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

Herausgeber: Schweizerische Botanische Gesellschaft

Band: 71 (1961)

Artikel: Culture in vitro de tissus de carotte et organogenèse

Autor: Pilet, Paul-Emile

DOI: https://doi.org/10.5169/seals-50189

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: 12.07.2025

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

Culture in vitro de tissus de Carotte et organogenèse

Par *Paul-Emile Pilet*

Laboratoire de physiologie végétale[1]

Université de Lausanne

Introduction

La Carotte fut une des premières plantes à être utilisée pour la réalisation des cultures de tissus *in vitro* et c'est surtout grâce aux recherches de Gautheret, dont une des plus anciennes publications consacrée à ces problèmes remonte à 1934, que peu à peu, dans les laboratoires de biologie, ces méthodes furent introduites, offrant aux chercheurs un matériel de choix pour des analyses morphologiques, physiologiques et biochimiques.

Ce travail est consacré à l'étude de l'influence de la composition du milieu nutritif (acide β-indolyl-acétique: ABIA – adénine – cinétine) sur la croissance et l'organogenèse de souches de Carotte cultivées *in vitro*.

Nous tenons à remercier bien vivement notre collègue le Prof. R. J. Gautheret – chez qui, il y a quelques années déjà, nous eûmes le privilège de travailler – pour ses précieuses suggestions et l'intérêt qu'il a porté à ces présentes recherches.

Quelques travaux

En consultant les publications consacrées à ces questions d'organogenèse, nous trouvons de nombreux exemples où des souches de tissus cultivés *in vitro*, forment des organes déterminés (v. Gautheret 1959; p. 328–338). D'une façon générale, la production de racines est plus fréquente que celle de pousses feuillées, mais certaines colonies tissulaires (scorsonère, chicorée, crepis, etc.) sont capables dans certaines conditions, de reconstituer des plantes entières.

En ce qui concerne plus spécialement les tissus de Carotte, quelques travaux ont été publiés à ce sujet, Levine (1947), observe la formation de racines et de bourgeons foliaires et met en évidence l'action caulogène de l'ABIA: sur un milieu riche en ABIA, les tissus de Carotte ne donnent pas de pousses feuillées, mais leur transfert dans un milieu dépourvu d'ABIA

---

[1] Ce travail a pu être entrepris grâce à la collaboration technique de Mme Cl. Grandchamp et de Mlles A. Roll, S. Delafontaine et A. Carrard. Les photographies qui illustrent cette publication ont été faites par notre préparateur M. R. Magliocco.

entraîne un bourgeonnement immédiat. De plus, cet auteur montre que certains carbures cancérigènes favorisent l'apparition de bourgeons sur des souches installées de Carotte (Levine 1950 a et b et 1951). Gautheret a cultivé pendant plusieurs années cette souche de Levine et a constaté qu'elle était capable de bourgeonner à condition qu'on mette relativement peu d'ABIA dans le milieu (communication personnelle). Wiggans (1954) met en évidence l'action différée de l'adénine sur des tissus de Carotte et montre que ces tissus ne donnent naissance à aucun bourgeon s'ils sont cultivés sur un milieu contenant de l'adénine; ils en forment dès qu'on transfert ces souches sur un milieu ordinaire. Nobécourt (1955) isole une souche de Carotte capable de donner des pousses feuillées dans des conditions, semble-t-il, de culture normale. Plus récemment, Steward et ses collaborateurs (1958, 1960), analysant la croissance de souches de Carotte cultivées sur des milieux enrichis de lait de coco, obtiennent des plantes complètes qui semblent provenir de «nodules» aux cellules géantes et dont les parois possèdent des caractéristiques (plus physiologiques que chimiques d'ailleurs) de «cambium-like cells».

De nombreux travaux ont été réalisés pour isoler, du lait de coco, les produits actifs (v. Gautheret 1959; p. 639–642). Citons en particulier les expériences de Shantz et Steward (1952) qui ont évalué l'activité biologique des diverses fractions du lait de coco en utilisant des fragments de Carotte cultivés *in vitro*.

Reinert (1959) décrit une souche de Carotte qui, depuis des années, ne formait que des racines lorsqu'elle était cultivée sur un milieu contenant du lait de coco, et capable de former des pousses feuillées si on la repique sur un milieu synthétique. Cet auteur observe, dans ce cas, l'apparition d'un embryon adventif bipolaire qui se développe aux dépens de la souche. Koblitz (1961) consacre enfin un gros mémoire à l'organogenèse de souche de Carotte; il montre entre autres que, sur un milieu contenant du lait de coco ou des substances de croissance (ABIA, 2,4-D, etc.), aucune formation d'organe ne peut être relevée. Par contre la cinétine, combinée à du 2,4-D, induit l'apparition de racines. La fraction G.1, obtenue à partir de l'endosperme solide de la noix de coco, favorise très nettement la rhizogenèse de ces tissus de Carotte.

Matériel biologique

Parmi les quelque 20 variétés de Carotte dont nous pouvions disposer, nous avons surtout utilisé, dans ces essais les variétés suivantes[2]:

---

[2] Nous voulons remercier M. P. Cruchet, des Stations fédérales d'essais à Lausanne, pour ses très utiles renseignements.

Variétés du *Daucus carota:*

Carotte nantaise améliorée	souche NA
Carotte nantaise danoise 039	souche ND
Carotte de Guérande	souche G
Carotte de Berlicum	souche B
Carotte de Flakkee	souche F

En fait, toutes les observations rapportées dans cette étude portent surtout sur la souche NA.

Nous avons en outre comparé des résultats obtenus avec ceux que nous a donné la souche isolée par Gautheret (1939a) qui provient d'une Carotte variété Muscade (souche M) et qui s'est montrée très sensible à l'action des substances de croissance et de division.

Méthode de culture

Les conditions d'ensemencement sont celles qui ont été proposées par Gautheret, les cultures se font dans un local lumineux (24 h/24 h) et maintenu à $+25°C \pm 2$.

La composition du milieu ordinaire utilisé dans la plupart de ces essais est celle que propose Heller (1953). Ce milieu comprend:

Solution de macro-éléments			Solution de micro-éléments		(Eau Q.S.P.F. 1 l)
KCl	(100 g/l)	7,5 ml	$ZnSO_4 \cdot 7\,H_2O$	(1 g)	1 ml
$NaNO_3$	(100 g/l)	6,0 ml	H_3BO_3	(1 g)	
$MgSO_4 \cdot 7\,H_2O$	(100 g/l)	2,5 ml	$CuSO_4 \cdot 5\,H_2O$	(0,003 g)	
$NaH_2PO_4 \cdot H_2O$	(10 g/l)	12,5 ml	$AlCl_3$	(0,03 g)	
$CaCl_2 \cdot 2\,H_2O$	(10 g/l)	7,5 ml	$NiCl_2 \cdot 6\,H_2O$	(0,03 g)	
$FeCl_3 \cdot 6\,H_2O$	(1 g/l)	1,0 ml	KI	(0,01 g)	
			$MnSO_4 \cdot 4\,H_2O$	(0,01 g)	

Ces diverses solutions sont mélangées et on ajoute de l'eau (Q.S.P.F. 1 l).

Bien que d'une façon générale, il ne soit pas indispensable d'utiliser des auxines, des vitamines et des amino-acides pour entretenir le développement de souches de Carotte (Gautheret l'a du moins montré pour la souche M), nous avons enrichi le milieu ordinaire en ajoutant, comme l'ont proposé White (1934) et Morel (1948), de l'aneurine (10^{-7}). Gautheret (1959, p. 20) relève que ce composé paraît inefficace dans la culture des tissus de Carotte (et c'est bien le cas pour la souche M). Pourtant nous avons constaté, pour certaines souches du moins (NA, ND et F), que la présence d'aneurine entraîne une croissance plus homogène que celle qu'on observe pour des souches cultivées sur un milieu dépourvu de ce composé.

Plan expérimental

Nous résumerons les quelques expériences qui ont été réalisées avec la souche NA, puis répétées, mais sur une échelle plus restreinte, avec d'autres souches.

1. Culture (6 repiquages) sur milieu enrichi d'ABIA (1 mg/l) puis transfert des souches sur milieu ordinaire.

2. Culture (6 repiquages) sur milieu enrichi d'adénine (20 mg/l) puis transfert des souches sur milieu ordinaire.

3. Culture (6 repiquages) sur milieu enrichi d'ABIA (1 mg/l) puis transfert des souches sur milieu contenant de l'ABIA et de la cinétine dans les proportions suivantes:

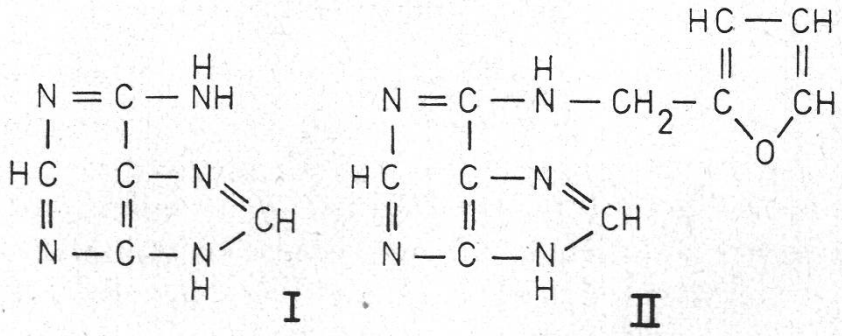
a)	ABIA: 1,5 mg/l	Cinétine: 0,01 mg/l
b)	ABIA: 1,5 mg/l	Cinétine: 0,10 mg/l
c)	ABIA: 1,5 mg/l	Cinétine: 1,00 mg/l
d)	ABIA: 1,5 mg/l	Cinétine: 10,00 mg/l

4. Etude comparée des diverses souches et analyse de leur comportement physiologique.

Produits employés

Outre le milieu ordinaire (v. p. 191), nous avons utilisé:

1. l'acide β-indolyl-acétique (PM: 175,2) synthétisé par F. Hoffmann-La Roche (Bâle);
2. l'adénine (I) (6-amino-purine) puriss. (40 079) de Fluka (Buchs);
3. la cinétine (II) (6-furfuryl-amino-purine) préparée par la Cal. Foundation for Biochemical Res. et qui nous a été aimablement offerte par l'Etablissement Abbot & C° (Chicago).



Action de l'ABIA et de l'adénine

A partir d'une souche installée (NA), on ensemence une soixantaine de tubes contenant le milieu ordinaire auquel on ajoute de l'ABIA (1 mg/l), après 6 repiquages (toutes les 3 semaines environ) (figure 1A), on transfert les souches sur milieu ordinaire (figure 1B); au bout de 15 jours, on observe l'apparition de racines et de pousses feuillées (figure 1C). Une série d'expériences similaires est faite avec de l'adénine (figure 1D, E et F).

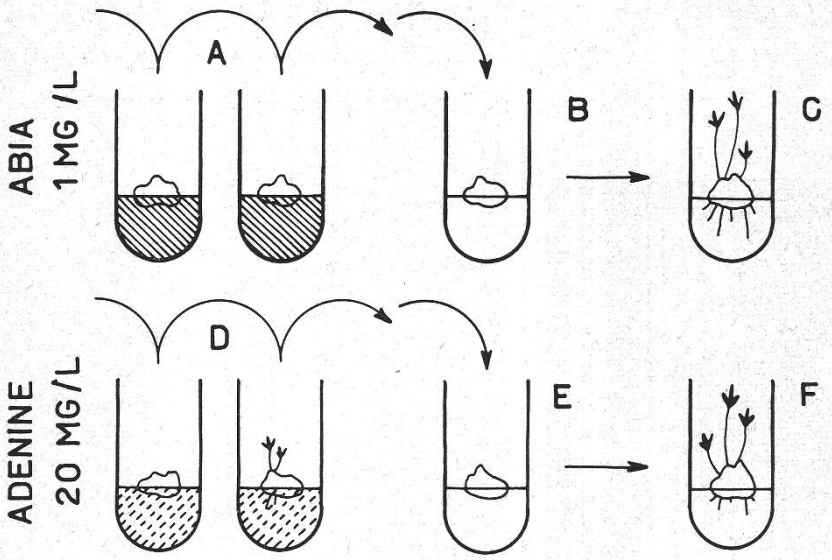


Figure 1

Souche de Carotte (NA) cultivée sur milieu contenant de l'ABIA (A), puis, après un certain nombre de repiquages, transférée sur un milieu dépourvu d'ABIA (B); après quelques jours, apparition de racines et de pousses feuillées (C). Mêmes essais sur milieu enrichi d'adénine (D); repiquage sur milieu privé d'adénine (E) et observation après quelques jours (F)

On remarquera tout d'abord qu'en présence de l'ABIA, les souches ne donnent ni racine ni pousse feuillée, alors qu'en présence d'adénine, ces mêmes souches forment des pousses feuillées dont la croissance est d'ailleurs limitée (figure 2).

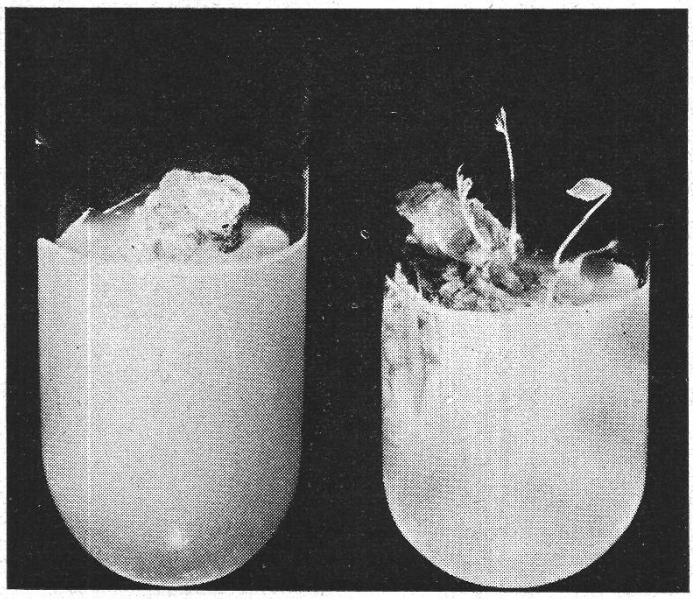


Figure 2

A gauche, souche de Carotte (NA) développée sur un milieu contenant 1 mg/l d'ABIA. A droite, la même souche cultivée sur un milieu enrichi en adénine (20 mg/l). Les photographies ont été prises 21 jours après le dernier repiquage

Si on transfert ces souches, cultivées, dans un milieu enrichi d'ABIA, sur un milieu ordinaire, on voit apparaître très tôt d'abondantes racines et

des bourgeons qui donneront des tiges et des feuilles (figure 3). Sur 42 de ces souches, nous avons évalué le nombre des racines et des pousses formées (figure 4). Ainsi que le montre le graphique, on peut constater que:

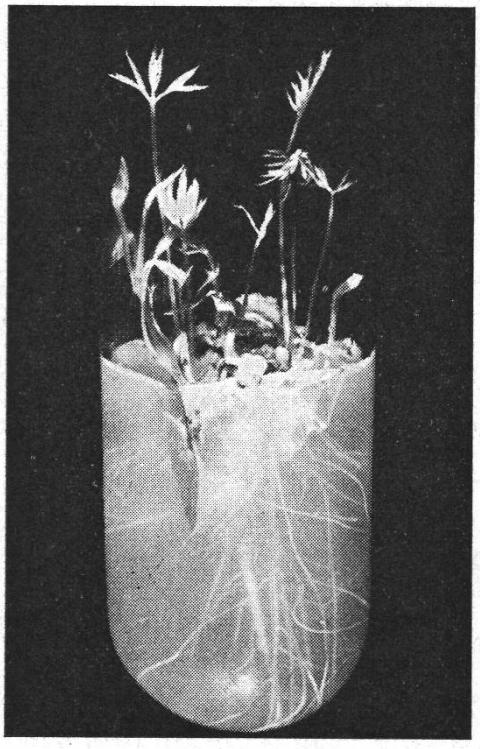


Figure 3

Souche de Carotte (NA), cultivée d'abord sur milieu contenant de l'ABIA (1 mg/l: 6 repiquages), puis transférée sur milieu ordinaire. La photographie a été prise 30 jours après le dernier repiquage et 18 jours après l'apparition des premières racines

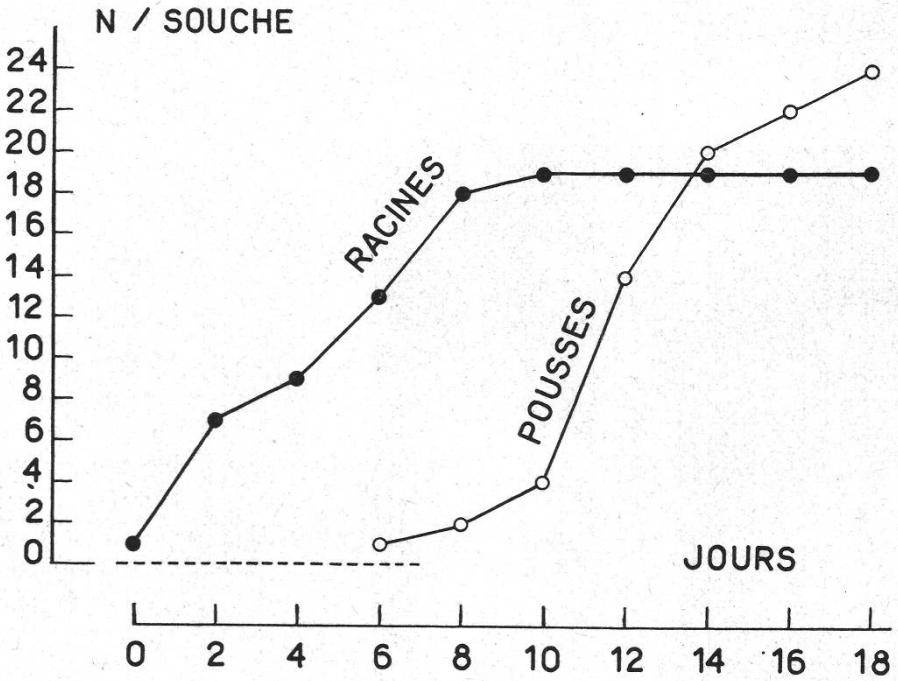


Figure 4

Formation de racines et de pousses feuillées sur des souches de Carotte (NA) cultivées sur milieu contenant de l'ABIA (1 mg/l: 6 repiquages), puis transférées sur milieu ordinaire. N représente le nombre d'organes formés par souche. Le jour O correspond à celui où est apparue la première racine. Moyenne calculée pour 42 souches

1. les racines apparaissent d'abord et ceci presque immédiatement après le transfert;

2. l'augmentation du nombre des racines est limitée dans le temps; en effet, après dix jours de culture, le nombre des racines ne s'accroît pratiquement plus, tandis que ces racines continuent à s'allonger (v. aussi figure 9);

3. au moment où la rhizogenèse commence à ralentir, les pousses feuillées apparaissent et leur nombre augmente rapidement.

Action de l'ABIA et de la cinétine

Comme nous l'indiquions plus haut, 4 séries d'essais ont été réalisés avec des milieux contenant une même concentration d'ABIA (1,5 mg/l), mais des doses différentes de cinétine (de 0,01 à 10,00 mg/l). Les résultats obtenus avec la souche NA sont résumés dans la figure 5, on peut remarquer que:

1. comme on l'a indiqué plus haut, en présence d'ABIA seul, ces souches ne donnent aucune racine;

2. si l'on ajoute à ce milieu un peu de cinétine (0,01 mg/l), alors des racines se forment;

3. si la concentration en cinétine est plus forte (0,10 mg/l), le nombre des racines diminue sensiblement et quelques pousses feuillées apparaissent (figure 6);

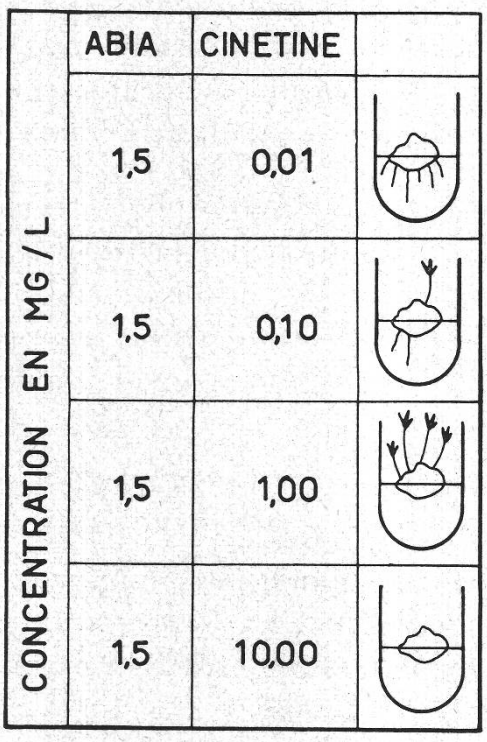


Figure 5

Schéma de 4 séries d'essais portant sur la culture de souches de Carotte (NA), développées dans des milieux contenant de l'ABIA (1,5 mg/l) et diverses concentrations de cinétines (0,01 à 10,00 mg/l)

4. pour des doses supérieures de cinétine (1,00 mg/l), la rhizogenèse est complètement inhibée, mais la formation des pousses est plus nette;

5. enfin, pour un milieu plus riche en cinétine (10,00 mg/l), les processus d'organogenèse sont inexistants et les souches prennent un aspect brunâtre au contact avec le milieu de culture (figure 6).

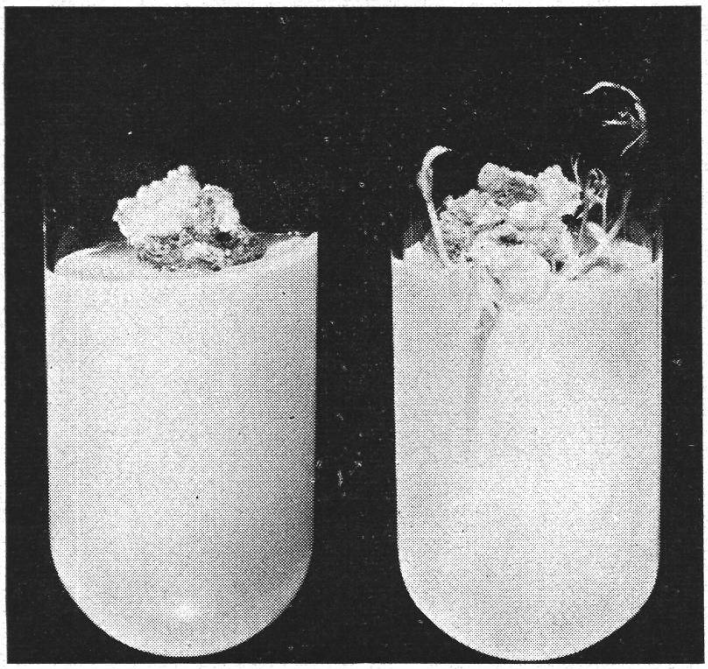


Figure 6

Action combinée de l'ABIA (1,5 mg/l) et de la cinétine sur la croissance de souche de Carotte (NA). A droite, le milieu contient peu de cinétine (0,10 mg/l). A gauche, le milieu est plus riche en cinétine (10,00 mg/l). Les photographies ont été prises 24 jours après le dernier repiquage

Analyse comparée

Nous avons répété les mêmes essais avec d'autres souches afin de voir si le déterminisme organogénique observé dans certaines conditions était le même lorsque le matériel biologique changeait. Les résultats obtenus sont donnés dans le tableau 1 et autorisent les quelques remarques suivantes:

1. certaines souches cultivées sur milieu enrichi d'ABIA puis transférées sur milieu ordinaire, donnent des résultats analogues à ceux que nous avons relevés pour la souche NA mais avec une amplitude plus faible (souches ND et F); d'autres forment des racines, mais jamais de pousses feuillées (souches G et M); enfin la souche B ne présente aucun phénomène d'organogenèse;

2. si l'on réalise le même essai mais où l'ABIA est remplacé par l'adénine, des conclusions analogues peuvent être faites, à peu de chose près;

3. en combinant l'ABIA à la cinétine, plusieurs souches se comportent comme la souche NA si la cinétine est peu concentrée, à l'exception de la souche B; avec des concentrations plus fortes de cinétine, seule la souche ND a présenté, comme la souche NA, des pousses feuillées.

Tableau 1

Processus d'organogenèse de souches de Carottes cultivées *in vitro*, en présence ou en absence d'acide β-indolyl-acétique (ABIA), d'adénine et de cinétine.

Comparaison de quelques souches

R: Racines P: Pousses feuillées

Exp. I: 6 repiquages sur milieu contenant de l'ABIA (1 mg/l) puis transfert sur milieu ordinaire

Exp. II: 6 repiquages sur milieu contenant de l'adénine (20 mg/l) puis transfert sur milieu ordinaire

Exp. III: culture sur ABIA (1,5 mg/l) et cinétine (diverses concentrations)

Souches		Exp. I	Exp. II	Exp. III Concentrations de cinétine			
				0,01 mg/l	0,10 mg/l	1,00 mg/l	10,00 mg/l
NA	R	++	++	++	+	0	0
	P	++	++	0	+	++	0
ND	R	+	++	+	+	0	0
	P	+	+	0	0	+	0
G	R	++	++	+	?	?	?
	P	0	0	0			
B	R	0	0	0	?	?	?
	P	0	0	0			
F	R	+	+	+	0	?	0
	P	+	+	0	0		0
M*	R	++	+	+	+	?	0
	P	0	0	0	0		0

0 pas d'organogenèse
+ organogenèse faible
++ organogenèse forte
? pas d'essais

* Souche var. Muscade de Gautheret

Processus d'organogenèse: discussion

Déterminisme et variétés de Carotte

En principe, la néoformation des organes par des souches tissulaires est spontanée et Gautheret (1959, p. 329) pense qu'une souche qui n'est pas capable de former des bourgeons et des racines n'en donne pas davantage sous l'action d'agents de croissance. Les présentes observations nous entraînent à nuancer quelque peu les conclusions de Gautheret. Il est exact, en effet, que certaines souches (souche B par exemple) ne présentent jamais de phénomènes d'organogenèse. D'autres peuvent former des racines, dans certaines conditions, mais jamais de pousses feuillées (par

exemple souches G et M). Certaines, par contre, peuvent comme la souche NA, donner des racines et des pousses feuillées.

Rôle de l'ABIA

L'action des composés auxiniques sur les cultures de tissus est complexe (v. Pilet 1961; p. 471–484). Dans certains cas, les auxines favorisent la rhizogenèse et freinent la formation des bourgeons (Gautheret 1946). Pour d'autres tissus, les auxines empêchent le développement des racines (Jagendorf et Bonner 1953; Torrey et Shigemura 1957), mais comme l'a montré Gautheret, les composés auxiniques n'empêchent pas vraiment la rhizogenèse; ils sont capables d'induire la néoformation de méristèmes radiculaires qui n'évolueront en racines que si l'on supprime les auxines qui leur ont donné naissance. Ainsi, à cet égard, l'action des auxines sur les cultures de tissus, semble très proche de celle qu'on observe sur les racines complètes; en effet, nous avons montré à plusieurs reprises qu'une dose élevée d'ABIA stimulait le péricycle et favorisait la formation d'ébauches radiculaires, tandis que seules des concentrations très faibles d'ABIA pouvaient stimuler l'allongement de ces racines (Pilet 1951*a* et *b*, 1953, 1954).

Les faits précédemment relevés sont également valables pour les bourgeons, comme l'a montré Levine (1960), précisément sur des souches de Carotte.

Dans les essais rapportés dans ce travail, nos observations confirment celles qu'on vient de rappeler. En effet, toutes les souches cultivées sur un milieu riche en ABIA n'ont jamais donné de racines, certaines d'entre elles, lorsqu'elles ont été transférées sur milieu ordinaire, ont alors formé des racines et parfois des bourgeons. Remarquons, en outre, que ces néoformations d'organes semblent indiquer une certaine polarité physiologique (racines se formant presque toujours exclusivement dans le milieu de culture, pousses feuillées dirigées en sens inverse) qui n'est pas sans rappeler le sens de la polarité électrique observée sur ces mêmes souches (Pilet et Meylan 1955).

Rôle de l'adénine

A part les recherches de Wiggans (1954) réalisées sur une souche de Carotte et qui avait mis en évidence l'action différée de ce composé sur la formation des bourgeons, nous ne connaissons aucune publication qui traite, pour ce matériel, de cette question. C'est Skoog (1950) qui, un des premiers, a montré que l'adénine assure le bourgeonnement de souches tissulaires cultivées *in vitro*; ses expériences portaient sur l'emploi de fragments de tabac. Mayer (1956) constate, sur *Cyclamen* et *Pelargonium*,

que l'adénine exalte la caulogenèse de ces tissus cultivés *in vitro*. Dans nos essais, nous avons pu observer (sur les souches NA en particulier) que l'adénine favorise la formation de racines et de pousses feuillées lorsque ces souches sont cultivées sur un milieu contenant 20 mg/l de cette substance; pourtant l'organogenèse demeure très faible. Par contre, lorsque ces mêmes souches sont transférées sur un milieu ordinaire, la néoformation des racines et des pousses feuillées est très caractéristique. L'adénine, comme l'avait déjà montré Wiggans, se comporte ainsi comme l'ABIA.

Rôle de la cinétine

Ce composé, relativement à l'étude de l'organogenèse, a donné lieu à d'innombrables expériences que nous ne saurions rapporter ici (v. Strong 1958, p. 98 – Pilet 1961, p. 380). Skoog et Miller (1957), sur des souches tissulaires de tabac, ont relevé l'action particulière de la cinétine en présence d'ABIA. Ces auteurs ont montré qu'une faible concentration de cinétine et une forte dose d'ABIA ont pour effet de favoriser la rhizogenèse. Avec une concentration plus élevée de cinétine, il apparaît des bourgeons tandis qu'une dose plus forte encore entraîne une prolifération anarchique des cultures de tissus. Gautheret (1959, p. 305) fait à ce propos les constatations suivantes: «Les tissus de Carotte qui sont très sensibles à l'action callogène des auxines ne produisent que des cals insignifiants avec la cinétine. Par contre, les tissus de Tabac, particulièrement le parenchyme médullaire, réagissent en proliférant intensément à condition toutefois que la cinétine soit associée à une auxine qui, lorsqu'elle est employée seule, se borne à provoquer la croissance des cellules... On commettrait pourtant une erreur grossière en admettant que l'auxine n'est qu'une substance de croissance et la cinétine une substance de division vraiment spécifique.»

Dans nos essais, une partie des observations de Skoog et Miller se trouve confirmée. En effet, en présence de faible doses de cinétine et d'une concentration relativement forte d'ABIA, les souches forment d'abondantes racines. Si l'on se souvient qu'en présence de mêmes doses d'ABIA, ces souches ne présentaient aucune rhizogenèse, on peut convenir que la cinétine lève en quelque sorte l'inhibition produite par l'ABIA seul qui resterait le composé assurant l'initiation des racines (puisque des souches cultivées sur un milieu contenant de l'ABIA ne donnent des racines que lorsqu'elles sont transférées sur milieu ordinaire). Ainsi la cinétine semble entrer en antagonisme avec l'ABIA et cette observation confirme des essais réalisés sur des fragments de racines du *Lens* (Pilet 1961c). Si la concentration de la cinétine augmente, la rhizogenèse est réduite mais les pousses feuillées apparaissent; enfin pour des doses plus fortes de cinétine, aucune organogenèse n'est observable, ce qui est en accord avec les résultatas obtenus par Skoog et Miller.

Observations morphologiques

Nous ne possédons que peu de renseignements sur l'analyse des processus morphologiques de l'organogenèse des souches de Carotte. Il convient pourtant de citer les recherches de Steward (1958, 1960) et de ses collaborateurs qui ont étudié avec soin les phases essentielles de la «réorganisation» des plantules formées aux dépens de souches tissulaires de Carotte cultivées sur un milieu contenant du lait de coco. Les auteurs notent la formation, au sein de la masse cellulaire, de véritables nodules qui correspondent à des points de croissance et qui sont initialement représentés par des cellules géantes dont les parois possèdent certains caractères, plus physiologiques que chimiques d'ailleurs, et qui font de ces cellules des «cambium-like cells».

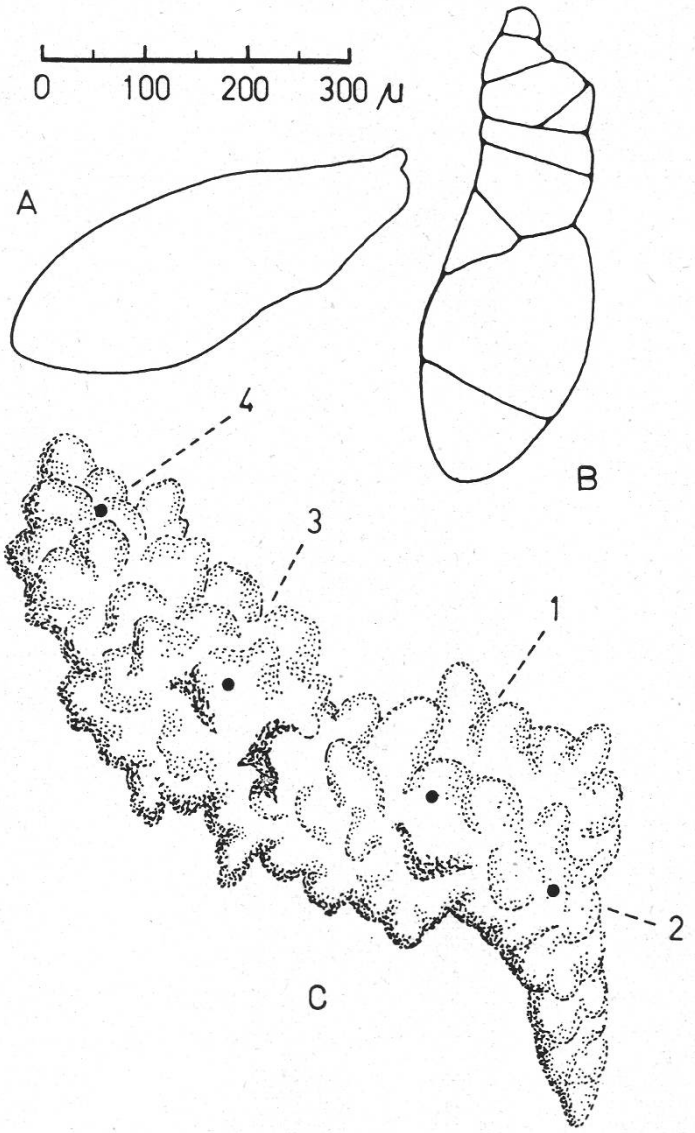


Figure 7

Etude morphologique de la néoformation d'organes aux dépens de souche de Carotte (NA). A: cellule géante; B: cellule géante en voie de division; C: formation d'une masse cellulaire (embryo-like structure). 1 – point d'attache à la souche (collet); 2 – radicule; 3 – tigelle; 4 – point végétatif. Ces 3 dessins (à la même échelle) ont été faits à partir de préparations microscopiques

Pour préciser les étapes de l'organogenèse de ces souches de Carotte, nous nous sommes bornés à l'étude d'une série de coupes préparées à partir

de la souche NA, cultivée dans un milieu contenant de l'ABIA (1 mg/l) puis repiquée dans un milieu ordinaire.

Tout d'abord, nous avons retrouvé les cellules géantes qu'avaient observées Steward et ses collaborateurs (figure 7 A). Ces cellules, véritables initiales, mesurent approximativement 420 μ de longueur et 160 μ dans leur plus grande largeur. Elles ne tardent pas à se diviser (figure 7 B) et on peut constater que l'amas cellulaire qui se forme conserve pendant longtemps les dimensions de la cellule initiale primitive; les cellules qui apparaissent donc aux dépens de l'initiale ont une taille singulièrement réduite par rapport aux dimensions de la cellule-mère. Dans un stade plus avancé, on voit se constituer une masse compacte qu'on pourrait considérer, avec Steward, comme une sorte d'embryon (figure 7 C) dans lequel les ébauches d'une racine et d'une tige sont observables.

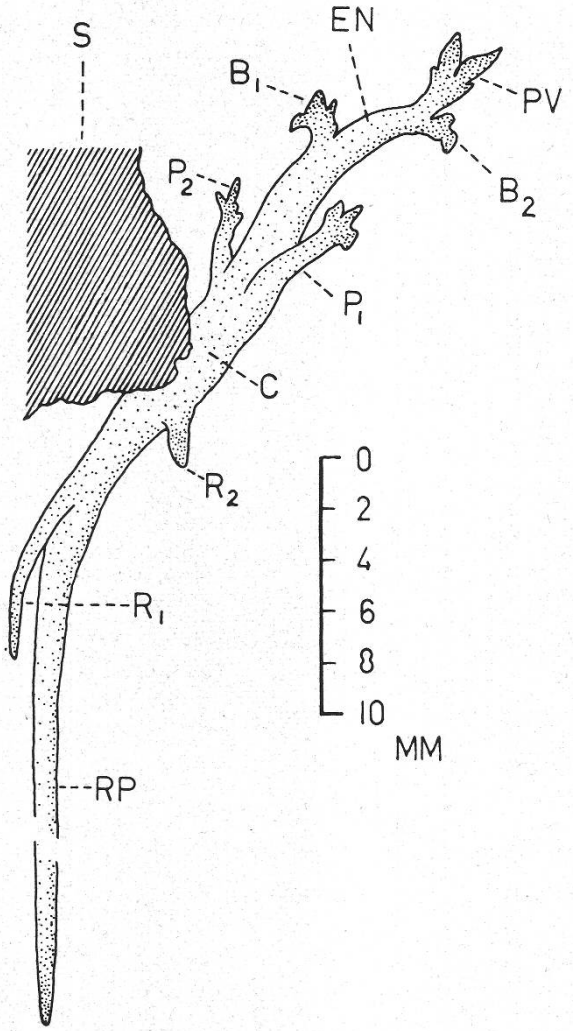


Figure 8

Plantule de Carotte néoformée provenant d'une souche (NA) cultivée sur milieu contenant de l'ABIA (1 mg/l) puis transférée sur milieu ordinaire. Dessin fait 7 jours après le dernier repiquage. S: souche – RP: racine principale – R_1 et R_2: racines secondaires – C: zone équivalente du collet – P_1 et P_2: pousses feuillées secondaires – B_1 et B_2: bourgeons latéraux – EN: entre-nœud – PV: point végétatif

La plantule néoformée (figure 8) se trouve en quelque sorte collée contre la masse de la souche et après 7 jours, il est facile de distinguer les divers éléments qui la constituent: racines principale et secondaires, pousses feuillées et entre-nœud, point végétatif, etc.

En plusieurs points de la culture, des cellules initiales géantes apparaissent, donnant ainsi naissance à un véritable bouquet de racines et de tiges feuillées (figure 9) qui, en fait, ne partent que de quelques points localisés de la souche tissulaire.

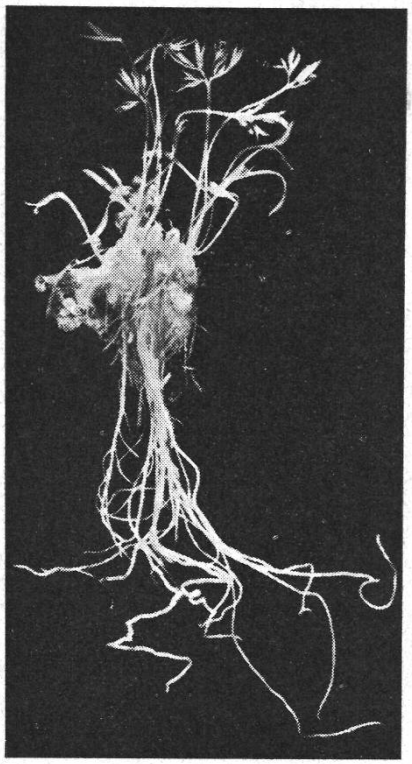


Figure 9

Souche de Carotte (NA) cultivée d'abord sur un milieu riche en ABIA (1 mg/l: 6 repiquages), puis transférée sur un milieu ordinaire. La photographie a été prise 32 jours après le dernier repiquage

En résumé, nous pouvons donner un schéma dans lequel figurent les diverses étapes de cette organogenèse (figure 10):

partant de la souche initiale (1) qui, entre le moment du repiquage et celui où les processus de néoformation se déclenchent, présente une croissance appréciable (2), nous observons un stade où apparaissent les cellules initiales géantes («cambium-like cells») (3 et 4); dans ce schéma, nous ne considérons qu'une seule cellule, qui après s'être divisée, donne rapidement naissance à un «embryon like organ» (5). Ce pseudo-embryon se développe et forme une racine (6) qui ne tarde pas à se ramifier (7), puis donne (on a vu en effet que l'apparition des racines précède celle des pousses feuillées, v. p. 194) des tiges (8) terminées par des feuilles et peu à peu une plantule se constitue (9).

Activité auxines-oxydasique

A plusieurs reprises (Pilet 1956, 1957a, 1958a et b), nous avons montré que les auxines dans les tissus cultivés *in vitro*, pouvaient se dégrader *in vivo*, en présence de certaines enzymes (v. Pilet 1961, p. 301–356).

Pour essayer de comprendre la nature des processus d'organogenèse qui caractérisaient ces souches, nous avons étudié quelle était l'importance du catabolisme de l'ABIA pour les diverses régions de ces souches tissulaires.

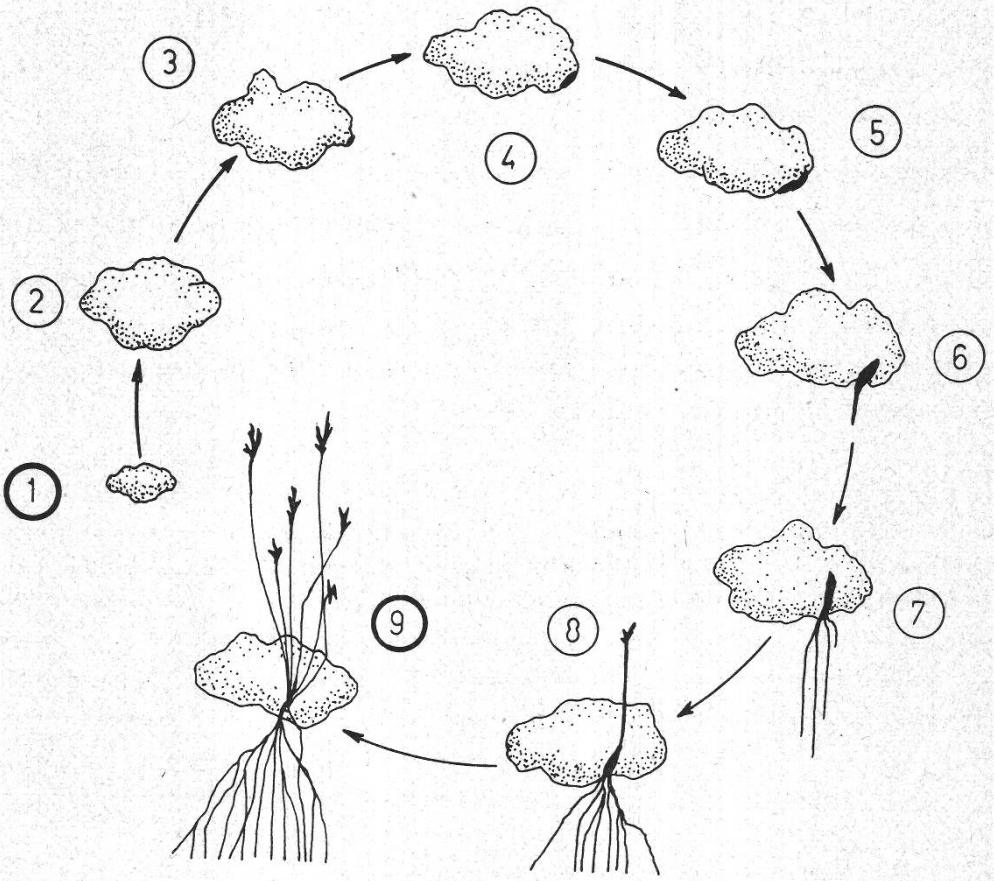


Figure 10

Schéma représentant l'apparition, aux dépens de souches repiquées sur un milieu contenant de l'ABIA, puis transférées sur des milieux ordinaires. 1: souche initiale – 2: croissance (après 8 jours) – 3: différenciation des cellules géantes – 4: apparition des «embryons-like organes» – 5: croissance de ces embryons – 6: développement des racines – 7: ramification des racines et croissance de la pousse principale – 8: constitution de la plantule – 9: plantule néoformée

La technique employée est à peu près celle qui a été décrite dans un précédent travail (Pilet 1957b) et que nous résumerons sommairement: les fragments de tissus sont broyés (—23 °C) en présence d'une prise de SiO_2 et quelques gouttes de solution-tampon KH_2PO_4–Na_2HPO_4 (pH: 6,1), la mixture est centrifugée (4000 g; 15 mn), l'extrait est alors complété à 10 ml par la solution-tampon. A 2 ml de l'extrait, on ajoute 2 ml de la solution-tampon, 4 ml d'eau et, au temps 0, on complète à 10 ml par 2 ml d'une solution d'ABIA (50 μg/ml). Après 60 mn (la solution active est conservée à l'obscurité et à 30 °C), on détermine au photocolorimètre Klett-Summerson (filtre 535 millimicrons), la quantité d'ABIA détruite, en utilisant un réactif préparé à partir de $FeCl_3$ et de H_2SO_4.

Ajoutons que toutes les manipulations et les mesures sont faites en lumière verte. L'activité auxines-oxydasique sera exprimée par la quantité d'ABIA détruit (en μg) pendant 60 mn et pour 0,1 mg d'azote protéinique.

Nous avons préparé nos extraits à partir de souches de Carotte (NA), cultivées (6 repiquages) sur des milieux riches en ABIA (1 mg/l) puis repiquées sur milieu ordinaire. Dans chaque série d'essais, nous avons employé 2 lots de tissus:

1. des tissus prélevés sur la portion supérieure de la souche (PS);
2. des tissus provenant des régions inférieures de la même souche (PI).

D'autre part, des prélèvements ont été faits pour des souches fraîchement repiquées (après 2 jours: lot I), pour des souches ayant déjà formé des racines (après 6 jours: lot II) et pour des souches portant des pousses feuillées (après 18 jours: lot III).

Tableau 2

Catabolisme auxinique pour des souches (NA) de Carotte cultivées (6 repiquages) sur les milieux riches en ABIA (1 mg/l) puis repiquées sur milieu ordinaire. Les valeurs sont données en μg d'ABIA détruits pendant 60 mn pour 0,1 mg d'azote protéinique

Caractéristiques		Lot I	Lot II	Lot III
PS[1]	A	6,5	9,1	7,4
	B	7,4	8,7	7,9
	C	6,0	8,2	8,7
PI[2]	A	7,0	5,4	6,2
	B	6,2	5,0	7,0
	C	5,4	3,7	5,8

[1] Zones supérieures de la souche.

[2] Zones inférieures de la souche.

Lot I: après 2 jours de culture
Lot II: après 6 jours de culture
Lot III: après 18 jours de culture
A, B et C: 3 séries de dosage

Les résultats, donnés dans le tableau 2, autorisent les remarques suivantes:

1. pour le lot I, il n'y a pratiquement pas de différence entre la destruction de l'ABIA par des extraits provenant de PS ou de PI;

2. pour le lot II, celui qui correspond à des souches portant des racines mais pas encore de pousses feuillées, on peut constater que les extraits provenant de PI sont nettement moins actifs que ceux qu'on a préparé à partir de PS;

3. pour le lot III, ces différences d'activité sont encore caractéristiques bien que plus faibles.

Ainsi, lorsque la souche a été cultivée un certain temps après le dernier repiquage, les régions inférieures possèdent des systèmes enzymatiques relativement peu actifs, ce qui signifie que ces zones basales sont probablement plus riches en composés auxiniques (Pilet 1956, 1957a, 1957b). Remarquons que c'est précisément à ce niveau que les souches forment des racines; ce fait semble donc confirmer ce que nous avions observé sur un matériel très différent (Pilet 1951a et b, 1953) et nous pouvons admettre que les processus de rhizogenèse sont déclenchés par l'existence de doses relativement élevées d'auxines endogènes. Les essais de transfert de souches d'un milieu riche en ABIA (où les racines n'apparaissaient pas) dans un milieu ordinaire (où la rhizogenèse avait lieu) sont en accord avec ces résultats. Les racines se forment sous l'action de concentrations élevées d'ABIA mais leur croissance est inhibée si le taux en ABIA est trop grand (Pilet 1953). Une remarque doit encore être faite qui concerne l'âge physiologique des tissus examinés. A plusieurs reprises (Pilet 1956, 1957a, 1961b), nous avons montré que des tissus jeunes possédaient des enzymes peu actives alors que les tissus âgés contenaient des enzymes qui l'étaient davantage.

Ces faits peuvent, à première vue, paraître en contradiction avec nos présentes observations. Il convient pourtant de remarquer que c'est surtout en surface, et pour la plus grande partie de la souche, que se trouvent des cellules en voie de prolifération, alors que les extraits ont été préparés à partir de la masse complète de la souche, ceci pour différentes zones. Un gradient «auxines-oxydasique» a cependant pu être mis en évidence qui indique nettement que le catabolisme auxinique se déroule avec une intensité différente suivant les régions de la souche considérée. Si l'on se rappelle, de plus, que la plantule néoformée est issue d'un pseudo-embryon, lui-même formé à partir d'une cellule initiale, il n'est pas exclu d'envisager que cet amas cellulaire primordial est placé sous l'influence de ce gradient auxines-oxydasique observé dans la masse totale de la souche. Dans ce cas, les parties basales du pseudo-embryon auront véritablement, et du point de vue du métabolisme des auxines, un caractère racine alors que les régions supérieures de ce même pseudo-embryon évolueront en pousses feuillées parce qu'elles peuvent être assimilées à un véritable apex végétatif.

Bibliographie

Gautheret R. J. 1934. Culture du tissu cambial. C. R. Acad. Sc. **198**, 2195.

— 1938. Recherches sur la culture de fragments de tubercules de Carotte. C. R. Acad. Sc. **206**, 457.

— 1939a. Sur la possibilité de réaliser la culture indéfinie des tissus de tubercules de Carotte. C. R. Acad. Sc. **208**, 118.

— 1939b. Action de l'acide indol-β-acétique sur les tissus du tubercule de Carotte. C. R. Soc. Biol., Paris **130**, 7.

— 1939c. Sur la mesure de la croissance des tissus de Carotte cultivés *in vitro*. C. R. Acad. Sc. **208**, 1340.

— 1939d. Remarques relatives à l'action de l'acide indol-β-acétique sur les cultures de tissus de Carotte. C. R. Soc. Biol. **131**, 78.

— 1940a. Sur la culture du tissu cambial de Carotte. C. R. Soc. Biol. **134**, 398.

— 1940b. Recherches sur l'action de diverses substances sur la croissance des cultures de tissus de Carotte. C. R. Acad. Sc. **210**, 186.

— 1940c. Recherches expérimentales sur la polarité des tissus du tubercule de Carotte. C. R. Acad. Sc. **211**, 15.

— 1940d. Remarques sur la structure des tissus de Carotte cultivés *in vitro*. C. R. Soc. Biol. **134**, 437.

— 1946. Growth without roots. Science, New Letter **50**, 157.

— 1955. Sur la variabilité des propriétés physiologiques des cultures de végétaux. Ann. Biol. **31**, 345.

— 1959. La culture des tissus végétaux: techniques et réalisations. Masson Ed., Paris.

Heller R. 1953. Recherches sur la nutrition minérale des tissus végétaux cultivés *in vitro*. Ann. Sc. nat. Bot. Biol. vég. **14**, 1.

Jacquiot C. 1951. Action du méso-inositol et de l'adénine sur la formation des bourgeons par le tissu cambial d'*Ulmus campestris* cultivé *in vitro*. C. R. Acad. Sc. **233**, 815.

Jagendorf A. T. and Bonner D. M. 1953. An atypical growth of cabbage seedling roots. III: tissue culture and physiological comparisons of typical and atypical roots. Plant Physiol. **28**, 415.

Koblitz H. 1961. Über den Einfluß der Zusammensetzung des Nährmediums auf Wachstum, Organbildung und äußeren Habitus von Gewebekulturen der Karotte. Ztschr. f. Bot. **49**, 219.

Levine M. 1947. Differenciation of carrot root tissue grow *in vitro*. Bull. Torrey Bot. Club **74**, 321.

— 1950a. The growth of normal plant tissue *in vitro* as affected by chemical carcinogens and plant growth substances. I: The culture of the carrot tip-root meristem. Amer. J. Bot. **37**, 445.

— 1950b. The growth of normal plant tissue *in vitro* by chemical carcinogens and plant growth substances. II: The cytology of the carrot-root tissue. J. Nat. Cancer Inst. **10**, 1005.

— 1951. The effect of growth substances and chemical carcinogens on fibrous roots of carrot tissue *in vitro*. Amer. J. Bot. **38**, 132.

Mayer L. 1956. Wachstum und Organbildung an *in vitro* kultivierten Segmenten von *Pelargonium zouale* und *Cyclamen persicum*. Planta **47**, 401.

Miller C. O. and Skoog F. 1953. Chemical control of bud formation in tobacco stem segments. Amer. J. Bot. **40**, 768.

Mitra J., Mapes M. O. and Steward F. C. 1960. Growth and organized development of cultured cells. IV. The behavior of the nucleus. Amer. J. Bot. **47**, 357.

Morel G. 1948. Recherches sur la culture associée de parasites obligatoires et de tissus végétaux. Ann. Epiphyt. N. S. **14**, 123.

Nobécourt P. 1938. Sur les proliférations spontanées de fragments de tubercules de Carotte et leur culture sur milieu synthétique. Bull. Soc. Bot. fr. **85**, 1.

— 1940. Nouvelles recherches sur la culture des tissus végétaux. Bull. Soc. Bot. France **87**, 117.

— 1955. Variations de la morphologie et de la structure de cultures de tissus végétaux. Bull. Soc. Bot. suisse **65**, 475.

Pilet P.-E. 1951a. Contribution à l'étude des hormones de croissance (auxines) dans la racine du *Lens culinaris* Med. Thèse Fac. Sc., Mém. Soc. vaud. Sc. nat. **10**, 137.

— 1951b. Répartition et variations des auxines dans les racines du *Lens culinaris* Med. Experientia **7**, 262.

— 1953. Physiologie des racines du *Lens culinaris* Med. et hormones de croissance. Phyton (Austria) **4**, 247.

— 1954. Rôle de l'hétéroauxine et de l'hydrazide maléique dans la rhizogenèse des pointes de racines de Carotte. C. R. Acad. Sc. **239**, 1412.

— 1956. Activité des auxines-oxydases dans les fragments de Carotte cultivés *in vitro*. C. R. Acad. Sc. **243**, 1141.

— 1957a. Activité des auxines-oxydases et vieillissement des tissus. C. R. Acad. Sc. **245**, 371.

— 1957b. Dosage photocolorimétrique de l'acide β-indolylacétique: application à l'étude des auxines-oxydases. Rev. gén. Bot. **64**, 106.

— 1958a. Action du glutathion sur la morphologie et l'activité auxines-oxydasique de tissus cultivés *in vitro*. Physiol. Plant. **11**, 745.

— 1958b. Action de l'indole sur la destruction des auxines en relation avec la sénescence cellulaire. C. R. Acad. Sc. **246**, 1896.

— 1961a. Les phytohormones de croissance; méthodes, chimie, biochimie, physiologie, applications pratiques. Masson Ed., Paris.

— 1961b. Auxines and the proceß of aging root cells. Plant Growth Regulation Fourth intern. Conf. The Iowa State Univ. Press, Ames Iowa USA 167.

— 1961c. Interactions entre la 6-furfurylaminopurine (cinétine) et l'acide β-indolylacétique. Rev. gén. Bot. **68**, 345.

— et Meylan S. 1955. Polarité électrique de fragments de Carotte cultivés *in vitro*. Experientia **4**, 147.

— et Siegenthaler P. A. 1959. Gradients biochimiques radiculaires. I. Auxines et réserves azotées. Bull. Soc. Bot. suisse **69**, 58.

Reinert J. 1958. Morphogenèse und ihre Kontrolle an Gewebekulturen aus Karotten. Naturwiss. **45**, 244.

— 1959. Über die Kontrolle der Morphogenese und die Induktion von Adventivembryonen an Gewebekulturen aus Karotten. Planta **53**, 318.

Shantz E. M. and Steward F.C. 1952. Coconut milk factor: the growthpromoting substances in coconut milk. J. Amer. Chem. Soc. **74**, 6133.

Skoog F. 1944. Growth and organ formation in tobacco tissue cultures. Amer. J. Bot. **31**, 19.

— 1950. Chemical control of growth and organ formation in plant tissues. Ann. Biol. **26**, 545.

— 1957. Chemical regulation of growth and organ formation in plant tissues cultured *in vitro*. Symp. Soc. exp. Biol. **11**, 118.

— and Tsui C. 1948. Chemical control of growth and bud formation in tobacco stem segments and callus cultures *in vitro*. Amer. J. Bot. **35**, 782.

Steward F. C. 1958. Growth and organized development of cultured cells. III. Interpretations of the growth from free cell to carrot plant. Amer. J. Bot. **45**, 709.

— Mapes M. O. and Mears K. 1958. Growth and organized development of cultures grown from freely suspended cells. Amer. J. Bot. **45**, 705.

— and Smith J. 1958. Growth and organized development of cultured cells. I. Growth and division of freely suspended cells. Amer. J. Bot. **45**, 693.

Strong F. M. 1958. Topics in microbial chemistry antimycin – coenzyme A – kinetin and kinins. J. Wiley Ed., New York.

Torrey J. G. and Shigemura Y. 1957. Growth and controlled morphogenesis in pea root callus tissue grown in liquid media. Amer. J. Bot. **44**, 334.

White Ph. R. 1943. A handbook of plant tissue culture. The J. Cattell Press Ed., Lancaster.

Wiggans S. C. 1954. Growth and organ formation in callus tissues derived from *Daucus carota*. Amer. J. Bot. **41**, 312.