

Les cultures in vitro

Autor(en): **Marmy, François**

Objektyp: **Article**

Zeitschrift: **Actes de la Société jurassienne d'émulation**

Band (Jahr): **93 (1990)**

PDF erstellt am: **05.08.2024**

Persistenter Link: <https://doi.org/10.5169/seals-549994>

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.

Les cultures in vitro

par François Marmy

PRÉAMBULE

L'auteur fournit ici quelques informations concernant les cultures in vitro et ce, principalement, dans le domaine végétal. Il tient à remercier tout particulièrement l'entreprise Vitroculture S.A. à Porrentruy. C'est au sein de cette dernière qu'il a eu l'occasion de travailler dans ce domaine passionnant que sont les cultures in vitro.

1. QUE SIGNIFIE « CULTURES IN VITRO » ?

IN VITRO, voilà un terme qui depuis quelques années s'est échappé des laboratoires, universités et autres lieux où la science médicale et la biologie le manipulaient couramment, pour se retrouver dans la conversation de l'homme de la rue.

Il fait parfois peur, il intrigue. Pour le scientifique, il est devenu un magnifique outil de travail, une ouverture vers des applications toujours plus extraordinaires.

Ce terme est donc utilisé par les scientifiques depuis fort longtemps déjà. Celui qu'il convient de lui opposer est IN VIVO. Ce dernier signifie que l'organe, le tissu ou les cellules dont on parle se situent à « l'intérieur » de l'organisme en question.

Et voilà bien la particularité de l'IN VITRO, c'est précisément de parvenir à maintenir en vie une partie d'un être vivant à l'extérieur de cet être. Parfois, dans le cas des végétaux, c'est l'individu tout entier qui est maintenu en vie dans un milieu artificiel.

En suivant ces propos, tout un chacun aura l'impression de s'instruire sur une science récente. En fait, il n'en est rien ! Pensez donc, les premières cultures de tissus ont été réalisées par Recharging en 1893 ! Il s'agissait de bourgeons de peuplier, frêne, betterave, pissenlit, etc. Ces résultats tombent cependant dans l'oubli. En 1902, Haberlandt définit pour la première fois le problème des cultures de tissus. Bientôt, ses idées les concernant sont appliquées au monde animal. C'est ainsi qu'en 1907, le physiologiste américain Harrison parvient à cultiver un tube neural de grenouille in vitro. D'autres chercheurs s'intéressent à ses découvertes et les cultures in vitro connaissent à cette époque une belle expansion. Ce sont principalement des tissus animaux qui sont cultivés. Le monde végétal ne se laisse pas encore « manipuler ». En 1934, la première culture de tissu végétal — au sens strict du terme — est enfin réalisée par Gautheret. Il parvient à cultiver des cals (amas de cellules) d'ormes, de saule et de peuplier. Dans le monde animal, les progrès ont été jusque-là importants. En 1937, on cultive couramment des fibroblastes, des cellules endothéliales, des cellules musculaires, des cellules mésenchymateuses, des épithéliums, des éléments nerveux, etc.

Cependant, les buts de tous ces travaux resteront à cette époque :

— pour les végétaux : l'étude de la physiologie des tissus, leur formation, leur développement, etc.

— pour les animaux : l'effet de certaines substances sur les tissus, des tests pour la recherche de virus (poliomyélite) et de vaccins, l'étude des tissus malades, l'étude des tissus cancéreux.

Notons bien au passage que, sans entrer dans le domaine strict des cultures *in vitro*, l'utilisation des bactéries et des levures pour la fabrication de la bière, des yoghourts, de l'alcool, etc., était déjà connue de longue date.

2. BUTS ET TECHNIQUES

Buts : énoncés d'une manière brève, les buts des cultures *in vitro* sont de prélever sur un être vivant une partie de cet être et de la maintenir en vie de façon indépendante, afin d'effectuer sur elle des expérimentations, de conduire des travaux de recherche, ou bien de la multiplier, parfois même afin de reconstituer l'être entier.

Techniques : pour que le tissu cultivé se maintienne en vie de manière durable, il faut que ses cellules se reproduisent, faute de quoi ces dernières vieillissent, meurent et disparaissent. *In vitro*, on a pu cultiver pendant plus de trente années des tissus provenant d'un poulet et durant plus de dix ceux d'une carotte. Ce ne sont sans doute pas des records !

Il faut donc trouver des cellules susceptibles de se multiplier volontiers ! Chez les animaux, toute cellule possédant un noyau, sauf les cellules nerveuses, peut en principe se diviser. On cultive les cellules épithéliales, les cellules musculaires, les globules blancs, etc. Chez les végétaux, il faut aller chercher dans les méristèmes.

Ce sont des tissus de la plante formés de cellules indifférenciées. Les divisions y sont rapides et nombreuses (*voir figure 1*).

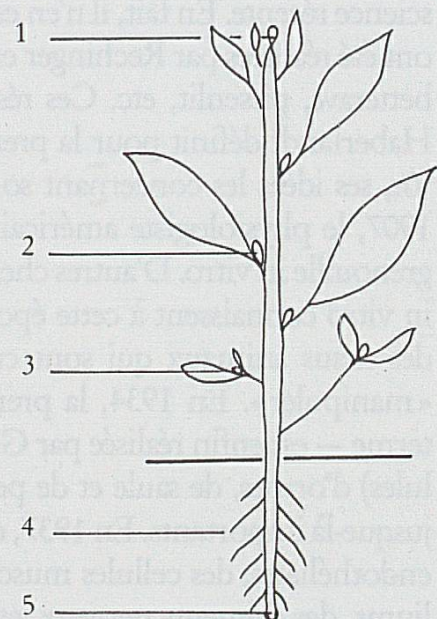


Fig. 1 - Localisation des méristèmes primaires. 1. méristème terminal; 2. méristème axillaire; 3. m. adventif; 4. méristème latéral de la racine; 5. m. terminal de la racine (selon Margara, modifié).

Quelles sont les conditions nécessaires à la mise en place de telles cultures?

L'élément primordial est l'état de propreté des cultures. Il faut même aller plus loin que cela; tout doit se dérouler en conditions stériles, à l'image en quelque sorte de ce qui se passe dans une salle d'opération. Les milieux de culture tout d'abord, eux qui devront fournir aux cellules support et éléments nutritifs, doivent être stérilisés. Parfois, la stérilisation se fait directement dans le récipient final, d'autres fois, le milieu est stérilisé à part puis ensuite coulé dans le récipient devant recevoir la culture. Le tissu vivant doit lui aussi faire l'objet de soins spéciaux. Il n'est pas possible de le stériliser au sens propre du terme. En effet les températures nécessaires à une telle opération sont beaucoup trop élevées pour qu'un être vivant leur survive. On va donc se contenter de le désinfecter au moyen de produits chimiques. Ceux-ci vont attaquer les micro-organismes vivant à la surface du tissu en question. On peut utiliser par exemple l'alcool, l'hypochlorite de calcium, l'eau oxygénée, etc. Le fragment à désinfecter va baigner dans une de ces substances durant quelques instants, de quelques secondes à quelques minutes selon la sensibilité de l'objet. Il sera ensuite rincé plusieurs fois à l'eau stérile. Parlons maintenant des ustensiles utilisés; ils sont passés dans la flamme du bec bunsen entre chaque manipulation et bien évidemment stérilisés au préalable. Le lieu où l'on travaille est en principe réservé à cet usage. Il s'agit d'une pièce propre. Elle est équipée d'une hotte à flux d'air laminaire. L'air est pompé, filtré puis pulsé depuis le fond de l'appareil en direction de l'utilisateur. Ainsi, cet endroit peut être garanti exempt de particules indésirables, bactéries, spores de champignons... (*voir illustration 1*).

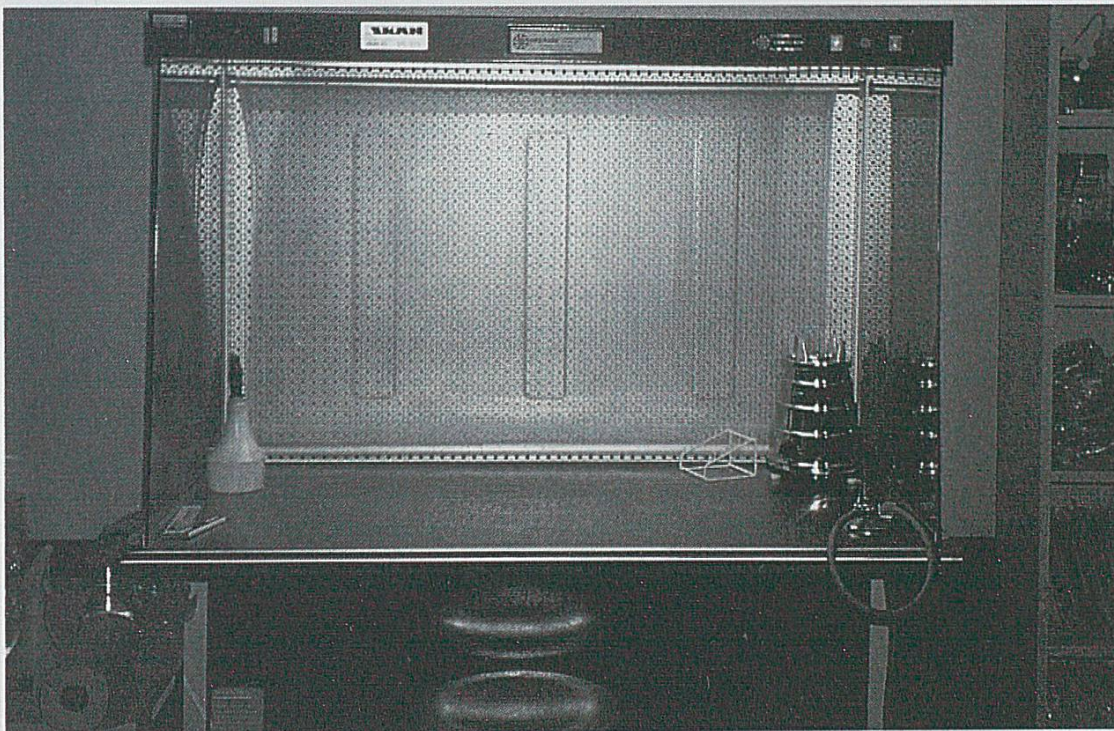


Illustration 1 - Hotte à flux d'air laminaire.

Pour plus de précautions encore, l'utilisateur de la hotte porte des gants stériles et un masque.

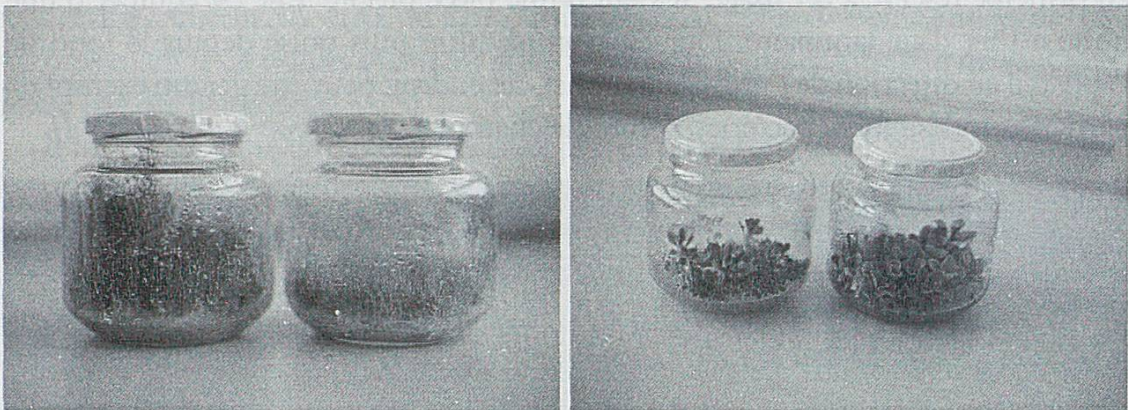
Ainsi que nous l'avons déjà dit, les milieux de culture vont apporter aux cellules support et nourriture. Ces milieux peuvent être liquides ou bien solides. De quoi sont-ils composés? Nous parlerons ici des milieux de culture pour végétaux.

1. Il faut tout d'abord de l'eau et même beaucoup d'eau, c'est elle qui représente la plus grande part de ces milieux. On la distille au préalable; ce qui signifie que les particules minérales présentes au départ vont être éliminées.

2. Les constituants minéraux qui doivent se trouver dans le milieu sont ceux qui ont été reconnus comme étant nécessaires à la croissance de la plante entière dans son biotope. Ils sont essentiels au métabolisme cellulaire. Citons-en quelques-uns: N, K, Ca, Mg, P, S, qui sont des macro-éléments et Fe, Mn, Zn, Cu, B, Mo, etc. qui sont des micro-éléments. La composition, le dosage varient en fonction de l'espèce cultivée.

3. Une source de carbone organique est également nécessaire (saccharose, glucose), en effet, la plante ne photosynthétise souvent pas assez pour produire elle-même tout le carbone dont elle a besoin.

4. Des vitamines sont ajoutées au milieu (*voir illustrations 2 et 3*).



Illustrations 2 et 3 - Les cultures de gauche ont reçu des vitamines, celles de droite en sont exemptes. Malgré le flou du cliché, on se rend compte de la différence.

5. Des hormones végétales agissent comme coordinateurs de la croissance et du développement de la plante. Une d'elles favorisera la formation de bourgeons, une autre celle des racines, une autre encore provoquera l'apparition des fleurs. Le plus souvent ces hormones sont dosées selon de savants mélanges.

Le pH doit être compris entre 5 et 6.

La température optimale se situe entre 23 et 30 degrés Celsius; mais elle peut varier selon les espèces. La lumière quant à son intensité, sa qualité et sa durée revêt une importance toute particulière (*voir illustration 4*).

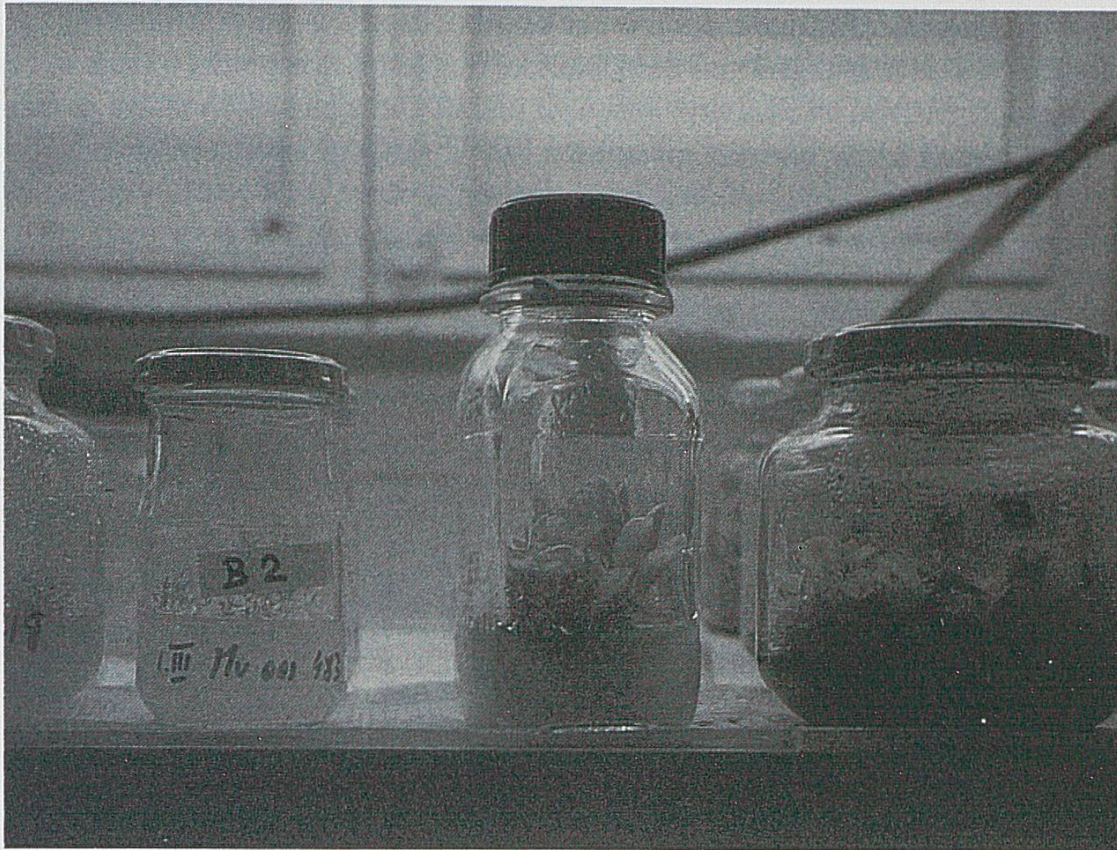


Illustration 4 - Les cultures sont éclairées par des tubes au néon selon des photopériodes variables.

3. COMMENT PROCÈDE-T-ON?

Tout commence par le but du travail. Veut-on produire des plantes ornementales? Ou bien essaie-t-on de sauver telle espèce qui semble menacée dans son milieu naturel? Ou bien encore cherche-t-on simplement une espèce pouvant permettre diverses expérimentations?

On le constate, les motivations peuvent être diverses. De tout cela va également dépendre le choix de l'espèce. Certaines d'entre elles se laissent très facilement travailler alors que d'autres «refusent» de se développer in vitro.

Une fois la plante choisie, on prélève d'abord quelques zones possédant des méristèmes. Ensuite, à l'aide d'un ou l'autre des produits cités plus haut, les fragments sont désinfectés puis rincés plusieurs fois à l'eau stérile. Pour continuer, on dépose chacun d'eux sur le milieu de culture choisi. Quelques temps après, si tout va bien, l'observateur constate le développement de nouvelles cellules, l'extrait devient vert, signe que la plante a supporté la désinfection et repris son activité

photosynthétique! Ensuite et selon le but défini au départ, il sera possible d'étudier la plante, ou de la multiplier en découpant les nouveaux méristèmes formés et ce, durant des générations! Plus tard, lorsque la plantule aura formé son réseau de racines, on pourra tenter une acclimatation à l'air libre. Cette opération est relativement délicate. Ainsi, en peu de temps, obtient-on, à partir, d'un «petit morceau de feuille», plusieurs milliers de jeunes plantes! (voir figure 2).

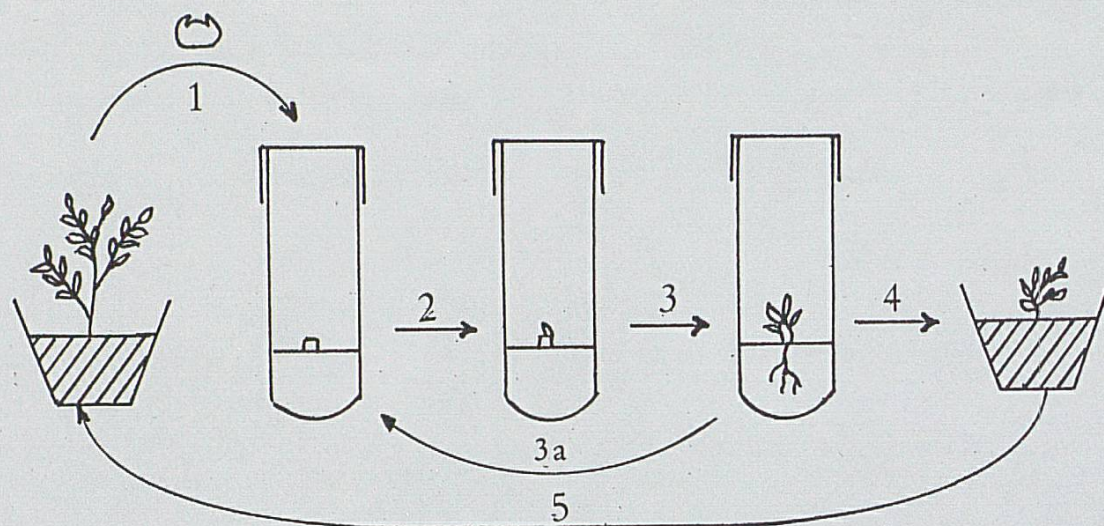


Fig 2 - Schéma de culture in vitro d'un végétal. 1. Mise en culture d'un méristème; 2. reprise de la croissance du méristème; 3. formation de la plantule; 3a. la plantule est fragmentée et distribuée dans plusieurs récipients; 4. la plantule est mise en pot et acclimatée à l'air ambiant; 5. elle se développe et devient une plante à part entière.

Dans le monde végétal, on distingue grosso modo cinq types de cultures de tissus:

a) Culture d'embryons.

Des graines sont désinfectées et l'embryon qu'elles contiennent est cultivé, soit avec ses réserves de nourriture, soit sans elles (les cotylédons sont éliminés).

b) Culture d'organes.

Les différents organes de la plante sont isolés et une fois désinfectés, ils peuvent être multipliés puis ensuite redonner une plante entière.

c) Culture de cal.

Un cal est un ensemble de cellules qui prolifèrent de manière désorganisée. Il est possible au moyen des hormones adéquates d'inverser le processus et de permettre au cal, après l'avoir multiplié par exemple, de se transformer en une plantule possédant des organes bien différenciés.

d) Cultures de cellules.

Elle ressemble beaucoup au type précédent. Les cals, au lieu d'être cultivés sur un milieu solide, sont multipliés dans un liquide nutritif.

e) Culture de protoplastes.

Les protoplastes sont des cellules végétales plasmolysées et débarrassées au moyen d'enzymes de leur paroi cellulosique. En effet les cellules végétales possèdent deux membranes. Celle qui leur donne forme est précisément celle qui est éliminée. Il ne reste dès lors que la membrane cytoplasmique; la cellule prend l'allure d'une sphère. C'est sur ce type de cellules qu'il est possible d'étudier des infections virales, la formation de la paroi ou encore d'effectuer des hybridations de cellules.

Parfois, on parvient à obtenir à nouveau la plante entière!

4. QUELQUES APPLICATIONS

Il a déjà été fait état de quelques applications dans le monde animal; citons-en encore quelques-unes: l'hormone de croissance humaine (lutte contre le nanisme) ainsi que l'interféron (lutte contre le cancer) sont extraits de cellules humaines cultivées *in vitro*. Ce sont des cellules de prépuces cultivées sur des petites billes de dextrane. On peut aussi obtenir de l'interféron ou de l'hormone de croissance en faisant travailler des bactéries « instruites » par génie génétique. Cependant, on préfère actuellement utiliser des tissus animaux ou humains plutôt que des bactéries; en effet, il suffirait de la moindre erreur dans la transcription et la substance serait rejetée par le patient.

Dans le monde végétal maintenant, voici quelques exemples d'utilisation des techniques de cultures *in vitro*: on peut actuellement cultiver des embryons interspécifiques qui normalement ne germent pas. On peut ainsi obtenir de nouvelles espèces ou de nouvelles variétés d'orchidées, d'arbres fruitiers.

Le palmier à huile germe *in vivo* en plusieurs mois; *in vitro*, il ne lui faut que quelques jours.

Des plantes ornementales comme les bégonias, frésias, orchidées, etc., sont multipliées par micropropagation. Ainsi, dans le cas de la *Saintpaulia*, obtient-on en une année à partir d'une plante, non pas quarante nouveaux exemplaires comme par le passé, mais dix mille!

Un autre exemple encore; certaines plantes étaient « traditionnellement » parasitées par des virus, or dans les méristèmes le virus n'est pas encore installé. En prélevant ces derniers, puis en les multipliant *in vitro*, il a été possible de sauver certaines variétés de choux-fleurs, fraisiers, œillets, fruitiers, etc.

5. QU'OFFRE-T-ELLE À L'HOMME ET À LA RECHERCHE?

C'est déjà un merveilleux outil de travail pour la recherche. Grâce à l'in vitro, on a en toute saison des végétaux disponibles pour réaliser certaines expériences ainsi que pour démarrer une production maraîchère, par exemple. C'est en partie à cela que l'on doit les fraises en hiver, les cerises en automne ; les orchidées tropicales sont désormais vendues dans les grandes surfaces, elles sont donc à la portée de chacun. On produit des substances pharmaceutiques, des médicaments. On peut cultiver in vitro les globules blancs d'un malade, les stimuler à lutter contre la maladie en question, puis les réinjecter dans le patient. L'in vitro a permis la mise au point et l'expansion de techniques appartenant au génie génétique. Des cellules de moelle osseuse, provenant d'un donneur, sont cultivées in vitro avant d'être injectées dans la circulation sanguine du receveur atteint de leucémie. Ces nouvelles cellules retrouvent d'elles-mêmes les sites où elles doivent s'installer.

In vitro, c'est aussi et c'est peut-être cela qui l'a rendu célèbre, « la fécondation in vitro » ou fivette, espoir rendu à de nombreux couples sans enfant.

Un dernier exemple pour terminer ce propos, exemple qui se veut aussi un petit clin d'œil. On peut extraire le code génétique, le brin d'ADN qui permet à la luciole de briller dans la nuit. Imaginez que ce brin d'ADN, ce message a été introduit dans des protoplastes de maïs et que, à partir de là, on a obtenu un plant de maïs complet avec l'ADN de l'insecte ! Voilà une plante lumineuse. A quand, les candélabres végétaux ? Cette plante existe ! Mais elle est bien cachée dans un institut de recherche et ce n'est sans doute pas demain qu'elle en sortira. Dommage, peut-être !

Ceci pour bien rappeler que l'homme conserve un certain respect, une certaine éthique vis-à-vis de ce monde extraordinaire.

François Marmy

François Marmy (1959) a passé son enfance à Sion et à Porrentruy. Après avoir obtenu un baccalauréat B au Lycée cantonal jurassien, il fréquente les cours de l'université de Neuchâtel où il obtient sa licence en biologie et enfin son certificat d'aptitudes pédagogiques. Fr. Marmy enseigne actuellement au collège Stockmar, à Porrentruy et est biologiste-conseil à Vitroculture S.A., en cette même ville.

Publications: Article dans *Les réserves naturelles du Jura bernois*, 1990. — *Les fossiles vivants* in « Le Musée jurassien des sciences naturelles », 1989.

BIBLIOGRAPHIE

- R.-J. GAUTHERET, *La culture des tissus*, Gallimard, 1945.
J. MARGARA, *Bases de la multiplication végétative*, INRA, 1981.
Journal *L'HEBDO*, *Dossier génie génétique*, 1989.

Biotechnologie pour cours d'eau

par Robert Lacroix

Biologie ingénieur, Institut de l'Énergie, Québec

Depuis de très nombreuses années, les cours d'eau du monde entier subissent les dégradations de l'homme. Ces dégradations sont dues à l'augmentation de la pollution et à l'exploitation excessive des ressources naturelles.

Il est donc nécessaire de trouver des solutions pour restaurer la qualité des cours d'eau et pour protéger les ressources naturelles.

Technologie

BIOTECHNOLOGIE UTILISANT L'OPTIQUE

Dans la plupart des cas, les cours d'eau sont pollués par des matières organiques et des nutriments. Ces polluants sont dégradés par des micro-organismes. Cependant, la dégradation est souvent lente et incomplète. La biotechnologie utilisant l'optique permet d'accélérer et d'améliorer la dégradation des polluants.

Il existe plusieurs méthodes de biotechnologie utilisant l'optique. Ces méthodes sont basées sur l'utilisation de micro-organismes génétiquement modifiés.

Les avantages de ces méthodes sont :
- la rapidité de la dégradation ;
- la spécificité de l'action ;
- la possibilité de travailler en continu.

Les conditions de culture des micro-organismes doivent être optimisées pour maximiser l'efficacité de la biotechnologie.

- augmentation de la turbidité ;

- augmentation de la température ;

- excès de matière organique ;

- excès de nutriments (azote et phosphore) ;

- pertes de compléments de base ;

- exposition des bactéries à l'oxygène ;

- abaissement du pH ;

