

Influence des sucres et de facteurs bioclimatiques sur la culture *in vitro* du bananier.

J. MARCHAL, Isabelle SENS et C. TEISSON*

INFLUENCE OF SUGARS AND BIOCLIMATIC FACTORS ON TISSUS CULTURE OF BANANA.

J. MARCHAL, Isabelle SENS and C. TEISSON.

Fruits, Jan.-Feb. 1992, vol. 47, n° 1, p. 17-24.

ABSTRACT - The type of sugar used in *in vitro* culture on agar medium affects development of banana plants. Fructose has a positive effect in comparison with sucrose. However, light energy plays an essential role by enhancing sugar uptake. The autotrophic potential which it initiates cannot be used in closed culture jars. Ethylene restricts growth.

Les techniques de culture *in vitro* sont maintenant couramment employées pour la multiplication des bananiers. Cependant, l'influence de la composition des milieux de culture a été relativement peu étudiée ; des améliorations pourraient probablement être obtenues en ajustant mieux ces milieux aux besoins de la plante.

Le saccharose est très généralement la source de carbone utilisée quelle que soit l'espèce cultivée *in vitro*. Au cours de la culture une hydrolyse de celui-ci en fructose et en glucose est constatée (OBATA-SASAMOTO et THORDE, 1983 ; CHO et KOMOR, 1985 ; BENDER *et al.*, 1987 ; SINGHA *et al.*, 1987 ; AMINO et TAZANA, 1988 ; MARCHAL *et al.*, 1988). Des études ont été entreprises, en phase de multiplication *in vitro*, sur l'influence de la nature du sucre chez quelques espèces : en particulier du fructose chez le châtaigner (CHAUVIN et SALESSES, 1988) et de plusieurs sucres, lactose, maltose, glucose, fructose, galactose, ... chez le bananier (GARCIA RODRIGUEZ *et al.*, 1987).

Les effets des différents hydrates de carbone sur l'em-

INFLUENCE DES SUCRES ET DE FACTEURS BIOCLIMATIQUES SUR LA CULTURE *IN VITRO* DU BANANIER.

J. MARCHAL, Isabelle SENS et C. TEISSON.

Fruits, Jan.-Feb. 1992, vol. 47, n° 1, p. 17-24

RESUME - La nature du sucre employé en culture *in vitro* sur milieu gélosé a une influence sur le développement du bananier. Le fructose a un effet positif comparé au saccharose. Toutefois l'énergie lumineuse a un rôle essentiel en stimulant l'absorption des sucres. Le potentiel autotrophique qu'elle initie ne peut être exploité en flacons de culture fermés. L'éthylène provoque une restriction de la croissance.

bryogénèse somatique ont été observés chez plusieurs espèces. Ainsi, chez les agrumes le saccharose est plus efficace à des concentrations relativement réduites ; le galactose et plus encore le lactose améliorent le développement des embryons (KOCHBA *et al.*, 1982) et le glycérol induit un fort taux de croissance (BEN HAYYIM et NEUMANN, 1983). Pour le cerisier le maltose serait la meilleure source de carbone (DRUART, 1990). Le nombre d'embryons est accru et la lyse des cellules est contrôlée chez le céleri par addition de mannitol au milieu (NADEL *et al.*, 1989).

Dans cette étude les effets du saccharose, du fructose et du glucose sont comparés durant la phase de croissance *in vitro* du bananier sous différentes conditions.

MATERIEL ET METHODES

Dans une suite d'essais, des bananiers Cavendish des cultivars 'Grande Naine', 'Petite Naine' ou 'Williams' issus de prolifération sont mis en croissance sur des milieux de composition variée selon les buts recherchés. La culture est réalisée sur milieu gélosé soit en tube contenant un seul plant, soit en flacon de 500 ml contenant 4 plants. Elle est

* - CIRAD - B.P. 5035 - 34032 MONTPELLIER Cedex 01

TABLEAU 1 - Protocoles des essais réalisés pour étudier l'influence des sucres et des conditions bioclimatiques sur la croissance de bananiers en culture *in vitro*.

N°	Objet de l'essai	Sucres introduits dans le milieu nature concentration (g/l)	Energie lumineuse	a) récipient de culture b) volume du milieu gélosé c) nombre de bananiers par récipient	Cultivar de bananier	Durée de la culture (jours)
1	Influence de la nature du sucre utilisé	1) saccharose 40 2) fructose 40 3) glucose 40 4) fructose 20 + glucose 20	$45 \mu\text{moles m}^{-2} \text{s}^{-1}$	a) tube (15 x 2,2 cm) b) 10 ml c) 1	Williams	30
2	Comparaison du fructose et saccharose à 3 concentrations	saccharose : 20, 40, 60 fructose : 20, 40, 60	$45 \mu\text{moles m}^{-2} \text{s}^{-1}$	a) tube b) 10 ml c) 1	Grande Naine	32
3	Influence du fructose ou du saccharose et des conditions bioclimatiques (énergie lumineuse aération)	saccharose 40 fructose 40	$45 \mu\text{moles m}^{-2} \text{s}^{-1}$ $340 \mu\text{moles m}^{-2} \text{s}^{-1}$	a) flacon de 500 ml b) 100 ml c) 4, en flacons étanches ou avec aération passive	Petite Naine	32

TABLEAU 2 - Protocoles d'essais réalisés pour étudier l'influence de l'agent gélifiant sous une énergie de $45 \mu\text{moles m}^{-2} \text{s}^{-1}$ en tubes contenant 10 ml de milieu et un bananier.

N°	Objet de l'essai	Agent gélifiant	Sucres introduits dans le milieu (g/l)	Cultivar de bananier	Durée de la culture (jours)
4	comparaison de deux agents gélifiants (5 g/l)	agar agar agar agar + charbon actif (200 mg/l) gelrite gelrite + charbon actif (200 mg/l)	saccharose 40	Grande Naine	32
5	influence de l'agent gélifiant et de la nature du sucre	agar agar + charbon actif (200 mg/l) gelrite + charbon actif (200 mg/l)	saccharose 40 fructose 40 fructose 20 + glucose 20	Petite Naine	32

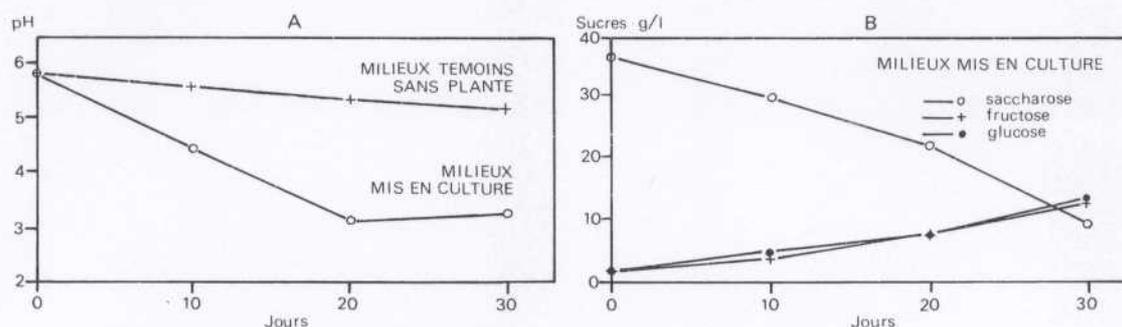


FIGURE 1 - Evolution du pH (A) et de la teneur en sucres (B) des milieux.

habituellement conduite durant environ un mois, à une température de $27 \pm 1^\circ\text{C}$, sous une faible énergie lumineuse ($45 \mu\text{moles m}^{-2} \text{s}^{-1}$) avec une photopériode de 12 h en récipient fermé. Le comportement des bananiers est étudié sous deux énergies (45 et $340 \mu\text{moles m}^{-2} \text{s}^{-1}$) et en conte-

neur de culture permettant ou non des échanges gazeux «passifs» avec l'atmosphère (adaptation d'un filtre de $0,2 \mu$).

Les protocoles sont résumés dans les tableaux 1 et 2.

Le milieu est constitué des macro et micro éléments de MURASHIGE et SKOOG (1962) ; différentes concentrations de saccharose, de fructose ou de glucose sont comparées (tableau 1) ainsi que l'influence de l'agent gélifiant (tableau 2).

Chaque traitement compte au moins 30 plants dont le poids est mesuré en début et en fin d'expérimentation. L'évolution du pH et de la concentration en sucres des milieux est suivie au cours de ces essais. Les quantités de sucres immobilisées dans les plants sont mesurées par HPLC. La composition de l'atmosphère des conteneurs de cultures (gaz carbonique, éthylène) est analysée par chromatographie en phase gazeuse.

Des récipients de culture témoins, contenant le milieu gélosé mais pas de vitro-plants, sont systématiquement introduits dans chaque essai et subissent les mêmes conditions que ceux contenant des bananiers.

RESULTATS - DISCUSSION

Acidification des milieux.

L'autoclavage du milieu provoque une diminution de son pH ; elle est plus intense s'il contient du fructose. Celui-ci se dégraderait plus ou moins, en fonction de la température et de la durée du traitement, en acides sacchariniques, lévuliniques et en 5-hydroxy-méthyl-2-furaldéhyde qui peuvent être toxiques (REDEI, 1974). Toutefois, en fin de culture des bananiers, les pH sont très voisins quel que soit le sucre introduit.

Le milieu témoin, sans plante, s'acidifie durant l'essai (figure 1). Cette acidification traduit une activité chimique qui serait fonction de la température, du pH initial, de la durée de stérilisation, de la composition en éléments minéraux (REDEI, 1974 ; SKIRVIN *et al.*, 1987).

La diminution du pH des milieux mis en culture est beaucoup plus intense durant les trois premières semaines puis une légère augmentation est constatée (figure 1 A). L'acidification serait due à une libération d'ions H^+ par les plantes en raison d'une absorption sélective des ions et en particulier de NH_4^+ (MENGEL et KIRBY, 1982). L'accroissement du pH en fin de culture serait lié en particulier à l'absorption des nitrates. Cette absorption différenciée de l'azote a été vérifiée pour des bananiers cultivés en milieu liquide (MARCHAL, 1990).

Hydrolyse du saccharose.

L'acidification et l'élévation de la température durant l'autoclavage provoquent une hydrolyse limitée du saccharose (environ 10 p. 100) en fructose et en glucose (figure 1 B). Celle-ci ne se poursuit pas dans les milieux témoins sans plante.

Durant la culture le taux de saccharose décroît progressivement. Il peut même avoir totalement disparu après un mois, sous l'effet combiné de l'hydrolyse et de l'absorption par les bananiers. Symétriquement les concentrations du fructose et du glucose s'accroissent ; leurs valeurs sont voisines (figure 1 B). La concentration molaire finale en

sucres totaux est toujours plus élevée qu'en début de culture ; parce que d'une part, les masses molaires du fructose et du glucose sont inférieures à celle du saccharose et d'autre part, le milieu s'appauvrit proportionnellement plus en eau qu'en sucres (évaporation et absorption de l'eau). La pression osmotique du milieu s'élève donc. Dans cette dégradation du saccharose l'acidification semble être seule en cause ; en effet, aucune activité d'invertases n'a pu être révélée. Une acidification, avec de l'acide, de milieux témoins permet d'observer les mêmes réactions.

Si du fructose ou du glucose ou un mélange de ces deux sucres sont introduits initialement, aucune dégradation n'est constatée. Celle-ci se produit à des pH plus acides ou à des températures élevées.

Influence de la nature et de la concentration du sucre introduit dans le milieu.

Sur des milieux contenant 40 g/l de sucre, la masse moyenne des plants obtenus après un mois est significativement plus faible avec le saccharose qu'avec le fructose seul ou associé au glucose (tableau 3). Ce dernier, utilisé seul, a une influence dépressive (essai n°1).

Une augmentation de la concentration de 20 à 40 et 60 g/l du saccharose ou du fructose provoque une élévation des teneurs en matière sèche et de la masse sèche moyenne des plants dont la hauteur décroît (tableau 4). Dans les conditions de l'essai n° 2 l'optimum de concentration paraît être voisin de 40 g/l pour le fructose et de 60 g/l pour le saccharose. Si la masse fraîche est considérée, les doses croissantes du fructose ont un effet dépressif et un maximum est obtenu avec le saccharose à 40 g/l.

La concentration molaire du milieu et donc sa pression osmotique, ont une probable influence sur l'absorption de l'eau. Toutefois, à la suite de l'hydrolyse du saccharose, cette concentration molaire s'accroît progressivement pour atteindre des valeurs voisines de celles du milieu ne contenant que du fructose (tableau 5). Des différences de comportement sont cependant mesurées ; aussi la pression osmotique n'est pas le seul facteur les provoquant, la nature du sucre a très certainement un rôle.

Les quantités de sucres disponibles ne sont pas limitantes : les milieux ne sont jamais épuisés. Si du saccharose a été fourni la concentration finale en sucres totaux augmente, excepté à la dose de 20 g/l ; la consommation d'eau (absorption, transpiration des plants et évaporation du milieu) serait plus importante que celles des sucres (tableau 5). La concentration du milieu avec fructose évolue en sens inverse comme si l'absorption de sucres était au moins égale voire supérieure à la consommation d'eau.

Dans les bananiers les teneurs en chacun des trois sucres identifiés et leur quantité totale s'élèvent avec la concentration de ceux-ci dans les milieux (tableau 6). L'apport de fructose seul se traduit par un accroissement de son niveau dans la plante au détriment du glucose. Les teneurs en saccharose sont relativement stables pour une dose totale identique de sucres indépendamment de leur nature.

La masse sèche moyenne d'un bananier est la plus forte (tableau 4) lorsque son contenu en fructose est le plus im-

TABLEAU 3 - Influence de la nature du sucre sur le poids moyen de bananiers, après un mois de culture *in vitro* sur un milieu contenant 40 g/l de sucre (essai 1).

	Poids de la matière	
	fraîche (g)	sèche (mg)
saccharose	1,46 (b)	79 (b)
fructose	1,75 (a)	102 (a)
glucose	1,36 (b, c)	76 (b)
fructose (50 p. 100)		
glucose (50 p. 100)	1,77 (a)	96 (a)

TABLEAU 4 - Influence des concentrations du saccharose ou du fructose dans le milieu sur la croissance des bananiers après un mois de culture *in vitro* (essai 2).

	Concentration		Poids de la matière		p. 100 MS	Hauteur du faux-tronc (en cm)
	g/l	millimoles/l	fraîche (g)	sèche (mg)		
saccharose	20	58,5	1,62 (c, d)	92 (c)	5,7	3,38 (b)
	40	117,0	1,99 (a,b,c,d)	118 (a,b)	5,9	3,18 (b,c)
	60	175,4	1,74 (b,c,d)	129 (a)	7,4	2,83 (c,d)
fructose	20	111,1	2,36 (a)	105 (b)	4,5	3,61 (a)
	40	221,2	2,21 (a,b)	128 (a)	5,8	3,15 (b, c)
	60	333,3	1,49 (d)	119 (a,b)	8,0	2,49 (d,e)

Dans une même colonne les valeurs suivies de la même lettre ne sont pas significativement différentes au seuil de 5 p. 100.

TABLEAU 5 - Teneurs résiduelles en sucres des milieux après un mois de culture en fonction de la nature des sucres et de leur concentration initiale (essai 2).

Traitements	g/l	Fructose		Glucose		Saccharose		Total	
		g/l	millimoles/l	g/l	millimoles/l	g/l	millimoles/l	g/l	millimoles/l
Saccharose	20	8,4	46,6	7,1	39,4	4,2	12,3	19,7	98,3
	40	19,7	109,4	16,8	93,3	8,9	26,0	44,7	228,7
	60	24,8	137,8	22,3	123,9	21,0	11,4	68,1	329,8
Fructose	20	15,1	83,8	0,0	0,0	0,0	0,0	15,1	83,8
	40	39,1	217,2	0,0	0,0	0,0	0,0	39,1	217,2
	60	55,4	307,8	0,0	0,0	0,0	0,0	55,4	307,8

TABLEAU 6 - Teneurs et contenus moyens en sucres d'un bananier après un mois de culture. Influence des doses et de la nature du sucre introduit dans le milieu (essai 2).

Traitements	g/l	Fructose		Glucose		Saccharose		Total mg
		p. 100 MS	mg	p. 100 MS	mg	p. 100 MS	mg	
Saccharose	20	4,13	3,8	4,67	4,3	3,70	3,4	11,5
	40	5,33	6,3	7,03	8,3	4,60	5,5	20,1
	60	7,83	10,1	11,00	14,2	6,35	8,2	32,5
Fructose	20	4,28	4,5	3,05	3,2	3,62	3,8	11,5
	40	9,84	12,6	6,33	8,1	5,08	6,5	27,2
	60	9,24	11,0	7,90	9,4	7,23	8,6	29,0

portant (tableau 6) indépendamment de la dose de fructose fournie. Les immobilisations en chacun des autres sucres augmentent avec les doses. L'absorption du fructose semble donc bien être le facteur de différenciation.

En culture *in vitro* du châtaignier, CHAUVIN et SALESSES (1988) considèrent que l'influence favorable du fructose est d'ordre métabolique plutôt qu'osmotique. Chez le bananier il semble que les deux facteurs se combinent. Si les sucres sont principalement absorbés sous forme d'hexoses, il est alors vraisemblable que l'hydrolyse du saccharose doit être suffisamment intense pour assurer une alimentation convenable en ceux-ci. Ce serait la raison des résultats voisins obtenus à des concentrations plus élevées en saccharose qu'en fructose.

Influence de la nature des sucres et des conditions bioclimatiques.

Les effets du fructose et du saccharose sont comparés sous deux énergies (45 et $340 \mu \text{ moles} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$) et dans des flacons hermétiquement fermés ou permettant des échanges passifs avec l'atmosphère extérieure (essai n° 3).

Avec l'énergie lumineuse la plus faible, habituellement

utilisée en culture *in vitro*, et en flacons étanches, du gaz carbonique s'accumule progressivement. Cette accumulation est due à l'activité respiratoire des plants. Après un mois de culture, les concentrations mesurées sont les plus importantes avec les bananiers les plus lourds, obtenus avec le fructose (tableau 7 et figure 2 A). Avec une aération passive la concentration en CO_2 , toujours en relation avec le poids des plants, est plus faible car ce gaz peut diffuser vers l'atmosphère extérieure. Pendant la phase diurne cette concentration évolue peu. La faiblesse de l'éclairage ne permet certainement pas une activité photosynthétique.

Avec l'énergie lumineuse la plus élevée une accumulation de CO_2 est mesurée dans tous les flacons en fin de phase nocturne. Elle est toujours plus importante avec les flacons contenant du fructose (figure 2 B). Elle correspond à l'activité respiratoire des plants durant la nuit. Puis la concentration en CO_2 décroît rapidement dans les premières heures de la phase d'éclairage et reste stable. Elle peut atteindre des valeurs inférieures à la concentration atmosphérique normale. Cette évolution indique que les bananiers ont, dans ces conditions, une capacité de photosynthèse. Mais celle-ci ne peut pas être effectivement rentabilisée par la plante dans les récipients étanches. En effet l'atmosphère n'est pas renouvelée. La plante ne peut con-

TABLEAU 7 - Influence des sucres sur la croissance des bananiers, après un mois de culture, en fonction des conditions bioclimatiques (2 niveaux d'énergie lumineuse - avec ou sans aération passive : essai 3).

Sucre 40 g/l	Energie lumineuse	Flacon de culture	Masse fraîche (g)	Masse sèche (mg)	p. 100 MS	Hauteur du faux-tronc (cm)
Saccharose	$45 \mu \text{ moles} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$	étanche	1,89 (e)	118 (e)	6,22	3,33 (b)
		échange passif	2,18 (d, e)	128 (e)	5,86	3,77 (a)
	$340 \mu \text{ moles} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$	étanche	3,87 (b)	238 (c)	6,16	2,88 (c)
		échange passif	4,02 (b)	257 (c)	6,40	3,59 (a, b)
Fructose	$45 \mu \text{ moles} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$	étanche	2,55 (c, d)	170 (d)	6,68	3,68 (a, b)
		échange passif	2,85 (c)	176 (d)	6,17	4,00 (a)
	$340 \mu \text{ moles} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$	étanche	4,08 (b)	302 (b)	7,39	2,80 (c)
		échange passif	5,19 (a)	373 (a)	7,18	3,63 (a, b)

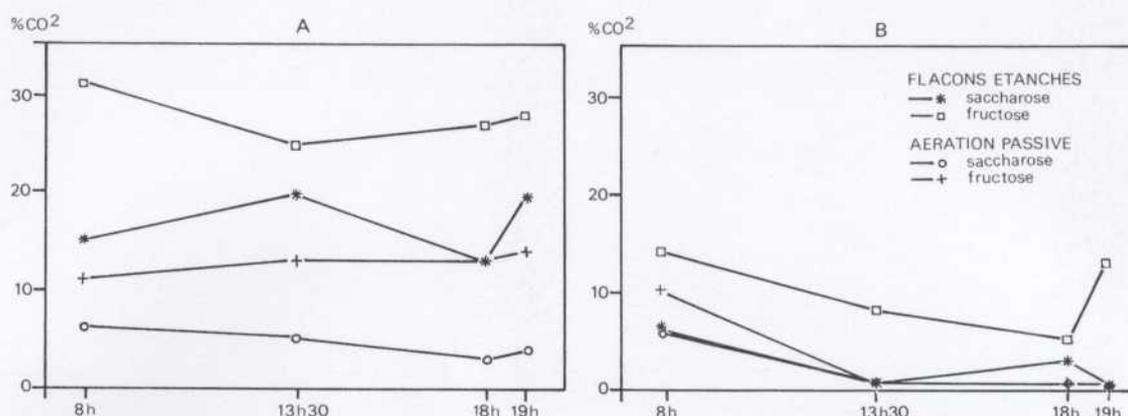


FIGURE 2 - Evolution de la composition en CO_2 de l'atmosphère des flacons de culture en phase diurne. Influence de la nature du sucre contenu dans le milieu, du mode de bouchage des flacons, de l'énergie lumineuse fournie (A : $45 \mu \text{ moles} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ - B : $340 \mu \text{ moles} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$).

sommer, en phase diurne, que le CO_2 d'origine respiratoire. NAVARRO-MASTACHE (1990), CÔTE *et al.* (1990) ont constaté que, sous forte énergie, les teneurs en chlorophylles des feuilles augmentent : le potentiel photosynthétique des plants est bien accru. Mais ils ont également observé que dans des flacons avec une aération passive, mais munis ou non d'une membrane imperméable au CO_2 , les mêmes accroissements de masse végétale sont obtenus. Ceux-ci ne sont donc pas dus à une utilisation photosynthétique du CO_2 atmosphérique, puisqu'avec la membrane il n'y a pas de renouvellement possible de celui-ci ; mais ils peuvent être la conséquence d'une diminution de la concentration de l'éthylène, car la membrane permet les échanges de ce gaz. En effet cette concentration décroît dans un rapport 1 à 30 avec l'aération passive.

Le poids des plants augmente significativement avec l'aération passive lorsqu'ils sont cultivés sous forte énergie et avec du fructose (tableau 7). Dans les autres cas il y a toujours amélioration mais non significative. La forte concentration en CO_2 , en flacons étanches, a donc un effet dépressif limité.

Par contre l'aération passive provoque toujours une augmentation significative de la taille des plants (tableau 7). Elle est probablement liée à la réduction de la concentration en éthylène. Celle-ci peut jouer sur l'allongement cellulaire et aussi le métabolisme des sucres. Les quantités de ceux-ci et aussi de l'amidon contenues dans les plants se réduisent avec l'aération et avec le saccharose, aux deux énergies, et avec le fructose uniquement au plus faible éclairage (tableau 8) malgré la légère augmentation de poids. Par contre sous $340 \mu \text{ moles m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ et avec le fructose, les immobilisations en sucres et le poids des plants s'élèvent très fortement.

L'augmentation d'énergie cause toujours, en flacons étanches ou non, un accroissement significatif de la masse des bananiers, une réduction de leur taille, une accumulation de sucres et d'amidon, d'où un appauvrissement des milieux (tableaux 7, 8, 9). Un fort éclairage stimule l'absorption des sucres et des réactions de croissance. Mais la capacité autotrophique des plants n'est pas exploitée à la suite du manque d'efficacité des échanges de CO_2 .

La structure anatomique des feuilles est plus évoluée avec le fructose. Elle se rapproche le plus de celle de feuilles de bananiers cultivés au champ. Elles sont alors plus larges

avec des faisceaux vasculaires mieux différenciés et des espaces aérifères importants. Le tissu palissadique est plus développé, particulièrement à la plus forte énergie. Avec cette dernière et quel que soit le sucre, les chloroplastes sont bien différenciés, de forme lenticulaire et disposés en périphérie des cellules. A une faible intensité ils sont plus gros et dispersés dans tout l'espace cellulaire.

Influence de l'agent gélifiant (essais n° 4 et 5).

La nature du produit gélifiant utilisé n'est pas indifférente. Une meilleure croissance des bananiers est observée avec la gelrite (composé de synthèse) comparée à l'agar-agar. Par ailleurs, il est constaté chez différentes espèces, une influence de la qualité de ce dernier (DEBERGH, 1983 ; VON ARNOLD et ERICKSSON, 1984 ; SINGHA *et al.*, 1985).

Un milieu témoin contenant de l'agar-agar libère des quantités importantes d'éthylène (tableau 10). Ces résultats sont en accord avec les observations de LOUBARESSE (1986), LEONHARDT et KANDELER (1987). Ces quantités augmentent avec la température et l'éclairage. La présence de charbon actif dans le milieu en absorbe une partie. Avec la gelrite seules des traces d'éthylène sont détectées (tableau 10). L'emploi de flacons avec une aération passive limite cette concentration à quelques fractions de $\mu\text{l.l}^{-1}$.

La culture de bananiers sur un milieu gélifié avec la gelrite comparée à l'agar-agar permet, indépendamment du sucre employé, d'améliorer significativement leur masse végétale (tableaux 11 et 12). Mais l'addition de charbon actif a une influence dépressive. Cet effet positif de la gelrite s'additionne à celui du fructose quand il est utilisé. Avec l'agar-agar, après un mois de culture, la concentration de l'éthylène dans l'atmosphère de conteneurs étanches est également indépendante du sucre. Elle peut dépasser $10 \mu\text{l.l}^{-1}$. Une partie du gaz a été émise par la plante. Cette accumulation d'éthylène peut avoir des effets sur les réactions métaboliques et morphogénétiques. Il est probable que l'émission importante de l'éthylène par l'agar-agar favorise sa synthèse autocatalytique par les bananiers et accentue ainsi sa concentration dans l'atmosphère.

TABLEAU 8 - Quantités de sucres et d'amidon contenues dans un vitroplant de bananier, après 1 mois de culture en fonction de la nature du sucre employé et des conditions bioclimatiques (essai 3).

Sucre 40 g/l	Energie lumineuse	Flacon de culture	Fructose mg	Glucose mg	Saccharose mg	Sucres totaux mg	Amidon mg
Saccharose	$45 \mu \text{ moles m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$	étanche	3,4	5,0	3,8	12,2	1,9
		échange passif	3,1	4,9	3,4	11,4	1,7
	$340 \mu \text{ moles m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$	étanche	7,2	11,7	6,5	25,4	7,0
		échange passif	5,4	8,5	9,2	23,1	4,1
Fructose	$45 \mu \text{ moles m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$	étanche	9,2	10,1	6,9	26,2	4,1
		échange passif	7,7	7,0	4,8	19,5	3,7
	$340 \mu \text{ moles m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$	étanche	11,9	12,6	8,2	32,7	29,0
		échange passif	13,5	19,8	17,5	50,8	21,3

TABLEAU 9 - Teneurs résiduelles en sucres des milieux en fin de culture en fonction de la nature du sucre introduit dans le milieu et des conditions bioclimatiques (essai 3).

Résultats exprimés en g.l⁻¹

Sucre 40 g/l	Energie lumineuse	Flacon de culture	Fructose	Glucose	Saccharose	Sucres totaux
Saccharose	45 μ moles m ⁻² .s ⁻¹	étanche	8,0	9,2	14,7	31,9
		échange passif	9,7	11,8	8,8	30,3
	340 μ moles m ⁻² .s ⁻¹	étanche	7,6	8,8	11,8	28,2
		échange passif	9,7	10,5	7,1	27,3
Fructose	45 μ moles m ⁻² .s ⁻¹	étanche	26,5	0,0	0,0	26,5
		échange passif	28,1	0,0	0,0	28,1
	340 μ moles m ⁻² .s ⁻¹	étanche	21,8	0,0	0,0	21,8
		échange passif	17,2	0,0	0,0	17,2

TABLEAU 10 - Evolution de la concentration de l'éthylène, (en μ l.l⁻¹) dans l'atmosphère d'un flacon témoin de 500 ml, contenant 100 ml de milieu gélosé et placé sous une énergie de 45 μ moles m⁻² .s⁻¹. Influence de l'agent gélifiant (essai 4).

Jours après la mise en place	1	14	30
Agar-agar	1.20	3.20	4.50
Gelrite	0.10	0.09	0.10

TABLEAU 11 - Influence comparée de l'agar-agar et de la gelrite sur la croissance des bananiers après un mois de culture sur un milieu contenant 40 g/l de saccharose (essai 4).

	Poids de la matière		p. 100 M.S.	Hauteur (cm)
	fraîche (g)	sèche (mg)		
Agar-agar	2.20 b	130 b	5.9 b	3.22 b
Agar-agar + charbon actif	2.14 b	137 b	6.4 a	3.19 b
Gelrite	2.28 a	151 a	6.1 a b	3.67 a
Gelrite + charbon actif	2.12 b	136 b	6.4 a	3.52 a b

TABLEAU 12 - Influence de l'agent gélifiant et de la nature des sucres sur la croissance de bananiers après un mois de culture (essai 5).

Agent gélifiant	Sucres 40 g/l	Poids de la matière		p. 100 M.S.	Hauteur (cm)
		fraîche (g)	sèche (mg)		
Agar-agar	saccharose	2.96 b	157 c	5.7 b c	4.21 b
	fructose	3.14 b	184 b c	6.4 a	4.77 a
	fructose + glucose	3.29 b	178 b c	5.6 b c	4.91 a
Gelrite	saccharose	3.17 b	196 a b	6.4 a	4.70 a
	fructose	3.59 a	210 a b	6.0 a b	4.77 a
	fructose + glucose	3.69 a	226 a	6.2 a	5.00 a

CONCLUSION

Les principaux facteurs limitants la croissance des bananiers en culture *in vitro* sur milieu gélosé semblent être d'ordre bioclimatique dans les conditions de ces essais. L'énergie lumineuse a un rôle essentiel ; cependant le po-

tentiel autotrophique qu'elle initie ne peut être exploité mais elle stimule l'absorption des sucres. Même à des concentrations élevées le gaz carbonique n'a pas d'effet dépressif marqué. Les travaux de NAVARRO-MASTACHE (1990) ont même montré qu'un enrichissement est favorable sous certaines conditions. A l'opposé l'accumulation

de l'éthylène produit par les plants ou dégagé par le milieu de culture provoque une restriction de la croissance. Le fructose a un effet positif mais moindre que les facteurs bioclimatiques. L'augmentation de l'énergie lumineuse, l'élimination de l'éthylène et l'emploi de fructose permettent d'améliorer la croissance des vitro-plants de bananiers dans le même délai de un mois ou d'obtenir une croissance identique en un temps plus court. Mais dans ce dernier cas il faut s'assurer que leur comportement ultérieur est au moins semblable.

Ces résultats offrent ainsi des perspectives d'évolution des pratiques de culture *in vitro* pour mieux exploiter les potentialités de la plante. Toutefois il faut vérifier que ces effets positifs, en culture *in vitro*, se prolongent lorsque les bananiers sont transférés au champ et ont un intérêt agronomique. Les contraintes économiques de production doivent également être considérées ; ainsi le coût du fructose dépasse largement celui du saccharose.

BIBLIOGRAPHIE

- AMINO (S.) and TAZANA (M.). 1988.
Uptake and utilization of sugars in cultured rice cells.
Plant Cell. Physiol., 29 (3), 483-487.
- BENDER (L.), PAULER (B.) and NEUMANN (K.H.). 1987.
On carbohydrate metabolism of cultured carrot root explants.
Plant Cell. Tissue and Organ. culture, 8, 135-146.
- BEN-HAYYIM (G.) and NEUMANN (H.). 1983.
Stimulatory effect of glycerol on growth and somatic embryogenesis in Citrus callus cultures.
Z. Pflanzenphysiol., 110, 331-337.
- CHAUVIN (J.E.) et SALESSES (G.). 1988.
Effet du fructose sur la micropropagation du châtaigner *Castanea* sp.
C.R. Acad. Sci. Paris, tome 306, série III, 207-212.
- CHO (B.) and KOMOR (E.). 1985.
Comparison of suspension cells and cotyledons of *Ricinus* with respect to sugar uptake.
J. Plant Physiol., 118, 381-390.
- COTE (F.), ALVARD (D.), DOMERGUE (R.), NAVARRO-MASTACHE (L.) et TEISSON (C.). 1990.
Micropropagation *in vitro* du bananier.
Fruits, Numéro spécial Bananes, 112-118.
- DEBERGH (P.C.). 1983.
Effects of agar brand and concentration on the tissue culture medium.
Physiol. Plant., 59, 270-276.
- DRUART (Ph.). 1990.
Improvement of somatic embryogenesis of the cherry dwarf rootstock Inmil/GM9 by the use of different carbon sources.
In vitro culture and horticultural breeding.
Acta Horticulturae, 280, 125-129.
- GARCIA RODRIGUEZ (A.), LORENZO MARTIN (J.R.) and RODRIGUEZ ENRIQUEZ (M.J.). 1987.
In vitro propagation of Canary Islands Banana (*Musa acuminata* Colla AAA var. Dwarf Cavensidh). Studies of factors affecting culture obtention, preservation and conformity of the plants.
Acta Horticulturae, 212, 577-583.
- KOCHBA (J.), SPIEGEL-ROY (P.), NEUMANN (H.) and SAAD (S.). 1982.
Effect of carbohydrates on somatic embryogenesis in subcultured nucellar callus on Citrus cultivars.
Z. Pflanzenphysiol., 105, 359-368.
- LEONHARDT (W.) and KANDELER (R.). 1987.
Ethylene accumulation in culture vessels. A reason for vitrification ?
Acta Horticulturae, 212, 223-229.
- LOUBARESSE (M.). 1986.
Action d'effecteurs du métabolisme de l'éthylène sur la morphogénèse florale *in vitro* de couches cellulaires minces de tabac.
DEA, Paris 6.
- MARCHAL (J.). 1990.
Physiologie de la nutrition des bananiers en culture *in vitro* et en phase d'endurcissement.
Fruits, Numéro spécial Bananes, 123-126.
- MARCHAL (J.), TEISSON (C.), ESCALANT (J.V.) et NAVARRO-MASTACHE (L.). 1987.
Echanges d'éléments minéraux et carbonés en culture *in vitro* : cas du bananier.
Fruits, 43 (9), 485-490.
- MENGEL (K.) and KIRKBY (E.A.). 1982.
Principles of plant nutrition.
International Potash Institute 3rd Edition, 665 p.
- MURASHIGE (T.) and SKOOG (F.). 1962.
A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures.
Physiol. Plant., 47, 207-214.
- NADEL (B.L.), ALTMAN (A.) and ZIV (M.). 1989.
Regulation of somatic embryogenesis in celery cell suspension. I. Promoting effects of mannitol on somatic embryo development.
Plant Cell. Tissue and Organ. culture, 18, 181-189.
- NAVARRO-MASTACHE (L.). 1990.
Effet de l'intensité lumineuse, de l'aération et de l'enrichissement en CO₂, 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 Institut National Polytechnique, Toulouse, 137 p.
- OBATA-SASAMOTO (H.) and THORPE (T.A.). 1983.
Cell wall invertase activity in cultured tobacco tissues.
Plant Cell Tissue and Organ. Culture, 2, 3-9.
- REDEI (G.P.). 1974.
Fructose effect in higher plants.
Ann. Bot., 38, 287-297.
- SINGHA (S.), TOWNSEND (E.C.) and OBERLY (G.H.). 1985.
Mineral nutrient status of crabapple and pear shoots cultured *in vitro* on varying concentrations of three commercial agars.
J. Amer. Soc. Hort. Sci., 110 (3), 407-411.
- SINGHA (S.), OBERLY (G.H.) and TOWNSEND (E.C.). 1987.
Changes in nutrient composition and pH of the culture medium during *in vitro* shoot proliferation of crabapple and pear.
Plant Cell. Tissue and Organ. Culture, 11, 209-220.
- SKIRVIN (R.M.), CHU (M.C.), MANN (M.L.), YOUNG (H.), SULLIVAN (J.) and FERMANIAN (T.). 1986.
Stability of tissue culture medium pH as a function of autoclaving, time and culture plant material.
Plant Cell. Reports, 5, 292-294.
- VON ARNOLD (S.) and ERIKSSON (T.). 1984.
Effect of agar concentration on growth and anatomy of adventitious shoots of *Picea abies* (L.) Karst.
Plant Cell. Tissue Organ. and Culture, 3, 257-264.

Reçu en septembre 1991
Accepté en décembre 1991

INFLUENCIA DE LOS AZUCARES Y DE FACTORES
BIOCLIMATICOS SOBRE EL CULTIVO *IN VITRO* DEL BANANO.

J. MARCHAL, Isabelle SENS y C. TEISSON.
Fruits, Jan.-Feb. 1992, vol. 47, n° 1, p. 17-24.

RESUMEN - La naturaleza del azúcar utilizada en cultivo *in vitro*

sobre medio de gelosa tiene una influencia sobre el desarrollo de la planta. La fructosa presenta un efecto positivo comparado con la sacarosa. Sin embargo, la energía luminosa tiene un rol esencial estimulando la absorción de los azúcares. El potencial auto-trópico que ella inicia no puede ser explotado en frascos de cultivo cerrados. El etileno provoca una restricción del crecimiento.