

## Effet des échanges gazeux sur la photosynthèse et la croissance *in vitro* chez le bananier (*Musa acuminata* AAA)

Aubain Saya, Paul-Gérard Schoch

Il existe de grands écarts entre les conditions climatiques des chambres de culture *in vitro* et les conditions naturelles des pépinières d'acclimatation. Ceci impose aux jeunes plants sortis des tubes de posséder des capacités d'adaptation importantes, que ne leur confèrent pas les procédés habituels de production des vitroplants. Il convient donc de rechercher un rapprochement des conditions de production *in vitro* avec celles de l'extérieur, dans le but de disposer au moment du sevrage de plantules endurcies capables, notamment, de mieux résister aux stress hydriques, aux températures élevées et aux forts rayonnements.

Des travaux antérieurs [1, 2] ont montré l'importance des conditions climatiques pour la production de matière sèche chez le bananier *in vitro*. Un optimum d'éclairement pour la photosynthèse et la production de matière sèche *in vitro* ( $350 \mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ ) a été mis en évidence [3].

L'utilisation de différents procédés permettant des échanges gazeux entre les conteneurs de culture et la chambre climatisée permet une assimilation autotrophique du carbone [4], et l'élimination des composés volatils comme l'éthylène, dont on connaît le rôle dans l'inhibition de l'allongement des entre-nœuds [5]. Navarro Mastache [6] a obtenu en conteneur hermétique et en présence d'un piège à éthylène ( $\text{KMnO}_4$ ) ou d'un inhibiteur de la biosynthèse d'éthylène ( $\text{STS} = \text{AgNO}_3 + \text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ), le même développement de la plante qu'avec un filtre Millipore. Kozai *et al.* [7] ont montré que, malgré l'amélioration de la croissance *in vitro* due à de meilleures conditions climatiques (plus de lumière, apport de  $\text{CO}_2$ , élimination de l'éthylène, contrôle de la température...), la plante reste mixotrophe :

elle s'alimente en carbone à la fois par autotrophie et par hétérotrophie. Le carbone issu du milieu de culture (absorption de saccharose) et de l'activité photosynthétique est utilisé par la plante pour sa croissance. Reste-t-il aux vitroplants à la sortie des tubes, suffisamment de métabolites nécessaires pour amorcer leur reprise de croissance au sevrage ? Cette question en appelle d'autres :

- Quelles peuvent être chez le bananier, les conséquences de l'élimination de gaz volatils, comme l'éthylène, par diffusion à travers des filtres Millipore ?
- Peut-on favoriser l'accumulation des glucides en vue d'une utilisation ultérieure pour la néoformation de nouveaux organes à la sortie des flacons de culture, dans la mesure où ceux formés *in vitro* ne sont pas aptes à résister aux conditions climatiques de l'extérieur, et donc à être fonctionnels ?

Pour tenter de répondre à ces questions, nous avons suivi *in vitro* et en acclimatation le comportement des vitroplants élevés dans deux types de flacons différents, l'un en absence d'échanges gazeux avec l'extérieur du flacon de culture, l'autre en permettant des échanges à travers un filtre Millipore ayant des pores de  $0,2 \mu$  de diamètre.

### Matériel et méthodes

#### Le matériel végétal

Les explants mis en culture proviennent d'un rejet de bananier de la variété Petite Naine, du genre *Musa*, espèce *Acuminata* (triploïde AAA) importé de Guadeloupe. Ces explants

sont mis en culture sur un milieu de culture composé de macro et micro éléments de Murashige et Skoog [8], des vitamines de Morel *et al.* [9], et de saccharose ( $40 \text{ g/l}$ ), le tout solidifié avec de la gélose (gelrite  $2,5 \text{ g/l}$ ).

#### Les conteneurs de culture

Des flacons de  $580 \text{ cm}^3$  sont utilisés, au lieu des tubes à essai ou boîtes de Pétri, dans le but de permettre le développement de la plante qui peut être limité par le volume réduit du conteneur. La présence de fibre Millipore sur certains flacons permet d'avoir deux types de récipients ou conteneurs. Nous distinguerons ainsi des flacons dits « hermétiques » (sans filtre et dont le système de fermeture ne permet pas les échanges avec l'extérieur du flacon), et des flacons dits « aérés » ou « à filtre » (sur lesquels sont fixés à travers un bouchon en caoutchouc un filtre Millipore dont les pores ont un diamètre de  $0,2 \mu$ ).

#### Les chambres de culture

Les quatre chambres de culture utilisées, dont chacune est caractérisée par un niveau d'éclairement ( $75, 150, 350$  et  $500 \mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ ), sont thermostatées à  $27 \pm 1^\circ \text{C}$ . La photopériode est fixée à  $16 \text{ h}$  d'éclairement et  $8 \text{ h}$  d'obscurité.

L'éclairement est assuré par des lampes à vapeur de mercure (Osram, Power Star HQI-T 400 DH) disposées horizontalement à  $45 \text{ cm}$  au dessus des flacons de culture, isolées par un double vitrage pour atténuer le réchauffement dû aux lampes, et pour arrêter les rayons UV.

A. Saya, P.-G. Schoch : INRA, Station de Bioclimatologie, 84140 Montfavet, France.



## La serre d'acclimatation

Le sevrage et l'acclimatation des plantes se font dans une serre en verre ventilée (température  $27 \pm 1^\circ \text{C}$ ), dans laquelle sont disposées trois tablettes pleines de terreau humidifié. Un système d'irrigation par aspersion d'eau à partir d'une rampe a été installé dans la serre, pour maintenir un taux d'humidité relative suffisamment élevé en début d'acclimatation (plus de 80 %).

## Les mesures effectuées

Les critères qui permettent de distinguer les plantes en fonction du traitement subi sont :

— *in vitro*, la masse des matières fraîche et sèche (par pesée à la balance de précision et après dessiccation 48 h à l'étuve à  $80^\circ \text{C}$  pour la matière sèche), la surface foliaire (au planimètre Licor

modèle LI3050), la photosynthèse nette et la respiration nocturne (en  $\text{mgCO}_2/\text{m}^2/\text{s}$ ) calculées à partir des différences de concentrations en  $\text{CO}_2$  relevées en fin de nuit et en fin de phase d'éclairage, la concentration en éthylène par chromatographie en phase gazeuse, les teneurs en glucides des pseudotrons également par chromatographie en phase gazeuse selon la méthode mise au point par Gary [10]. — en acclimatation, le taux de survie T ( $T = n/N$ ; n étant le nombre de plants mis en acclimatation, et N le nombre de plants acclimatés après 2,5 mois), les potentialités d'enracinement (nombre de racines émises les 15 premiers jours d'acclimatation), la masse des matières fraîche et sèche et la teneur en matière sèche.

Le traitement statistique de tous les résultats présentés ici a été fait d'après le test t de Student ( $\alpha = 0,05$ ;  $k = n - 1$ ;  $n > 20$ ).

## Résultats

### Variation des paramètres de croissance *in vitro*

- La masse des matières fraîche et sèche

Les valeurs du *Tableau 1* font apparaître un léger avantage en masse de matière fraîche produite *in vitro* pour les plants issus des flacons à filtre. Avec  $500 \mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$  d'éclairage, l'avantage des plants issus des flacons aérés par rapport à ceux qui sont issus des flacons hermétiques est significatif, tandis qu'il ne l'est pas avec les autres éclairages. Au traitement  $350 \mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ , que nous avons défini comme étant l'éclairage optimal pour la production des vitroplants de bananier [3], il n'existe déjà plus de différence en matière sèche à la fin de la phase de croissance *in vitro* entre les deux types de conditionnement

**Tableau 1**

**Influence du type de récipient utilisé en culture *in vitro* sur les paramètres de croissance. Comparaison entre plants issus des flacons hermétiques (H) et ceux issus des flacons aérés ou flacons à filtre (F)**

Éclairage (Irradiance) ( $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ )	75	150	350	500
MF (g) Matière fraîche	(F) $2,8 \pm 0,9$ (H) $2,7 \pm 1,0$	$3,3 \pm 1,1$ $3,4 \pm 0,8$	$3,7 \pm 1,0$ $3,6 \pm 0,9$	$3,7 \pm 0,9$ $2,3 \pm 0,9$
MS (g) Matière sèche	(F) $0,15 \pm 0,06$ (H) $0,18 \pm 0,13$	$0,22 \pm 0,07$ $0,21 \pm 0,05$	$0,26 \pm 0,10$ $0,26 \pm 0,07$	$0,28 \pm 0,07$ $0,19 \pm 0,05$
SF ( $\text{mm}^2$ ) Surface foliaire	(F) $30 \pm 16$ (H) $15 \pm 07$	$51 \pm 16$ $23 \pm 09$	$52 \pm 12$ $19 \pm 04$	$51 \pm 12$ $21 \pm 05$
% MS - Teneur en matière sèche	(F) $5,5 \pm 2,1$ (H) $6,8 \pm 3,4$	$6,5 \pm 0,6$ $6,7 \pm 2,7$	$6,9 \pm 0,8$ $7,3 \pm 1,3$	$7,5 \pm 1,0$ $8,7 \pm 1,9$
MS/SF ( $\text{g}/\text{m}^2$ ) Rapport matière sèche sur surface foliaire	(F) $0,2 \pm 0,03$ (H) $0,3 \pm 0,07$	$0,2 \pm 0,03$ $0,3 \pm 0,07$	$0,2 \pm 0,03$ $0,3 \pm 0,07$	$0,2 \pm 0,03$ $0,3 \pm 0,07$
NF Nombre de feuilles	(F) $4,9 \pm 1,0$ (H) $4,9 \pm 1,0$	$5,6 \pm 0,7$ $6,0 \pm 0,9$	$6,0 \pm 0,5$ $6,9 \pm 0,7$	$6,0 \pm 0,7$ $5,9 \pm 0,7$

**Comparative effects of type of vessel (either closed (H) or filter-tip (F)) on growth of *in vitro* banana plants at different irradiance levels**



(atmosphère confinée ou non). Cette égalité persiste longtemps en acclimatation, à la fin de laquelle on note un léger avantage en faveur des plants issus des flacons hermétiques (figures 1-a', b', c'). Quel que soit le type de conditionnement, le niveau 350  $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$  apparaît comme le meilleur traitement lumineux pour la production de matière sèche, puisque dans les deux cas, ce traitement conserve un avantage jusqu'en fin d'acclimatation (figure 1-c').

La matière sèche surfacique (MS/SF) produite en atmosphère confinée est significativement plus importante que celle produite en atmosphère non confinée. Cette différence n'existera plus après un mois d'acclimatation.

La teneur en matière sèche est similaire entre plants ayant eu des conditionnements différents, ou des éclairagements différents.

#### • La surface foliaire

La surface foliaire est le paramètre qui permet de mettre en évidence l'effet du confinement. La présence d'un filtre Millipore permettant des échanges gazeux avec l'extérieur du flacon de culture favorise la croissance en dimension (Photos 1, 2, 3).

À tous les éclairagements, la surface foliaire des bananiers issus des flacons aérés est au moins deux fois supérieure à celle des bananiers issus des flacons hermétiques. Après un mois d'acclimatation, l'avantage acquis en surface foliaire *in vitro* par les plants issus des flacons aérés a déjà disparu (figure 2-b, Photo 4). En fin d'acclimatation (après 2,5 mois), pour les traitements 150 et 350  $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ , la tendance s'inverse. Les différences entre plants en fonction du traitement lumineux reçu *in vitro* sont très nettement en faveur des forts éclairagements, quel que soit le type de récipient utilisé.

### Variation de la concentration en $\text{CO}_2$ *in vitro*

Les teneurs en  $\text{CO}_2$  mesurées dans les flacons aérés sont en moyenne, après 20 jours de croissance, deux fois moins importantes que celles mesurées dans les flacons hermétiques, essentiellement sous les faibles rayonnements. En fin de nuit, on note 5 à 6 % de  $\text{CO}_2$  en flacons hermétiques, et 2,5 à 3 % de  $\text{CO}_2$  dans les flacons à filtre (figures 3-a et b).

La vitesse d'assimilation du  $\text{CO}_2$  par les plantes, pendant les 4 premières heures d'éclairément, est similaire dans les deux types de récipients avec un éclairément de 350  $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$  (5 500 ppm de  $\text{CO}_2/\text{h}$ ). C'est cependant avec un éclairément de 500  $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$  et en flacon aéré que l'on note la plus importante vitesse d'assimilation de  $\text{CO}_2$  (Tableau 2). La figure 4 montre que la vitesse de diffusion du  $\text{CO}_2$  (au 35<sup>e</sup> jour de croissance) à travers le

filtre Millipore varie en fonction de la teneur en  $\text{CO}_2$  contenue dans le flacon de culture, mais aussi en fonction du volume que la plante occupe chaque jour, et par conséquent de la pression atmosphérique à l'intérieur du conteneur de culture. Il est donc difficile de connaître exactement la quantité de  $\text{CO}_2$  qui diffuse à travers le filtre vers l'extérieur du flacon, mais elle est négligeable par rapport au  $\text{CO}_2$  assimilé par les plantes.



Photo 1. Flacons de culture à filtre (aérés) après 42 jours de croissance *in vitro* (Cliché A. Saya).

Photo 1. Millipore growth vessels after 42 days of *in vitro* growth of banana plantlets.



Photo 2. Flacons de culture hermétiques après 42 jours de croissance *in vitro* (Cliché A. Saya).

Photo 2. Tight growth vessels after 42 days of *in vitro* growth of banana plantlets.



## Photosynthèse et respiration *in vitro*

La photosynthèse nette ( $\text{mgCO}_2/\text{m}^2/\text{s}$ ) des bananiers dans les flacons aérés est très faible, par rapport aux bananiers cultivés en flacons hermétiques, et l'écart entre les deux types de récipients est plus important à 350  $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$  qui est le niveau d'éclairement qui permet la meilleure production de matière sèche chez le bana-

nier (Tableau 3). La photosynthèse et la respiration nocturne augmentent de façon linéaire avec l'éclairement en flacon aéré, alors qu'en flacon hermétique, on note une inhibition de la photosynthèse à 500  $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ . Avec ou sans dispositif d'aération, la photosynthèse semble limitée non pas par l'éclairement fourni, mais par le  $\text{CO}_2$  disponible dans le conteneur de culture.

Le bilan de carbone dans tous les cas

(Photosynthèse — Respiration) est négatif, et plus on fournit de lumière utile à la photosynthèse (PAR), plus ce bilan est négatif. L'augmentation de l'éclairement *in vitro* semble donc favoriser l'hétérotrophie (d'où augmentation de la production de matière sèche alors qu'il y a inhibition de la photosynthèse) quel que soit le type de conteneur utilisé.

## Concentration en éthylène ( $\text{C}_2\text{H}_4$ ) *in vitro*

Il apparaît très nettement (figure 5) que les teneurs en éthylène en flacon hermétique sont supérieures aux teneurs mesurées dans les flacons aérés. Dans les deux types de récipients, les teneurs en éthylène augmentent avec le niveau de l'éclairement. Des mesures faites à deux étapes de la croissance *in vitro* (j + 7 et j + 40), permettent de voir qu'à faible rayonnement, la concentration en  $\text{C}_2\text{H}_4$  diminue au cours de la croissance (de 0,40 ppm à 0,35 ppm en flacon aéré et de 5,5 ppm à 3,5 ppm en flacon hermétique), tandis qu'à fort rayonnement elle augmente (de 0,50 ppm à 0,75 ppm en flacon aéré, et de 3 ppm à 7,5 ppm en flacon hermétique). A l'échelle de la journée, la concentration en éthylène à l'intérieur d'un même flacon ne varie pas de façon notable.

Il y a donc accumulation d'éthylène au cours de la croissance en flacon hermétique, mais aussi, malgré la présence de filtre, en flacon aéré. Cette accumulation est d'autant plus importante que le niveau d'éclairement fourni est élevé.

## Dosage des glucides dans les pseudotrons des vitroplants en fin de croissance

Le dosage des glucides n'a été fait que dans les pseudotrons des vitroplants à la sortie des flacons de culture, car c'est la seule partie de la plante qui contient les réserves utiles à la reprise de croissance pendant le sevrage, les feuilles et racines formées *in vitro* n'étant pas fonctionnelles en acclimatation. Les teneurs en sucres solubles (saccharose-glucose-fructose + les polymères du saccharose et du glucose) sont fortes. En effet, on a mesuré

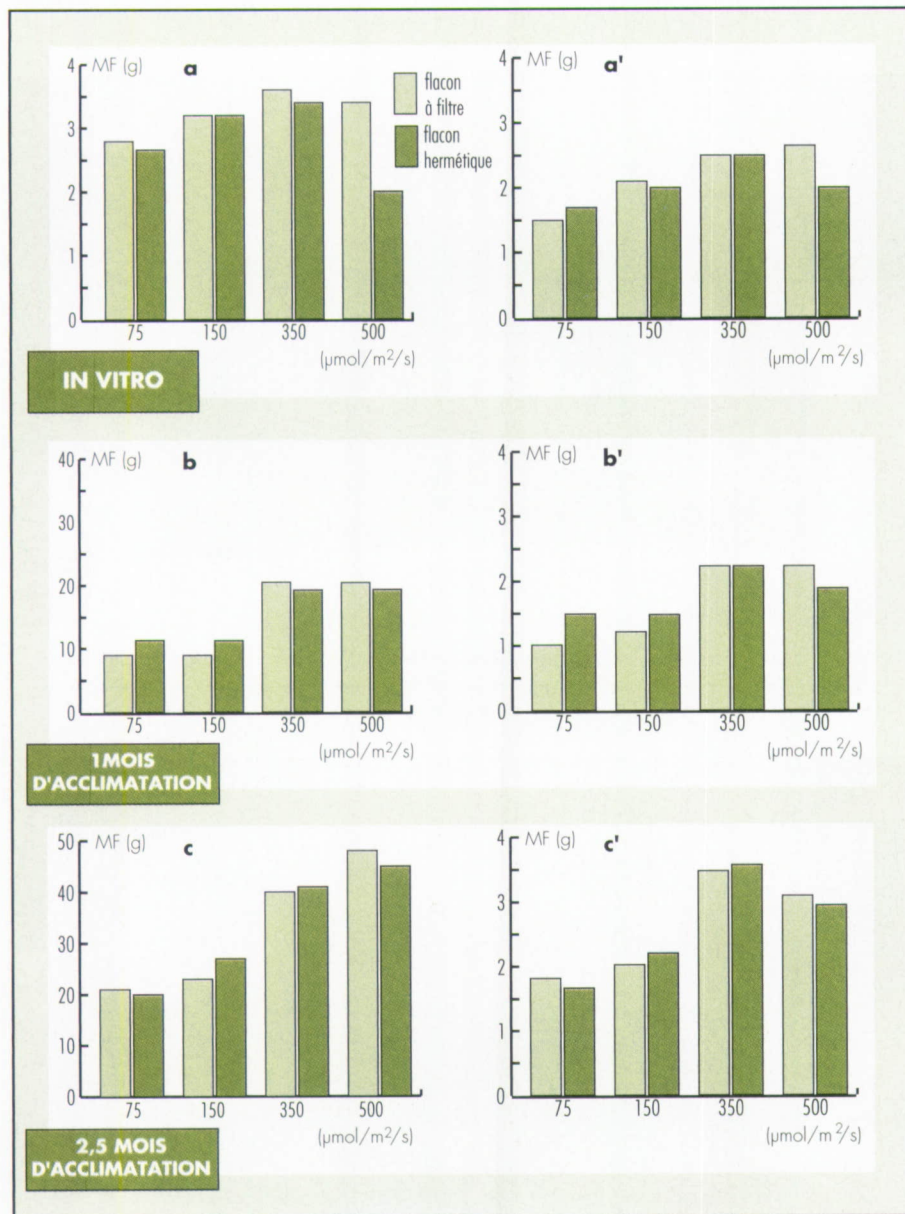


Figure 1. Variation de la masse des matières fraîche (a,b,c) et sèche (a',b',c') en fonction de l'éclairement reçu *in vitro*. Comparaison entre plants issus des flacons à filtre et ceux issus des flacons hermétiques à trois étapes : *in vitro* (a,a'), après 1 mois d'acclimatation (b,b') et après 2,5 mois d'acclimatation (c,c').

Figure 1. Irradiance effect on variation of fresh (a,b,c) and dry (a',b',c') matter production during *in vitro* phase (a,a'), after 1 month of acclimation (b,b') and after 2.5 months of acclimation (c,c').



jusqu'à 70 % du poids de matière sèche totale, en sucres solubles (figure 6-a). Les teneurs rencontrées dans la littérature sont très variées, presque autant que le nombre d'espèces expérimentées. Toutefois, Mercier et Tollier [11] signalent que les glucides peuvent représenter jusqu'à 80 % de la matière sèche totale.

On peut voir (figure 6-a) que la teneur en sucres solubles des bananiers issus des flacons hermétiques est deux fois plus importante que celle des bananiers issus des flacons aérés aux niveaux d'éclairement 75-150 à 500  $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ . A 350  $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$  (éclairage optimal), l'avantage des bananiers élevés en flacons hermétiques n'est ni significatif pour les résultats présentés ici, ni répétitif d'une série de résultats à une autre. La figure 6-b représente la teneur en amidon dans les pseudotruncs des vitroplants. Il apparaît que très peu de métabolites assimilés par la plante par photosynthèse, ou absorbés à partir du milieu de culture, sont mis en réserve sous forme d'amidon. Le total des glucides (sucres solubles + polymères du glucose et du saccharose + amidon) disponibles pour la reprise de croissance en acclimatation (figure 6-c) est très nettement en faveur des plantules élevées en flacons hermétiques pour les traitements lumineux 75-150 et 500  $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ . Le traitement 350  $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ , bien que favorisant la production de matière sèche autant *in vitro* qu'en acclimatation, ne permet pas de distinguer les plantules en fonction de leur teneur en glucides par rapport au type de récipient utilisé. Si l'on prend les deux types de récipients un à un, on constate, pour les plants issus des flacons aérés que la teneur en glucide augmente avec le rayonnement fourni jusqu'à 350  $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ , et on note une plus faible accumulation de glucides avec un éclairage de 500  $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ . Pour les plants issus des flacons hermétiques, il n'y a pas de différence entre plants ayant subi 75-150 et 500  $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ , alors qu'un éclairage de 350  $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$  favorise moins bien l'accumulation de glucides.

Les dosages effectués sur les bulbes de rejet de bananier montrent que ces derniers renferment trois fois plus d'amidon que les vitroplants (figure 6), et inversement moins de sucres solubles.

## Potentialités d'enracinement en acclimatation des plants issus de culture *in vitro*

Le taux de reprise en acclimatation ne varie pas en fonction du type de flacon utilisé pendant la phase de croissance *in vitro*. Nous n'avons comparé que les potentialités de néoformation de racines des bananiers élevés à 350 et 500  $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ , les plants issus des

deux autres traitements lumineux ayant une rhizogenèse très tardive. Le but recherché est en effet de déterminer la vitesse de néoformation des racines dans les 15 premiers jours d'acclimatation, celle-ci étant déterminante pour les étapes suivantes.

L'éclairage 350  $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$  en flacon hermétique paraît être le plus favorable à la rhizogenèse au sevrage (figure 7). En moyenne, les vitesses d'apparition des racines au bout de 14

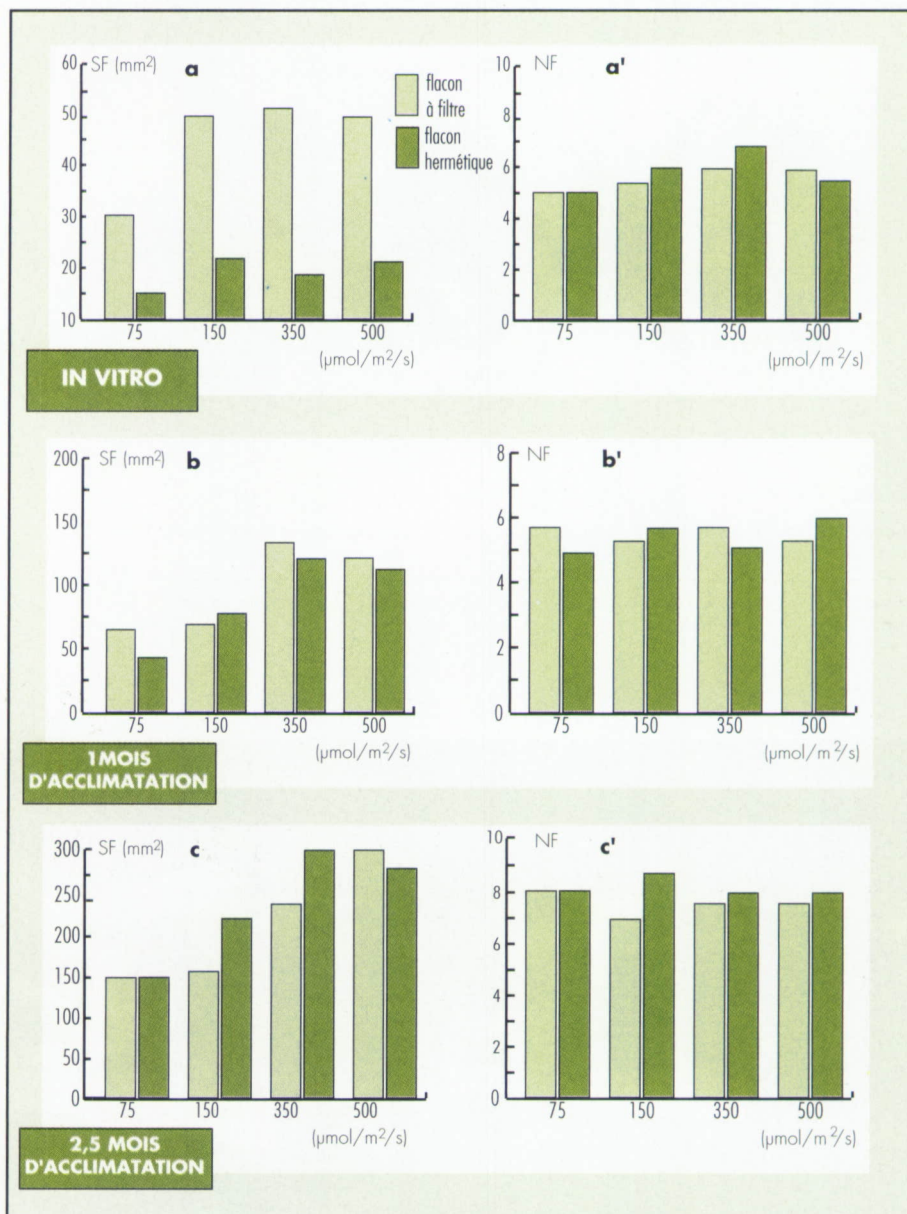


Figure 2. Influence du type de récipient et du niveau de l'éclairement utilisé en culture *in vitro* du bananier sur la variation de la surface foliaire (a,b,c) et du nombre de feuilles (a',b',c'), à différentes étapes : *in vitro* (a,a'), après 1 mois d'acclimatation (b,b') et après 2,5 mois d'acclimatation (c,c').

Figure 2. Influence of type of vessel and irradiance level used in culture *in vitro* of banana plants on variation on leaf area (a,b,c) and leaf number (a',b',c') at different phases : *in vitro* (a,a'), after 1 month acclimation (b,b') and after 2.5 months acclimation (c,c').



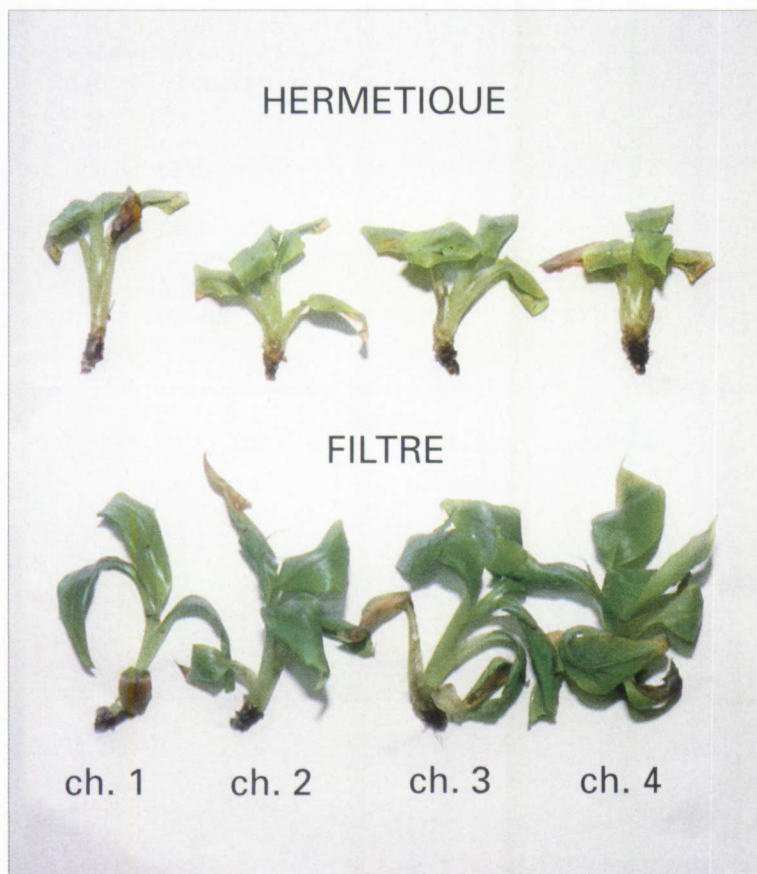


Photo 3. Plants de bananier à la sortie des flacons de culture hermétiques (au-dessus) ou à filtre (en dessous). (Cliché A. Saya)

Photo 3. Banana plantlets at the end of *in vitro* growth period : above : tight vessels, below : Millipore vessels.

## Summary

Effect of gas exchanges on photosynthesis.  
A. Saya, P.-G. Schoch

*Significant differences exist between climatic conditions of the growth chamber of in vitro culture and the acclimation tree nursery conditions. So, the young vitroplants must have the capacity to adapt to the new environment. The usual conditions of in vitro production do not confer this capacity to the vitroplants. It is necessary to optimize climatic conditions of growth chamber with nursery conditions.*

*In this way, severed investigations have evidenced the role of light for in vitro growth [2, 7, 13].*

*In a recent work, we determined the optimal in vitro photosynthetic photon flux (PPF) level for banana, which is about  $350 \mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ . Increase of fresh and dry matter was observed with increasing PPF, up to  $350 \mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ . Photosynthesis of in vitro banana plants is effective, but is very low, between  $0,01$  and  $0,06 \text{ mgCO}_2/\text{m}^2/\text{s}$  [3].*



Photo 4. Comparaison entre un bananier issu de flacon à filtre (à droite) et un bananier issu de flacon hermétique (à gauche) après un mois d'acclimation. (Cliché A. Saya)

Photo 4. Banana plantlets after 1 month acclimation. Comparison between plantlets grown in Millipore vessels (right) and plantlets grown in tight vessels (left).



sis and growth *in vitro* of banana plantlets (*Musa acuminata* AAA)

Gas exchange between the culture vessel and the growth chamber is the other factor which favours the development of plants *in vitro*. Use of gas exchange, associated with high PPF level, allows :

- autotrophic assimilation of carbon [4],
- elimination of volatile compounds like ethylene,
- inhibition of longitudinal growth.

In view of this advantage, several authors recommend of use the gas exchange devices for producing quality vitroplants. However, there is no proof that the advance in development obtained *in vitro* by means of gas exchange devices is maintained during a long time in the acclimation period.

The results presented in this paper, by comparing plantlets produced in tight vessel and in filter tip vessel, show that gas exchange favour the

development of vitroplant, but do not allow the accumulation of dry matter *in vitro* and production of functional hardening organs (leaves, roots). The wide leaves produced *in vitro* in filter tip vessel are saturated with water, and their specific leaf weight (SLW) is significantly lower than those of plants produced in tight vessel.

Other notable results are :

- closed vessel allows to store reserves which contribute to a better acclimation of the plants ;
- after 2,5 months in acclimation, the tight vessel plants behave better than the filter tip vessel plants ;
- the quantum flux density seems to be the main factor involved in determining the quality of vitroplants production.

Cahiers Agricultures 1992 ; 1 : 163-72.

jours d'acclimatation sont de 1 racine/jour pour les bananiers issus des flacons hermétiques, et 1 racine/2 jours pour les bananiers issus des flacons aérés.

## Discussion

Nos résultats montrent que le choix d'un dispositif permettant des échanges gazeux entre l'intérieur et l'extérieur du flacon de culture aboutit à un développement accru de la plante (croissance en dimension sans accumulation de matière sèche). Nous avons retrouvé, avec un éclairage de 350  $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ , une production équivalente de matière sèche en présence et en absence de filtre d'aération, alors que l'aspect des plantes (Photo 3) montre un plus grand développement en flacon aéré.

Les grandes feuilles formées *in vitro* en flacons aérés sont en fait gorgées d'eau et contiennent peu de matière sèche : la matière sèche surfacique exprimant la densité des feuilles, est très inférieure à celle des bananiers issus des flacons hermétiques, et ceci peut expliquer leur moins bonne activité photosynthétique.

Le filtre Millipore permet d'éliminer essentiellement l'éthylène contenu dans le flacon de culture. Les très fortes

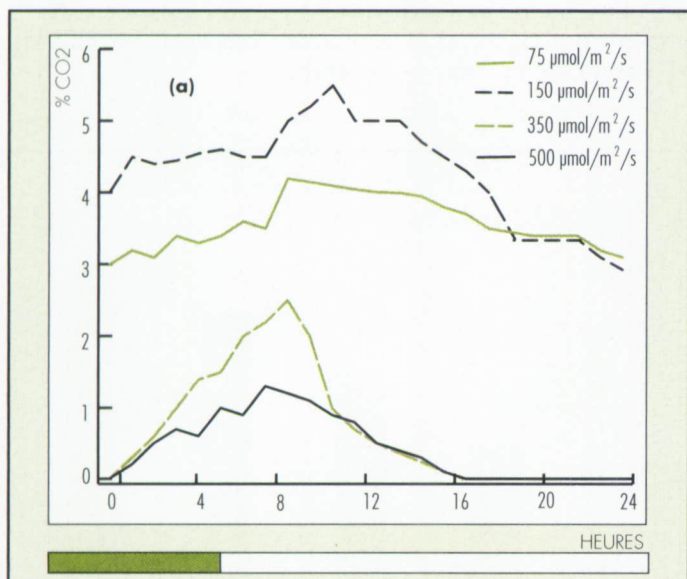


Figure 3-a. Variation journalière de la concentration en  $\text{CO}_2$  en flacon de culture hermétique.

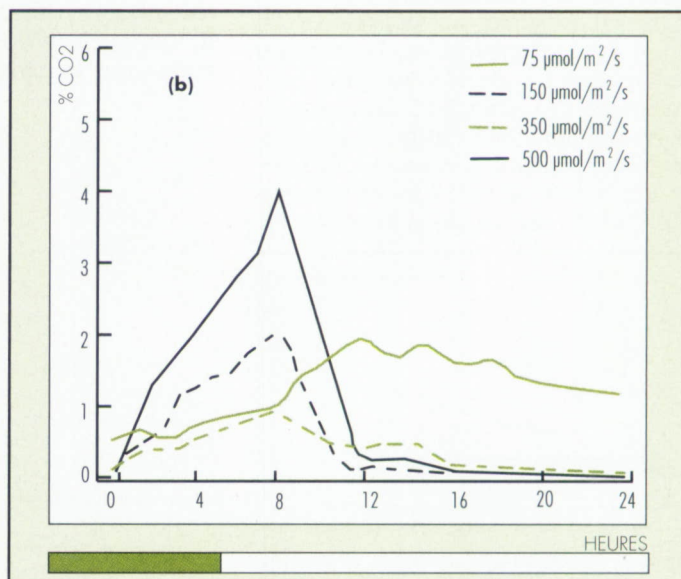


Figure 3-b. Variation journalière de la concentration en  $\text{CO}_2$  en flacon de culture à filtre.

Figure 3-a. Daily variation of  $\text{CO}_2$  concentration in closed culture vessel.

Figure 3-b. Daily variation of  $\text{CO}_2$  concentration in filter tip culture vessel.



teneurs rencontrées dans les flacons hermétiques, contrairement aux flacons aérés, sont en faveur de cette hypothèse. L'éthylène est une hormone gazeuse. C'est un régulateur de croissance, et son rôle est notamment connu dans la levée de dormance des bourgeons de pomme de terre, dans l'induction de la maturation des fruits, et dans des phénomènes d'abscission des feuilles. Comme toute hormone de croissance, l'action de l'éthylène sur la régulation de la croissance dans un sens ou dans un autre (inhibition ou activation) dépend de sa concentration. Les quantités mesurées dans les flacons de culture hermétiques sont plutôt inhibitrices, essentiellement pour l'étalement et l'allongement des feuilles *in vitro*. Cette inhibition en flacon hermétique limite l'utilisation des métabolites produits par photosynthèse ou absorbés par les racines grâce à la nutrition mixotrophique des vitroplants.

La production des vitroplants de bananier en flacon hermétique permet de mobiliser des réserves glucidiques pour une croissance ultérieure en acclimatation, traduite par une meilleure organogénèse racinaire au sevrage. Ces vitroplants sont caractérisés par leur renflement à la base du pseudotrunc (*Photo 3*). Mais la mobilisation des glucides n'explique pas à elle seule l'avantage en acclimatation des bananiers issus des flacons hermétiques, car avec un éclairage optimal (350  $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ ), l'absence ou la présence de système d'aération ne fait plus apparaître des différences entre plants. Il semble donc que, outre les glucides mobilisés pendant la croissance *in vitro* et qui représentent 50 % de matière sèche totale, les bananiers avantagés en

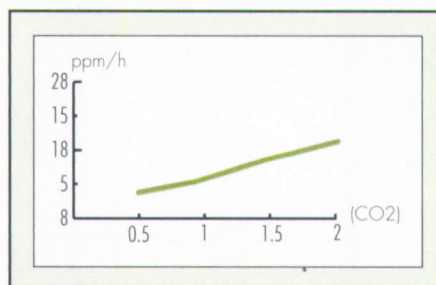


Figure 4. Variation de la vitesse de diffusion du  $\text{CO}_2$  à travers le filtre Millipore en fonction de sa concentration dans le flacon de culture.

Figure 4. Variation of  $\text{CO}_2$  diffusion through the Millipore filter as a function of  $\text{CO}_2$  concentration inside the culture vessel.

## Tableau 2

Vitesse d'assimilation du  $\text{CO}_2$  (ppm/h) pendant les quatre premiers jours d'acclimatation

Éclairage (Irradiance) ( $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ )	75	150	350	500
Flacon à filtre (ppm/h)	- 500	1 600	5 700	9 800
Flacon hermétique (ppm/h)	400	- 100	5 300	2 500

$\text{CO}_2$  assimilation (ppm/h) during the first 4 days of acclimation

## Tableau 3

Photosynthèse nette (PN), respiration nocturne (R) et bilan de carbone (PN - R) *in vitro* ( $\text{mgCO}_2/\text{m}^2/\text{s}$ ). Comparaison entre vitroplants en flacon hermétique et vitroplants en flacon à filtre

Éclairage (Irradiance) ( $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ )	75	150	350	500
Filtre PN	0,008	0,009	0,010	0,011
Filtre R	0,015	0,017	0,019	0,023
Filtre PN - R	- 0,007	- 0,008	- 0,009	- 0,012
Hermétique PN	0,026	- 0,017	0,050	0,022
Hermétique R	0,032	0,030	0,055	0,042
Hermétique PN - R	- 0,006	- 0,013	- 0,005	- 0,020

Net photosynthesis (PN), dark respiration (R) and carbon balance (PN - R) during *in vitro* phase ( $\text{mgCO}_2/\text{m}^2/\text{s}$ ). Comparison between vitroplants cultivated in closed vessel or in filter-tip vessel

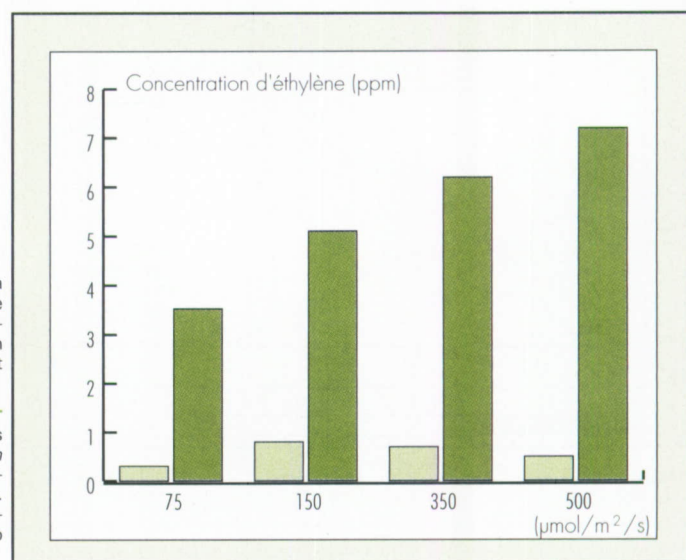
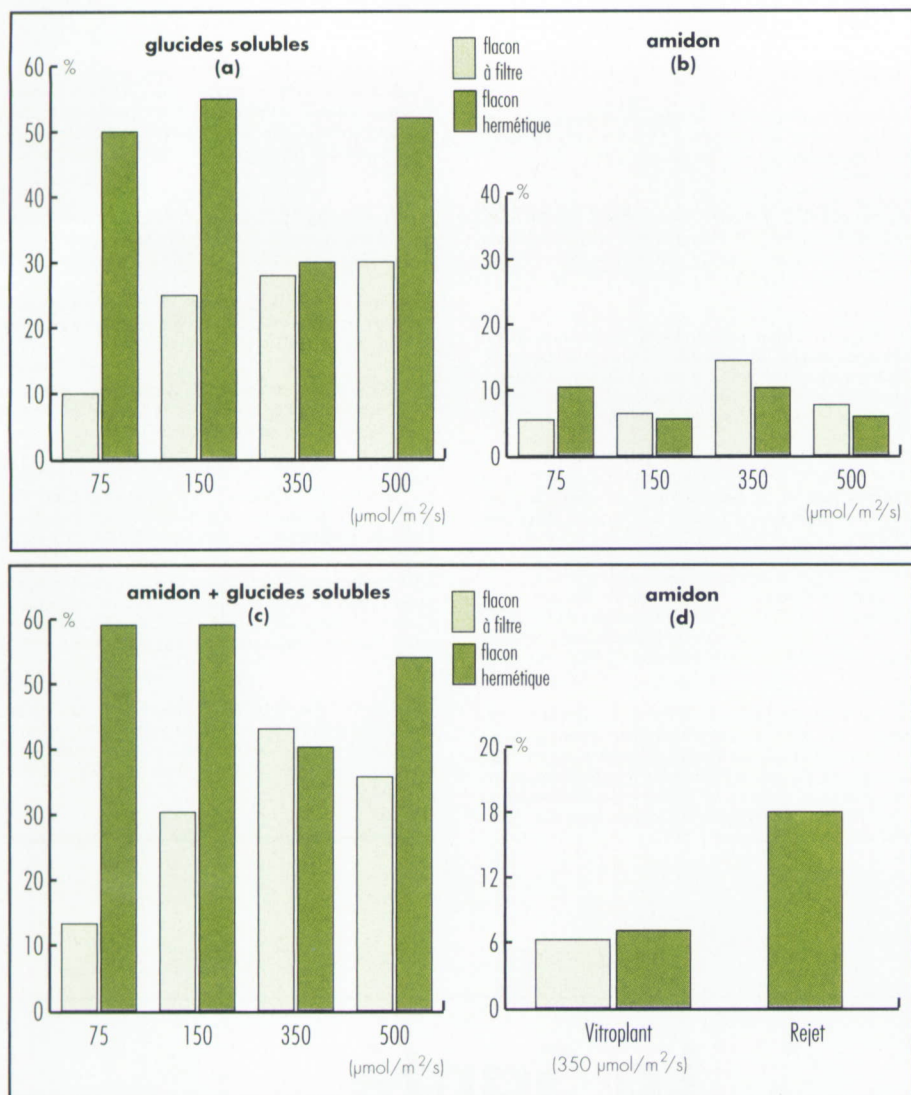


Figure 5. Variation de la concentration en éthylène *in vitro* à différents éclairages. Comparaison entre flacon hermétique et flacon à filtre.

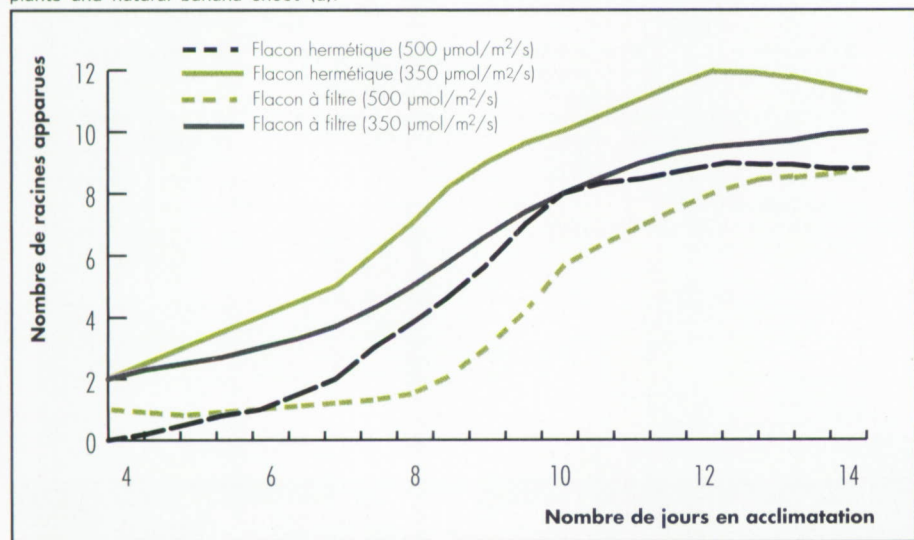
Figure 5. Ethylene gas concentration inside the *in vitro* culture vessel at different levels of irradiance. Comparison between closed vessel and filter-tip vessel.





▲ **Figure 6.** Dosage des glucides dans les pseudotruncs de bananier issu de culture *in vitro* : comparaison entre vitroplants issus des flacons à filtre et ceux issus des flacons hermétiques (a,b,c) et entre un vitroplant et un rejet naturel (d).

Figure 6. Measurements of carbohydrate content in banana pseudo-stems obtained from *in vitro* culture. Comparison between vitroplants from closed vessel and filter vessel (a,b,c), and between vitroplants and natural banana shoot (d).



acclimatation ont d'autres ressources. Ces plants sont comparables à des semences en croissance ralentie, et la sortie des flacons de culture constituerait la levée de l'inhibition par l'éthylène de la croissance. Cette inhibition *in vitro* peut être liée à l'existence de puits de réserves, notamment les nucléotides comme l'ATP (adénosine tri-phosphate) ou le NTP (nucléotide tri-phosphate).

L'utilisation des nucléotides di et tri-phosphates non adényliques est multiple, mais on peut postuler qu'elle est liée assez directement à la croissance rapide qui correspond à un nouvel état d'équilibre dynamique du « pool » nucléotidique, exprimé par la valeur de  $R = \text{NTP}/\text{ATP}$  [12]. Dans les conditions favorables à la croissance du bananier *in vitro*, la connaissance des modalités de régulation du « pool » nucléotidique pourrait permettre de vérifier si la teneur en NTP est liée à l'inaptitude à la croissance et à l'organogénèse.

Le prolongement de l'acclimatation en serre à 2,5 mois au lieu d'un mois (habituellement), nous a permis de constater que les plantes élevées en flacons hermétiques, et qui visiblement ont un retard de croissance, le rattrapent au bout de 2,5 mois, et prennent même une certaine avance de croissance.

Le suivi au champ jusqu'aux premières récoltes permettrait de savoir s'il est utile de favoriser le développement des plantes *in vitro* grâce aux dispositifs d'aération, ou de réduire le coût des vitroplants en se passant de ces dispositifs, compte tenu de leur prix.

Les échanges gazeux avec l'extérieur dans les conditions d'éclairage et de température que nous avons utilisées ne se traduisent pas chez le bananier par une meilleure production de matière sèche, ni *in vitro*, ni en acclimatation. Le niveau d'éclairage 350 μmol/m<sup>2</sup>/s apparaît toujours comme le meilleur pour la culture *in vitro* du bananier, quel que soit le type de conteneur utilisé ■

◀ **Figure 7.** Évolution du nombre de racines néoformées au cours des 14 premiers jours d'acclimatation en serre. Comparaison entre plants issus des flacons à filtre et ceux issus des flacons hermétiques.

Figure 7. Increase in new root production during the first 14 days of acclimation in the greenhouse. Comparison between banana plants from filter tip vessel and from closed vessel.



## Résumé

Les échanges gazeux entre le flacon de culture et la chambre climatisée favorisent le développement des vitroplants de *Musa acuminata* AAA (importante rhizogénèse, accroissement de la surface foliaire), mais ne permettent pas de produire des organes (feuilles et racines) fonctionnels au sevrage. Il apparaît nettement chez cette espèce que l'éthylène est le principal inhibiteur du développement des vitroplants, mais aussi que sa présence permet aux plantes, tout en limitant leur développement *in vitro*, d'accumuler les réserves nécessaires à une meilleure organogénèse adventive en acclimatation.

Ces résultats renforcent l'idée selon laquelle l'optimisation des conditions microclimatiques pour le contrôle des différents types de culture *in vitro* est aussi importante que la mise au point des milieux de culture.

## Références

1. Navarro-Mastache L. Energie lumineuse et croissance *in vitro* du bananier. *DEA de l'école nationale agronomique de Toulouse*, 1987.
2. Schoch PG, Navarro-Mastache L, Teisson C, Ganry J, Lefevre B. Importance des conditions microclimatiques pour la culture *in vitro*. *Fruits* 1988 ; 43 : 579-83.
3. Saya A. Amélioration de la croissance et du développement de pousses feuillées de bananier (*Musa acuminata* AAA). Passage du stade hétérotrophe *in vitro*, au stade autotrophe *ex vitro*. *Thèse de Doctorat de l'Université d'Aix-Marseille I*, 1991.
4. Walker H. Action of light rooting *in vitro* and acclimatation of *Sequoia sempervirens* to soil. *Abstract symposium CRA*. Gembloux, Belgique, 1985.
5. Jona R, Gribaudo R, Vigliocco R. Natural development of ethylene in air tight vessels of GF 677. In : G. Ducate, M. Jacob, A. Simeon, eds. *Symposium Florizel 87*. Arlon Belgique, 1987 : 61-6.
6. Navarro-Mastache L. Effet de l'intensité lumineuse, de l'aération et de l'enrichissement en CO<sub>2</sub> au cours de la micropropagation du Bananier (*Musa acuminata* cv. petite Naine) sur le développement des plants *in vitro* et en phase d'acclimatation *in vivo*. *Thèse de Doctorat de l'Institut National Polytechnique de Toulouse*, 1990.

7. Kozai T, Fujiwara K, Watanabe I. Fundamental Studies on Environments in Plant Tissue Culture Vessels. Effect of Stoppers and Vessels on Gas Exchange Rates Between Inside and Outside of Vessels Closed with Stoppers. *J Agr Met* 1986 ; 42 : 119-27.
8. Muraschige T, Skoog F. A revised medium for rapid growth and biomass assays with tobacco tissue cultures. *Physiol Plant* 1962 ; 15 : 473-97.
9. Morel G, Martin C, Muller JF. La guérison des pommes de terre atteintes de maladies à virus. *Ann Physiol Vég* 1968 ; 10 (2) : 113-39.
10. Gary C. Étude et modélisation des effets à court terme du microclimat sur la tomate en phase végétative. *Thèse de Doctorat de l'Université Paris VI*, 1988.
11. Mercier C, TOLLIER M. Séparation et dosage des glucides et amylases. *Guide pratique d'analyse dans les industries des céréales* 1984 : 273-327.
12. Gendraud M, Laffleur J. Intracellular Compartmentation of ATP in Dormant and Non-dormant Tubers of Jerusalem Artichoke (*Helianthus tuberosus* L.) grow *in vitro*. *J Plant physiol* 1985 ; 118 : 251-8.
13. Lee N, Weitzstein HY, Somer HE. Quantum flux density effects on the anatomy and surface morphology of *in vitro* and *in vivo* developed sweetgum leaves. *J Amer Soc Hort Sci* 1988 : 113 : 167-71.



# La Santé et le développement

Deux enjeux majeurs du XXI<sup>e</sup> siècle

DES DONNÉES, DES RÉFÉRENCES, DES MÉTHODES, DES SYNTHÈSES

■ Un reflet de la science contemporaine appliquée à la santé des hommes

■ Une ouverture vers la compétition internationale par la publication scientifique

■ Un nouvel espace d'acquisition et de diffusion de la connaissance en santé

■ Un témoignage de la vitalité des équipes qui communiquent en français

### CAHIERS/SANTÉ TARIFS D'ABONNEMENT 1992 (1 an - 6 numéros)

	Particuliers	Institutions	Étudiants (1)
France et autres pays CEE	380 FF	650 FF	250 FF
Afrique, Amérique latine, Asie du Sud-Est, Liban			
Europe orientale	190 FF	325 FF	125 FF
Canada, États-Unis	95 \$C	165 \$C	65 \$C
Autres pays	380 FF	650 FF	250 FF

Les frais de port sont inclus dans ces tarifs.  
(1) Tarifs étudiants consentis sur présentation de la photocopie R<sup>o</sup> / V<sup>o</sup> de la carte d'étudiant en cours de validité.

Veuillez m'abonner au tarif : \_\_\_\_\_ FF

Je joins à l'ordre de John Libbey Eurotext  
 un chèque bancaire  un chèque postal

Nom de l'abonné \_\_\_\_\_

Spécialité \_\_\_\_\_

Adresse complète \_\_\_\_\_

Date \_\_\_\_\_ Signature \_\_\_\_\_

Adresser ce bulletin à : John Libbey Eurotext, 6, rue Blanche, 92120 - Montrouge, France