

# Physiologie de la nutrition des bananiers en culture *in vitro* et en phase d'endurcissement.

J. MARCHAL

Le développement de la culture *in vitro* du bananier a conduit le service de physiologie et de biochimie de l'IRFA à étudier les besoins spécifiques de ces plants pour tenter d'améliorer leur croissance.

Le transfert de l'enceinte de culture *in vitro* au champ nécessite une étape intermédiaire de sevrage puis d'adaptation à l'atmosphère externe. A ce stade le bananier est très fragile, les conditions de culture : milieu, nutrition, irrigation, hygrométrie de l'air, doivent être exactement adaptées pour obtenir des plants supportant ensuite sans dommage la mise en place au champ.

## CULTURE *IN VITRO*

En culture *in vitro* le milieu fournit l'eau, les éléments minéraux, le carbone (sous forme de saccharose). Le milieu de MURASHIGE et SKOOG utilisé est-il bien adapté aux besoins spécifiques du bananier ? Nous nous sommes intéressés à la consommation en sucres et en éléments minéraux pour définir les corrections éventuellement nécessaires.

(Une partie importante des résultats est extraite du DEA présenté par Mademoiselle I. SENS, 1988, U.S.T.L.).

### Les besoins en sucres.

Au cours de l'autoclavage du milieu, avant sa mise en culture, une légère acidification est observée (0,2 unité de pH). Cependant, combinée à l'élévation de température elle provoque une hydrolyse, limitée, du saccharose en fructose et en glucose (figure 1). Durant la phase de croissance des bananiers, une acidification très accentuée - le pH passe de 5,8 à 3,1 - liée aux échanges minéraux, provoque une hydrolyse très intense (figure 1). Dans quelques cas aucune trace de saccharose n'a été retrouvée en fin de culture. La diminution de ce sucre peut être due à deux facteurs : l'hydrolyse mais aussi son absorption par les plants. Ces derniers consomment-ils indifféremment ou non ces trois sucres ? l'un d'entre eux est-il plus efficace que les autres ?

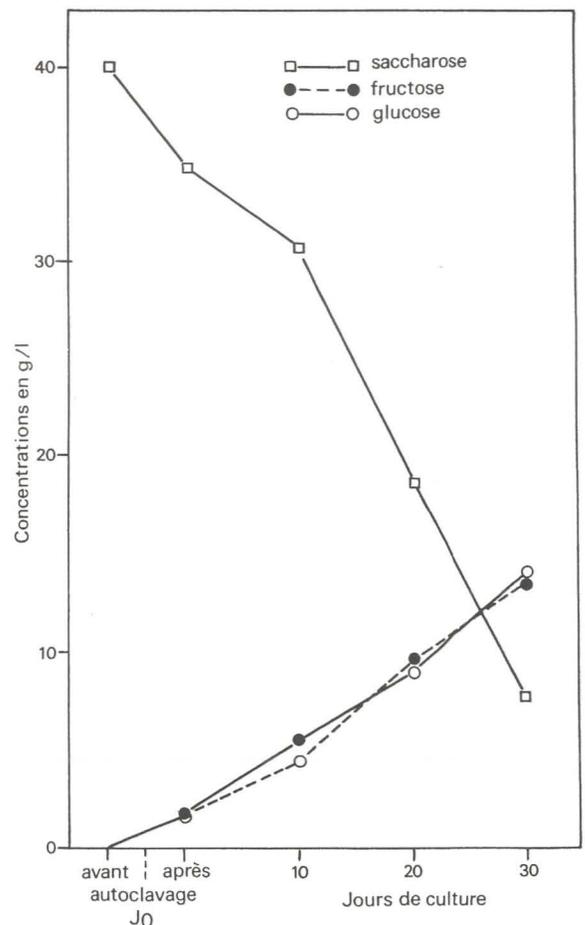


FIG. 1 \* EVOLUTION DE LA CONCENTRATION DES SUCRES, DANS LE MILIEU DE CULTURE, DURANT LA CROISSANCE DES BANANIERES

A quantité égale (40 g/l) dans le milieu d'origine le fructose seul ou associé à partie égale à du glucose provoque le plus fort taux d'accroissement de la masse fraîche en un mois (tableau 1). Le fructose et le saccharose fournis à la même concentration molaire (117 millimoles/litre) ont des effets voisins mais dans le milieu la quantité des deux sucres

TABLEAU 1 - Influence de la nature du sucre introduit dans le milieu sur le taux d'accroissement de la masse fraîche des bananiers après un mois de culture *in vitro*.

	quantité (g/l)	taux d'accroissement (p. 100)
saccharose	40	484 (b)
fructose	40	600 (a)
glucose	40	444 (b)
fructose } + } glucose }	20 } + } 20 }	608 (a)

(les valeurs suivies de la même lettre ne sont pas significativement différentes).

varie du simple au double (tableau 2). Ainsi le taux d'accroissement le plus élevé a été obtenu à une concentration de 20 g/l avec le fructose et de 40 g/l avec le saccharose, des doses plus importantes ont un effet dépressif (tableau 3).

Il n'est pas possible de juger de l'effet propre du saccharose puisque son hydrolyse ne peut être évitée dans les conditions de culture. Il apparaît seulement que son absence n'est pas limitante si le fructose est employé.

Finalement en combinant les effets des sucres et les conditions bioclimatiques (éclairage, concentration gazeuse) décrites par ailleurs, il est possible d'obtenir, sur milieu gélosé et en tubes, des bananiers trois fois plus lourds que ceux cultivés dans les conditions standards : 40 g/l de saccharose, faible éclaircissement ; 45  $\mu\text{moles m}^{-2}\text{s}^{-1}$ , flacons étanches (tableau 4). De meilleurs résultats auraient certainement été observés sur un milieu ne contenant que 20 g/l

de fructose. Les quantités de sucres et d'amidon contenues dans les plants en fin de croissance *in vitro* sont liées à la masse végétale mais aussi aux échanges avec l'atmosphère extérieure. Ceux-ci tendent à limiter la quantité de ces hydrocarbures dans la plante (tableau 5). Il a été vérifié que sous la plus forte énergie le potentiel autotrophique se révélait très nettement. La capacité de fixer le gaz carbonique atmosphérique pourrait freiner l'absorption des sucres présents dans le milieu. La plus forte énergie lumineuse conduit à un très fort accroissement du taux d'amidon, principalement lorsque le fructose a été utilisé.

#### Les besoins en éléments minéraux.

Après un mois de culture, en phase de prolifération ou de croissance, sur le milieu de base de MURASHIGE et SKOOG, le phosphore est très généralement totalement épuisé. Cependant si le milieu est enrichi en cet élément, les effets sur la croissance *in vitro* sont pratiquement nuls bien que les teneurs de la plante se soient accrues en P, mais aussi en fructose et en glucose. Environ 85 p. 100 de la totalité de N et de K sont absorbés.

Les quantités d'éléments immobilisés dans les bananiers sont fonction de leurs masses de matière sèche. En fin de phase de multiplication le rapport K/N est pratiquement égal à 1 et le contenu en P représente le dixième de l'un ou l'autre de ces deux éléments, celui en Ca est légèrement plus faible, le magnésium est le moins abondant (environ N/30). En fin de phase de croissance le taux de N est toujours plus élevé que celui de K (K/N = 0,8 pour la Petite Naine). Il a été constaté par ailleurs que ce rapport varie avec les cultivars et les conditions de culture (en boîte de Pétri, en tube ...). Au champ, en fin de cycle, la valeur de ce rapport est très différente : K/N = 3. Le rapport P/N passe de 0,10-0,13 en fin de phase de croissance à 0,08-

TABLEAU 2 - Influence de la nature du sucre sur la croissance des bananiers. Dans une même colonne les valeurs suivies de la même lettre ne sont pas significativement différentes.

	concentration		taux d'accroissement de la masse fraîche des plants en 1 mois (%)	hauteur (cm)
	g/l	millimolaire		
saccharose	40	117	429 (a)	2,83 (a)
	21	62	270 (c)	2,35 (b)
fructose	21	117	391 (a)	2,68 (b)
glucose	21	117	299 (b, c)	2,17 (b)
fructose } + } glucose }	10,5 } + } 10,5 }	58,5 } + } 58,5 }	331 (b)	2,29 (b)

TABLEAU 3 - Influence de la concentration en sucre sur la croissance des bananiers.

	g/l	taux d'accroissement de la masse fraîche en 1 mois (%)	hauteur (cm)
saccharose	20	472 (d)	3,28 (b)
	40	614 (b, c)	3,18 (b, c)
	60	531 (c, d)	2,83 (c, d)
fructose	20	731 (a)	3,61 (a)
	40	689 (a, b)	3,15 (b, c)
	60	422 (d)	2,49 (d, e)

**TABEAU 4 - Influence de la nature du sucre et des conditions bioclimatiques sur la croissance des bananiers en culture *in vitro*.**

énergie lumineuse	sucre (40 g/l)	échanges avec l'extérieur	taux d'accroissement de la masse de matière fraîche p. 100	hauteur (cm)
45 $\mu\text{moles m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (12 h/24 h)	saccharose	flacon étanche échanges passifs	627 (e) 739 (d, e)	3,33 (b) 3,77 (a)
	fructose	flacon étanche échanges passifs	881 (c, d) 1 000 (c)	3,68 (a, b) 4,00 (a)
340 $\mu\text{moles m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (12 h/24 h)	saccharose	flacon étanche échanges passifs	1 448 (b) 1 446 (b)	2,88 (c) 3,59 (a, b)
	fructose	flacon étanche échanges passifs	1 532 (b) 1 976 (a)	2,80 (c) 3,63 (a, b)

**TABEAU 5 - Contenus en sucres et amidon de bananiers. Influence de la composition en sucre du milieu et des conditions bioclimatiques.**

énergie lumineuse	sucre (40 g/l)	échanges avec l'extérieur	poids moyen d'un bananier (g)	quantités (en mg)				
				fructose	glucose	saccharose	sucres totaux	amidon
45 $\mu\text{moles m}^{-2} \text{s}^{-1}$	saccharose	flacon étanche échanges passifs	1,89	3,4	5,0	3,8	12,2	1,9
			2,18	3,1	4,9	3,4	11,4	1,7
	fructose	flacon étanche échanges passifs	2,55	10,00	10,1	6,8	26,9	4,1
			2,85	7,7	7,0	4,8	19,5	3,7
340 $\mu\text{moles m}^{-2} \text{s}^{-1}$	saccharose	flacon étanche échanges passifs	3,87	7,2	11,7	6,5	25,4	7,0
			4,02	5,4	8,5	9,2	23,1	4,8
	fructose	flacon étanche échanges passifs	4,08	11,9	12,6	8,2	32,7	29,0
			5,19	13,5	19,8	17,4	50,7	21,3

**TABEAU 6 - Culture sur milieu liquide, renouvelé ou non après 15 jours. Evolution des concentrations en azote ammoniacal et nitrique, en P et en K dans les solutions (mg/100 ml).**

	Azote		P	K
	ammoniacal	nitrique		
J 0	28,8	40,0	8,7	86,4
J+ 15	23,8	41,2	6,8	74,6
J+ 30				
solution non renouvelée	1,2	8,2	0,7	14,3
solution renouvelée après 15 jours	4,3	17,3	3,6	41,9

0,09 en fin de cycle au champ, les besoins en P sont donc plus élevés, relativement à N dans les plus jeunes plants.

Pour mieux répondre aux besoins de la plante en vitroculture un enrichissement du milieu en N pourrait être favorable en amenant le rapport K/N de 1,1 à une valeur de 0,9. Mais les proportions entre les deux formes de N,

nitrique et ammoniacale, devraient être également prises en compte ; l'azote nitrique est le plus abondant (N de  $\text{NO}_3/\text{N}$  de  $\text{NH}_4 = 1,4$ ). Or, en un mois de culture sur un milieu liquide l'ammonium est pratiquement totalement consommé alors que 20 p. 100 de l'azote nitrique subsistent (tableau 6). Toutefois les quantités absorbées de ces deux formes sont identiques ; la forme ammoniacale semble

être consommée plus abondamment en début de cycle (deux premières semaines).

Afin d'éviter tout risque d'insuffisance le volume de milieu (liquide ou solidifié) peut être accru ou sa concentration en éléments minéraux augmentée en s'assurant toutefois de ne pas atteindre des niveaux de toxicité. La culture sur milieu liquide avec immersion temporaire indiquée par COTE *et al.* dans le chapitre «Micropropagation *in vitro* du bananier» permet, en renouvelant la solution, de maintenir une concentration suffisante de chacun des éléments (tableau 6).

#### Le milieu gélifiant.

En culture sur milieu solidifié, le choix de l'agent gélifiant n'est pas indifférent, principalement en flacon étanche. L'Agar-Agar produit des quantités d'éthylène qui peuvent perturber le métabolisme des plants ; les émissions de ce gaz par de la Gelrite sont extrêmement faibles et le taux d'accroissement des bananiers est amélioré avec celle-ci.

#### PHASE DE SEVRAGE ET D'ENDURCISSEMENT DES BANANIERES ISSUES DE VITRO-CULTURE

Le transfert des bananiers obtenus en vitro-culture en milieu ambiant passe nécessairement par une étape intermédiaire d'adaptation progressive. Les jeunes plants sont alors très sensibles au taux hygrométrique de l'atmosphère qui doit être maintenu à un niveau très élevé (saturation) en début de culture.

Le support de culture doit permettre d'éviter tout risque d'asphyxie. En fonction des disponibilités sur les lieux de culture, différents supports sont préparés à partir de terre franche, de terreau, de tourbe ... auxquels du sable grossier peut être ajouté pour assurer un bon drainage.

Les besoins nutritionnels de ces plants ne sont pas définis avec précision. Les techniques de fertilisation actuellement employées sont relativement contraignantes : des apports de solutions nutritives commerciales sont pratiqués toutes les semaines ou tous les 15 jours avec des corrections en cas de révélation de symptômes de malnutrition. L'emploi d'engrais à libération lente devrait être recommandé. La faible durée de cette phase de sevrage et d'endurcissement (environ 2 mois) permet de pratiquer une seule application de cet engrais à la mise en place dans la serre.

Un premier test réalisé en Guadeloupe (DOREL, 1989) a révélé une réaction de croissance très marquée par comparaison avec la conduite classique de la fertilisation avec des solutions d'engrais. Toutefois il est souhaitable de choisir des formulations (équilibres entre les éléments) proches des besoins de ces plants. Avec des apports réguliers d'engrais en solutions, les immobilisations minérales des bananiers en fin de phase d'endurcissement sont de 75 mg d'azote, 3 mg de phosphore (7 mg de  $P_2O_5$ ), 140 mg de potassium (168 mg de  $K_2O$ ), 12 mg de calcium et 8 mg de magnésium (13 mg de  $MgO$ ).

L'équilibre entre les éléments dans la plante est donc : 10 N, 1  $P_2O_5$ , 22  $K_2O$ , 1,8  $MgO$ . Une formulation d'engrais répondant à ce besoin doit cependant être plus riche en azote qui est l'élément le plus facilement lixivie (12 ou 15 N).

Très fréquemment, si du sol naturel est employé, il est assaini par un chauffage ; la croissance des plants est améliorée sur un tel support assaini ; toutefois des toxicités en manganèse peuvent être observées si le sol est naturellement riche en Mn. En effet le chauffage détruit les bactéries oxydantes du manganèse et une quantité importante peut être absorbée par la plante. Par rapport à une culture sur le même sol non assaini le taux de manganèse peut être multiplié par 5 ou plus dans les bananiers.

#### PERSPECTIVES

La croissance des bananiers en culture *in vitro* peut être améliorée en exploitant leur potentiel autotrophique et en renouvelant périodiquement le milieu liquide (cf. «micropropagation *in vitro* du bananier» F.X. COTE *et al.*). En début de culture, au moins, la présence de sucre dans le milieu reste indispensable mais sa concentration pourrait être réduite en utilisant du fructose. L'étude de la cinétique de l'absorption des éléments minéraux, et en particulier des formes de l'azote, doit permettre une adaptation de la composition de ce milieu liquide aux besoins de la plante afin de mieux valoriser son potentiel de croissance.

En phase de sevrage et d'endurcissement l'emploi d'engrais à libération lente réduit le coût de la main-d'oeuvre et simplifie la conduite de la culture. Sa durée pourrait être éventuellement limitée en définissant avec précision les équilibres minéraux et les besoins des bananiers cultivés sur un substrat bien adapté à la croissance des racines très sensibles aux excès et défauts d'eau.