# Sur la culture in vitro des racines du Zea mays

Autor(en): **Pilet, P.-E. / Bonhôte, J.**

Objekttyp: **Article**

Zeitschrift: **Berichte der Schweizerischen Botanischen Gesellschaft = Bulletin de la Société Botanique Suisse**

Band (Jahr): **72 (1962)**

PDF erstellt am: **24.05.2024**

Persistenter Link: https://doi.org/10.5169/seals-50844

**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.

Ein Dienst der *ETH-Bibliothek*
ETH Zürich, Rämistrasse 101, 8092 Zürich, Schweiz, www.library.ethz.ch

**http://www.e-periodica.ch**

# Sur la culture in vitro des racines du Zea mays

Par *P.-E. Pilet* et *J. Bonhôte*[1]

Laboratoire de Physiologie végétale

(Université de Lausanne)

Manuscrit reçu le 16 novembre 1961

## Avant-propos

Ce travail, illustre les diverses techniques que nous avons réalisées pour cultiver, dans des conditions stériles *(in vitro)* des racines du maïs. Dans cette note préliminaire, nous examinerons les conditions de croissance: 1. de racines isolées cultivées en milieu liquide; 2. de racines formées aux dépens de coléoptiles (culture en milieux solide et liquide); 3. de racines formées à partir de mésocotyles cultivés en milieu liquide.

## Quelques travaux

C'est en 1922 qu'il faut situer, avec les recherches de Kotte et de Robbins, les premières tentatives de culture *in vitro* isolées (v. aussi Gautheret, 1942, 1955; Burström, 1953; Street, 1957*a*). Mais c'est White (1934) qui réussit à cultiver, d'une façon illimitée, des méristèmes radiculaires (tomate). L'emploi de vitamine $B_1$ (Robbins et Bartley, 1937; Bonner et Devirian, 1939) devait améliorer les conditions de culture de ces organes (Burlet, 1936, 1940). La technique de préparation fut également précisée (v. White, 1943) et de nombreux milieux furent alors proposés pour des racines différentes (White, 1951; Street, 1957*b*).

L'étude de l'action des composés auxiniques sur l'allongement de racines cultivées *in vitro* a tenté un certain nombre de chercheurs. Citons les observations de Geiger-Huber et Burlet (1936) et de Wurgler (1942) sur les racines de maïs, de Bonner et Buchmann (1938) sur celles de pois, de Duhamet (1939) sur celles de lupin, de Wurgler (1950) sur celles de blé, de Street et coll. (1954) sur celles de tomate, etc. (v. Street, 1957; Pilet, 1961*c*).

---

[1] Ce travail, qui fait l'objet d'une partie de la thèse que M. Bonhôte prépare dans notre laboratoire, a été réalisé avec la collaboration technique de Mlle A.-M. Roll. Les photographies sont dues à notre préparateur M. R. Magliocco.

Par ailleurs, la rhizogenèse de fragments de tissus cultivés *in vitro* a suscité de nombreuses expériences (Gautheret, 1959, p. 328 et ss.; Pilet, 1961*c*) et les racines isolées ont été, pour ces problèmes, un matériel de choix qui a permis de préciser les conditions physiologiques (Delarge, 1941; Peckett, 1957; Goldacre, 1959) et chimiques (Torrey, 1956) de la néoformation des racines.

## Matériel et méthode

On utilise des semences de maïs (*Zea mays:* hybride n° 255 de la Station fédérale d'essais à Lausanne).

La technique de préparation des cultures s'inspire de celles qui ont été mises au point par Gautheret (1942), par White (1943) et par Street (1957*a*). On donnera un bref résumé de notre méthode:

1. les graines sont imbibées dans une solution d'hypochlorite de Na (0,1 %);
2. au bout de 24 heures, les graines sont mises à germer dans des boîtes de Petri, sur filtre recouvrant du coton stérile humidifié;
3. deux jours après, on prélève le matériel; on use de la culture *in vitro*.

Ces essais ont porté sur:

*a)* pointes de racine 10 mm

*b)* pointes de coléoptile
- *b 1* milieu solide 10 mm
- *b 2* milieu liquide 15 mm

*c)* fragments de mésocotyle (v. p. 13);

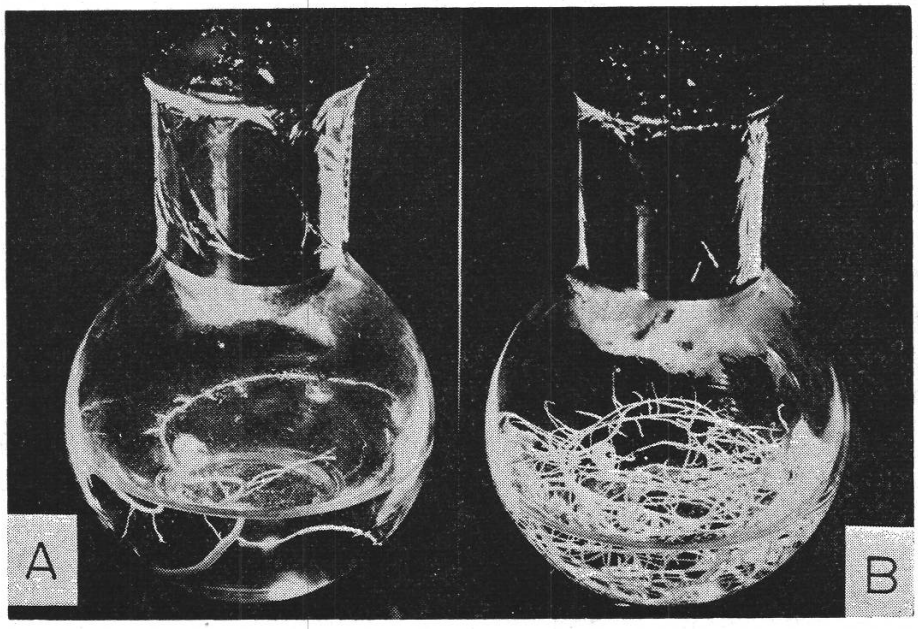



Figure 1

Culture *in vitro* (milieu liquide) de racines de maïs. A Après 15 jours. B Après 60 jours

4. l'ensemencement de ces fragments se fait dans le milieu de White II (White, 1943) dont voici la composition:

1000 ml eau distillée;

20 g saccharose, 100 mg nitrate de calcium, 80 mg nitrate de potassium, 65 mg chlorure de potassium, 35 mg sulfate de magnésium, 12,5 mg phosphate monopotassique, 4,4 mg sulfate de manganèse, 3 mg glycocolle, 2,5 mg sulfate ferrique, 1,5 mg acide borique, 1,5 mg sulfate de zinc, 0,75 mg iodure de potassium, 0,5 mg aneurine.

Pour obtenir un milieu solide, il faut ajouter 11 g d'agar-agar.

## Culture de racines isolées

Pour des mesures prolongées, et surtout pour des expériences portant sur des analyses chimiques, nous avons préféré (v. plus haut) cultiver nos racines dans des ballons contenant un milieu liquide; les résultats ont été, à part quelques rares exceptions, excellents (figure 1).

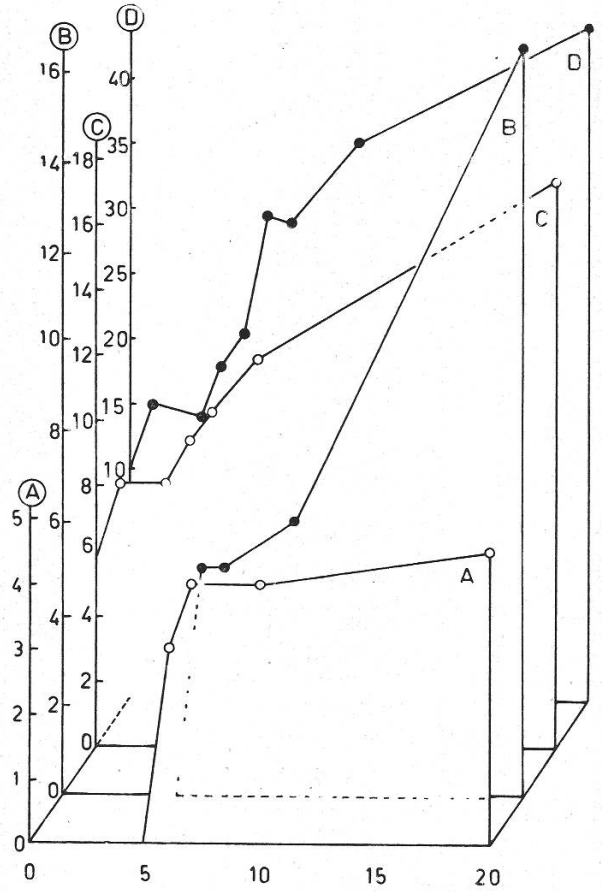



Figure 2

Quelques caractéristiques physiologiques de racines de maïs cultivées *in vitro:*

A Longueur (en mm) des radicelles formées
B Nombre de radicelles par racine
C Poids frais (en mg) par racine
D Longueur (en mm) d'une racine
Valeurs moyennes

Nous avons reporté dans la figure 2 quelques mesures concernant:

1. longueur des racines (D)
2. poids frais des racines (C)
3. longueur des radicelles (A)
4. nombre des radicelles (B)

Ainsi qu'on peut le voir, l'allongement des racines est constant bien que, à partir du 10e jour de culture, la vitesse de croissance est sensiblement réduite; la courbe de poids frais traduit les mêmes variations. En ce qui concerne les radicelles, leur croissance, rapide au début (pendant trois jours), s'arrête presque complètement tandis que le nombre continue à s'accroître régulièrement. Nous avons comparé la croissance de racines cultivées comme précédemment avec celles qui ont été traitées par de l'acide $\beta$-indolyl-acétique (ABIA) à la concentration de $1.10^{-5}$ M; les résultats contenus dans le tableau 1 permettent les quelques remarques suivantes:

1. l'ABIA entraîne une nette inhibition de l'allongement, qui cesse même complètement, et de l'augmentation du poids frais;
2. mais le rapport poids frais/longueur demeure toujours, pour les lots traités, supérieur à celui des lots témoins.

Ceci signifie donc que l'ABIA a une action plus caractéristique (inhibition plus grande) sur l'allongement que sur l'accroissement du poids frais.

Tableau 1

**Croissance de pointes de racines de maïs cultivées in vitro (milieu liquide)**

TE: milieu de White II
TR: milieu de White II + ABIA à $1 \cdot 10^{-5}$ M
PF: poids frais moyen en mg
L: longueur moyenne en mm

| Temps | TE | | | TR | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | PF | L | PF/L | PF | L | PF/L |
| 14 jours | 26 | 43 | 0,604 | 17,4 | 15 | 1,16 |
| 20 jours | 34,4 | 60 | 0,564 | 21 | 17 | 1,23 |
| 28 jours | 38 | 74 | 0,513 | 15 | 17 | 0,882 |
| 35 jours | 41,2 | 73 | 0,564 | 17,8 | 17,5 | 1,01 |

**Croissance de racines provenant de coléoptiles**

Nous résumerons brièvement l'essentiel de deux séries d'expériences:

1. culture en milieu solide; 2. culture en milieu liquide.

*Milieu solide* (figure 3)

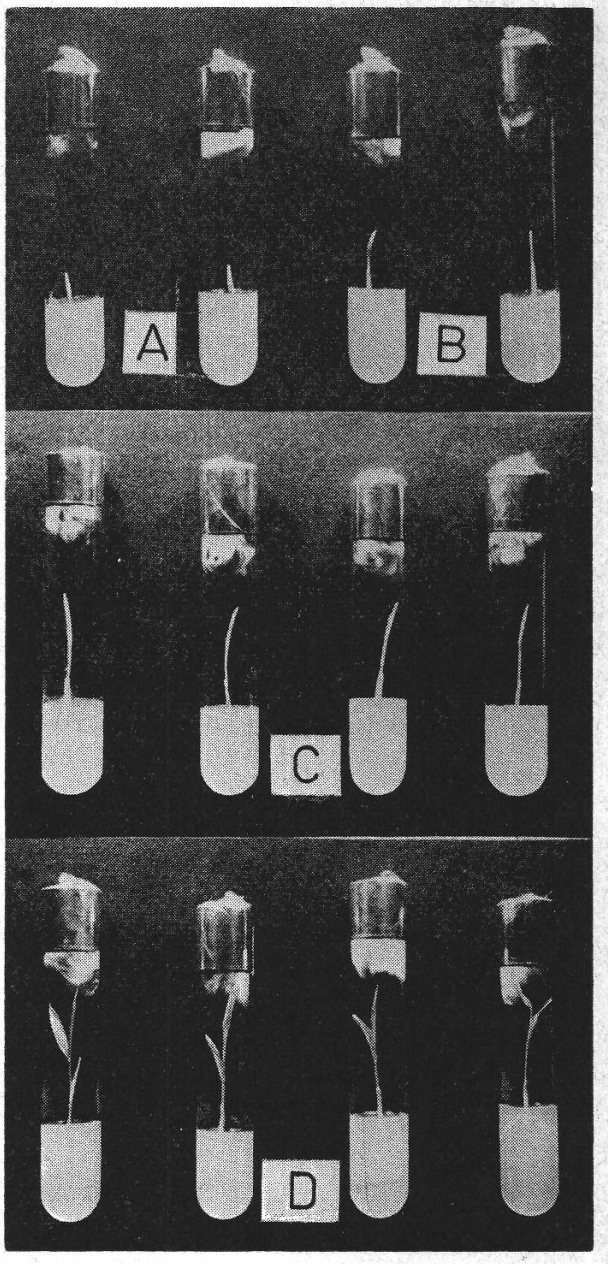



Figure 3

Culture *in vitro* (milieu solide) de coléoptiles de maïs:

A Après 1 jour
B Après 4 jours
C Après 10 jours
D Après 20 jours

Les coléoptiles (10 mm) sont préparées dans le milieu (A); elles ne tardent pas à libérer leur feuille primaire (B) et (C), alors que la feuille secondaire (D) apparaît plus tardivement. Parallèlement, des racines se forment à la base de la coléoptile (figure 4). Nous avons, sur ce matériel, étudié l'action de l'ABIA et de l'acide gibbérellique (AGB). Nous donnerons (tableau 2) les valeurs correspondant à l'allongement des fragments (LF) et des racines (LR) et au nombre de racines formées (NR).

Figure 4

Culture *in vitro* (milieu solide) de coléoptiles de maïs. Aspect des plantules:

| | |
|---|---|
| A gauche | après 4 jours |
| Au milieu | après 10 jours |
| A droite | après 20 jours |

Tableau 2

**Action de l'acide $\beta$-indolyl-acétique (ABIA) et de l'acide gibbérellique (AGB) sur la croissance et l'enracinement de fragments de coléoptiles de maïs cultivés in vitro**

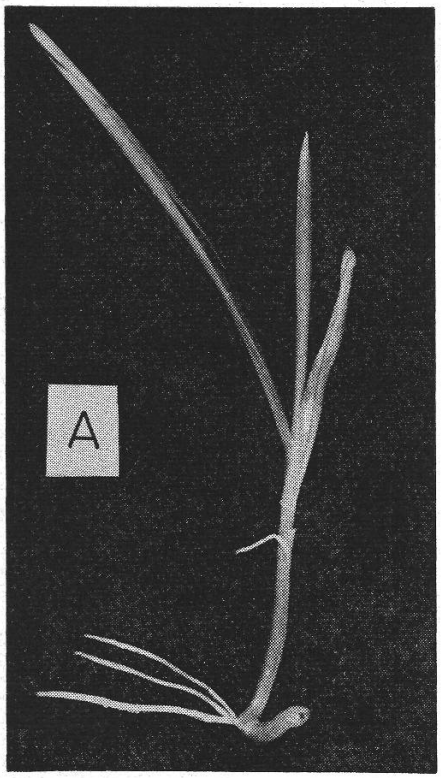
LF: longueur des fragments en mm
LR: longueur moyenne des plus longues racines de chaque fragment
NR: nombre de racines sur chaque fragment
Les mesures sont faites après 20 jours de culture

| Traitement | LF | LR | NR |
|---|---|---|---|
| Témoin | 63 | 38 | 4,2 |
| +ABIA $1 \cdot 10^{-5}$ M | 30,3 | 12,5 | 4 |
| +AGB $1 \cdot 10^{-5}$ M | 72,4 | 27,7 | 1,3 |

On peut tirer de ces résultats les conclusions suivantes:

1. les fragments de coléoptiles présentent, sous l'action de l'ABIA, une nette inhibition de leur allongement alors que l'AGB accélère leur croissance;
2. l'ABIA inhibe la croissance des racines, comme le fait d'ailleurs l'AGB, mais dans une moindre mesure. Brian et coll. (1960) sur des tiges sectionnées de diverses variétés de *Pisum* traité entre autres par l'AGB ($1.10^{-4}$ M et $0,5.10^{-4}$ M) obtiennent des résultats à peu près semblables à ceux que nous venons de rapporter;
3. entre le lot témoin et celui qui a été traité par l'ABIA, la rhizogène est pratiquement identique, tandis que l'AGB provoque une nette réduction du nombre des racines formées.

*Milieu liquide* (figures 5 et 6)



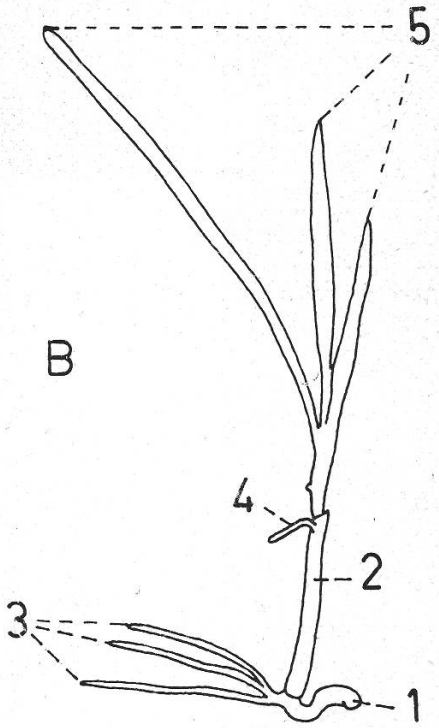




Figure 5

Culture *in vitro* (milieu liquide) de coléoptile; aspect des plantules après 18 jours:

1. Mésocotyle
2. Coléoptile
3. Trois racines formées aux dépens du mésocotyle
4. Une racine formée aux dépens de la coléoptile
5. Trois feuilles

Dans de telles conditions, la formation et l'allongement des racines sont plus caractéristiques et si l'on compare (figure 7) la croissance (lon-

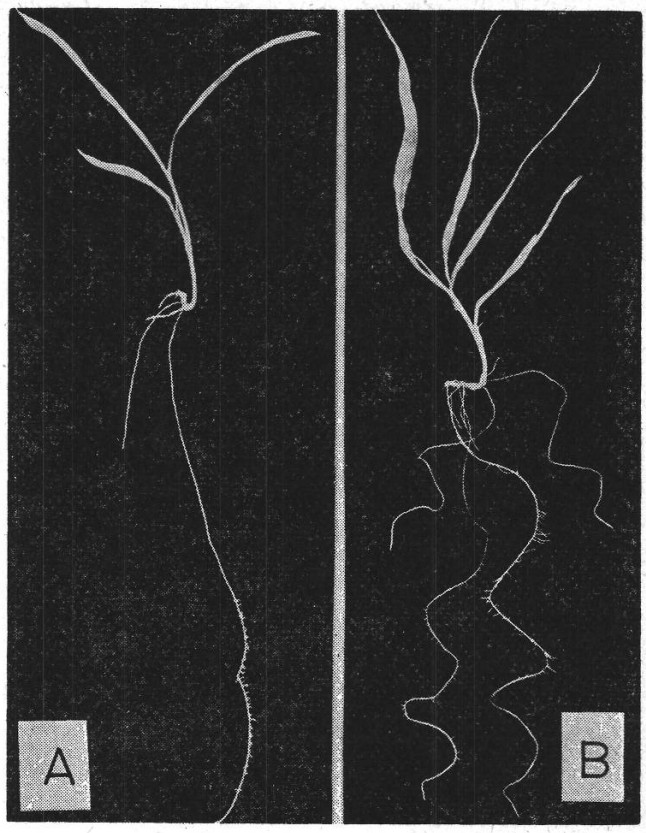



Figure 6

Cultures *in vitro* (milieu liquide) de coléoptiles de maïs. Aspect des plantules:

A Après 32 jours B Après 51 jours

gueur et poids frais) des racines formées et des feuilles que libèrent les coléoptiles, on constate que:

1. jusqu'au 18e jour, et nous prendrons un exemple parmi beaucoup d'autres, trois feuilles se sont développées et quatre racines se sont formées; trois de ces racines sont apparues sur le mésocotyle et une sur la coléoptile (le long de l'une de ses nervures). L'étude anatomique de ce phénomène fera l'objet d'une prochaine publication;
2. du 18e au 32e jour, les racines déjà formées s'allongent et quelques nouvelles racines apparaissent (figure 6A);
3. du 32e au 51e jour, une nouvelle feuille se développe (figure 6B) et les racines deviennent plus abondantes;
4. les radicelles commencent relativement tôt à se former, mais elles n'apparaissent que sur des racines ayant atteint une certaine longueur;
5. la rhizogenèse se fait essentiellement (à l'exception de ce que nous venons de voir en 1) aux dépens du mésocotyle.

Comme précédemment, nous avons étudié l'action de l'ABIA sur l'allongement, le poids frais et le nombre des racines formées. Les résultats, contenus dans le tableau 3, autorisent les remarques suivantes:

1. la concentration $1.10^{-8}$ M n'a pratiquement pas d'effet sur la rhizogenèse mais stimule l'allongement des racines;
2. la concentration $1.10^{-5}$ M, par contre, accélère très sensiblement l'apparition des racines qui s'allongent toutefois moins que celles qui avaient été traitées par l'ABIA $1.10^{-8}$ M (longueur moyenne).

Tableau 3

**Croissance de racines développées à partir de coléoptiles cultivées in vitro en milieu liquide, en présence ou non d'ABIA**

TE: milieu de White II
TR: milieu de White II+ABIA (différentes concentrations)
L: longueur en mm
PF: poids frais en mg
NR: nombre de racines
Les mesures sont faites après 18 jours de culture

| Caractéristiques | TE | TR | |
|---|---|---|---|
| | | $1.10^{-8}$ M | $1.10^{-5}$ M |
| L. moyenne | 19 | 155 | 55 |
| L. totale | 75 | 621 | 720 |
| L. maximale | 25 | 461 | 205 |
| PF | 7,7 | 74,6 | 47,8 |
| NR | 4 | 4 | 13 |

**Croissance de racines provenant de mésocotyles**

Nous prélevons sur de jeunes plantules de maïs, cultivées aseptiquement, des fragments de 10 mm au niveau du mésocotyle, et dont la base est à 30 mm approximativement du sommet de la coléoptile (figure 8). Ces fragments sont déposés dans des solutions (White II) auxquelles on a ajouté de l'ABIA ($1.10^{-5}$ M). Ainsi qu'on peut le voir (figure 9), ces fragments donnent naissance à un intense réseau de racines dont l'allongement est d'ailleurs limité.

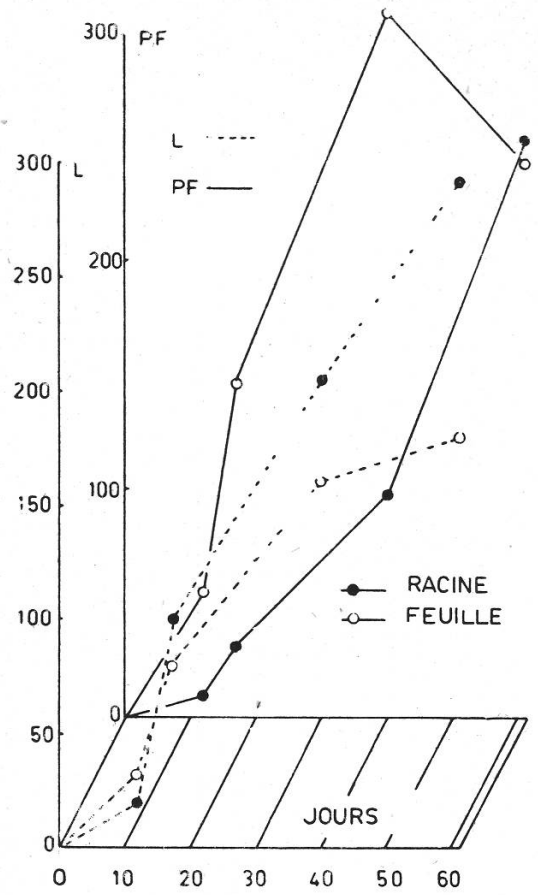



Figure 7

Variations de longueur (L en mm) et de poids frais (PF en mg) de racines et de feuilles développées aux dépens de coléoptiles cultivées *in vitro* (milieu liquide)

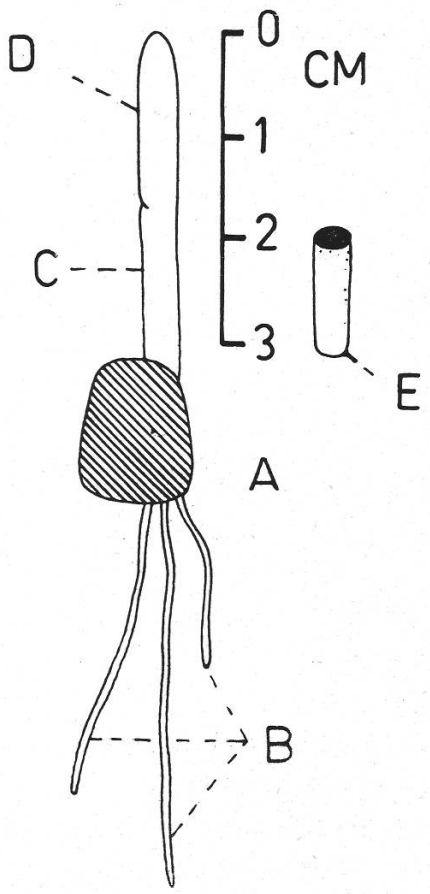



Figure 8

Cultures *in vitro* (milieu liquide) de mésocotyles de maïs. Mode de prélèvement des fragments:

A Graine

B Racine

C Mésocotyle

D Coléoptile

E Fragment du mésocotyle (10 mm de long) et prélevé à 20 mm du sommet de la coléoptile

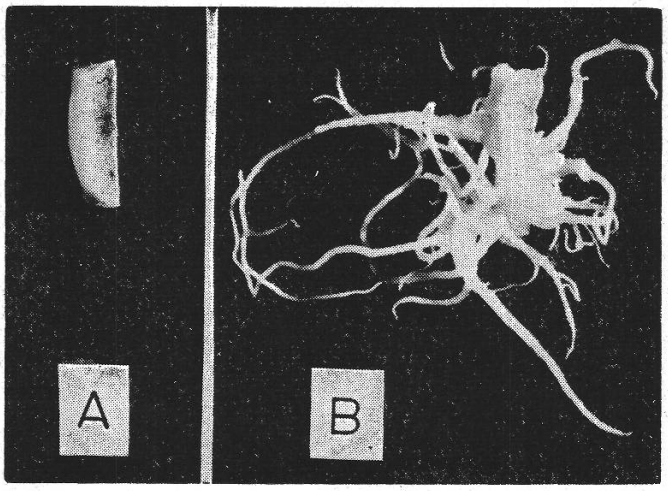



Figure 9

Cultures *in vitro* (milieu liquide White II+ABIA $1.10^{-5}$ M) de mésocotyle de maïs:

A Aspect du fragment au moment de l'ensemencement

B Aspect du même fragment après 105 jours de culture

## Discussion

Le développement des racines isolées soulève un certain nombre de problèmes relatifs au rôle joué par les auxines endogènes dans les processus de croissance de ces organes (Pilet, 1961*c*). A ce propos, Van Overbeek (1938, 1939) a déjà tenté de résoudre quelques-unes de ces questions. Pourtant, la physiologie des racines isolées diffère souvent de celle des racines appartenant à des plantes intactes (White, 1951; Gautheret, 1955; Street, 1957*a*).

Tout d'abord, les variations d'allongement de ces racines, placées en présence de composés auxiniques ne sont pas du même ordre (Duhamet, 1939; Street, 1954; Street et coll., 1954; Wurgler, 1950) que celles qu'on peut observer sur des racines intactes (Pilet, 1951, 1953, 1954*a*). Il serait d'ailleurs intéressant de connaître, comme nous l'avons fait pour des racines complètes (Pilet, 1951, 1958, 1961*a*) l'état auxinique de ces organes.

D'autre part, les observations rapportées dans ce travail et relativement à diverses techniques de culture, permettent – sur un plan physiologique et biochimique – de mieux saisir la «réactivité» de ces racines cultivées *in vitro*.

Enfin, les méthodes proposées dans ce travail nous ont permis de suivre la formation de racines aux dépens des racines elles-mêmes, des coléoptiles et des mésocotyles. Nous avons vu, dans les essais rapportés ci-dessus, le rôle joué par l'ABIA dans ces processus et ces observations

confirment en tous points nos recherches antérieures (Pilet, 1954*a*; 1954*b*, 1957). L'étude morphologique de ces phénomènes pourra nous apporter des renseignements utiles quant à la rhizogenèse auxinique (Torrey, 1956; Peckett, 1957).

**Bibliographie**


Bonner J. 1940. On the growth factor requirements of isolated roots. Amer. J. Bot. **27**, 692.

— and Buchman E.R. 1938. Synthesis carried out *in vivo* by isolated pea roots. Proc. Nat. Acad. Sci. USA **24**, 431.

— and Devirian P.S. 1939. Growth factor requirements of four species of isolated roots. Amer. J. Bot. **26**, 661.

Brian P.W., Hemming H.G. and Lowe D. 1960. Inhibition of rooting of cuttings by gibberellic acid. Annals of Bot. **24**, 407.

Burlet E. 1936. Zur Methodik der pflanzlichen Organkultur. Verh. Schweiz. Natf. Ges. Solothurn 312.

— 1940. Über die pflanzliche Organkultur und ihre Anwendungen bei physiologischen Untersuchungen. Bull. Soc. bot. suisse **50**, 519.

Burström H. 1953. Physiology of root growth. Ann. Rev. Plant Physiol. **4**, 237.

Delarge L. 1941. Etude de la croissance et de la ramification des racines *in vitro*. Mém. Soc. Roy. Sc. Liège **2**, 5.

Duhamet L. 1939. Action de l'hétéro-auxine sur la croissance de racines isolées de *Lupinus albus*. C.R. Acad. Sc. **208**, 1838.

Gautheret R.J. 1942. Manuel technique de culture des tissus végétaux. Masson Ed., Paris.

— 1955. Tissue culture. Ann. Rev. Plant Physiol. **6**, 433.

— 1959. La culture des tissus végétaux. Masson Ed., Paris.

Geiger-Huber M. und Burlet E. 1936. Über den hormonalen Einfluß der $\beta$-Indolylessigsäure auf das Wachstum isolierter Wurzeln in keimfreier Organkultur. Jahrb. f. wiss. Bot. **84**, 233.

Goldacre P.L. 1959. Potentiation of lateral root induction by root initials in isolated flax roots. Austral. J. of biological sciences **12**, 388.

Kotte W. 1922. Wurzelmeristem in Gewebekultur. Ber. d. bot. Ges. **40**, 269.

Overbeek van J. 1939. Is auxin produced in roots ? Proc. Nat. Acad. Sci. **25**, 245.

— and Bonner J. 1938. Auxin in isolated roots growing *in vitro*. Proc. Nat. Acad. Sci **24**, 260.

Peckett R.C. 1957. The initiation and development of lateral meristems in the pea root. I. The effect of young and mature tissue. J. Exp. Bot. **8**, 172.

Pilet P.-E. 1951. Contribution à l'étude des hormones de croissance (auxines) dans la racine du *Lens*. Mém. Soc. vaud. Sc. nat. **10**, 137.

— 1953. Physiologie des racines du *Lens* et hormones de croissance. Phyton (Austria) **4**, 247.

— 1954*a*. Variations de croissance des racines et phénomènes auxiniques. VIII^e Congr. intern. Bot. **11**, 178.

— 1954*b*. Croissance et rhizogenèse des racines de plantules vernalisées et rôle du froid sur les auxines et leurs précurseurs dans les graines et les racines. Rev. gén. Bot. **61**, 637.

Pilet P.-E. 1957. Action de l'acide β-indolyl-acétique, à diverses températures, sur la croissance des racines et la formation des radicelles du *Lens*. Phyton (Argentina) **8**, 13.

— 1958. Analyse biochromatographique des auxines radiculaires. Techniques et résultats. Rev. gén. Bot. **65**, 605.

— 1961*a*. Auxins and the process of aging in roots cells. Plant growth regul. Fourth intern. Conf. Iowa State Univ. Press, Iowa, p. 167.

— 1961*b*. Culture *in vitro* de tissus de Carotte et organogenèse. Bull. Soc. bot. suisse **71**, 189.

— 1961*c*. Les phytohormones de croissance. Méthodes, chimie, biochimie, physiologie, applications pratiques. Masson Ed., Paris.

Robbins W. J. 1922. Cultivation of excised root-tips and stem-tips under sterile conditions. Bot. Gaz. **73**, 376.

— and Bartley M. A. 1937. Vitamin $B_1$ and the growth of excised tomato roots. Science **85**, 246.

Street H. E. 1954. Factors controlling meristematic activity in excised roots. V. Effect of β-indolyl acetic acid, β-indolylacetonitrile and α-(1-naphtyl methylsulphide)-propionic acid on the growth and survival of roots of *Lycopersicum esculentum*, Mill. Physiol. Plant. **7**, 212.

— 1957*a*. Excised root culture. Biol. Rev. **32**, 117.

— 1957*b*. Nutrition and metabolism of plant tissue cultures. J. of the nat. cancer Inst. **19**, 467.

— McGregor S. M. et Sussex I. M. 1954. Effects of 3-indolylacetic acid and 3-indolylacetonitrile on the growth of excised tomato roots. J. Exp. Bot. **5**, 204.

Torrey J. G. 1950. The induction of lateral roots by indoleacetic and root decapitation. Amer. J. Bot. **37**, 257.

— 1956. Chemical factors limiting lateral root formation in isolated pea roots. Physiol. Plant. **9**, 370.

White P. R. 1934. Potentially unlimited growth of excised tomato root tips in a liquid medium. Plant Physiol. **9**, 585.

— 1943. A Handbook of plant tissue culture. The J. Cattell Press Ed., Lancaster.

— 1951. Nutritional requirements of isolated plant tissues and organs. Ann. Rev. Plant Physiol. **2**, 231.

— 1959. Contribution apportée à la connaissance du cancer par la technique de la culture des tissus. Lejeunia **23**, 5.

Wurgler W. 1942. Über das Wachstum der Wurzeln von *Zea Mays* in Organkultur und seine Beeinflussung durch Wirkstoffe. Bull. Soc. bot. suisse **52**, 239.

— 1950. Quelques facteurs qui influencent la croissance des premières racines du *Triticum vulgare*. Bull. Soc. vaud. Sc. nat. **64**, 493.