

## Importance des conditions microclimatiques pour les cultures *in vitro*.

P.G. SCHOCH, L.C. NAVARRO-MASTACHE, C. TEISSON,  
J. GANRY et Béatrice LEFEVRE\*

### SIGNIFICANCE OF MICROCLIMATIC CONDITIONS ON VITROCULTURES.

P.G. SCHOCH, L.C. NAVARRO-MASTACHE, C. TEISSON,  
J. GANRY et Béatrice LEFEVRE.

*Fruits*, Oct. 1988, vol. 43, n° 10, p. 579-583.

**ABSTRACT** - After a review of the units commonly used in the radiation field and some indications on spectral composition of natural and artificial lights, the authors point out the light effects (either by intensity level or by spectral characteristics) on the stomatal differentiation of *Vigna sinensis* L. leaves grown *in vitro* and on the adaptation to natural climatic conditions of banana tree vitroplants.

### IMPORTANCE DES CONDITIONS MICROCLIMATIQUES POUR LES CULTURES *IN VITRO*.

P.G. SCHOCH, L.C. NAVARRO-MASTACHE, C. TEISSON,  
J. GANRY et Béatrice LEFEVRE.

*Fruits*, Oct. 1988, vol. 43, n° 10, p. 579-583.

**RESUME** - Après avoir rappelé les principales unités utilisées pour le rayonnement et donné quelques indications sur les spectres de lumière, les auteurs précisent l'action du rayonnement (en quantité et en qualité) sur la différenciation stomatique de feuilles cultivées *in vitro* et sur l'acclimatation des vitroplants de bananier.

### INTRODUCTION

La multiplication végétative *in vitro* conforme est en plein développement et il est courant de voir sur les mêmes tablettes de chambres climatisées des espèces des pays tempérés voisiner avec des espèces de pays tropicaux comme si la photopériode et la thermopériode n'existaient pas dans les conditions naturelles.

Selon C. MARTIN lui-même (Bio-Expo 1987), père avec G. MOREL des cultures *in vitro*, on a cultivé *in vitro* jusqu'à ce jour les cellules<sup>in vitro</sup> végétales comme PASTEUR cultivait les bactéries pathogènes de l'Homme ou des animaux. La photopériode comme la thermopériode sont des facteurs extérieurs fondamentaux de la différenciation cellulaire, donc de l'organogenèse végétale. Ainsi, après avoir rappelé succinctement les principales unités utilisées pour le rayonnement et donné quelques indications sur des spectres de lumière, nous présentons l'action du rayonnement, en quantité et en qualité, sur la différenciation

stomatique de feuilles de *Vigna sinensis* L. cultivées *in vitro* et sur l'incidence du rayonnement trophique sur l'acclimatation des vitro-plants de bananier *ex vitro*.

### RAYONNEMENTS ET SPECTRES

Le rayonnement est un mode de transport de l'énergie d'un corps (source) à un autre (récepteur) sous formes d'ondes électromagnétiques. Les rayonnements connus vont de  $10^{-8}$  à  $10^9$   $\mu\text{m}$  ; la plage visible est petite mais très riche car elle nous donne l'impression des couleurs.

La notion d'éclairement se rapporte à l'objet qui reçoit le rayonnement par opposition à la source qui émet le rayonnement.

Trois analyses sont couramment utilisées pour définir le rayonnement :

- les unités lumineuses (en lux) définies par rapport à la sensibilité de l'oeil humain ; ces unités bien que couramment encore employées sont totalement à proscrire en physiologie végétale où elles n'ont pas de signification ;
- les unités énergétiques s'expriment alors en énergie (an-

\* - P.G. SCHOCH et Béatrice LEFEVRE - I.N.R.A. Station de Bioclimatologie, Domaine Saint Paul - 84140 MONTFAVET  
C. TEISSON, J. GANRY et L.C. NAVARRO-MASTACHE, IRFA/  
CIRAD - avenue du Val-de-Montferrand - 34032 MONTPELLIER Cedex  
Communication présentée au 7<sup>e</sup> Colloque sur les Recherches fruitières, Bordeaux, 2-3 décembre 1987.

ciennement en  $\text{cal.cm}^{-2} \cdot \text{mn}^{-1}$ , actuellement en  $\text{MegaJ.m}^{-2} \cdot \text{j}^{-1}$ ; rappelons que : 1 Megajoule =  $10^6$  joules et que 1 cal = 4.18 joules) ou en puissance ( $\text{W.m}^{-2}$ ; 1  $\text{cal.cm}^{-2} \cdot \text{mn}^{-1}$  =  $697 \text{ W.m}^{-2}$ ) surtout avec les lumières artificielles.

Ces unités relatives à l'énergie transportée par le rayonnement servent en thermique mais aussi en physiologie végétale pour définir l'énergie disponible pour la transpiration et tous les phénomènes où l'énergie est en jeu ;

- les unités photoniques ou quantiques (densité de flux quantique) que l'on exprime en  $\mu\text{moles.m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$  (ou anciennement  $\mu\text{Einstein.m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ ).

Les photons interviennent directement dans le processus de photosynthèse des végétaux et comme la sensibilité de la photosynthèse peut être considérée comme uniforme pour des longueurs d'onde comprises entre 400 et 700 nm il est courant d'appeler cette plage P.A.R. (Photosynthetic Active Radiation) et de l'exprimer en  $\mu\text{moles.m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ .

Il n'y a pas de correspondance entre les unités lumineuses et les deux autres modes de mesure du rayonnement.

En revanche l'énergie transportée par un photon dépend de sa longueur d'onde, aussi est-il possible de passer (mais très difficilement) des unités photoniques aux unités énergétiques lorsque le spectre de lumière est connu.

Dans la pratique pour le rayonnement solaire et les sources lumineuses classiques (lampes à incandescence, à halogénures métalliques) dans la gamme des longueurs d'onde de 400 à 700 nm (PAR) il est possible de considérer que  $1 \text{ W.m}^{-2} = 4,6 \text{ à } 5,0 \mu\text{moles.m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$  avec une précision de l'ordre de 10 p. 100 (Mc CREE, 1972, 1981).

La puissance du rayonnement global maximum à Avignon est d'environ  $380 \text{ W.m}^{-2}$  en janvier et de  $980 \text{ W.m}^{-2}$  en juillet dont environ seulement la moitié se trouve entre 400 à 700 nm (PAR). Avec des tubes fluorescents «Blanc Industrie» il est possible d'obtenir au maximum une puissance de  $80 \text{ W.m}^{-2}$  et avec des lampes à décharge (vapeur de mercure) un maximum de  $150 \text{ W.m}^{-2}$ , la puissance électrique installée est alors de l'ordre de  $1 \text{ KW.m}^{-2}$  (JACQUES, 1987).

En général, l'éclairage des salles de cultures ou des chambres climatisées est largement en-dessous de ces maxima (de 10 à  $20 \text{ W.m}^{-2}$ ).

Si le niveau de l'éclairage est important il ne faut pas pour autant négliger la qualité de la lumière, c'est-à-dire le spectre de répartition de cette lumière. Le rayonnement solaire est riche dans une grande gamme de longueur d'onde (figure 1). Le rayonnement des lampes à halogénures métalliques (figure 2) bien que moindre est encore dans une gamme étendue de longueurs d'ondes alors que le spectre des tubes fluorescents (figure 3) est inégal et surtout pauvre dans les rouges (au-delà de 660 nm).

Pour un peu plus d'informations, on se reportera utilement à deux articles accessibles : FROSSARD (1987) et GAUDILLERE et CHASLES (1986).

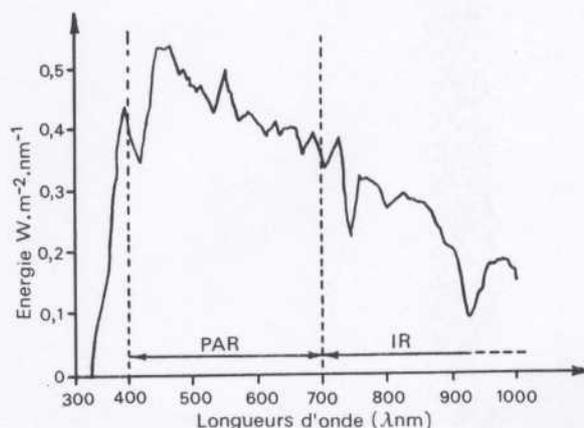


Fig. 1 \* Spectre solaire à Avignon en janvier. La lumière photosynthétiquement active (PAR) est de l'ordre de  $200 \text{ W.m}^{-2}$  dans cet exemple.

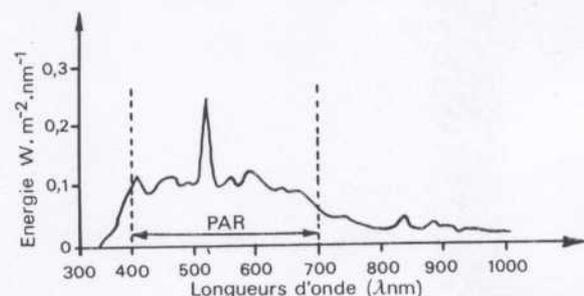


Fig. 2 \* Spectre d'une lampe isolée à halogénures métalliques. Le PAR est ici de  $35 \text{ W.m}^{-2}$ .

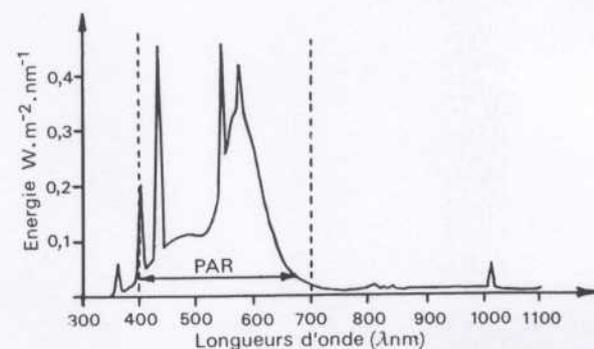


Fig. 3 \* Spectre d'un plafond de tubes fluorescents «Blanc Industrie». Le PAR est ici de l'ordre de  $80 \text{ W.m}^{-2}$ , valeur maximale pour ce type de tubes (d'après R. JACQUES, comm. pers.)

## RAYONNEMENTS ET STOMATES

On connaît l'importance des stomates dans les transferts gazeux entre la plante et son milieu environnant, aussi semble-t-il utile de rappeler que leur formation est fonction de la quantité et de la qualité de la lumière apportée durant les quelques jours qui précèdent les différenciations cellulaires formant les stomates.

Nous nous appuyons sur l'exemple du *Vigna sinensis* L., légumineuse tropicale, faite de pouvoir présenter une espèce fruitière.

Le pourcentage de cellules épidermiques donnant des stomates (indice stomatique) est directement fonction de l'énergie trophique apportée sur les feuilles excisées cultivées *in vitro* (figure 4). Dans cet exemple, la quantité de lumière modifie la différenciation des cellules, donc l'organogénèse.

De plus, la qualité de lumière intervient également. Ainsi un traitement de 30 mn de rouge sombre (centré sur 730 nm) apporté en début de période obscure diminue sensiblement la formation numérique des stomates. Ce phénomène est annulé si une égale période de rouge clair (centré sur 660 nm) suit la période de rouge sombre (figure 5). Ces résultats permettent de conclure l'implication du phytochrome sur l'action morphogénétique de la formation des stomates. Cette dernière est donc non seulement fonction de la lumière trophique apportée sur les feuilles mais aussi selon la qualité du spectre de lumière apporté. Ainsi les tubes fluorescents pauvres en rouge doivent être complétés par des lampes incandescentes comme c'était le cas au phytotron du CNRS à Gif sur Yvette.

#### RAYONNEMENTS ET BANANIER *IN VITRO*

La micropropagation du bananier copie conforme *in vitro* connaît un grand essor car il est possible de régénérer des plants sains indemnes de différentes maladies. Cependant en conditions de cultures *in vitro* «standardisées» du bananier il n'est pas évident d'avoir la croissance la meilleure et des plants aptes à supporter les chocs hydriques de l'acclimatation lumineuse et thermique aux conditions extérieures lors de la sortie du tube à essai. Dans les conditions *in vitro* l'air est pratiquement toujours saturée en eau d'où un transfert hydrique faible dans la plante. De plus, dans ce milieu confiné y a-t-il suffisamment de  $CO_2$  pour la photosynthèse ? Cette dernière est-elle réduite par manque de lumière, ou puise-t-elle le carbone essentiellement du saccharose du milieu nutritif ?

La plante est alors dans un état hétérotrophe avant de devenir autotrophe durant l'acclimatation. Est-il possible d'améliorer cette transition en jouant sur les conditions physiques durant le stade *in vitro*, notamment par un apport important de lumière trophique dans le cas où les stomates du bananier sont effectivement fonctionnels au stade juvénile ?

Ce dernier point a été vérifié. En obscurité totale *in vitro* la résistance stomatique des feuilles de bananier est supérieure à  $15 \text{ s.cm}^{-1}$ . En revanche à la lumière les stomates s'ouvrent et cette résistance tombe à des valeurs de 1 à  $2 \text{ s.cm}^{-1}$ . La régulation stomatique due à la lumière est donc fonctionnelle. Il en est de même pour la régulation par un déficit hydrique. Ainsi des plants de bananier *in vitro* dont le couvercle a été enlevé et placés en serre, ont une résistance stomatique qui augmente avec le temps au point qu'au bout de deux heures les stomates sont totalement fermés. Les stomates des plants de bananier sont donc fonctionnels également au stade *in vitro*.

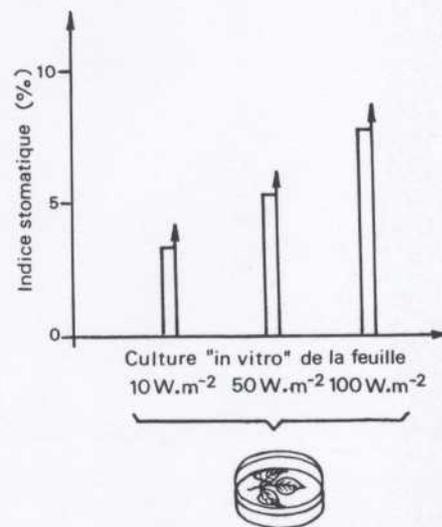


Fig. 4 \* Effet du rayonnement trophique sur l'indice stomatique de la feuille de *Vigna sinensis* L. cultivée sur milieu stérile *in vitro* (d'après SCHOCH, 1987).

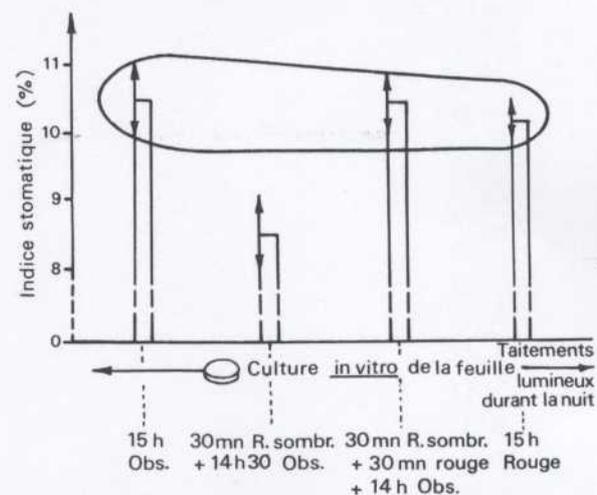


Fig. 5 \* Action morphogénétique du phytochrome sur l'indice stomatique de la première feuille de *Vigna sinensis* L. cultivée *in vitro*. Les traitements sont apportés les 15 heures de nuit suivant les 9 heures de jour (d'après SCHOCH, 1987).

Une augmentation de lumière trophique au stade *in vitro* se traduit par un accroissement du poids de matière fraîche des plantes ; la teneur en matière sèche étant à peu près identique cela correspond également à un accroissement du poids de matière sèche (figure 6). Ces résultats sur bananiers en tubes à bouchon de verre (NAVARRO-MASTACHE, 1987) sont également confirmés par des travaux sur la même variété de bananiers en boîte plastique avec échanges gazeux facilités avec l'extérieur (LEFEVRE, 1988). Dans ce dernier cas un doublement de la lumière trophique augmente la surface foliaire (figure 7) et le poids de matière sèche des plantes (figure 8) au moment du sevrage mais cette différence persiste encore une trentaine de jours après que les bananiers ont été mis tous dans les mêmes conditions d'une serre.

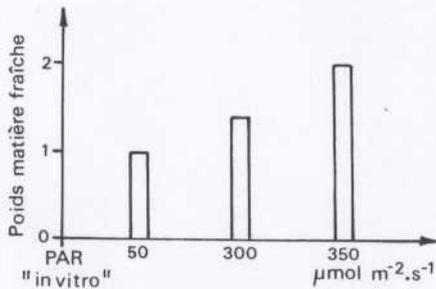


Fig. 6 \* Effet du niveau de rayonnement trophique fourni *in vitro* sur le poids final de matière fraîche (les temoins 50 sont ramenés au niveau 1, la teneur en matière sèche des trois lots n'est pas significativement différente) (d'après NAVARRO, 1987).

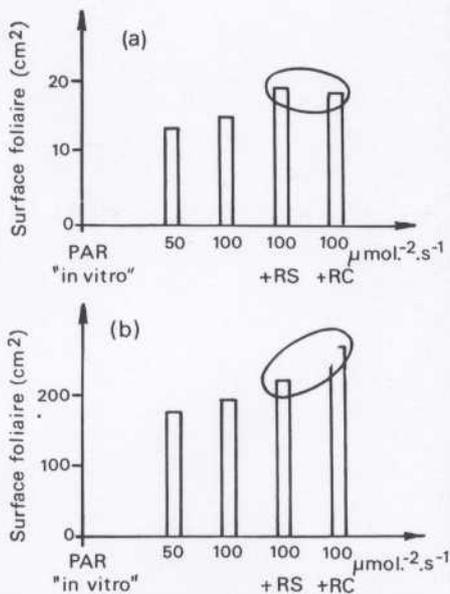


Fig. 7 \* Effets du niveau trophique et d'une lumière additionnelle durant la période obscure rouge sombre (RS), durant 30 mn suivant les 12 heures d'éclairage; 30 mn de rouge clair (RC) toutes les deux heures sur la surface foliaire :  
(a) au stade *in vitro* avant le sevrage,  
(b) après un sevrage d'une trentaine de journées sous serre (d'après LEFEVRE, 1988).

Plus important encore que la lumière trophique est la qualité de la lumière apportée en début de période obscure. Trente minutes de lumière rouge sombre centrée sur 730 nm de longueur d'onde apportée en début de période obscure a un effet d'accroissement de la surface foliaire comme du poids de matière sèche avant le sevrage et ces différences persistent encore un mois après le sevrage où toutes les plantes sont en serre dans les mêmes conditions.

De même, l'effet est semblable si au lieu d'apporter 30 mn de rouge sombre il est apporté toutes les 2 heures 30 mn de rouge clair centré sur 660 nm. Ainsi, le rouge clair augmente également la surface foliaire et le poids de matière sèche.

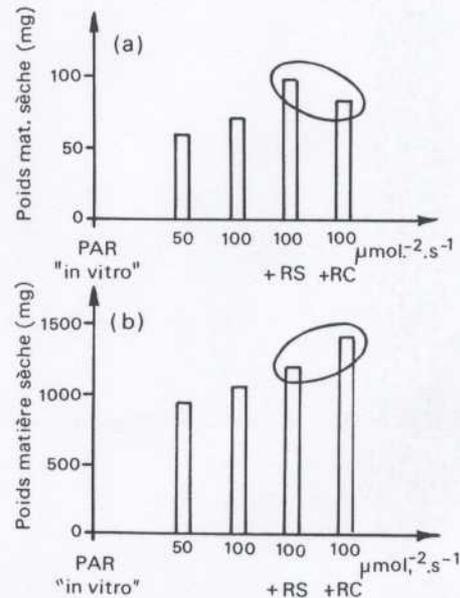


Fig. 8 \* Même expérience qu'à la figure 7. Effets sur le poids de matière sèche (d'après LEFEVRE, 1988).

Dans les deux cas, rouge sombre et rouge clair, le bénéfice de la surface foliaire et en poids de matière sèche est même accentué un mois après le sevrage, période durant laquelle toutes les plantes subissaient le même traitement sous serre.

L'interprétation de ces réponses de la plante aux lumières additionnelles rouges fait penser à l'intervention du phytochrome mais comme les deux rouges n'ont pas d'effet antagoniste, on peut penser qu'ils agissent sur des mécanismes différents qui favorisent tous également la croissance et sans doute par voie de conséquence la photosynthèse, donc le poids de matière sèche.

Une augmentation du rayonnement pour favoriser l'assimilation nette pose le problème de la fourniture en gaz carbonique. A quel niveau lumineux, le bananier est-il au-dessus du point de compensation globalisé sur un cycle circadien ? Poser le problème de la lumière pour les cultures *in vitro* revient à poser également le problème du gaz carbonique qui se trouve être en déficit pour certaines espèces (MOUSSEAU, 1986).

## CONCLUSION

Ces résultats préliminaires sur bananier montrent que le sujet est prometteur et que la qualité des vitro-plants dépend également des conditions microclimatiques des enceintes de culture. Augmenter le niveau et la richesse des plafonds lumineux est sans doute une solution pour le cas du bananier mais cela revient également à s'intéresser au bilan du gaz carbonique.

L'étude du passage d'une plante juvénile hétérotrophe en une plante adulte autotrophe est ainsi un sujet prometteur et y trouvera des applications valorisantes.

## BIBLIOGRAPHIE

MC CREE (K.J.). 1972.

Test of current definitions of photosynthetically active radiation against leaf photosynthesis data.  
*Agric. Meteorol.*, 10, 443-453.

MC CREE (K.J.). 1981.

Photosynthetically active radiation.  
In : *Physiological Plant Ecology*. LANGE O.L., NOBEL P., OSMMOND B. and ZIEGLER H. (Ed.) vol. 12A, *Encyclopedia of plant physiology*. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York.

FROSSARD (J.S.). 1987.

Quelques éléments pour la définition des conditions expérimentales en chambre climatisée pour des études de biologie végétale.  
*Cah. Techn. INRA*, 15, 29-35.

GAUDILLERE (J.P.) et CHASLES (M.). 1986.

Critères de choix de lampes pour culture de plantes en conditions contrôlées.  
*Cah. Techn. INRA*, 13, 27-36.

JACQUES (R.). 1987.

Communication personnelle.

LEFEVRE (Béatrice). 1988.

Influence de la lumière sur la croissance *in vitro* du bananier (*Musa cavendishii*), du melon (*Cucumis melo*) et du poivron (*Capsicum annuum*).  
*Mémoire de fin d'Etudes de l'ESITPA soutenu le 13 janvier 1988*.

MARTIN (C.). 1987.

La multiplication végétative *in vitro*.  
*Bio-Expo*, 1987, 5 p.

MOUSSEAU (M.). 1986.

CO<sub>2</sub> enrichment *in vitro*. Effect on autotrophic and heterotrophic cultures of *Nicotiana tabacum* (var. Samsun).  
*Photosynthesis Research*, 8, 187-191.

NAVARRO-MASTACHE (L.C.). 1987.

Incidence des facteurs de croissance *in vitro* sur le transfert des plants de bananier cv. Petite Naine.  
*DEA, Institut national polytechnique, ENSA de Toulouse, soutenu le 24 septembre* 84 p. et annexes.

SCHOCH (P.G.). 1987.

Lumière, croissance des feuilles et différenciation stomatique.  
*C.R. Acad. Agric. Fr.*, 73, 25-36.

## BEDEUTUNG VON MIKROKLIMATA FÜR VITROKULTUREN:

P.G. SCHOCH, L. NAVARRO-MASTACHE, C. TEISSON, J. GANRY und Béatrice LEFEVRE.

*Fruits*, Oct. 1988, vol. 43, n° 10, p. 579-583.

KURZFASSUNG - Nach Angaben zu den wichtigsten, für die Strahlung verwendeten Einheiten und zu den Lichtspektralen erläutern die Verfasser den Einfluss der Strahlung (quantitativ und qualitativ) auf die stomatische Differenzierung von *in vitro* gezüchteten Blättern und die Akklimatisierung der Vitropflanzen der Banane.

IMPORTANCIA DE LAS CONDICIONES MICROCLIMATICAS PARA LOS CULTIVOS *IN VITRO*.

P.G. SCHOCH, L. NAVARRO-MASTACHE, C. TEISSON, J. GANRY y Béatrice LEFEVRE.

*Fruits*, Oct. 1988, vol. 43, n° 10, p. 579-583.

RESUMEN - Después de haber recordado las principales unidades utilizadas para la radiación y dado algunas indicaciones sobre los espectros de luz, los autores precisan la acción de la radiación (en cantidad y en calidad) sobre la diferenciación estomática de hojas cultivadas *in vitro* y sobre la aclimatación de vitroplantas de banano.

