

La culture des tissus végétaux [suite et fin]

Autor(en): **Guilliermond, A.**

Objektyp: **Article**

Zeitschrift: **Archives des sciences physiques et naturelles**

Band (Jahr): **24 (1942)**

PDF erstellt am: **21.07.2024**

Persistenter Link: <https://doi.org/10.5169/seals-741743>

Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Inhalten der Zeitschriften. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern.

Die auf der Plattform e-periodica veröffentlichten Dokumente stehen für nicht-kommerzielle Zwecke in Lehre und Forschung sowie für die private Nutzung frei zur Verfügung. Einzelne Dateien oder Ausdrucke aus diesem Angebot können zusammen mit diesen Nutzungsbedingungen und den korrekten Herkunftsbezeichnungen weitergegeben werden.

Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. Die systematische Speicherung von Teilen des elektronischen Angebots auf anderen Servern bedarf ebenfalls des schriftlichen Einverständnisses der Rechteinhaber.

Haftungsausschluss

Alle Angaben erfolgen ohne Gewähr für Vollständigkeit oder Richtigkeit. Es wird keine Haftung übernommen für Schäden durch die Verwendung von Informationen aus diesem Online-Angebot oder durch das Fehlen von Informationen. Dies gilt auch für Inhalte Dritter, die über dieses Angebot zugänglich sind.

LA CULTURE DES TISSUS VÉGÉTAUX

PAR

A. GUILLIERMOND¹

(suite et fin)

V. CULTURES DES TISSUS PEU DIFFÉRENCIÉS DE TUBERCULES.

Les tissus peu différenciés des tubercules, tels celui de Carotte, ont fourni d'ailleurs la preuve incontestable que ceux-ci, cultivés dans des milieux appropriés, peuvent se multiplier indéfiniment. Reprenant les travaux de Nobécourt, qui le premier, en 1937, a obtenu la culture des tissus du tubercule de Carotte, Gautheret a réussi, en effet, à cultiver ceux-ci depuis quatre ans et demi par repiquages successifs. Une tranche de carotte, placée dans un milieu approprié, se recouvre au bout de quelques jours dans la partie au contact de l'air d'une mousse blanchâtre constituée par des cellules migratrices (pseudothalles) associées en fils ramifiés et semblables à celles que l'on observe dans les cultures de cambium. Par la suite, le tissu cambial de Carotte prolifère et constitue un bourrelet circulaire; les parenchymes ligneux et libériens se développent également en mamelons continus ou séparés, produisant de petites protubérances. Parfois, enfin, il se forme de rares radicules dont la production cesse bientôt et qui résultent du développement d'ébauches de radicules formées dans le cambium avant la mise en culture.

Le tissu néoformé présente à l'extérieur des cellules migra-

¹ Conférence faite à la Société de Physique et d'Histoire naturelle de Genève, le 21 mai 1942.

trices et la région interne est occupée par un parenchyme homogène au sein duquel se différencie une assise génératrice; celle-ci produit vers l'extérieur un parenchyme libérien et vers l'intérieur un parenchyme ligneux, dont toutes les cellules demeurent isodiamétriques, mais, au sein du parenchyme ligneux, on voit certains éléments dont la paroi possède des éléments lignifiés, formant ainsi des cellules ligneuses restant vivantes et analogues à celles que l'on rencontre dans les vieilles cultures de cambium: elles correspondent à des ébauches de vaisseaux qui n'arrivent pas à complet développement.

Un fait intéressant, mis en évidence par les recherches de Gautheret, est que les tranches de Carotte ont une polarité remarquable. Les néo-formations ne se produisent, en effet, que sur la face apicale, c'est-à-dire celle qui serait tournée vers le sol si la tranche faisait encore partie du tubercule entier. Le développement de l'autre face se borne à la production de cellules migratrices et de petits mamelons; ce développement peut être augmenté sous l'action de l'hétéro-auxine, mais il n'est jamais aussi abondant que sur l'autre côté et il ne s'agit pas là d'une inversion de la polarité.

Cette polarité s'observe même sur de petits fragments et sur l'assise génératrice isolée. Les expériences très précises de Gautheret ont montré qu'elle est indépendante des conditions externes et de la pesanteur, mais semble être la conséquence de la circulation de l'hétéro-auxine (acide indol-butyrique) que renferme normalement le tubercule de Carotte et qui circule dans le sens « feuille-racine » pour s'accumuler à la face apicale. Cette polarité s'atténue d'ailleurs progressivement au cours des repiquages et finit par disparaître complètement.

Gautheret a cultivé également des fragments de rhizomes de diverses Composées (Topinambour, Endives, Salsifis, Scorsonère), Crucifères (Chou-navet, Chou-rave) et Ombellifères (Céleri-rave). Le début de la croissance se manifeste encore le plus souvent par la production de pseudothalles à la surface du fragment mis en culture. Toutefois, cela n'est pas général et ne se produit pas pour l'Endive et la Scorsonère, dont la surface reste toujours lisse. Ensuite, la zone génératrice prolifère et donne un bourrelet circulaire avec des protubérances

isolées, formées par croissance des parenchymes ligneux et libérien. Le développement montre toujours une polarité comme dans le tubercule de Carotte. Les tissus de l'Endive se comportent cependant différemment, car ils produisent, en même temps, des bourgeons qui évoluent très vite en tiges feuillées. L'emploi d'hétéro-auxines à faible dose, et surtout d'acide naphthyl-acétique, plus actif que l'acide indol-acétique, en activant la multiplication de l'assise génératrice, amène peu à peu à l'obtention d'un tissu indifférencié qui ne forme plus de bourgeon et se multiplie indéfiniment par repiquage. Par le même procédé, on obtient des cultures à multiplication illimitée des autres tubercules.

Ainsi, les tissus peu différenciés des tubercules et rhizomes cultivés dans des milieux favorables peuvent, comme les tissus cambiaux, se multiplier d'une manière illimitée.

Après un certain nombre de repiquages, la culture de ces tissus de tubercules et de rhizomes, de même que celle des tissus cambiaux des arbres, offre un aspect spécial qui ne permet plus de reconnaître son origine. Les fragments s'arrondissent en forme de lentilles dont la surface se recouvre ordinairement de protubérances de tailles variables. Les cultures présentent alors des cellules isodiamétriques sans aucune différenciation avec quelques fragments d'assises génératrices (assise génératrice diffuse) autour desquels la multiplication est plus active. En outre, la croissance devient plus rapide au bout d'un certain nombre de repiquages. Ce n'est que lorsque la limite du temps où la culture doit être repiquée (60 jours environ) se trouve dépassée, que la croissance se ralentit et que l'on voit apparaître des cellules ligneuses (ébauches de vaisseaux).

VI. MESURE DE LA CROISSANCE DES TISSUS CULTIVÉS.

On pourrait à la rigueur attribuer ces cultures de tissus à une croissance résiduelle et, afin de prévenir cette objection, Gautheret a mesuré la croissance des tissus cultivés de Carotte par une méthode pondérale: celle-ci a consisté à peser le fragment initial, puis ensuite sa culture tous les mois. Le tableau

suivant rend compte des résultats obtenus après le huitième repiquage pour un certain nombre de fragments:

Poids au 31 janvier 1939 (en mg):

50	180	150	110	160	155	115	50
----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	----

Poids au 30 mars 1939 (en mg):

735	915	1.265	1.180	1.270	1.270	815	585
-----	-----	-------	-------	-------	-------	-----	-----

Poids au 31 mars (en mg)	.	125	330	120
--------------------------	---	-----	-----	-----

Poids au 18 avril	»	.	445	660	405
-------------------	---	---	-----	-----	-----

Le poids des fragments de tissus est en moyenne multiplié par huit au cours de deux mois de culture. Cependant, si le fragment ensemencé est très petit, il s'accroît davantage et peut présenter au bout de deux mois un rapport d'accroissement de 16.

Si l'on admet que la souche alors âgée de seize mois maintient sa croissance constante, après neuf repiquages, le développement total sera de 130.000.000 de fois le poids initial du tissu mis en culture et il ne restera donc que la 130 millionième partie des substances préexistantes. Ces considérations prouvent donc qu'il s'agit bien de véritables cultures, analogues à celles que l'on obtient pour les tissus animaux et non d'une croissance résiduelle.

VII. RÉSULTATS APPORTÉS PAR LA CULTURE DES TISSUS VÉGÉTAUX.

La culture des tissus végétaux rendra certainement de grands services en donnant le moyen d'aborder expérimentalement un grand nombre de problèmes de physiologie.

a) Action des hétéro-auxines sur les tissus.

Déjà, elle a reçu d'intéressantes applications et a permis à Gautheret de préciser l'action des hétéro-auxines restée jusqu'ici très confuse. Il résulte des études de cet auteur que les hétéro-auxines ne sont point indispensables pour la culture des

tissus cambiaux, ni des tissus de beaucoup de tubercules, notamment celui de Carotte, qui renferment normalement des auxines, mais employées à très faibles doses (10^{-8}), ces substances provoquent une meilleure croissance. Les tissus cultivés de Carotte donnent parfois de rares radicules qui résultent d'ébauches de radicules formées dans le cambium avant la mise en culture et dont la production cesse bientôt. Mais ces radicules, que ne forment jamais les tissus cambiaux cultivés de *Salix caprea* et d'autres arbres, ne sont pas sous la dépendance des hétéro-auxines, car elles apparaissent aussi bien dans les milieux dépourvus de ces substances. A une concentration plus élevée (10^{-6}), les hétéro-auxines, au contraire, provoquent l'apparition de nombreuses radicules. A une concentration de (10^{-4}) enfin, la croissance s'arrête; il y a seulement hypertrophie des cellules qui deviennent géantes et se séparent les unes des autres, puis le phénomène aboutit à une désorganisation des tissus.

Sur les cultures d'Endive, les hétéro-auxines ne sont pas non plus indispensables. Les tissus du rhizome ne forment jamais de radicules, mais des bourgeons, et la production de ceux-ci n'est pas provoquée par les hétéro-auxines. Ces bourgeons cessent bientôt de se former quand le milieu renferme des hétéro-auxines à très faibles concentrations (10^{-8}), qui excitent la prolifération de l'assise génératrice. Une concentration d'hétéro-auxine de 10^{-4} détermine le blocage de ces bourgeons et, comme dans les tissus de Carotte, l'hypertrophie des cellules.

Les tissus du tubercule de Topinambour se comportent, au contraire, d'une manière toute différente. Si l'on prélève un fragment de tissu de ce tubercule et qu'on le place dans un milieu dépourvu d'hétéro-auxine, on observe seulement la production à la surface de pseudothalles, mais le tissu ne croît pas. Il faut, pour obtenir sa croissance que le milieu renferme une concentration de 10^{-8} d'hétéro-auxine; dans ces conditions, la multiplication des cellules peut se poursuivre d'une manière illimitée par repiquage.

Cependant, si les tissus du tubercule de Topinambour parvenus à l'état de maturité ne croissent que dans les milieux ren-

fermant des hétéro-auxines, il n'en est pas de même pour les tubercules encore très jeunes: ceux-ci peuvent, dans les milieux dépourvus d'hétéro-auxine, subir une faible croissance qui s'arrête après repiquage. Mais si les tubercules jeunes détachés de la plante nourricière sont maintenus au laboratoire pendant trois semaines avant d'être cultivés, leurs tissus perdent la propriété de croître sans hétéro-auxine.

Ainsi, on peut donc conclure de ces faits que le tubercule de Topinambour épuise ses auxines avant sa maturité, en sorte qu'une fois mûr, il n'en renferme plus et que ses tissus deviennent incapables de croître *in vitro* dans un milieu sans hétéro-auxine. Ce fait est particulièrement instructif, car il apporte la preuve que les hétéro-auxines n'agissent pas seulement en provoquant l'élongation des cellules, comme on l'avait d'abord pensé, mais aussi en déclanchant la multiplication cellulaire, ce qui confirme les résultats obtenus par Snow sur les tissus cambiaux et par Duhamet sur le méristème de la racine de Lupin.

Le comportement des tissus du Chou-rave est également très curieux. Ceux-ci se développent avec une rapidité surprenante dans les milieux dépourvus d'hétéro-auxine, mais lorsqu'on examine la culture au microscope, on s'aperçoit qu'il n'y a pas eu de prolifération cellulaire, mais seulement un accroissement des cellules qui fait que les tissus offrent un aspect analogue à celui que présentent les tissus des autres tubercules dans les milieux renfermant une concentration trop élevée d'hétéro-auxine, de l'ordre de 10^{-4} . L'addition d'hétéro-auxine dans le milieu ne modifie rien. Ce comportement s'explique si l'on tient compte des travaux de Lefèvre qui a constaté dans le tubercule de cette plante une accumulation d'hétéro-auxine; cette substance s'y trouvant à la concentration qui provoque, sur les tissus des autres tubercules, l'hypertrophie cellulaire et l'arrêt de la croissance, on comprend que les tissus de Chou-rave ne puissent proliférer.

L'ensemble de ces résultats ont permis à Gautheret d'établir, en ce qui concerne l'action des hétéro-auxines sur les tissus cambiaux, les conclusions suivantes: Les hétéro-auxines à une très faible concentration (10^{-9}) agissent seulement en provo-

quant l'élongation des cellules cambiales, mais à une concentration un peu plus élevée (10^{-8}), elles déterminent la multiplication de ces cellules (*pouvoir cambio-gène*). Ce sont là des effets pouvant être considérés comme physiologiques, car ils semblent correspondre à ceux que provoquent normalement les auxines dans le tubercule entier. A une concentration d'hétéro-auxine de 10^{-7} , se trouverait la limite de ces effets physiologiques; au delà, les phénomènes observés seraient d'ordre paraphysiologiques; ce sont la production de nombreuses radicules (*pouvoir rhizogène*) que l'on constate pour certains tissus à une concentration de 10^{-6} , puis, au-dessus, à 10^{-4} , le blocage des bourgeons quand le tissu est capable d'en former et enfin l'hypertrophie des cellules, l'arrêt du développement et la désorganisation des tissus; les hétéro-auxines sont alors devenues toxiques.

Il est à remarquer que la racine de Lupin se comporte de même vis-à-vis des hétéro-auxines, d'après Duhamet dont nous avons déjà cité les recherches, avec cette différence qu'elle est plus sensible à l'action de ces substances qui provoquent la multiplication des cellules méristématiques à une concentration de 10^{-9} . A des concentrations plus élevées, il y a arrêt de croissance et hypertrophie des cellules, qui manifestent une tendance à se séparer.

b) *Spécificité des tissus et dédifférenciation cellulaire.*

Cette question n'a pas encore reçu de solution définitive pour les tissus végétaux. Cependant, il semble que ces tissus, du moins ceux qui n'ont pas acquis une forte différenciation, possèdent une spécificité beaucoup moins rigoureuse que les tissus animaux et que, tout en conservant leurs caractères spécifiques lorsqu'ils ont cessé de croître, ils sont capables, dans certaines conditions, de se dédifférencier; d'ailleurs, on est bien obligé de l'admettre pour la formation des racines dans les boutures.

Gautheret a montré que lorsqu'on cultive des fragments de cambium d'Orme, de Sureau et de Peuplier, dans un milieu contenant des sucres et en présence de la lumière, ceux-ci sont capables de donner des mamelons de cellules méristématiques

qui évoluent ensuite en bourgeons et se transforment en petites tiges feuillées. Ce phénomène ne peut s'expliquer que par une dédifférenciation. Il résulte, d'autre part, des travaux récents d'un autre de mes élèves, M. Buvat, que les racines, qui se forment dans les tissus cultivés de Carotte dans des milieux renfermant une concentration d'hétéro-auxine de 10^{-6} , sont de deux sortes: les unes prennent naissance dans le cambium aux régions où s'étaient formées les radicules du tubercule, les autres dans le parenchyme libérien néoformé; ces dernières sont le résultat d'une véritable dédifférenciation. Ainsi, les tissus conjonctifs n'auraient donc qu'une spécificité très relative, ce qui a amené Gautheret à leur donner le nom de *parenchymes méristématiques*.

Il convient d'ajouter que les recherches de Gautheret ont fait connaître une curieuse particularité des tissus libériens de Carotte qui, cultivés dans un milieu additionné d'hétéro-auxine, sont capables de produire des éléments à parois lignifiés semblables à ceux qui se forment dans le parenchyme ligneux, ce qui tendrait à prouver que les tissus n'ont pas une prédestination rigoureuse à se différencier dans un sens déterminé et que certaines actions sont capables de modifier leurs destinées.

c) *Respiration.*

La culture des tissus végétaux a enfin permis à Plantefol et Gautheret d'étudier leurs phénomènes respiratoires. Ces tissus se sont montrés beaucoup plus favorables à cette étude que les tissus animaux, car ils ne sont pas compacts, ayant de nombreuses lacunes grâce auxquelles l'air parvient aux parties centrales, et respirent donc normalement sans être le siège d'altérations dues à l'asphyxie. Plantefol et Gautheret ont étudié l'intensité respiratoire des tissus cultivés du tubercule de Carotte et du cambium de *Salix caprea*. Ces savants ont séparé le tissu primitif du tissu néoformé et étudié comparativement dans les deux l'intensité respiratoire. Cette étude leur a permis d'établir que l'intensité respiratoire est augmentée dans le tissu néoformé; elle est dans le *Salix caprea* 5,2 fois supérieure à celle du tissu primitif: lorsque le milieu est dépourvu de sucre, elle augmente, passe par un maximum,

puis diminue peu à peu sans limite. Si le milieu renferme du sucre, l'intensité respiratoire se stabilise, au contraire, à une valeur inférieure au maximum. Cet accroissement de la respiration traduit en quelque sorte l'oxydation des cellules brusquement soumises à l'action de l'air libre.

d) Amylogénèse.

Nous avons dit déjà que Gautheret avait pu étudier d'une manière précise les conditions de l'amylogénèse dans les cellules isolées de coiffe. Le même auteur est arrivé aussi à provoquer la formation d'amidon dans les tissus de Topinambour et de Salsifis qui ne produisent normalement que de l'inuline, en les cultivant dans des milieux renfermant 25% de saccharose.

e) Morphologie cellulaire.

La technique de la culture des tissus végétaux est capable de rendre les plus grands services à l'étude de la morphologie cellulaire. L'observation des cellules vivantes d'organismes pluricellulaires était restée jusqu'ici extrêmement difficile, parce qu'en prélevant des fragments de tissus et en les plaçant dans un liquide artificiel et sous une lamelle, pour les examiner au microscope, on risque de les léser et de provoquer des altérations de leur structure. La méthode des coupes fixées et colorées expose à des altérations bien plus grandes encore. La culture des tissus faite en chambre humide ou en boîte de Pétri pourvues d'une ouverture, en permettant d'observer, à l'immersion, les cellules vivantes pendant leur croissance, a renouvelé l'étude de la morphologie cellulaire. Elle nous a permis, à M. Gautheret et à moi, d'étudier la structure du noyau et de faire connaître l'existence sur le vivant de deux types bien différents de structure: l'un, dans le Navet, dépourvu de réseau chromatique et montrant, en dehors du nucléole, des corpuscules arrondis appelés prochromosomes ou chromocentres, l'autre, dans le Blé, formé par un réseau bien visible sur le vivant. Elle nous a permis également de démontrer que certains colorants vitaux, comme le rouge neutre, sont aussi peu toxiques que possible, et de suivre toute l'évolution du vacuome pendant la croissance des cellules dans certaines racines.

VIII. CONCLUSION.

L'exposé que nous venons de faire montre que si, contrairement à ce que l'on pouvait attendre, étant donné la facilité avec laquelle les Végétaux supérieurs se laissent cultiver par les méthodes pasteuriennes, la culture des tissus végétaux est plus difficile à réaliser que celle des tissus animaux, elle est aujourd'hui possible grâce aux beaux travaux de Gautheret, du moins en ce qui concerne les méristèmes secondaires ou cambiums et les tissus peu différenciés appartenant aux tubercules. Il semble que la difficulté, pour certains tissus végétaux, comme les méristèmes radiculaires, tiennent à ce que ceux-ci sont en réalité constitués par un tissu complexe à potentialités différentes et doué de polarité, c'est-à-dire capable seulement de se diviser et de croître dans une direction déterminée, ce qui n'existe ni dans les cambiums, ni dans les tissus animaux, et qui explique que l'on ne puisse obtenir avec eux que des cultures d'organes.

La culture des tissus constitue à coup sûr une méthode précieuse et féconde qui permettra sans doute d'élucider une série de questions fondamentales de Cytologie, d'Histologie et de Physiologie. Elle se prête, en effet, à l'étude des processus de différenciation cellulaire et de l'organogénèse et permet d'aborder le problème si important, du point de vue de l'origine des tumeurs, du déterminisme de la prolifération cellulaire. Elle est, en outre, destinée à rendre les plus grands services dans les recherches de morphologie et de physiologie cellulaire et sans doute dans celles de pathologie.

INDEX BIBLIOGRAPHIQUE

- BUVAT, R., Sur l'origine double des racines nées dans les cultures *in vitro* de liber de Carotte sous l'influence de l'hétéro-auxine. *C. R. Ac. Sc.*, 212, 808, 1941.
- DUHAMET, L., Action de l'hétéro-auxine sur la croissance de racines isolées de *Lupinus albus*. *C. R. Ac. Sc.*, 208, 1939.
- Recherches sur l'action de l'hétéro-auxine sur la croissance de racines isolées de *Lupinus albus*. *Diplôme d'études supérieures de Sciences naturelles*. Sorbonne. Paris, 1941.

GAUTHERET, R.-J., Recherches sur la culture des tissus végétaux. Essais de culture de quelques tissus méristématiques. *Thèse Sciences Paris*, 1935.

La culture des tissus végétaux: son état actuel. Comparaison avec la culture des tissus animaux. Préface de A. Guilliermond. N° 554 de la *Coll. Actualités scientifiques et industrielles*. Hermann, éd. Paris, 1937.

La culture des tissus végétaux. Revue «*Science*», publiée par l'Assoc. française pour l'avancement des Sciences, n° 20, mars 1938.

Hétéro-auxine et cultures de tissus végétaux. *Bull. de la Soc. de Chimie biologique*, XXIV, n° 1, janvier-mars 1942.

GIOELLI, F., *Morfologia, istologia, fisiologia dei meristemi secondari*. Istituto Orto Botanico della R. Università di Ferrara, 1938.

GUILLIÉRMOND, A. et GAUTHERET R.-J., Contribution à l'étude de la structure des noyaux des cellules végétales. *Revue de Cytologie et de Cytophysiologie végétales*. 11, 1938.

Recherches sur la coloration vitale dans les cellules végétales. *Rev. gén. botanique*, 1940.

NOBÉCOURT, P., Culture en série de tissus végétaux sur milieu artificiel. *C. R. Ac. Sc.*, 205, 521, 1937.

PLANTEFOL, L., et GAUTHERET, R.-J., Le glucose et la respiration des cultures des tissus végétaux. *C. R. Ac. Sc.*, 208, 927, 1939.

Sur l'intensité des échanges respiratoires des tissus végétaux en culture: tissu primitif et tissus néoformés, *C. R. Ac. Sc.*, 213, 627, 1941.

ROBBINS, W.-J. et BARTLEY, M.-A., Vitamin B₁ and the growth of excised tomato roots. *Science*, 85, 236, 1937.

Thiazol and the growth of excised tomato roots. *Proc. Nat. Ac. Sc.*, 23, 485, 1937.

ROBBINS, W.-L. et WHITE, V.-B., Effect of extracts from the corn plant on growth of excised roottips. *Bot. Gaz.*, 98, 520-534, 1937.

WHITE, Ph.-R., Amino acids in the nutrition of excised tomato roots. *Plant Phys.*, 12, 793, 1937.

Vitamin B₁ in the nutrition of excised tomato roots. *Plant Phys.*, 12, 803, 1937.

Plant tissue cultures. *Bot. Rev.*, 2, 419, 1936.

Plant tissue cultures, *Biol. Rev.*, 16, 34, 1941.
