

Variations de la morphologie et de la structure de cultures de tissus végétaux

Autor(en): **Nobécourt, Pierre**

Objekttyp: **Article**

Zeitschrift: **Berichte der Schweizerischen Botanischen Gesellschaft = Bulletin de la Société Botanique Suisse**

Band (Jahr): **65 (1955)**

PDF erstellt am: **30.04.2024**

Persistenter Link: <https://doi.org/10.5169/seals-45992>

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.

Variations de la morphologie et de la structure de cultures de tissus végétaux

Par *Pierre Nobécourt*

Professeur à la Faculté des sciences de Grenoble

Manuscrit reçu le 23 juin 1955

Dans le présent mémoire, nous nous proposons d'exposer brièvement les principales observations que nous avons pu effectuer sur les modifications que subissent la morphologie et la structure de tissus végétaux cultivés pendant de longues années. Ces observations s'étendent, en effet, sur une période de 18 ans, c'est-à-dire depuis 1937, date à laquelle nous avons pu résoudre le problème de la culture indéfinie des tissus végétaux.

Rappelons que nous avons montré que si on place une tranche de tubercule de carotte, découpée aseptiquement, sur du coton imbibé d'eau distillée stérilisée, il se produit une prolifération, souvent très volumineuse, des tissus situés sur la face apicale de la tranche (3, 5, 10)¹. C'est en prélevant un fragment des tissus ainsi néoformés sur une tranche de carotte placée sur coton humide en juin 1937, et en le plaçant le 6 septembre (5) sur un milieu de culture dont nous avons précédemment imaginé la formule (4) que nous avons obtenu la souche de tissus de carotte qui est la plus ancienne souche de tissus végétaux existant actuellement et sur laquelle portent une partie des observations que nous allons relater.

Ce milieu de culture se compose essentiellement de liquide de Knop légèrement modifié, notamment par addition de substances oligodynamiques, auquel on ajoute 2 % de glucose. Ce liquide est additionné de 1,5 % de gélose et, après stérilisation, solidifié en plan incliné. Après quoi, on ajoute aseptiquement, au fond du tube, une quantité sensiblement égale du même liquide (non gélosé), préalablement stérilisé et contenant 5 mg par litre d'acide indol-acétique, qui diffuse dans la partie solidifiée.

Les fragments de tissus sont placés sur la partie solide et les tubes sont laissés à la lumière diffuse et à la température du laboratoire.

Les cultures obtenues sont constituées par des masses vertes, irrégulièrement mamelonnées et produisant parfois des racines (figure 1).

Cette souche primitive, cultivée depuis 18 ans de cette manière, a

¹ Les numéros renvoient à l'index bibliographique.

évolué et, il y a quelques années (12), nous avons constaté qu'elle avait donné naissance à trois variétés dont les caractères se conservent à travers les repiquages successifs. Nous avons désigné ces variétés par α , β , γ .

Dans la variété α , les cultures ont un aspect mamelonné plus ou moins irrégulier. Leur teinte est d'un vert généralement assez foncé. Les tissus présentent une assez grande dureté, leur croissance est relativement lente. En outre, comme dans les cultures originelles, il s'y produit parfois des racines morphologiquement différenciées.

La variété β se développe plus rapidement, les cultures sont fortement mamelonnées, de forme souvent très irrégulière; elles sont d'un vert clair, légèrement jaunâtre, et elles produisent fréquemment de l'anthocyane, parfois abondamment. Leurs tissus sont mous et se désagrègent assez facilement. Il n'y apparaît jamais de racines.

La variété γ se développe presque aussi rapidement, mais les cultures ont des contours presque réguliers, elles sont peu ou pas mamelonnées, leur teinte est d'un vert très clair, un peu jaunâtre, les tissus sont compacts et fermes. Il ne s'y forme également jamais de racines.

Dans une autre souche, datant du 1^{er} mars 1944, nous distinguons maintenant deux variétés, A et B, extrêmement différentes.

La variété A est constituée par des cultures vigoureuses, fortement mamelonnées, bien vertes, mais ne produisant jamais de racines (fig. 2).

La variété B pousse lentement, en donnant des cultures brunâtres, de forme très irrégulière. Ces cultures produisent toujours de nombreuses racines, parfois longues et fortes, mais souvent courtes et grêles, s'enfonçant dans la gélose ou, au contraire, se dressant en l'air (figures 3 et 6). En outre, de temps à autre, des cultures appartenant à cette variété produisent des bourgeons donnant de petites feuilles ressemblant aux feuilles de jeunes semis de carotte (figure 4).

Ainsi, nous avons obtenu des cultures tantôt très fermes, tantôt

Figure 1

Culture primitive de tissus de carotte. L'ensemencement du fragment de tissu qui lui a donné naissance a eu lieu le 6 septembre 1937

Figure 2

Culture de tissus de carotte (souche de 1944), variété A

Figure 3

Culture de tissus de carotte (souche de 1944), variété B, avec nombreuses racines

Figure 4

Culture de tissus de carotte (souche de 1944), variété B, ayant produit des pousses feuillées

Figure 5

Cellules ligneuses, à épaississements lignifiés réticulés dans une culture de tissus de carotte

Planche 12

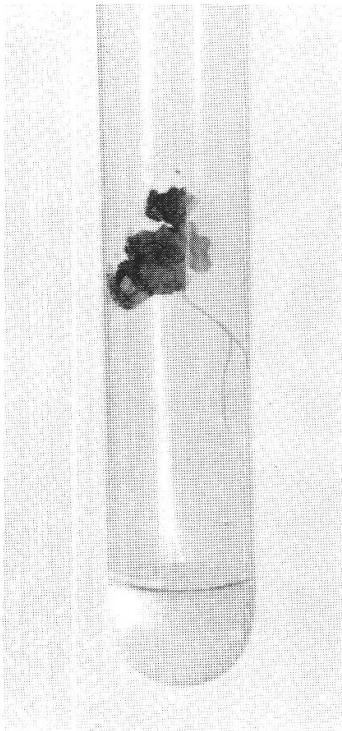


Figure 1

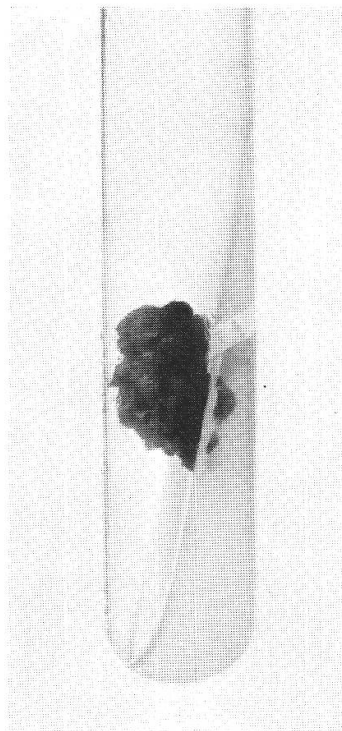


Figure 2

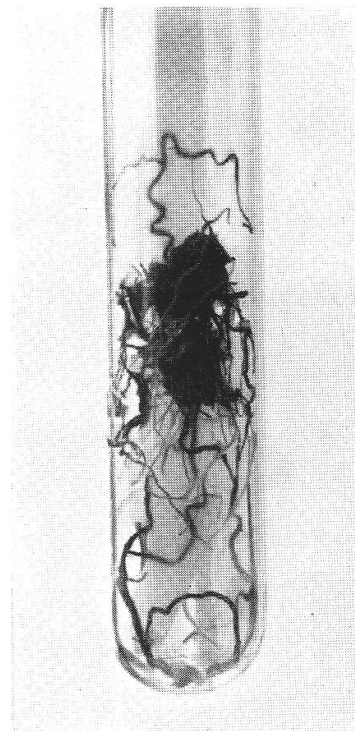


Figure 3

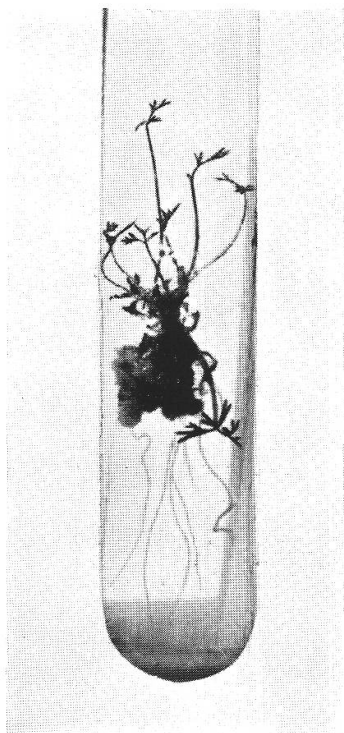


Figure 4

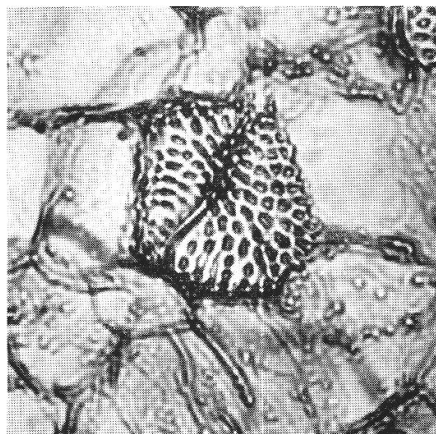


Figure 5

Planche 13

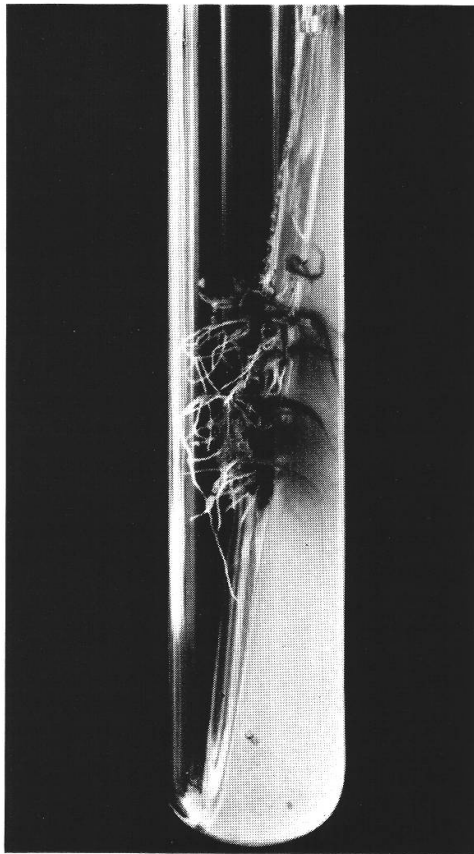


Figure 6



Figure 7



Figure 8

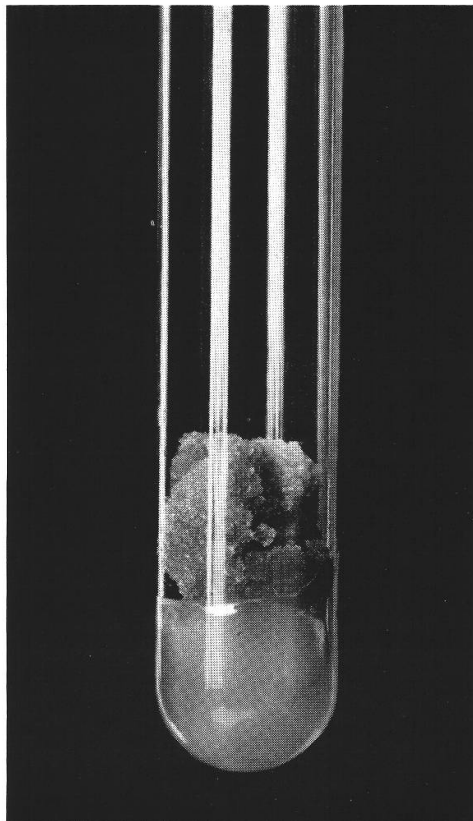


Figure 9

molles, d'aspects très différents, produisant ou non des racines, et ces variations sont indépendantes du milieu de culture qui est le même dans tous les cas. Ces faits sont en opposition avec l'opinion qui a été parfois soutenue, d'après laquelle la dose d'acide indol-acétique contenue dans notre milieu rend toujours les cultures friables et provoque constamment l'apparition de nombreuses racines.

Une autre souche de tissus de carotte a été isolée de façon analogue en 1945, mais elle a été constamment cultivée sur Knop glucosé gélosé, additionné de 2,5 mg par litre d'acide indol-acétique. Ici, il n'y a pas de phase liquide, mais la dose de gélose est diminuée de moitié et l'acide indol-acétique est incorporé directement à la gélose, en quantité sensiblement égale à celle dans laquelle il s'y trouve dans notre milieu primitif lorsqu'il a diffusé dans la partie solide. Cette souche s'est constamment développée vigoureusement, elle est très mamelonnée, bien verte et produit fréquemment des racines dans la gélose. Elle n'a subi aucune variation depuis son origine (figure 7).

Au point de vue de la structure, toutes nos cultures de tissus de carotte, quelle que soit leur variété, sont formées de masses parenchymateuses contenant des nodules où se trouvent des cellules lignifiées, réticulées (figure 5). Cette structure est demeurée semblable à celle des premières cultures obtenues en 1937.

Les cultures de tissus de rosier que nous entretenons depuis 1944 (8) ont également évolué de diverses façons. Ces cultures, contrairement à celles de tissus de carotte, n'ayant pas toutes été effectuées dans les mêmes conditions, il faut distinguer plusieurs cas.

Premier cas. — Les cultures ont été, depuis 1944, faites à la lumière, sur le même milieu, mi-solide, mi-liquide, que celles de tissus de carotte. Comme à l'origine, elles continuent à se présenter sous un aspect globuleux ou hémisphérique (figure 8) ou bien sont plus ou moins étalées sur la gélose; leur consistance est très ferme. Actuellement, nous avons pu isoler deux lignées, dont l'une demeure constamment blanchâtre ou légèrement crème, tandis que l'autre verdit, au moins pendant la belle

Figure 6

Culture de tissus de carotte (souche de 1944), variété B, ayant produit de nombreuses racines dressées en l'air

Figure 7

Culture de tissus de carotte (souche de 1945)

Figure 8

Culture de tissus de rosier, hémisphérique et ferme

Figure 9

Culture de tissus de rosier, irrégulière, très molle, sur milieu sans facteur de croissance. Prolifération exubérante. La culture est devenue plus volumineuse que le milieu sur lequel elle se trouve

saison. Ces cultures contiennent des cellules à épaissement lignifié, donnant généralement une réaction de Mäule positive.

Deuxième cas. — Depuis le 18 février 1945, nous cultivons aussi, à la lumière, des tissus de rosier, provenant des cultures précédentes, sur un milieu qui est identique à la partie solide du milieu utilisé dans le premier cas, sans addition de la partie liquide, *par conséquent sans acide indol-acétique*. Ce milieu est tantôt gélosé à 1,5 % et solidifié en plan incliné, tantôt gélosé à 0,8 % seulement et alors solidifié en tubes droits. Comme les précédentes, les cultures obtenues ont une forme globuleuse ou hémisphérique et sont d'une consistance très ferme. Elles

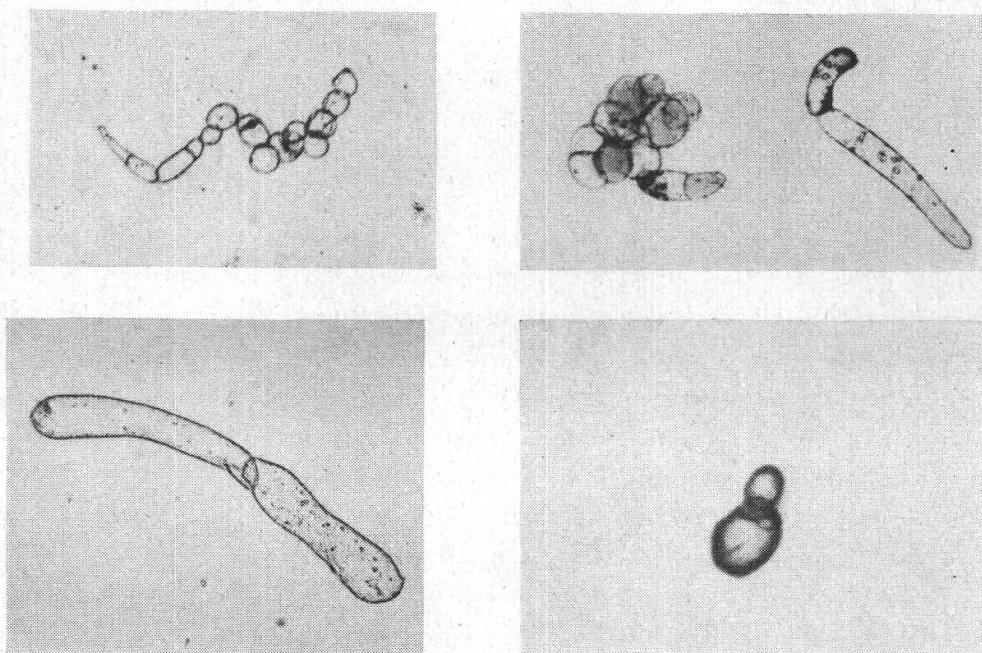


Figure 10
Cellules de rosier cultivées en milieu liquide

sont toujours dépourvues de chlorophylle. Au début, elles contenaient des cellules ligneuses, mais actuellement on n'en trouve plus jamais.

Troisième cas. — Depuis le 15 avril 1946, nous cultivons des tissus provenant des cultures du deuxième cas, sur le même milieu sans substance de croissance, mais en les maintenant à l'obscurité. Ces cultures ont d'abord présenté le même aspect que dans le deuxième cas, mais depuis 1950 elles sont constituées par de volumineuses masses fortement mamelonnées, très molles et ne contenant jamais de cellules ligneuses.

Quatrième cas. — Des cultures, provenant des précédentes, effectuées sur le même milieu, mais à la lumière, depuis le 9 juin 1951, ont conservé les caractères qu'elles avaient acquis à l'obscurité (figure 9).

Cinquième cas. — D'autres cultures ont été faites depuis le 16 février 1945 sur le même milieu solide, mais additionné de 0,1 mg par litre d'acide indol-acétique. L'aspect morphologique de ces cultures est

analogue à celui des cultures faites sur le même milieu sans acide indol-acétique (deuxième cas), c'est-à-dire qu'elles sont globuleuses, blanchâtres et de consistance très ferme, et actuellement on n'y trouve jamais non plus de cellules ligneuses.

Sixième cas. — Enfin, à partir de cultures très molles (quatrième cas), nous avons pu obtenir des cultures submergées en milieu liquide. De très menus fragments de ces cultures, mis en suspension dans du liquide de Knop glucosé, se sont lentement accrus. Leur prolifération se fait souvent en très petits amas de cellules, ou même parfois, sous l'aspect de cellules presque isolées. Le repiquage s'effectue à l'aide d'une pipette. Ces cultures ont donc des caractères extrêmement particuliers; il semble même qu'on pourrait les appeler des cultures de cellules plutôt que des cultures de tissus (figure 10).

Septième cas. — Les petits amas de cellules cultivés en milieu liquide, repiqués ensuite sur Knop glucosé gélosé, redonnent de volumineuses cultures molles, analogues à celles des troisième et quatrième cas.

Essai d'interprétation des résultats précédents

On peut remarquer que les cultures de tissus de rosier très molles sont apparues à l'obscurité. Toutefois, le fait qu'elles conservent ce caractère après avoir été cultivées de nouveau à la lumière depuis près de quatre ans, empêche de conclure avec certitude que ce changement soit dû au manque de lumière. Des expériences sont actuellement en cours pour essayer de préciser ce point; mais leurs résultats n'apparaîtront que dans quelques années.

Au point de vue de la structure histologique, on constate que les cultures de tissus de rosier faites depuis l'origine (1944) sur notre milieu dont la phase liquide contient 5 mg par litre d'acide indol-acétique, ont conservé la propriété de donner des cellules lignifiées, exactement comme les cultures de tissus de carotte faites dans les mêmes conditions. On pourrait être amené à en conclure que l'acide indol-acétique intervient dans les phénomènes de lignification. Cependant, le fait que les cultures effectuées sur milieu solide contenant 0,1 mg par litre de cette substance ne possèdent pas de cellules ligneuses, doit nous rendre prudent: avant d'adopter la conclusion précédente, il faudrait s'assurer que cette dose de 0,1 mg par litre est vraiment insuffisante pour permettre la lignification et qu'il faut aller jusqu'à des doses de l'ordre du milligramme par litre pour avoir des cellules ligneuses. Cela est possible, car nous savons que de telles doses sont, en général, les doses optimales pour les cultures de tissus normaux.

Remarquons cependant qu'un auteur qui, après nous, a cultivé les tissus de carotte, a affirmé que la dose d'acide indol-acétique contenue dans notre milieu primitif est toxique et ne permet pas plus de quatre repiquages (2).

Ces conclusions sont certainement erronées, car nos cultures ont subi sur ce milieu plus de quatre-vingt repiquages depuis 18 ans. D'ailleurs, nos résultats n'ont été contestés par aucun autre expérimentateur. Par contre, plusieurs travaux, notamment ceux de B o u r i q u e t et P a c h é c o (1) et, tout récemment, ceux de W i g g a n s (13), ont montré que la dose que nous utilisons est très voisine de celle qu'ils estiment la plus favorable au développement des cultures.

En résumé, nous avons vu que les modifications survenues dans les caractères de nos tissus de carotte ne sont pas dues à des changements dans les conditions de culture, ces conditions ayant été constamment identiques pour les diverses variétés obtenues; par contre, à l'exception des sixième et septième cas, où l'influence immédiate de l'état physique du milieu est évidente, il n'est pas possible de dire avec certitude si les transformations observées dans les cultures de tissus de rosier se sont lentement produites sous l'influence des changements du milieu nutritif et des conditions ambiantes ou, si, comme dans le cas des tissus de carotte, il s'agit de variations spontanées.

Des expériences s'étendant sur des périodes de plusieurs années pourront seules nous renseigner. Pour l'instant, nous nous abstiendrons de conclusions hâtives.

Index bibliographique

1. B o u r i q u e t, R., et P a c h é c o, H. 1952. Recherches sur l'action du chlorhydrate de N-méthyl-N-phénylglycocolle sur les cultures de tissus de topinambour et de carotte. C. R. Acad. Sci., **254**, 234—235.
2. G a u t h e r e t, R.-J., 1939. Sur la possibilité de réaliser la culture indéfinie des tissus de carotte. C. R. Acad. Sci., **208**, 118—119.
3. N o b é c o u r t, P., et D u s s e a u, A., 1937. Sur la prolifération *in vitro* de fragments de végétaux et la formation de tumeurs aseptiques. (Congrès de l'Ass. Franç. p. l'Avancem. des Sc., Paris 1937.) Sciences, **20**, 53—58.
4. N o b é c o u r t, P., 1937. Cultures en série de tissus végétaux sur milieu artificiel. C. R. Acad. Sci., **205**, 521—523.
5. — 1938. Sur les proliférations spontanées de fragments de tubercules de carotte et leur culture sur milieu synthétique. Bull. Soc. Bot. Fr., **85**, 182—188.
6. — 1939. Sur la pérennité et l'augmentation de volume des cultures de tissus végétaux. C. R. Soc. Biol., **130**, 1271—1272.
7. — 1942. Sur les facteurs de croissance des cultures de tissus de carotte. C. R. Acad. Sci., **215**, 376—378.
8. — et K o f l e r, L., 1945. Culture de tissus de tige de rosier. C. R. Acad. Sci., **221**, 53—54.
9. N o b é c o u r t, P., 1946. Culture prolongée de tissus végétaux en l'absence de facteurs de croissance. C. R. Acad. Sci., **222**, 817—818.
10. — 1946. La culture des tissus végétaux. Bull. Soc. Bot. Suisse, **56**, 673—680.
11. — 1947. Apparition de pousses feuillées sur des cultures de tissus de carotte. C. R. Soc. Biol., **141**, 590.
12. — 1950. Variation des caractères de cultures de tissus végétaux. C. R. Acad. Sci., **231**, 71—72.
13. W i g g a n s, S. M., 1954. Growth and organ formation in callus tissues derived from *Daucus Carota*. Am. J. Bot., **41**, 321—326.