un tissu végétal.

Ces résultats ont été contestés par Gautheret qui a prétendu que le milieu de culture dont nous venons d'indiquer la composition, est toxique pour les tissus végétaux. Mais cette assertion ne repose sur aucune base sérieuse et, comme beaucoup d'affirmations de cet auteur, est en opposition avec les faits.

Peu après nous, White obtenait la culture indéfinie d'autres tissus, dérivant de la tige de l'hybride. Nicotiana glauca × N. Langs-dorffii sur le milieu à l'extrait de levure qu'il employait pour la culture des racines, à demi-solidifié par la gélose, les tissus se développant mal en milieu liquide. Par la suite, il remplaça l'extrait de levure par un mélange d'aneurine (vitamine B₁) et de glycine (glycocolle).

Nous avons constaté que la cystéine, qui figurait dans notre milieu primitif, est inutile pour la culture des tissus de carotte. Le seul facteur de croissance nécessaire est l'acide indol-acétique. Nos essais pour le remplacer par des substances chimiquement voisines : acide indol- β -propionique, tryptophane, ont échoué. Toutefois d'après G a u t h e r e t, l'acide naphtyl-acétique peut remplacer l'acide indol-acétique.

Nos cultures de tissus de carotte synthétisent de l'aneurine, même à l'obscurité; il est donc inutile d'en mettre dans le milieu de culture. Ce fait indique, en outre, que chez les plantes supérieures, contrairement à ce qui est généralement admis, l'aneurine n'est pas exclusivement synthétisée par les organes chlorophylliens.

Nous avons aussi réalisé, en collaboration avec M^{me} K of ler, la culture indéfinie de tissus dérivant de la tige d'un rosier hybride de Wichuraiana (var. New-Dawn). Ces cultures ont d'abord été faites par la même méthode que les cultures de tissus de carotte, sur milieu à base d'acide indol-acétique. Puis, nous avons constaté qu'en l'absence de tout facteur de croissance, elles peuvent proliférer de façon prolongée et peut-être même illimitée, car les cultures sans facteur de croissance se développent actuellement depuis plus de 18 mois.

Les cultures de tissus d'hybride de Nicotiana réalisées par White, n'ont aussi pas besoin d'acide indol-acétique. Actuellement, cet auteur les effectue sur un milieu où l'extrait de levure, primitivement utilisé, est remplacé par un mélange d'aneurine, glycine, pyrimidine et acide nicotinique. Les deux dernières substances sont des facteurs complémentaires, car White a longtemps opéré ses cultures sans eux.

Ces faits montrent que les cultures de tissus végétaux ont, selon les cas, des besoins différents en facteurs de croissance: ils sont à rapprocher de ceux mis en évidence, notamment par les travaux de Schopfer, dans la nutrition de divers champignons et micro-organismes.

Examinons maintenant les caractères morphologiques de cultures de tissus. Les cultures de tissus de carotte présentent l'aspect d'un agrégat de petits mamelons (figure 3). A leur surface se trouvent des cellules disposées en files ramifiées très irrégulièrement, formant, par leur enchevêtrement, une sorte de feutrage. Des formations analogues ont été observées depuis longtemps dans les phénomènes de cicatrisation en atmosphère saturée d'humidité. Elles avaient été assimilées par Pfeiffer, puis par Gautheret, aux cellules migratrices des cultures de tissus animaux. Cette assimilation n'est pas justifiée, car il s'agit ici de cellules complètement immobiles. Par la suite, Gautheret, abandonnant cette façon de voir, a appelé ces formations des « pseudo-thalles »; les auteurs américains les ont nommées « cellules algoïdes ». Ces expressions ne sont pas satisfaisantes, car il y a des thalles et des algues ayant une structure fort différente et nous les avons remplacées par l'appellation de « cellules buissonnantes » qui nous paraît bien évoquer leur aspect.

A l'intérieur des mamelons se trouve un parenchyme, renfermant de l'amidon et, si la culture a été faite à la lumière, des chloroplastes. Dans ce tissu, se différencient des nodules de cellules vasculaires à peu près isodiamétriques à épaississements lignifiés, réticulés.

Les cultures de tissus de *Nicotiana*, de White, ont une structure analogue, mais ne contiennent pas ou presque pas de chlorophylle, même à la lumière.

Dans nos cultures de tissus de rosier, on trouve aussi des cellules buissonnantes, du parenchyme riche en amidon et des cellules vasculaires; la chlorophylle y est rare ou absente, les cultures ont habituellement une teinte crème. En outre, les tissus ont souvent une grande tendance à s'étaler sur la gélose en couche parfois très mince, rappelant un peu par cela, les cultures de tissus animaux (figure 4).

Les cultures de tissus ont permis d'étudier les phénomènes relatifs à l'histogénèse et à l'organogénèse. Nos connaissances sur les agents intervenant dans ces phénomènes sont encore fort incertaines: il n'est pas douteux que les méthodes de culture de tissus n'aient là d'utiles applications.

Les travaux qui ont eu lieu dans cette direction ont été surtout, jusqu'ici, effectués avec des cultures de durée limitée. Citons-en quelques-uns.

Gioelli, opérant avec le tissu cambial de quelques arbres, principalement Sterculia platanifolia, a examiné l'action, sur les tissus néoformés, de divers facteurs (température, lumière, pression osmotique, etc.); il a notamment mis en évidence l'action de la lumière sur la lignification des membranes. Gautheret a étudié les conditions du bourgeonnement du tissu cambial d'orme sur divers milieux et soumis à divers agents physiques, ainsi que les conditions de prolifération et d'organogénèse dans divers tubercules.

Nous-même, en collaboration avec M^{me} K o f l e r, avons établi les conditions précises de la prolifération du parenchyme vasculaire du tubercule de topinambour, qui a lieu soit sous l'action de l'acide indolacétique, soit simplement sous l'action d'une atmosphère à peu près saturée; nous avons décrit la structure des néoformations ainsi obtenues et étudié les phénomènes de polarité qui se manifestent dans ce tissu. Ces recherches rectifient l'erreur de G a u t h e r e t qui affirme que les tissus de topinambour ne prolifèrent qu'en présence d'acide indol-acétique (figure 7). M^{me} K o f l e r a, en outre, étudié les conditions de la rhizogénèse dans les tissus du tubercule de topinambour et a montré qu'on peut provoquer une abondante formation de racines sur le paren chyme vasculaire de ce tubercule.

Nous-même avons aussi montré que, contrairement aux affirmations de Gautheret, les tissus du tubercule de chou-rave produisent des racines ou des bourgeons, soit spontanément, soit sous l'action d'un milieu nutritif (figures 5 et 6).

Mais toutes ces expériences faites avec des cultures de durée limitée, malgré leur intérêt, ont l'inconvénient de laisser subsister une influence des tissus primitifs explantés. White, opérant sur des cultures ayant subi de nombreux repiquages, élimine complètement cette influence. Utilisant une souche de tissus de *Nicotiana* qui, cultivée depuis plusieurs années sur milieu gélosé, n'avait donné que des masses morphologiquement

Planche 20

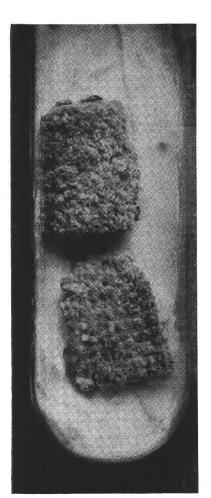


Figure 1 (à gauche).

Tranches longitudinales de Carotte proliférant sur coton imbibé d'eau distillée. — Ces tranches sont complètement recouvertes de cellules buissonnantes.

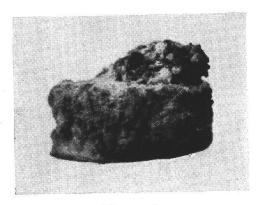


Figure 2.

Tranche transversale de carotte ayant proliféré sur coton imbibé d'eau distillée.

P. Nobécourt, phot.

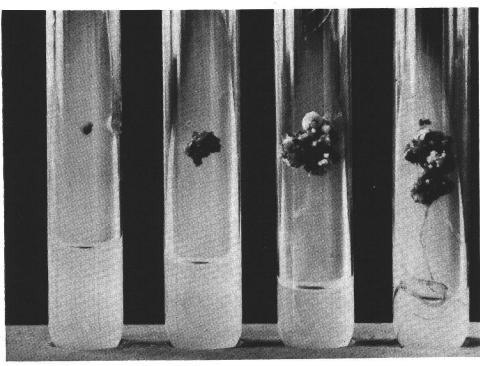


Figure 3.

Cultures de tissus de carotte à différents états de développement, sur notre milieu à l'acide indol·acétique. — Ces cultures donnent parfois naissance à des racines, comme le montre le tube situé à droite.

Planche 21

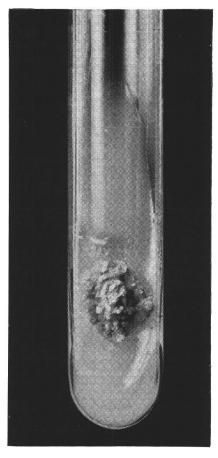


Figure 4.

Culture de tissus de tige de rosier. — Les tissus s'étalent à la surface de la gélose.

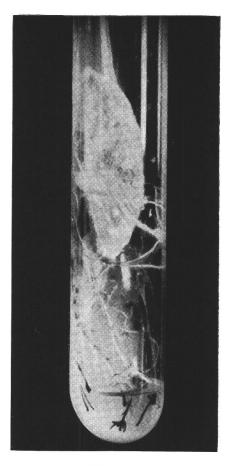


Figure 5.
Tranche mince de tubercule de chou-rave, donnant de nombreuses et longues racines ramifiées, sur notre milieu à l'acide indolacétique.

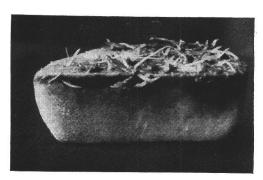


Figure 6.

Tranche de chou-rave, ayant donné une multitude de racines sur coton imbibé d'une solution d'acide indol-acétique (concentration 10⁻⁴).

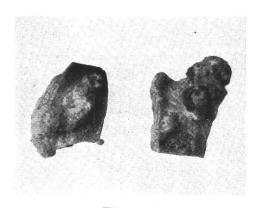


Figure 7.
Tranches minces de topinambour, ayant produit de volumineuses proliférations, sur Knop saccharosé gélosé (sans hétéro-auxine).

indifférenciées, il a constaté qu'en immergeant ces tissus dans le même milieu non gélosé, ils donnent naissance à des tiges et des feuilles. S k o o g a obtenu le même résultat en réduisant l'intensité de l'éclairage des cultures.

Nos cultures indéfinies de tissus de carotte produisent parfois aussi des racines différenciées (figure 3, à droite). Ces racines, tant qu'elles sont adhérentes aux mamelons indifférenciés qui les ont produites, peuvent s'accroître et se ramifier dans le milieu de culture. Mais, si on les en sépare, leur croissance s'arrête bientôt, car notre milieu, ne contenant pas d'aneurine, est impropre à leur culture, conformément aux résultats établis par les physiologistes américains. Transportées dans du liquide de K n o p glucosé, additionné d'aneurine et d'éléments minéraux oligodynamiques, elles se développent indéfiniment. En vieillissant, elles produisent, çà et là, de petits mamelons chlorophylliens qui, repiqués sur notre milieu à l'acide indol-acétique, redonnent une série de cultures de tissus morphologiquement indifférenciés. On assiste ainsi au passage des cultures de tissus aux cultures d'organe et inversement, chacune de ces cultures ayant ses exigences spéciales pour se perpétuer, les unes ayant besoin d'aneurine, les autres d'acide indol-acétique.

Ajoutons que nos cultures de tissus de carotte continuent à produire des racines, même si elles ont été maintenues à l'obscurité totale pendant plusieurs années. Or, d'après les expériences de Moureau sur les boutures de Coleus, la différenciation des racines nécessite l'intervention d'un facteur d'organisation formé dans les feuilles sous l'action de la lumière. On voit que, dans le cas des tissus de carotte, la lumière n'est pas indispensable à la rhizogénèse.

Signalons aussi que nous avons obtenu des productions de nature caulinaire et foliaire à partir de cultures de racines de carotte. Ce fait fera ultérieurement l'objet d'une communication détaillée.

Faisons enfin remarquer que la distinction entre cultures de tissus, cultures d'organes et boutures est parfois assez imprécise. Des fragments de tissus de divers tubercules (salsifis, scorsonère, etc.), mis en culture, peuvent donner non seulement des proliférations indifférenciées, mais aussi des bourgeons feuillés et des racines, et sont analogues à de véritables boutures.

Les cultures de tissus végétaux ont été l'objet de diverses études concernant leur respiration, de la part de Plantefol, de Lachaux et, récemment, de White, qui a comparé le comportement de cette fonction dans différents tissus normaux et pathologiques. De son côté, Cappelletti a étudié dans les tissus de carotte néoformés en culture, et comparativement avec les tissus anciens, l'hydratation, la pression osmotique du suc et la teneur en sucre.

En pathologie végétale, la culture des tissus a déjà donné de très importants résultats; c'est d'ailleurs dans le but de résoudre des pro-

blèmes relatifs à la phytopathologie que nous avons été amené, dès 1926, à aborder la question de la culture des tissus. Cette méthode permet d'étudier l'action des agents pathogènes sur les tissus isolés. C'est ainsi que G i o e l l i , utilisant des cultures de tissus de carotte ou de Sterculia platanifolia, a constaté que ces tissus, selon leur nature et leur origine, offrent une résistance différente aux micro-organismes; il a aussi établi que les toxines de certains champignons exercent une action inhibitrice sur le développement des tissus, tandis que les sécrétions d'autres champignons, ainsi que celles de Rhizobium et du Bacterium tumefaciens, exaltent la prolifération cellulaire.

Les cultures de tissus peuvent aussi permettre le développement in vitro de parasites obligatoires: virus de la mosaïque du tabac (Segrétain), mildiou de la vigne (Morel).

Mais les plus importantes applications de la culture des tissus végétaux concernent le problème du cancer. On sait que Erwin Smith a montré que le Bacterium tumefaciens provoque chez de nombreuses plantes des tumeurs que Jensen a le premier, en 1910, assimilées à un cancer végétal. Mais cette opinion, adoptée par Smith, a été très controversée. Or, White et Braun, inoculant le B. tumefaciens à des tournesols, ont pu obtenir, à une assez grande distance de la tumeur primaire formée au point d'inoculation, des tumeurs secondaires (métastases) complètement dépourvues de bactéries. Ces métastases ont été le point de départ de cultures de tissus dont les caractères sont très différents de ceux des cultures des tissus normaux, et qui se développent environ douze fois plus rapidement. Ces cultures de tissu tumoral, après plusieurs repiquages, sont susceptibles d'être greffées sur des tournesols sains et d'y reproduire des tumeurs indemnes de bactéries. White a établi, en outre, qu'elles ne contiennent pas non plus de virus filtrant cancérigène.

Tout récemment, en soumettant à une température de 45° des tumeurs provoquées sur *Vinca rosea* par le *B. tumefaciens*, il parvient à y faire disparaître les bactéries. Les tissus tumoraux ainsi débarrassés de l'agent infectieux peuvent être cultivés et ensuite, greffés sur d'autres plantes de *Vinca*, redonner de volumineuses tumeurs.

Ces expériences démontrent que, sous l'influence du *B. tumefaciens*, les cellules de la plante peuvent se transformer en véritables cellules cancéreuses capables de conserver leur faculté de proliférer indéfiniment, même lorsque la bactérie qui a déclenché cette prolifération n'est plus présente dans les tissus.

Nous avons déjà dit comment White avait réalisé la culture des tissus de l'hybride Nicotiana glauca × N. Langsdorffii. Cet hybride produit spontanément des tumeurs qui ne sont pas d'origine parasitaire (Kostoff, Whitaker, Levine, etc.); or, White a montré que leurs tissus, après avoir été cultivés in vitro pendant cinq ans, peuvent

être greffés sur Nicotiana glauca et y donner naissance à des tumeurs sur cette espèce qui ne produit jamais de tumeurs spontanées.

Ces recherches paraissent avoir démontré l'analogie fondamentale du cancer végétal avec le cancer animal et on peut penser que leur développement contribuera grandement à la connaissance du mécanisme

intime de la formation des néoplasmes.

Les résultats déjà atteints grâce à la culture des tissus vêgétaux suffisent à montrer l'importance de cette méthode, qui offre aux chercheurs de vastes champs d'étude. Car beaucoup de points ont été insuffisamment approfondis ou même n'ont pas encore été abordés. Les résultats obtenus manquent de généralité: la culture indéfinie des tissus n'a été réussie que dans quelques espèces végétales. En particulier, on n'a encore réalisé aucune culture de tissus de monocotylédone: peut-être ces végétaux ont-ils des besoins spéciaux en facteurs de croissance? D'autre part, certains types de tissus, le collenchyme par exemple, n'ont pas encore été obtenus en culture.

La culture des tissus permettra de réaliser d'intéressantes expériences sur la nutrition. On pourra, plus aisément que dans la plante entière, examiner le rôle de diverses substances, glucides, acides aminés, sels minéraux, etc., ou déterminer quels sont les tissus où s'effectuent certaines synthèses, spécialement celles des substances vitaminiques ou hormonales.

Les applications à la pathologie doivent aussi prendre une grande extension. C'est surtout dans l'explication des phénomènes d'immunité que la culture des tissus nous paraît devoir être très utile. Chez les végétaux, les phénomènes immunitaires sont habituellement très localisés: il faut donc les étudier à l'échelle cellulaire ou, tout au moins, tissulaire.

C'est vraisemblablement aussi par la culture des tissus qu'on arrivera à connaître les facteurs de l'histogénèse et de l'organogénèse. En soumettant des cultures indéfinies de tissus indifférenciés à diverses influences physiques ou chimiques, on parviendra sans doute à dégager les causes des multiples variations de forme et de fonction que l'on rencontre dans les tissus végétaux.

Enfin, il faudrait tendre à obtenir la prolifération de cellules provenant de végétaux supérieurs, de façon isolée ou presque isolée, ce qui était, semble-t-il, le but recherché par Haberlandt, et ensuite, à partir de ces éléments, analogues à des cultures de bactéries ou de levures, essayer de reconstituer des tissus différenciés sans l'influence de facteurs bien déterminés.

Les cellules buissonnantes de nos cultures de tissus de carotte, avec leur aspect un peu levuriforme, nous ont paru se rapprocher de l'objectif recherché. Malheureusement, nos tentatives pour les faire proliférer une fois qu'elles sont séparées du tissus sous-jacent, ont échoué jusqu'ici.

Le but idéal que l'on peut assigner aux cultures de tissus végétaux semble donc encore loin d'être atteint. Mais rien ne permet de dire qu'il ne pourra l'être: au contraire, les résultats rapidement acquis en quelques années, doivent nous faire envisager l'avenir avec confiance.

Zusammenfassung.

Das Problem der Kultur pflanzlicher Gewebe hat durch lange Zeit den Bemühungen der Biologen widerstanden. Erst im Jahre 1937 hat Nobécourt einen Nährboden auf Basis der Indolessigsäure angegeben, der gestattet, Stückchen von Karotten durch unbegrenzte Zeit zu kultivieren. Im Jahre 1938 ist dann White die zeitlich unbegrenzte Kultur einer Nicotiana-Hybride auf einem Nährboden von Hefeextrakt gelungen.

Die Kultur pflanzlicher Gewebe bietet zahlreiche Ausblicke auf Fragen der Zellvermehrung, auf Fragen der Zellernährung, der Histogenese und der Organogenese.

In der Pathologie der Pflanzen gestattet sie die Produktion von Viren *in vitro*, ebenso das Züchten von parasitären Pilzen, die auf keinem künstlichen Nährboden wachsen. Sie hat auch dazu geführt, den Krebscharakter bestimmter pflanzlicher Tumore nachzuweisen.

with the last the first the last and the last th