

La culture des tissus végétaux : physiologie et nutrition

Autor(en): **Gautheret, R.-J.**

Objektyp: **Article**

Zeitschrift: **Verhandlungen der Schweizerischen Naturforschenden Gesellschaft = Actes de la Société Helvétique des Sciences Naturelles = Atti della Società Elvetica di Scienze Naturali**

Band (Jahr): **135 (1955)**

PDF erstellt am: **25.09.2024**

Persistenter Link: <https://doi.org/10.5169/seals-90503>

Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Inhalten der Zeitschriften. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern.

Die auf der Plattform e-periodica veröffentlichten Dokumente stehen für nicht-kommerzielle Zwecke in Lehre und Forschung sowie für die private Nutzung frei zur Verfügung. Einzelne Dateien oder Ausdrucke aus diesem Angebot können zusammen mit diesen Nutzungsbedingungen und den korrekten Herkunftsbezeichnungen weitergegeben werden.

Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. Die systematische Speicherung von Teilen des elektronischen Angebots auf anderen Servern bedarf ebenfalls des schriftlichen Einverständnisses der Rechteinhaber.

Haftungsausschluss

Alle Angaben erfolgen ohne Gewähr für Vollständigkeit oder Richtigkeit. Es wird keine Haftung übernommen für Schäden durch die Verwendung von Informationen aus diesem Online-Angebot oder durch das Fehlen von Informationen. Dies gilt auch für Inhalte Dritter, die über dieses Angebot zugänglich sind.

La culture des tissus végétaux : physiologie et nutrition

par

R.-J. GAUTHERET, Paris

Monsieur le Président, Mesdames, Messieurs,

Avant d'aborder le sujet de cette conférence, je tiens à vous dire la joie que j'éprouve à me trouver parmi vous et ma fierté d'être l'invité de votre société si réputée.

Cette joie, je la dois à la confiance de M. le président GUÉNIAT et à l'amitié de M. le professeur SCHOPFER. Qu'ils me permettent de leur exprimer ma gratitude.

Introduction

Le problème dont je vous parlerai a une origine lointaine. Il était en germe dans la théorie cellulaire telle qu'elle fut énoncée par SCHWANN et SCHLEIDEN au début du siècle dernier. Cette théorie, rappelons-le, considère la cellule comme l'unité fondamentale de tout organisme animal ou végétal. Elle affirme non seulement l'universalité de la structure cellulaire mais prévoit que la cellule doit être capable de vie autonome. Le premier point fut confirmé avec éclat par les histologistes de la période classique. Mais le second garda pendant près de soixante-dix ans le caractère d'un axiome inaccessible à toute vérification.

Quelques présomptions plaidèrent cependant en sa faveur. C'est ainsi que l'existence d'êtres unicellulaires prouvait l'autonomie physiologique de la cellule. Mais cette preuve était inapplicable au cas des organismes complexes pour lesquels les diverses fonctions indispensables à la vie sont séparées dans des cellules distinctes. On pouvait en effet se demander si la spécialisation des cellules ne limitait pas leurs possibilités d'autonomie. Pour répondre à cette question il aurait fallu séparer les cellules d'un organisme complexe et déceler leur faculté éventuelle de vie autonome. Cette expérience cruciale était irréalisable à l'époque à laquelle SCHLEIDEN et SCHWANN fondèrent les principes de leur doctrine. Elle le devint après l'établissement des principes de la microbiologie.

La première tentative de ce genre fut réalisée par le botaniste HABERLANDT. Dès 1902, il essaya de cultiver des fragments de feuilles, de racines et de tiges. Ses efforts échouèrent complètement car il s'était

adressé à des types cellulaires très différenciés, ayant définitivement perdu la faculté de se multiplier.

Son idée fut reprise par des chercheurs travaillant sur la cellule animale. En 1907, HARRISON parvint à entretenir pendant quelque temps la prolifération de fragments de tissus de grenouille et, cinq ans plus tard, ALEXIS CARREL réalisa pour la première fois la culture indéfinie de fibroblastes de poulet. Ce succès suscita un enthousiasme très vif et de nombreux chercheurs s'engagèrent dans la voie ainsi ouverte. La culture des tissus animaux amorça alors sa puissante expansion. Ce succès incita les botanistes à intensifier leurs propres efforts. Mais, une fois encore, ils travaillèrent en vain, et vers 1921, aucune solution n'était en vue. C'est alors qu'un savant américain, ROBBINS, commença à entrevoir la voie qui, quinze ans plus tard, devait conduire au succès. Il comprit que la culture des tissus ne pourrait être réalisée qu'en s'adressant à des cellules méristématiques, c'est-à-dire à des éléments qui, dans la plante, prolifèrent avec activité.

Les méristèmes les plus facilement accessibles sont les points végétatifs qui constituent des massifs de petites cellules localisés aux extrémités des tiges et des racines. Par leur fonctionnement ordonné ils assurent la croissance en longueur et la ramification des organes de la plante (fig. 1).

C'est à ces points végétatifs que ROBBINS s'adressa; son effort principal porta sur la réalisation de cultures de racines. Il isola des extrémités de racines et les plaça dans un milieu nutritif très simple contenant des sels minéraux et du glucose; ces extrémités de racines s'accroissaient rapidement et se ramifiaient. Pour prolonger la durée des cultures, ROBBINS entreprit de les repiquer en sectionnant les méristèmes d'une racine ayant été cultivée pendant quelque temps et en les transportant dans des milieux neufs. Il parvint ainsi à prolonger l'activité de ses cultures mais celle-ci cessait néanmoins au bout de quelques mois. En 1934, WHITE reprit ces essais et parvint à obtenir pour la première fois le développement illimité des racines isolées.

Les expériences de ROBBINS et de WHITE, malgré leur intérêt, n'avaient pas résolu le problème de la culture des tissus végétaux. En effet, les extrémités de racines cultivées par ces savants fournissaient toujours des organes possédant une morphologie et une structure bien définies.

Pour obtenir de véritables cultures de tissus nous avons eu recours à un autre type de méristème que celui constituant les points végétatifs. Ce second méristème se rencontre principalement chez les Dicotylédones et les Gymnospermes où il constitue, dans la profondeur de la tige et de la racine, de vastes nappes cylindriques appelées cambiums (fig. 1). Pour distinguer le cambium, arrachons par exemple l'écorce d'un arbre, lambeau par lambeau. On parvient bientôt à un tissu incolore, mou, gorgé d'eau, étroitement appliqué contre le bois qui est résistant et plus sec. Ce tissu délicat représente le cambium de l'arbre. C'est lui qui prolifère pendant la belle saison, produisant chaque année vers l'extérieur une

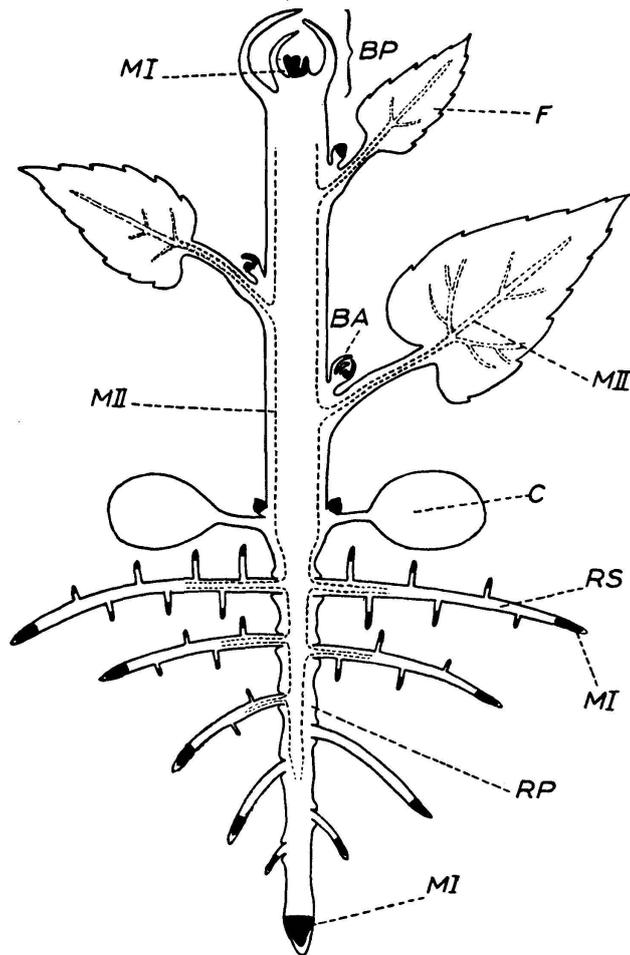


Fig. 1 Schéma d'un végétal vasculaire (Dicotylédone)

Les extrémités des racines et des tiges ainsi que les bourgeons axillaires sont occupés par des massifs méristématiques primaires (MI) qui assurent l'accroissement en longueur et la ramification de la plante. Tous les organes renferment en outre un méristème secondaire (M II) qui s'organise plus ou moins tardivement au sein des tissus primaires. La prolifération de ce méristème secondaire assure la croissance en épaisseur.

- B P: bourgeon principal
- B A: bourgeon axillaire
- F: feuille
- C: cotylédon
- R P: racine principale
- R S: racine secondaire

mince couche de tissu conducteur de la sève élaborée auquel on donne le nom de liber et vers l'intérieur une couche de bois tendre qui s'ajoute aux assises des années précédentes. Ce méristème ne se rencontre pas seulement dans les arbres mais aussi dans les tubercules, les lianes et les tiges herbacées banales des Dicotylédones et des Gymnospermes.

En isolant des fragments de troncs d'arbres ou de tubercules contenant des cellules cambiales nous avons pu obtenir une prolifération désordonnée aboutissant à de véritables cultures de tissus. Par la suite nous avons constaté que certains parenchymes de racines formés de cellules peu différenciées, analogues aux éléments conjonctifs des animaux, pou-

vaient être cultivés de la même manière que les cambiums. Signalons que WHITE a constaté que des cultures de tissus pouvaient être également obtenues à partir de diverses tumeurs produites par des Dicotylédones.

Ces travaux préliminaires suscitèrent de nombreuses vocations. L'une des plus fécondes fut celle de notre élève MOREL qui généralisa la méthode des cultures de tissus à des plantes très diverses appartenant aux groupes des Dicotylédones, des Gymnospermes, des Monocotylédones et même des Ptéridophytes.

Caractères morphologiques des cultures de tissus végétaux

Lorsqu'on met en culture un fragment d'organe, il se développe pour donner des protubérances parenchymateuses (fig. 2) et parfois encore des bourgeons ou des racines.

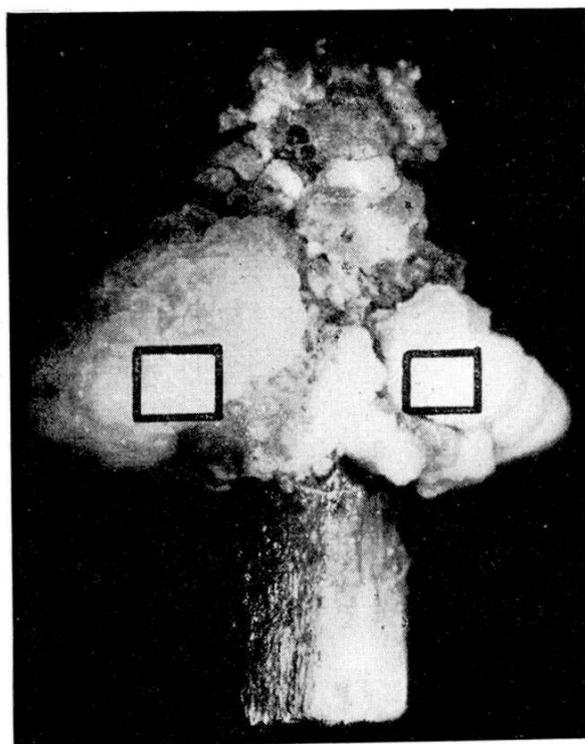


Fig. 2 Culture de cambium de saule âgée de deux mois

L'explantat a proliféré pour donner une volumineuse protubérance. Les régions circonscrites par les rectangles correspondent aux parties que l'on doit prélever lors du repiquage de la culture.

La prolifération est très intense au début de la culture puis elle se ralentit au bout de trois à quatre mois et finalement les tissus se nécrosent. Pour prolonger l'activité des cultures il faut procéder à leur repiquage, c'est-à-dire prélever sur l'explantat un fragment de tissus en voie de croissance rapide (fig. 2) et le transporter dans un milieu neuf.

Le fragment ainsi repiqué s'accroît en tous sens pour donner une masse compacte (fig.3) ou prolifère seulement sur ses bords pour

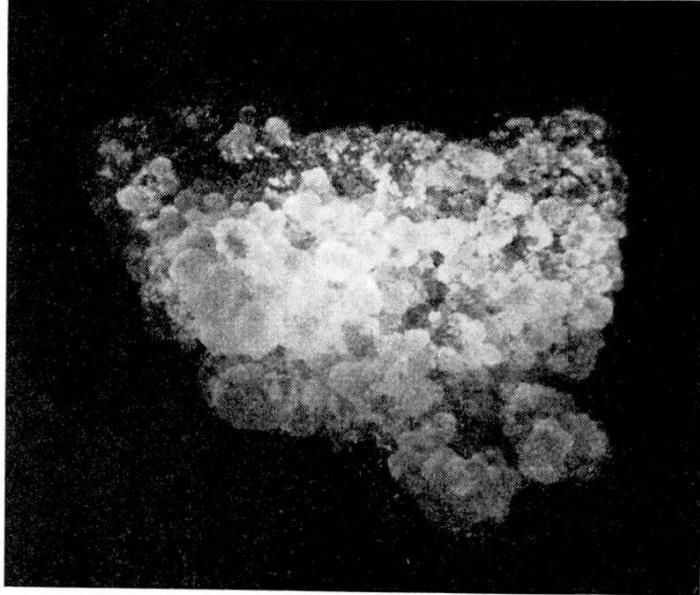


Fig. 3 Culture de tissus de carotte âgée de deux mois provenant d'une souche de 18 ans (106^e repiquage)

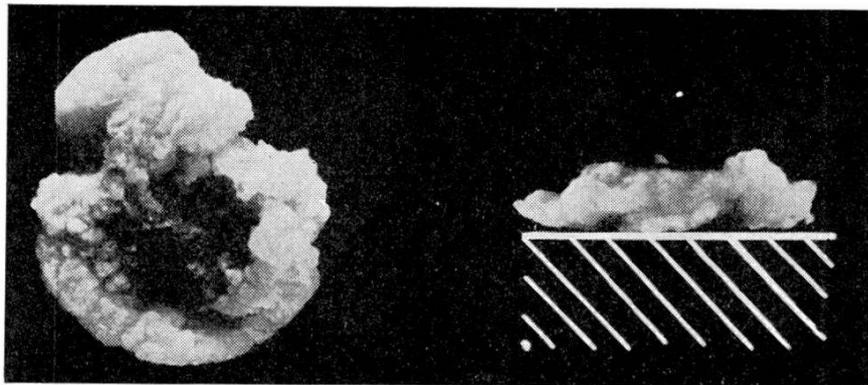


Fig. 4 Culture de tissus d'aubépine âgée de 45 jours provenant d'une souche de six ans (38^e repiquage)

A droite, colonie vue de profil. Le milieu de culture est représenté par des traits hachurés. A gauche, colonie vue de face. On constate que l'explantat s'est développé à la manière d'une colonie de levures pour donner un disque aplati.

donner un disque aplati s'étalant à la surface du milieu de culture (fig. 4). La taille de ces colonies peut être considérable. En employant de grands récipients renfermant deux à trois litres de milieu nutritif, on peut obtenir des colonies géantes pesant plusieurs centaines de grammes. Les cultures peuvent se développer indéfiniment si l'on pratique des repiquages à intervalles réguliers. Nous entretenons de nombreuses souches tissulaires depuis plus de dix ans. La plus ancienne (fig. 3) est actuellement âgée de 18 ans.

L'étude anatomique des colonies révèle deux types de structure. Parfois elles sont faites d'une masse parenchymateuse entièrement homo-

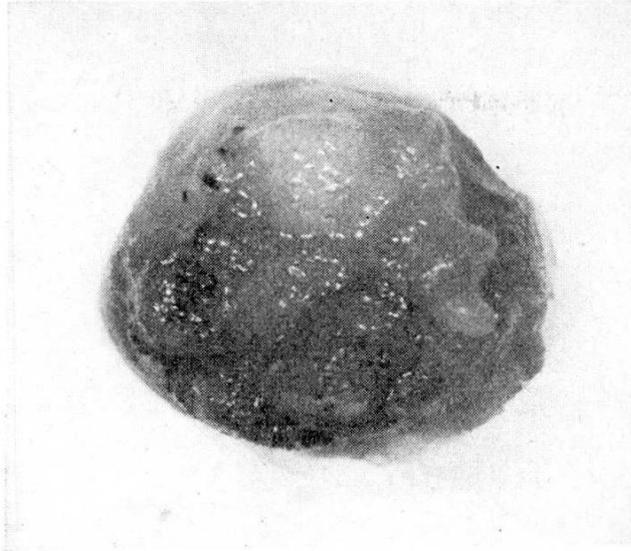


Fig. 5 Culture de tissus de crown-gall de vigne

La colonie est faite d'un tissu mou entièrement translucide.

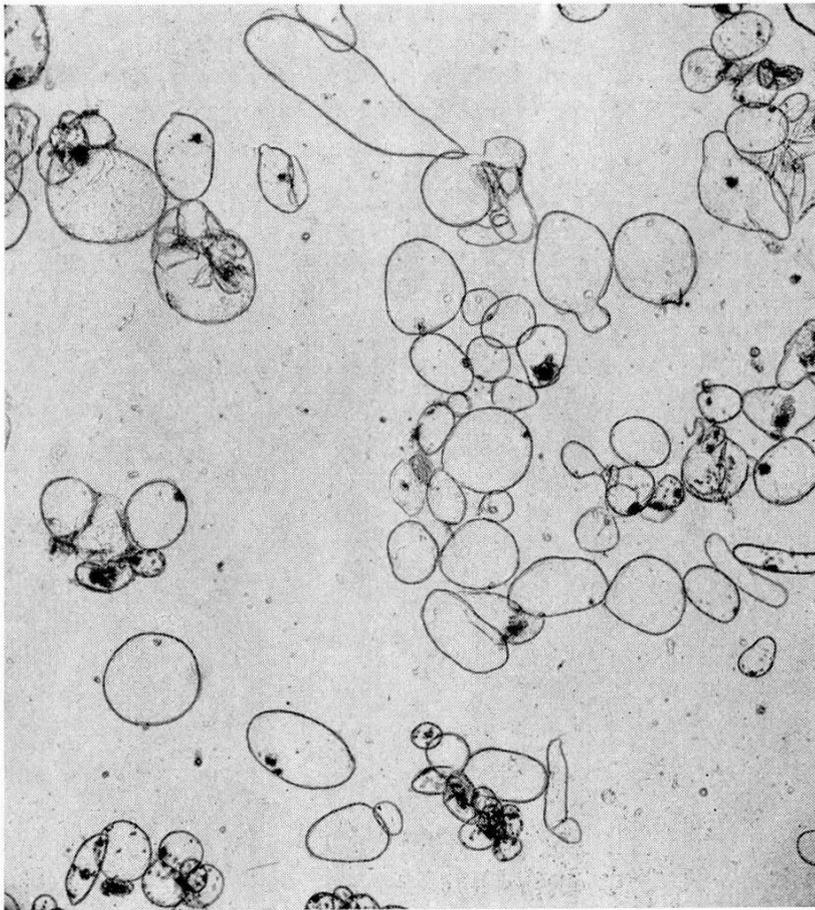


Fig. 6 Structure d'une colonie de tissus de crown-gall de vigne

La colonie a été légèrement écrasée; on constate qu'elle est faite de cellules complètement indépendantes.

gène. Mais le plus souvent il apparaît au sein du parenchyme fondamental des cellules cambiales qui produisent des cellules libériennes ou des trachéides plus ou moins bien différenciées. Dans ce cas, les colonies ont donc une structure hétérogène. Certaines colonies présentent enfin l'aspect d'une sorte de purée et leur examen microscopique montre qu'elles sont faites de cellules entièrement isolées les unes des autres (fig. 5 et 6).

La nutrition des cultures de tissus végétaux

Les milieux employés pour la culture des tissus végétaux sont très simples et parfois même entièrement synthétiques. Ils renferment de l'eau, des sels minéraux, un sucre et généralement une ou plusieurs substances capables d'exciter la multiplication des cellules. Ils sont presque toujours solidifiés par de la gélose qui assure une ambiance colloïdale favorable au développement des tissus. Nous allons examiner les principaux éléments nutritifs de ces milieux.

Sels minéraux

Les fondateurs de la culture des tissus végétaux ont obtenu de bons résultats en utilisant comme milieu minéral l'une des solutions de macroéléments employées pour la culture des plantes entières; solution de KNOP, solution d'USPENSKI, etc. Ces solutions étaient additionnées de quelques microéléments. Des recherches ultérieures ont suggéré d'apporter quelques retouches à leur composition. Les plus étendues entreprises par HELLER ont abouti à la mise au point d'une solution minérale qui permet d'obtenir une prolifération deux à trois fois supérieure à celle procurée par les anciens milieux.

Cette solution a la composition suivante:

Solution minérale d'Heller

| Macroéléments (en millions-grammes par litre) | Microéléments (en grammes par cc.) |
|--|---------------------------------------|
| NO ₃ ⁻ : 7,1 | Fe : 2.10 ⁻⁷ |
| K ⁺ : 10,0 | B : 1,8.10 ⁻⁷ |
| Ca ⁺⁺ : 0,51 | Mn : 2,5.10 ⁻⁸ |
| Mg ⁺⁺ : 1,03 | Zn : 2,3.10 ⁻⁸ |
| SO ₄ ⁻⁻ : 1,03 | Cu : 7,7.10 ⁻⁹ |
| PO ₄ H ₂ ⁻ : 0,91 | Ni : 7,5.10 ⁻⁹ |
| Na ⁺ : 8,0 | I : 7,6.10 ⁻⁹ |
| Cl ⁻ : 11,0 | Al : 7,5.10 ⁻⁹ |

La suppression de l'un quelconque des six premiers macroéléments provoque la mort des cultures au bout d'un à deux passages. Par contre les deux derniers, c'est-à-dire Na et Cl ne sont pas indispensables

mais favorisent légèrement le développement des cultures. Quant aux microéléments certains sont essentiels. La suppression de l'un quelconque des cinq premiers provoque la mort au bout de trois à cinq passages. Ce résultat fourni par des essais entrepris sur des cultures de tissus est important car jusqu'à présent la nécessité absolue des microéléments n'avait pu être vraiment démontrée, du moins dans le cas des plantes supérieures. Quant aux trois derniers microéléments, leur présence exalte simplement la multiplication des cellules et l'on peut les supprimer sans inconvénient.

Sucres

Les colonies tissulaires n'élaborent généralement pas de chlorophylle ou lorsqu'elles en produisent c'est en quantité si faible qu'elles ne sont que partiellement autotrophes. Il faut donc leur fournir une source organique de carbone. Les plus efficaces sont le glucose ou le saccharose. Mais certains tissus sont capables d'utiliser des formes de carbone un peu inattendues par exemple du glycérol ou même de l'amidon (NICKELL). En suivant les transformations glucidiques qui s'opèrent au sein des tissus, GORIS a constaté qu'il existe un équilibre à peu près indépendant de la nature du sucre fourni comme aliment. Ainsi, les tissus de carotte renferment un mélange de saccharose, de fructose et de glucose qui reste invariable que ce soit l'un ou l'autre de ces trois sucres qu'on mette à leur disposition. Les cellules isomérisent donc les sucres sans difficulté.

Signalons enfin que l'équilibre glucidique intracellulaire peut être déplacé par certains stimulants de la multiplication cellulaire tels que les auxines et le lait de coco ou par certaines substances inhibitrices comme l'hydrazide maléique.

Substances stimulantes

Certains tissus normaux, par exemple le tissu cambial de carotte ou de ronce et la plupart des tissus tumoraux sont capables de proliférer dans un milieu dépourvu de tout facteur de croissance et ne contenant donc comme éléments nutritifs que des sels minéraux et un sucre. Mais le plus souvent, on est obligé d'avoir recours à diverses substances organiques qui stimulent électivement la multiplication cellulaire. Ces substances sont, soit des composés définis, soit des produits naturels dont la composition est encore mal connue.

Substances définies

Les plus importantes sont les auxines. Leur utilisation a joué un rôle décisif dans la réalisation des premières cultures de tissus normaux. En principe elles sont indispensables à tous les tissus de Dicotylédones. Ceux qui semblent pouvoir s'en passer sont en réalité autotrophes à leur égard c'est-à-dire qu'ils en élaborent eux-mêmes une quantité suffisante

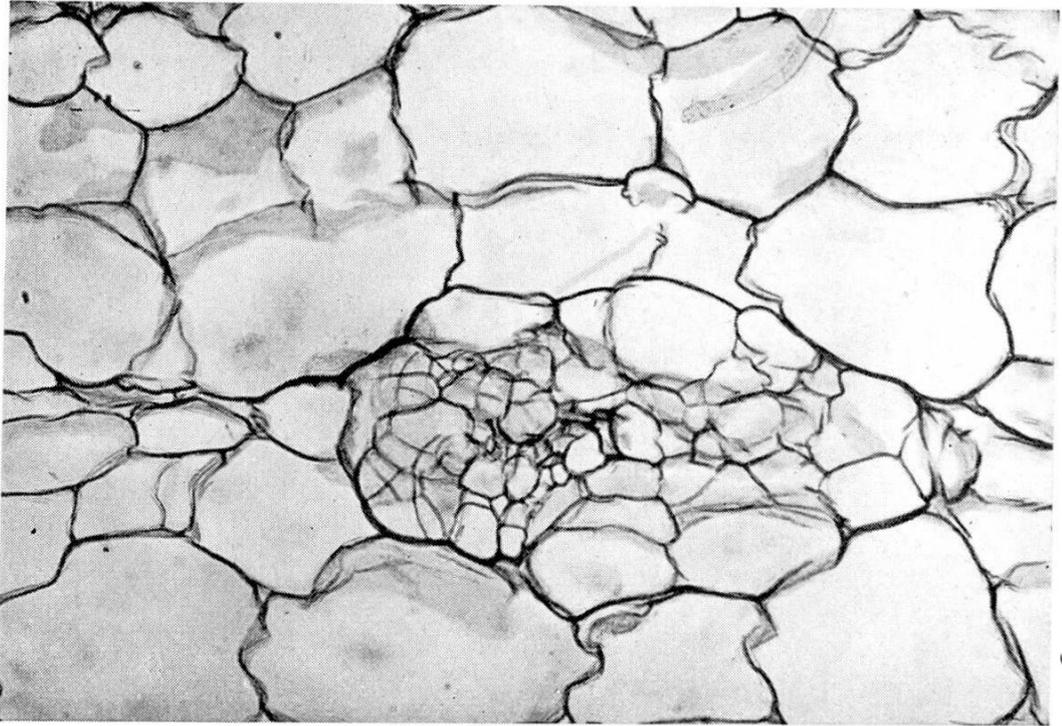


Fig. 7 Coupe pratiquée dans un fragment de phloème de carotte ayant été cultivé dans un milieu contenant 10^{-7} d'acide indole-acétique

Certaines cellules parenchymateuses se sont multipliées pour donner des massifs de petits éléments méristématiques.

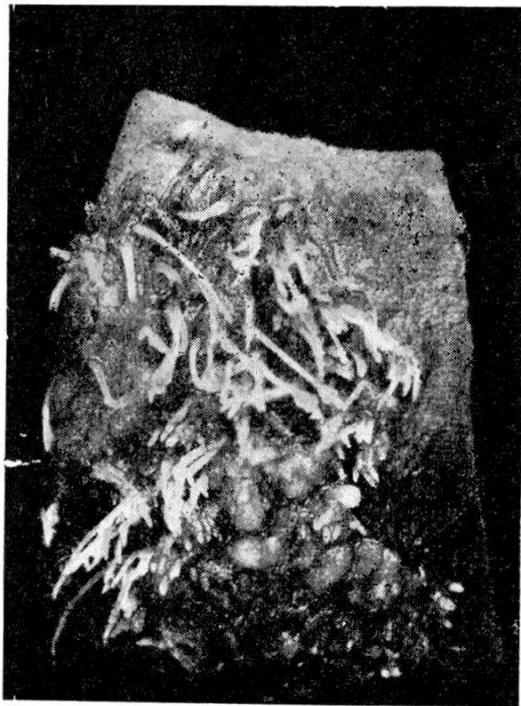


Fig. 8 Fragment de phloème de carotte ayant été cultivé dans un milieu contenant 10^{-6} d'acide indole-acétique

On constate que l'auxine a provoqué la formation de nombreuses racines.

pour qu'il soit inutile de leur en fournir (KULESCHA). Les auxines les plus employées pour les cultures de tissus sont l'acide indole-acétique et surtout l'acide naphthalène-acétique. Leur maniement est assez délicat car leur mode d'action varie selon la dose. Si l'on cultive par exemple des tissus de carotte dans un milieu contenant de l'acide indole-acétique à la dose de 10^{-8} à 10^{-7} on observe une stimulation de la prolifération cellulaire (fig. 7). Si l'on emploie une dose plus forte de l'ordre de 10^{-6} , on constate que l'auxine devient rhizogène et provoque la formation de nombreuses racines (fig. 8). Une dose encore plus forte de l'ordre de 10^{-5} à 10^{-4} détermine enfin un accroissement des cellules dans toutes les directions ce qui entraîne une dissociation plus ou moins complète des tissus (fig. 9). Pour obtenir des cultures durables, il faut donc choisir la dose d'auxine qui provoque électivement la multiplication cellulaire.

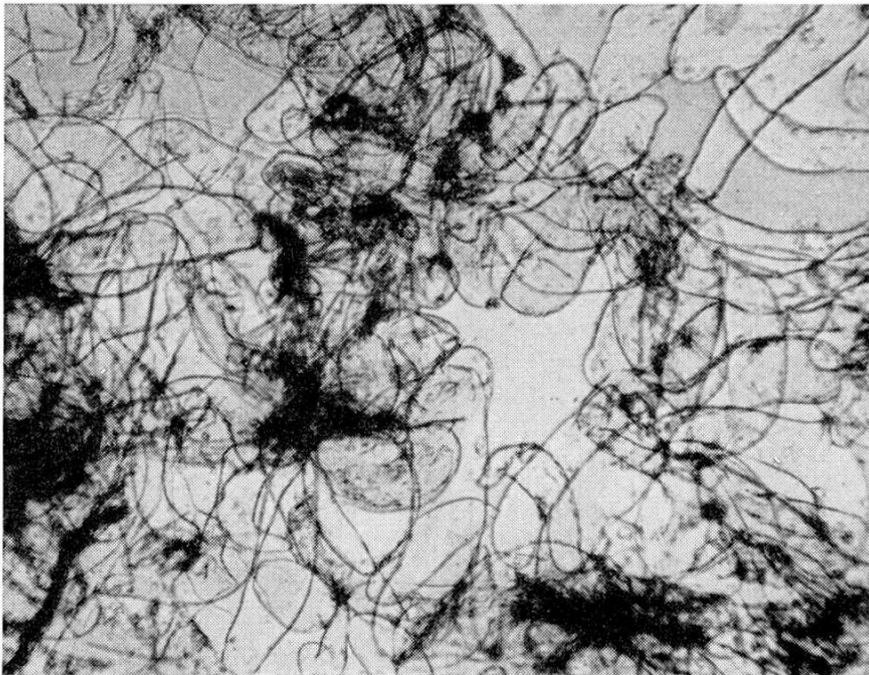


Fig. 9 Fragment de phloème de carotte ayant été cultivé dans un milieu contenant 10^{-5} d'acide indole-acétique

Les cellules de l'explantat se sont dissociées et gonflées en tous sens.

Les vitamines favorisent également la prolifération des cultures de tissus végétaux, NICKELL a par exemple constaté que la vitamine B_1 est indispensable au développement des tissus d'oseille. Mlle PARIS a remarqué que dans d'autres cas cette vitamine exerce une action stimulante sans être nécessaire. Il en est de même de l'acide pantothénique (fig. 10) à l'égard des tissus d'aubépine (MOREL) et de saule. En pratique on utilise des mélanges complexes renfermant jusqu'à dix vitamines sans savoir la part qui revient à chacune d'elles dans les stimulations qu'on observe. Comme dans le cas des auxines, les vitamines qui paraissent inutiles sont élaborées en quantité appréciable par les tissus.

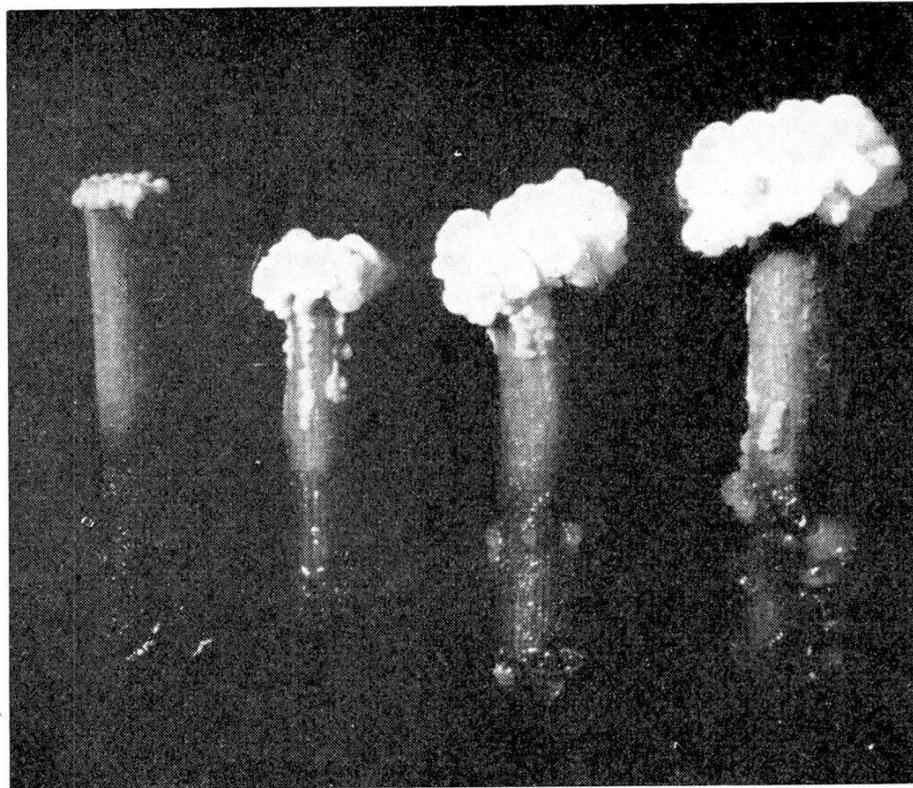


Fig. 10 Action de l'acide naphthalène-acétique et de l'acide pantothénique sur le développement de fragments de tiges d'aubépine

De gauche à droite, fragments cultivés: 1° dans un milieu sans facteur de croissance, 2° en présence de $5,10^{-7}$ d'acide pantothénique, 3° en présence de $5,10^{-7}$ d'acide naphthalène-acétique, 4° dans un milieu contenant à la fois ces deux substances. L'action stimulante de l'acide pantothénique se manifeste nettement. (D'après Morel).

On se sert enfin d'amino-acides et de bases organiques. Isolément ces substances sont peu actives mais elles manifestent souvent des phénomènes de synergie lorsqu'on les associe à des vitamines ou à certains produits naturels extraits du lait de coco.

Substances indéfinies

Les fondateurs de la culture des tissus animaux avaient pensé avec raison que le tissu embryonnaire devait contenir les facteurs de la multiplication cellulaire. Ce principe fut appliqué aux végétaux par VAN OVERBEEK, CONKLIN et BLAKESLEE. Ils pensèrent que l'albumen liquide de la noix de coco qui est en réalité un embryon devait posséder des propriétés stimulantes. Leur idée était exacte car ce liquide favorise le développement des embryons isolés et celui des cultures de tissus de Dicotylédones (CAPLIN et STEWARD). Il agit également d'une manière remarquable sur les tissus de Monocotylédones (MOREL) et, fait curieux, il sti-

mule la prolifération des tissus tumoraux (fig. 11) qui sont insensibles aux auxines (DUHAMET).

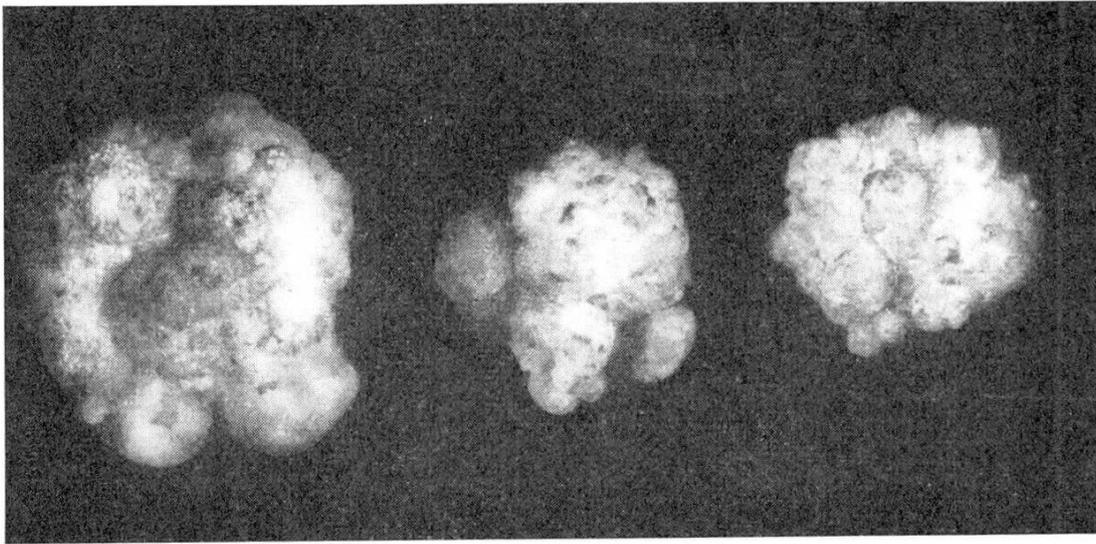


Fig. 11 Action du lait de coco sur le développement des tissus de crown-gall de scorsonère

A droite, colonie cultivée dans un milieu dépourvu de facteurs de croissance. Au milieu, colonie cultivée en présence de 10^{-6} d'acide indole-acétique. A gauche, colonie cultivée sur un milieu contenant 15% de lait de coco.

A la suite de recherches extraordinairement délicates qui forcent l'admiration, SHANTZ et STEWARD sont parvenus à isoler les substances contenues dans le lait de coco. Ces substances sont au moins au nombre de quatre. Elles n'ont aucune activité propre mais manifestent un pouvoir stimulant considérable lorsqu'on les associe à un mélange d'acides-amino sous forme d'hydrolysate de caséine. Deux ont pu être identifiées: il s'agit de la 1-3-diphénylurée et d'une leucoanthocyane. Ces travaux ont suggéré de faire agir divers extraits végétaux sur des cultures de tissus.

On a ainsi découvert les propriétés stimulantes des jeunes albumens de maïs, d'orge, d'avoine, etc., d'extraits de divers fruits: tomate, orange, raisin, *Artocarpus*, etc. et de graines: noix, *Aesculus*, *Allanblackia*, etc. Les substances stimulantes contenues dans ces extraits n'ont pu être identifiées à l'exception de celle des graines d'*Aesculus* qui, d'après SHANTZ et STEWARD, serait une leucoanthocyane analogue à celle du lait de coco.

Variations des besoins en facteurs de croissance

Les besoins en facteurs de croissance ne sont pas fixes pour un tissu donné, mais on observe très souvent des variations.

Il se peut qu'un tissu devienne plus exigeant au cours de la culture. L'exemple le plus net de ce type de modification est fourni par les tissus normaux de topinambour ou de scorsonère. Ces tissus s'accroissent lentement dans un milieu ne contenant d'autres facteurs de croissance qu'une

auxine. Si on les repique dans une solution nutritive additionnée de lait de coco, leur prolifération s'accélère mais si on les reporte ultérieurement sur le milieu primitif leur développement cesse aussitôt. Les tissus ayant subi l'action du lait de coco ne peuvent donc plus s'en passer.

En réalité, les augmentations de besoins nutritifs sont assez rares. Le phénomène inverse est au contraire très fréquent. Il constitue notamment un caractère essentiel des transformations tumorales. On constate en effet que les tissus de crown-gall de scorsonère, de topinambour, etc. sont capables de proliférer sans auxine, alors que les tissus normaux correspondants exigent une substance de ce type. Cette modification est due à l'action transitoire d'une bactérie spécifique l'*Agrobacterium tumefaciens* et persiste après que celle-ci a disparu des tissus.

Les tissus tumoraux d'origine virologique, par exemple, ceux des tumeurs provoquées par le virus *Aureogenus magnivena*, et les tissus tumoraux d'origine génétique tels que ceux des néoplasmes produits spontanément par l'hybride *Nicotiana glauca* × *N. langsdorffii* présentent le même caractère. Ici encore les cellules qui subissent la transformation tumorale deviennent autotrophes à l'auxine.

Un phénomène identique peut être obtenu lorsqu'on cultive des tissus normaux. Il arrive que des colonies normales plus ou moins complètement hétérotrophes à l'auxine soient capables au bout de quelques repiquages de se passer de substances de ce type et deviennent même tout à fait insensibles à l'égard de leurs propriétés stimulantes. Nous avons donné à cette transformation le nom d'anergie à l'auxine (du grec *an*: privatif et *ergo* action). Cette autotrophie à l'auxine n'est d'ailleurs qu'un des aspects du phénomène d'anergie, car les tissus anergiés diffèrent des tissus normaux par d'autres caractères; c'est ainsi qu'ils sont translucides et friables et sont généralement incapables de produire des organes. Ils présentent des propriétés tumorales indéniables qui s'expriment par le fait qu'ils produisent des tumeurs lorsqu'on les greffe sur des plantes saines.

On connaît encore d'autres cas de réduction des besoins nutritifs concernant par exemple les vitamines. C'est ainsi que les tissus de saule qui ont besoin d'acide pantothénique au début de la culture, sont capables de s'en passer après avoir subi quelques repiquages.

Je bornerai là cet exposé qui, vous avez pu vous en rendre compte, a négligé de nombreux aspects de la culture des tissus végétaux. C'est qu'en effet son domaine est devenu si vaste qu'il n'est pas possible d'en donner brièvement une vue d'ensemble. Je souhaite que le choix que j'ai dû faire parmi d'innombrables résultats ait cependant précisé d'une manière suffisante les lignes essentielles et les possibilités de ce nouveau chapitre de la biologie végétale.