

Croissance *in vitro* des bananiers : influence de la concentration en saccharose du milieu de culture sur le développement des plants du cultivar Petite naine

M. FOLLIOT* et J. MARCHAL*

In vitro Growth of Bananas : Influence of sucrose concentration of the culture medium on the development of cv. Petite Naine.

M. FOLLIOT et J. MARCHAL

Fruits, vol. 47, n°6, p. 649-655.

SUMMARY - Accumulation of dry material of banana plants during *in vitro* growth appears to be linked to the quantity of sucrose available in the culture medium. The optimal sucrose concentration to be used during this stage ranges between 70 and 80 g/l. The use of a higher dose has an adverse effect on the quality of the plant obtained.

Croissance *in vitro* des bananiers : influence de la concentration en saccharose du milieu de culture sur les plants de bananiers (cv. Petite naine).

M. FOLLIOT et J. MARCHAL

Fruits, vol 47, n°6, p. 649-655.

RESUME - L'accumulation de matière sèche des plants de bananiers pendant la phase de croissance *in vitro* apparaît liée à la quantité de saccharose mise à leur disposition dans le milieu de culture. La concentration optimale de saccharose à utiliser pendant cette phase se situe entre 70 et 80 g/l. Le choix d'une dose plus forte a un effet défavorable sur la qualité des plants obtenus.

KEYWORDS : *Musa acuminata*, micropropagation, *in vitro* culture, culture media, plant nutrition, sucrose, growth, weaning.

MOTS-CLES : *Musa acuminata*, micropropagation, culture *in vitro*, milieu de culture, nutrition des plantes, saccharose, croissance, sevrage.

Introduction

Une étude de la consommation de la source carbonée, et des principaux éléments minéraux entrant dans la composition du milieu de culture de vitroplants de bananiers, a montré qu'une concentration accrue en saccharose de ce milieu (80 g/l au lieu de 40 g/l) améliorerait la croissance des plants (FOLLIOT et MARCHAL, 1992).

La suite de ces recherches a eu pour objectif de préciser la dose optimale de saccharose à employer pendant la phase de croissance *in vitro* pour obtenir des plants plus performants et plus aptes à s'adapter aux conditions difficiles de la culture en phase de sevrage. Le comportement de ces plants, après installation en serre, a pu être étudié.

Matériel et méthodes

Le dispositif expérimental des plants placés en phase de croissance a été modifié pour exploiter les résultats antérieurs :

- les bananiers ont été individualisés dès la fin de la phase de prolifération et non plus conservés en touffes de 3 à 5 plants ;
- la densité des bananiers dans chacune des boîtes Sercobox a été réduite de 100 à 70 plants : une amélioration de la croissance des plants avait été constatée après 24 jours de culture ; dans ces conditions, chaque plant dispose d'une quantité plus importante de solution nutritive, et donc de saccharose ; il bénéficie également de plus d'espace ; l'atmosphère des boîtes y est moins confinée ;

- 1400 plants fournis par la société VITROPIC** (cultivar Petite naine) ont été répartis en 20 boîtes de 70 plants, puis installés dans les salles du laboratoire de culture *in vitro* du CIRAD ;

* CIRAD-FLHOR, laboratoire de physiologie, BP 5035, 34032 Montpellier Cedex 1.

** VITROPIC : Laboratoire de production de vitroplants de fruitiers tropicaux. Adresse : Zone d'activité économique des Avants, 34270 St.-Mathieu-de-Trévières, France.

• les conditions d'élevage ont été strictement identiques à celles préconisées par la société VITROPIC :

- température de $27^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$,
- humidité relative jour 80 % / nuit 90 %,
- lumière $40 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, 12 h / jour ;

• mise à part la concentration en saccharose et l'enrichissement en phosphore (de 40 à 80 mg/l), la composition des milieux de croissance est restée celle du milieu habituellement utilisé (MURASHIGE et SKOOG, 1962) ;

• 4 traitements ont été réalisés : dans chaque boîte, les 200 ml de milieu de base ont été enrichis par 40 g/l (correspondant aux conditions standards de culture), 70 g/l, 100 g/l ou 130 g/l de saccharose ;

• chaque traitement a été répété 5 fois (5 boîtes Sercobox contenant $5 \times 70 = 350$ plants).

Après 24 jours (durée normale de la phase de croissance *in vitro*), les plants ont été pesés individuellement.

Après une randomisation effectuée en fin de phase de croissance, la moitié des plants a été mise en phase de sevrage par transfert, après suppression des racines, dans des conteneurs de 21 mis en serre. Le substrat utilisé était un mélange de 1/3 de tourbe et de 2/3 de terreau ; de la pouzzolane (10 % en volume) a été incorporée au mélange pour en améliorer le drainage, de même 8 g d'engrais à libération lente (Osmocote plus 10-11-18-2) par conteneur y ont été ajoutés.

La seconde moitié des plants a été utilisée pour déterminer les masses de matière fraîche et sèche et analyser la composition minérale.

Le volume et les concentrations en minéraux et en sucres du milieu résiduel ont aussi été mesurés.

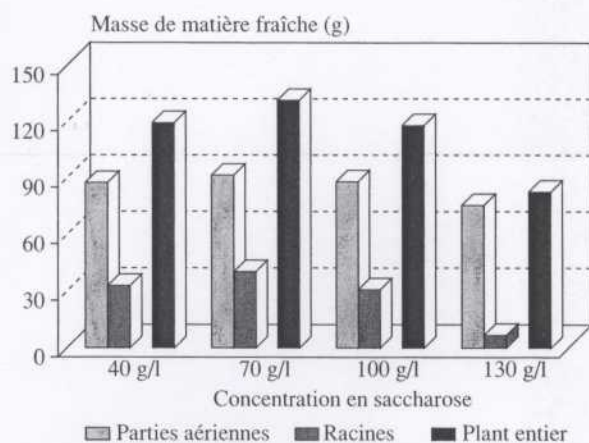


Figure 1. Masse de matière fraîche accumulée après 24 jours de culture par les bananiers (70 plants) en fonction de la concentration en saccharose des milieux de culture utilisés pour chacun des 4 traitements.

Résultats et discussion

Masses de matière fraîche et de matière sèche

En fin de phase de croissance les masses de matière fraîche des plants issus des 3 premiers traitements (40, 70 et 100 g/l de saccharose) sont pratiquement identiques. Celles des plants du 4^e traitement (130 g/l) est en revanche sensiblement plus faible principalement en raison d'une masse réduite de racines (figure 1).

La répartition entre parties aériennes et racinaires est très différente pour les 4 populations de bananiers obtenues. Avec les 2 concentrations les plus élevées en saccharose (100 et 130 g/l) aucune émission de racines n'est observée pendant les 15 premiers jours de la phase de croissance. L'aspect morphologique des plants diffère également selon les traitements :

- avec les traitements 1 et 2 le pseudotrunc des bananiers est allongé et grêle, les entre-nœuds sont espacés et les feuilles sont bien différenciées ;
- la hauteur des plants du traitement 3 est plus faible et le diamètre de leur pseudotrunc plus important ;
- les plants du traitement 4 sont petits, trapus et leur surface foliaire réduite ; les feuilles ont un aspect fortement chlorosé.

Par ailleurs, les teneurs en matière sèche des plants entiers et celles des parties aériennes des bananiers augmentent sensiblement avec la concentration du milieu en saccharose (tableau 1 et figure 2).

Cette accumulation de matière sèche, permet de sevrer des plants de masse fraîche plus réduite (FOLLIOU et MARCHAL, 1992) et donc de diminuer éventuellement la durée de la phase de croissance *in vitro*.

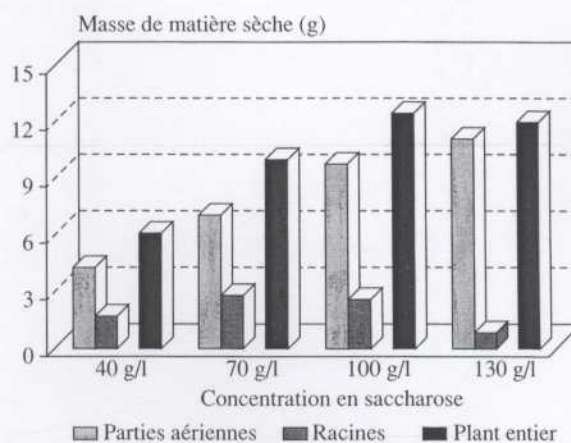


Figure 2. Masse de matière sèche accumulée après 24 jours de culture par les bananiers (70 plants) en fonction de la concentration en saccharose des milieux de culture utilisés pour chacun des 4 traitements.

En étudiant l'effet de la concentration du gaz carbonique et de l'éthylène sur la croissance des plants en atmosphère confinée, NAVARRO (1990) a montré que la capacité d'assimilation du gaz carbonique des nouvelles feuilles émises *in vivo* est supérieure à celle des feuilles émises *in vitro* : l'installation précoce des plants en phase d'acclimatation (rendue possible par une amélioration de l'accumulation de matière sèche pendant la phase de croissance) permettrait donc aux bananiers d'être plus rapidement autotrophes.

Ainsi la quantité de matière végétale anhydre des organes aériens s'accroît et leur teneur en eau diminue lorsque la concentration en sucres des milieux est augmentée. En fait ce sont ces fortes concentrations en sucres qui pourraient induire les pertes d'eau qui migrerait de la plante vers le milieu de culture par effet osmotique. Ces pertes, accompagnées d'un excès probable des sucres accumulés dans les tissus, ont des conséquences néfastes sur les plants des traitements ayant les 2 plus fortes concentrations en saccharose : jaunissement des tissus pouvant aller jusqu'à la nécrose et, avec 130 g/l de saccharose, ralentissement de la croissance.

Nutrition carbonée

A la fin de l'expérimentation *in vitro*, la concentration en sucres des milieux représente respectivement 1, 7, 16 et 37 % de celle d'origine. Le volume de solution non consommée (respectivement 70, 69, 87 et 123 ml) est d'autant plus important que la concentration en glucides est forte. Les quantités de sucres absorbés par les bananiers augmentent du 1^{er} au 3^e traitement et se stabilisent avec le 4^e (figure 3). L'évolution de la masse de matière sèche synthétisée est comparable.

La capacité d'absorption des sucres par les vitroplants paraît donc croître avec leur concentration dans le milieu de culture, jusqu'à atteindre un seuil qui serait voisin de 100 g/l dans les conditions de cet essai.

Dans le milieu, l'hydrolyse du saccharose en glucose et fructose (MARCHAL *et al.*, 1992) est confirmée. Elle est proba-

blement liée à son acidification au cours des premiers jours de culture ; 4,3 g/l de saccharose subsistent dans le milieu du traitement 4 (130 g/l) après 24 jours de culture. Il n'est pas possible de déterminer quels sucres sont absorbés préférentiellement par le bananier lorsque saccharose, glucose et fructose sont présents simultanément ; toutefois, quel que soit le traitement, la consommation du glucose semble être plus importante que celle du fructose, dont la concentration dans le milieu résiduel est un peu supérieure (figure 4).

Nutrition minérale

Exprimées par rapport à la matière fraîche, les teneurs en matière sèche et en éléments N, P et K augmentent, avec l'alimentation en glucides, dans les parties aériennes et les racines, principalement de la dose 100 à la dose 130 g/l de saccharose (tableaux 1a et 1b). Par manque de référence, il n'est pas possible de savoir si les concentrations mesurées dans les bananiers du 4^e traitement sont excessives ou non et entraînent ou non l'apparition des nécroses.

Les quantités d'éléments immobilisés dans les parties aériennes (tableau 2a) à l'issue de la phase de croissance sont assez peu influencées par les traitements ; seuls N et P augmentent avec la dose de saccharose introduite dans le milieu de culture initial. Dans la partie racinaire (tableau 2b), le contenu en éléments minéraux est maximum lorsque la masse des racines est la plus importante (traitement 2), et le plus faible dans le cas inverse (traitement 4).

Tous les éléments disponibles n'ont pas été épuisés à l'exception de l'azote ammoniacal. Les éléments ne sont pas absorbés dans les mêmes proportions : les bananiers semblent donc avoir un comportement sélectif. Les résultats obtenus antérieurement (avec 100 bananiers par boîte contenant 200 ml de solution à la concentration de 40 g/l de saccharose) conduisaient à penser que tous les éléments minéraux mis à la disposition des plants dans la solution étaient consommés. En fait dans ces conditions expérimentales particulières la quantité d'éléments disponibles devait être au mieux juste suffisante.

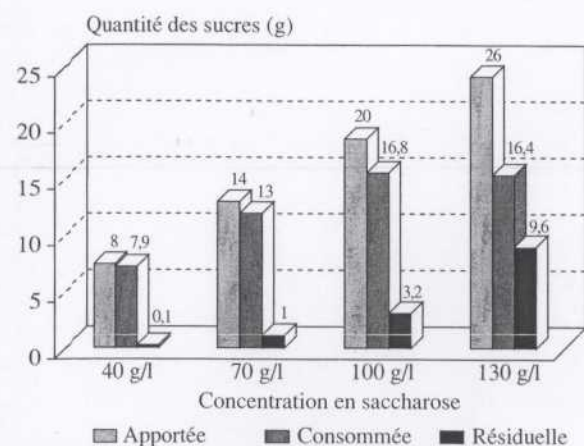


Figure 3. Comparaison des quantités de sucres apportées dans le milieu de culture au début de la phase de croissance, puis consommées par les bananiers pendant cette phase, enfin retrouvées dans le milieu à la fin de cette phase.

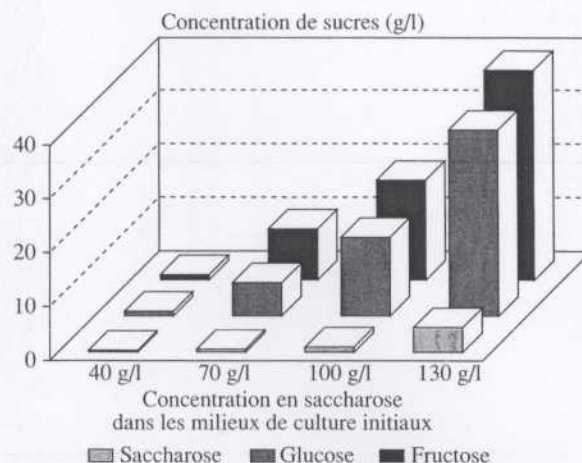


Figure 4. Concentration en saccharose, glucose et fructose des milieux résiduels en fin de culture *in vitro*, en fonction de la concentration en saccharose des milieux de culture utilisés pour chacun des 4 traitements.

Tableau 1a. Teneur en matière sèche (MS) et en éléments minéraux (exprimés en % de matière fraîche) des parties aériennes des bananiers à la fin de la phase de croissance <i>in vitro</i> .							
N° du traitement	Concentration en saccharose	MS	N	P	K	Ca	Mg
1	40 g/l	5,4	0,27	0,027	0,24	0,036	0,011
2	70 g/l	8,4	0,28	0,028	0,25	0,041	0,013
3	100 g/l	12,2	0,31	0,031	0,28	0,047	0,013
4	130 g/l	15,9	0,38	0,041	0,32	0,037	0,014

Tableau 1b. Teneur en matière sèche (MS) et en éléments minéraux (exprimés en % de matière fraîche) des racines de bananiers à la fin de la phase de croissance <i>in vitro</i> .							
N° du traitement	Concentration en saccharose	MS	N	P	K	Ca	Mg
1	40 g/l	6,1	0,16	0,017	0,18	0,011	0,006
2	70 g/l	7,9	0,19	0,020	0,19	0,010	0,006
3	100 g/l	9,6	0,24	0,023	0,24	0,012	0,007
4	130 g/l	14,6	0,39	0,042	0,33	0,016	0,012

Tableau 2a. Eléments minéraux contenus dans les parties aériennes de 70 vitroplants de bananiers cultivés dans une même boîte Sercobox, à l'issue de 24 jours de culture. (MF : matière fraîche ; MS : matière sèche).								
N° du traitement	Concentration en saccharose	MF (g)	MS (g)	N (mg)	P (mg)	K (mg)	Ca (mg)	Mg (mg)
1	40 g/l	87,5	4,7	231	23	211	32	10
2	70 g/l	92,0	7,7	253	26	227	37	12
3	100 g/l	88,3	10,6	267	27	241	41	12
4	130 g/l	76,0	12,0	284	31	239	28	10

Tableau 2b. Eléments minéraux contenus dans les racines de 70 vitroplants de bananiers cultivés dans une même boîte Sercobox, à l'issue de 24 jours de culture. (MF : matière fraîche ; MS : matière sèche).								
N° du traitement	Concentration en saccharose	MF (g)	MS (g)	N (mg)	P (mg)	K (mg)	Ca (mg)	Mg (mg)
1	40 g/l	32,8	2,0	54	6	60	4	2
2	70 g/l	40,3	3,1	76	8	77	4	2
3	100 g/l	30,6	2,9	71	7	71	4	2
4	130 g/l	6,3	0,9	24	3	21	1	1

Développement pendant la phase d'acclimatation

En l'absence d'autres facteurs limitants, la reprise des plants en phase de sevrage *in vivo* se produit sans difficultés si leur masse de matière fraîche dépasse 0,75 g. Si ce seul critère de poids est considéré, 85 % des plants du 1^{er} traitement, 88 % du 2^e, 80 % du 3^e et 74 % du 4^e pourrait être sevrés avec succès (figure 5).

Mais le jaunissement et la nécrose des feuilles, en fin de phase de croissance *in vitro*, réduisent la capacité photosynthétique des plants des traitements 3 et 4 par rapport à celle obtenue avec un milieu à 40 ou 70 g/l de saccharose. Ces troubles physiologiques laisseraient présager une reprise plus difficile au début de la phase de sevrage.

Cette hypothèse a été vérifiée en estimant la vigueur des plants par la mesure de leur masse de matière fraîche, 1 mois après leur transfert en phase d'acclimatation : le retard de croissance enregistré pour la population du traitement 4 à la fin de la culture *in vitro* se maintient à l'issue de cette période

de sevrage. Le taux d'accroissement des parties aériennes durant cette phase est cependant voisin pour les 4 traitements (tableau 3).

Les symptômes observés *in vitro*, jaunissement (traitement 3) et nécroses (traitement 4), s'estompent au fur et à mesure de l'apparition des nouvelles feuilles.

Dans la mesure où la totalité des racines sont supprimées avant la mise en place des bananiers pour le sevrage, il peut être constaté que la capacité d'émettre des racines pour les bananiers du traitement 4 est, 1 mois après le sevrage, presque identique à celle des autres traitements (tableau 4) ; la proportion de la masse des racines par rapport à la masse du plant entier pour ces bananiers est cependant légèrement inférieure dans le cas de ce traitement 4. Pour les traitements 1, 2 et 3 cette proportion est d'ailleurs plus élevée en culture *in vitro* qu'après sevrage. Pour le traitement 4, un effet compensatoire semble se révéler aux deux stades : avec une quantité de racines plus faible la masse aérienne est proportionnellement la plus forte. L'activité des racines, quantitativement moins importantes, est alors très certainement accrue.

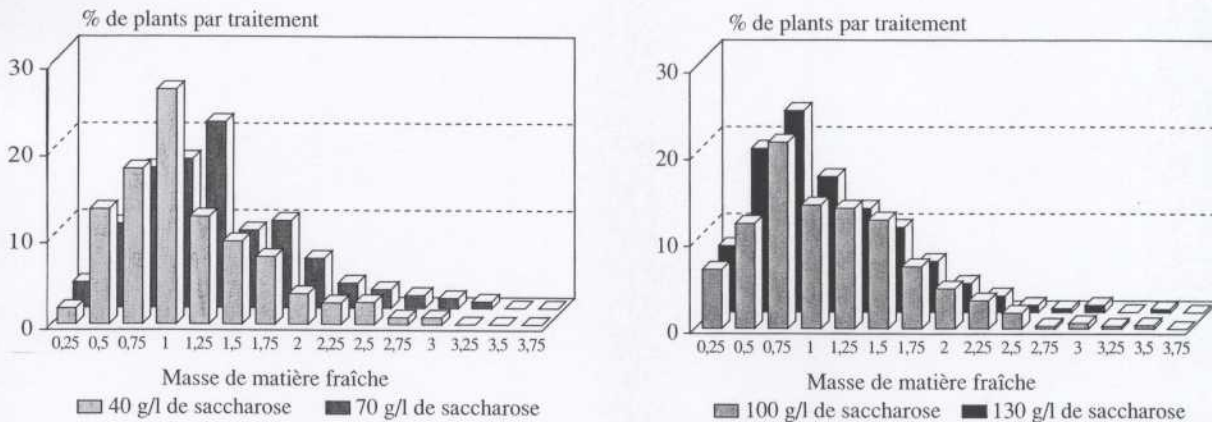


Figure 5. Répartition des plants en fonction de leur masse de matière fraîche mesurée à la fin de la phase de croissance, pour chacune des concentrations en saccharose des milieux de culture utilisés dans les 4 traitements. La densité des plants mis en culture est de 70 bananiers par boîte Sercobox.

Tableau 3. Masse de matière fraîche (g) de 70 plants de bananiers à la fin de la phase *in vitro* et après 1 mois de phase de sevrage *in vivo*, en fonction de la concentration en saccharose du milieu de culture utilisé pour la phase de croissance.

N° de traitement	Concentration en saccharose	Fin de phase de croissance			Après 1 mois d'acclimatation			Taux d'accroissement des parties aériennes entre les 2 stades en %
		parties aériennes	racines	masse totale	parties aériennes	racines	masse totale	
1	40 g/l	87,5	32,8	120,3	191,5	40,2	231,7	118,9
2	70 g/l	92,0	40,3	132,3	209,6	41,7	251,3	127,8
3	100 g/l	88,3	30,6	118,9	187,8	34,9	222,7	112,7
4	130 g/l	76,0	6,3	82,3	168,5	29,4	197,9	121,7

Tableau 4. Développement des plants pendant la phase d'acclimatation en fonction des différentes concentrations en saccharose qui ont été utilisées pendant leur phase de croissance : les rapports entre le poids des racines et le poids du plant entier d'une part et le poids des parties aériennes et le poids des racines d'autre part sont présentés pour les des 2 stades "fin de phase de croissance" et "plant après 1 mois de sevrage".

N° de traitement	Concentration en saccharose	Fin de culture <i>in vitro</i>		Après 1 mois de sevrage	
		racines / plant entier	parties / racines aériennes	racines / plant entier	parties / racines aériennes
1	40 g/l	0,27	2,7	0,17	4,8
2	70 g/l	0,31	2,3	0,17	5,0
3	100 g/l	0,26	2,9	0,16	5,4
4	130 g/l	0,08	12,1	0,15	5,7

Conclusion

Pendant la phase de croissance *in vitro* la totalité du carbone fixé a pour origine le saccharose du milieu de culture. Bien que les plants soient potentiellement capables de fixer le gaz carbonique, leur croissance est néanmoins acquise en hétérotrophie. Le saccharose, introduit en quantité trop importante dans le milieu de culture, a un rôle défavorable sur la croissance des plants. Les gains de matière sèche apparemment importants, obtenus dans le cas des 2 milieux les plus riches en sucre, sont à relativiser. En effet, même si ces plants peuvent être sevrés, les populations de bananiers qui en résultent ne sont pas satisfaisantes au point de vue physiologique et les plants à la fin de la phase de croissance sont très hétérogènes. Cette étude montre que les conditions de culture *in vitro* ont un effet sur le développement ultérieur des plants en phase d'acclimatation.

Une mise en culture de 70 bananiers, individualisés, par conteneurs (100 plants dans les essais précédents) représente une densité qui concilie les impératifs économiques de transport et les problèmes liés à la compétition entre plants pendant leur croissance.

D'après les résultats obtenus dans les différents essais réalisés, la dose optimale de saccharose à utiliser pendant cette phase de croissance *in vitro* se situerait entre 70 et 80 g/l : cette concentration en sucre du milieu favorise à la fois la production de matière sèche des plants et l'obtention des bananiers de bonne qualité agronomique aptes à être sevrés.

Ces résultats sont à considérer conjointement avec ceux de NAVARRO (1990) qui a étudié, à partir d'un milieu standard de culture utilisé en culture *in vitro*, l'effet des paramètres de l'environnement bioclimatique (utilisation d'intensités lumineuses plus élevées, réduction des effets de l'éthylène émis par les plants par aération des conteneurs de culture, concentration en gaz carbonique, etc.) sur la croissance des plants de bananiers.

Les 2 objectifs poursuivis dans l'un et l'autre cas étant la stimulation de la croissance des plants de bananiers pendant la phase *in vitro* et la réduction de la durée de cette phase, il

apparaît que aussi bien des facteurs de la nutrition des plants que des éléments de l'environnement bioclimatiques agissent sur ces phénomènes.

Des plants ayant une teneur en matière sèche très élevée peuvent présenter au moment du sevrage un avantage agronomique. Ces plants cultivés sur un milieu de culture très concentré en glucides, qui provoque chez eux un stress hydrique sévère (perte d'eau par osmose), pourraient en effet s'avérer plus résistants aux conditions de culture difficiles de la phase d'acclimatation : la perte d'eau par transpiration de tels bananiers serait probablement faible pendant les premières semaines de cette phase.

Des mesures ponctuelles de succulence, réalisées à la fin de la phase *in vitro*, ont confirmé que les plants du traitement 4 (photo 1) ne perdaient pratiquement pas d'eau après sortie des boîtes de culture. La durée de conservation des bananiers entre la fin de la phase *in vitro* et l'installation *in vivo* en acclimatation, très courte habituellement (moins de 1 jour), pourrait donc être accrue avec l'utilisation de tels plants. Une expérimentation est à mettre en place pour confirmer cette hypothèse.

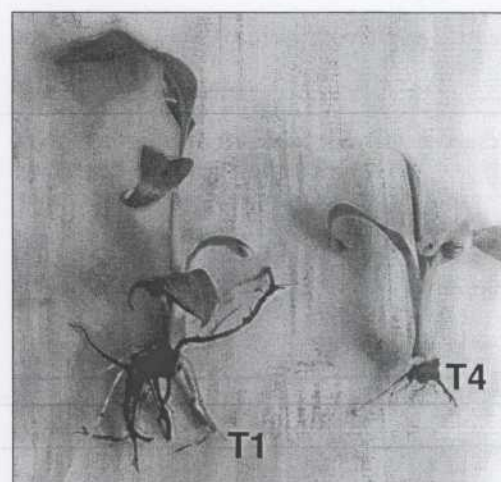


Photo 1. Plants obtenus après 24 jours de croissance *in vitro* : sur le milieu standard (T1) et sur le milieu le plus enrichi en saccharose (T4).

Remerciements

Ces travaux ont été effectués avec la collaboration de Mme Régine Dalnic (laboratoire de biochimie du CIRAD-FLHOR) pour la réalisation des analyses de glucides des milieux de culture.

Bibliographie

FOLLIOT (M.) et MARCHAL (J.). 1992.

Croissance *in vitro* des bananiers : étude de la consommation de la source carbonée et des principaux éléments minéraux du milieu de culture (cv. Grande naine).

Fruits, 47 (4), 565-571.

MARCHAL (J.), SENS (L.) et TEISSON (C.). 1992.

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

Fruits, 47 (1), 17-24.

MURASHIGE (T.) and SKOOG (F.). 1962.

A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures.

Physiol. Plant, 47, 207-214.

NAVARRO-MASTACHE (L.C.). 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.

Toulouse : Institut National Polytechnique, thèse, 137 p.

Crecimiento *in vitro* de los bananeros : influencia de la concentración en Saccarosa del medio de cultivo sobre el desarrollo de las plantas del cultivar Petite Naine.

M. FOLLIOT et J. MARCHAL

Fruits, vol 47, n°6, p. 649-655.

RESUMEN - La acumulación de materia seca en los bananeros durante la fase de crecimiento *in vitro* parece relacionada a la cantidad de sacarosa a su disposición en el medio de cultivo. La concentración óptima de sacarosa durante esta fase está situada entre 70 y 80 g/l. Escoger una dosis más fuerte produce un efecto desfavorable sobre la calidad de las plantas.

PALABRAS CLAVES : *Musa acuminata*,
micropropagación, cultivo *in vitro*,
medio de cultivo, nutrición de las plantas, sacarosa,
crecimiento, destete.
