

# Les cultures d'organes et leurs applications en physiologie végétale

Autor(en): **Schopfer, W.-H.**

Objektyp: **Article**

Zeitschrift: **Verhandlungen der Schweizerischen Naturforschenden Gesellschaft = Actes de la Société Helvétique des Sciences Naturelles = Atti della Società Elvetica di Scienze Naturali**

Band (Jahr): **132 (1952)**

PDF erstellt am: **27.06.2024**

Persistenter Link: <https://doi.org/10.5169/seals-90488>

## **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 d'organes et leurs applications en physiologie végétale

Par

W.-H. SCHOPFER

(Institut botanique et Jardin botanique, Université, Berne)

Dans la nature un végétal, plante supérieure ou microorganisme, croît sur un substrat ou dans celui-ci: sol, eau, être vivant servant d'hôte.

L'étude exacte et détaillée du développement d'un organisme a imposé aux expérimentateurs une nécessité à laquelle ils n'ont pu se soustraire à savoir, extraire le végétal de son milieu et tenter de le cultiver au laboratoire dans des conditions aussi voisines que possible de celles de la nature.

On créa des milieux nutritifs naturels ou artificiels, ces derniers devant contenir, exactement dosés et équilibrés entre eux, tous les constituants que la plante extrait de son substrat naturel.

L'histoire des sciences nous enseigne que, très tôt, des essais ont été effectués avec succès; nous pensons avant tout à ceux de WOODWARD (1699). Sans entrer dans des détails superflus ici, constatons simplement que, dès 1860, grâce aux travaux de PFEFFER et de SACHS, on savait cultiver une plante verte, autotrophe, sur des milieux synthétiques liquides contenant les sels minéraux indispensables. L'étude de la nutrition minérale des plantes supérieures a fait des progrès considérables; nos connaissances relatives aux éléments traces (Spurenelemente) se sont précisées; la méthode de culture de végétaux en milieu liquide (cultures sur eau, sans sol) est appliquée à l'échelle industrielle.

En 1870, J. RAULIN crée le premier milieu synthétique pour un organisme hétérotrophe (*Sterigmatocystis nigra*). Ce milieu, plus complexe que celui requis par une plante verte, contient du sucre que le Champignon, privé de chlorophylle, ne peut synthétiser.

Dès ce moment la microbiologie prend son essor; un nombre toujours plus considérable de microorganismes, Bactéries, Champignons, Flagellés peut être cultivé sur des milieux synthétiques. Chaque liquide nutritif est exactement adapté aux besoins et aux exigences de l'organisme étudié; seules ces conditions de culture permettent une étude rationnelle et précise de son métabolisme.

Mais, dès que l'on eut compris que l'étude de la morphogenèse était inséparable de celle du métabolisme, les cultures d'organes s'imposèrent.

Précisons rapidement ce qui caractérise la morphogenèse d'une plante supérieure. Douée d'une forme spécifique, manifestant une très nette polarité, elle possède des organes structurés constitués par des tissus et des cellules différenciés assumant des fonctions déterminées. Pourtant, au cours de toute son existence, la plante supérieure conserve des points végétatifs à l'extrémité de la racine, de la tige et de leurs ramifications; ce sont des méristèmes primaires, structurés, composés de cellules embryonnaires, totipotentes, possédant le pouvoir de se diviser. La croissance de la plante dépend de l'activité de ces cellules susceptibles de se différencier; les méristèmes primaires (points végétatifs) et secondaires (cambiums) fournissent donc les éléments grâce auxquels la morphogenèse s'effectue. Ce sont précisément ces tissus méristématiques qui peuvent être cultivés sur des milieux synthétiques, à l'instar des microorganismes. Nous citons ici les remarquables méthodes de culture de tissus créées par R. GAUTHERET et ses élèves; les résultats que leur application a permis d'obtenir sont d'une importance essentielle, tant pour l'étude de la morphogenèse que pour celle de la cytologie (1, 2).

On comprend qu'un organe constitué, partiellement au moins, par des cellules embryonnaires, séparé de la plante qui l'a formé, est également susceptible d'être cultivé en milieu synthétique, liquide ou solide; c'est notamment le cas pour les embryons séparés des cotylédons. En des pages savoureuses CHARLES BONNET, dans son célèbre ouvrage sur l'usage des feuilles (1754), nous décrit l'expérience, réussie semble-t-il, qu'il effectua; séparant de leurs cotylédons des embryons de *Phaseolus multiflorus* et de *Fagopyrum*, il les cultive dans le sol, en pots et en obtient des plantes. La méthode s'est heureusement perfectionnée; on sait aujourd'hui cultiver stérilement des embryons sur milieu synthétique gélosé et, aisément, on obtient des plantules différenciées que l'on peut conduire jusqu'à la floraison. Cette méthode est également susceptible d'applications pratiques. Certaines graines germent lentement étant donné l'imperméabilité du tégument séminal; c'est le cas pour *Pirus*, dont la germination requiert une année ou plus; l'embryon est extrait de la graine, repiqué sur un milieu gélosé stérile contenant du sucre et des sels minéraux; après trois semaines la plantule atteint un développement appréciable et peut être transplantée dans le sol où elle se développe comme une plante normale mais avec une avance considérable (3).

Un jeune ovaire peut également être cultivé dans les mêmes conditions; si la pollinisation a eu lieu auparavant, il produit in vitro des graines fertiles.

Surtout, les racines peuvent être aujourd'hui sans difficulté l'objet d'une culture en milieu synthétique. Une extrémité de racine de pois ou de tomate contient le point végétatif. Coupé à 1 cm environ de la pointe et placé dans une solution nutritive adéquate, le méristème

conserve son activité, les divisions cellulaires se produisent et la racine se développe, conservant sa forme spécifique et sa polarité et, dans certains cas, se ramifiant. La culture peut être repiquée indéfiniment si l'on coupe l'extrémité de la racine cultivée et la transporte dans un nouveau milieu.

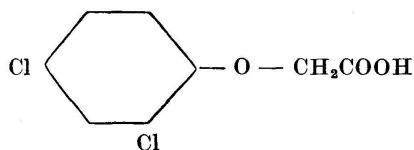
ROBBINS (4) qui, en 1922, fit les premiers essais de culture aseptique en milieu défini composé de glucose et de substances minérales, fut obligé d'ajouter à ce dernier de l'extrait de levure ou de la peptone qui devaient apporter des facteurs de croissance. Après la découverte de l'action de la vitamine B<sub>1</sub> (aneurine) sur les microorganismes (1934) (5), on s'avisait de substituer cette dernière à l'extrait de levure; en 1937, ROBBINS et BARTLEY (6), WHITE (7), BONNER et ADDICOTT (8) démontrèrent simultanément et indépendamment que la vitamine B<sub>1</sub> était un facteur de croissance indispensable à la culture de la racine utilisée comme test; le milieu de culture devient complètement synthétique et ne contient plus que des substances chimiquement définies: saccharose, que la racine reçoit normalement de la feuille, nitrate comme source d'azote, sels minéraux et éléments traces auxquels s'ajoute l'aneurine. Il est ainsi démontré, pour la première fois, que la racine est auxo-hétérotrophe pour une ou plusieurs vitamines qu'elle ne peut pas synthétiser en culture pure. Dans la nature elle les reçoit des feuilles. Les besoins des racines varient d'une espèce à l'autre; la vitamine B<sub>1</sub>, l'acide nicotinique (vitamine PP), la pyridoxine (vitamine B<sub>6</sub>) sont requises, seules ou en constellations de deux ou trois vitamines. Elles ont pour la racine la même spécificité d'action que pour les microorganismes, Bactéries et Champignons. Ajoutons que des acides aminés sont parfois requis.

Dès ce moment les recherches se multiplient et cette technique de culture d'organe est utilisée avec succès pour des fins diverses. En effet, les cellules méristématiques constituent des réactifs d'une extrême sensibilité à l'égard de diverses substances actives. L'action de toute substance paralysant, directement ou indirectement, la division cellulaire, s'exprime par un ralentissement ou un arrêt de la croissance.

Dans des conditions de culture définies la racine requiert, pour une croissance *in vitro* normale, une hormone de croissance du groupe des auxines; la substance utilisée est généralement l'acide indole-3-acétique. En 1936, M. GEIGER-HUBER et BURLET démontrent que la concentration de l'hormone détermine la réaction de la racine; à la concentration  $M$   $2,86 \times 10^{-11}$  (soit 0,005  $\gamma$  par litre de milieu) une accélération de la croissance de 100% par rapport aux contrôles se manifeste, alors qu'à la concentration  $M$   $2,86 \times 10^{-5}$  la croissance est presque complètement bloquée. Ces résultats, maintes fois confirmés, ont ouvert une nouvelle voie dans l'étude des hormones végétales (9).

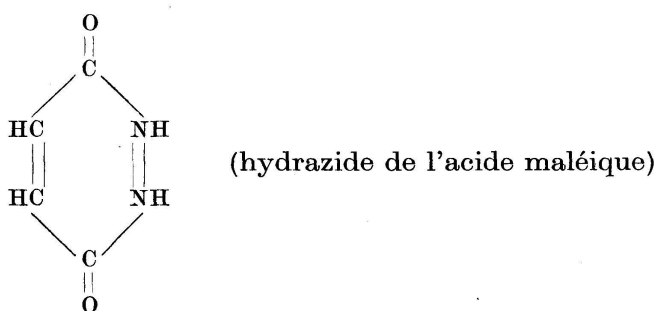
L'attention se concentre aujourd'hui sur les *substances* dites *herbicides*; utilisées dans la pratique pour le désherbage elles agissent plus ou moins spécifiquement sur un groupe de végétaux, Monocotylédones ou Dicotylédones. Des études détaillées ont montré que ces herbicides bloquent la croissance, agissent sur la morphogenèse et perturbent pro-

fondément le métabolisme. L'une des mieux étudiées parmi ces substances est l'acide 2,4-dichloro-phénoxy-acétique (2,4-D)



Avec M. BEIN, nous l'avons fait agir sur des cultures aseptiques de racines de *Zea mays* (Monocotylédone) et de *Pisum* (Dicotylédone) (10). Nous relevons une analogie frappante entre l'action du 2,4-D et celle de l'hormone de croissance, l'acide indole-3-acétique. A la concentration M.  $10^{-11}$  le 2,4-D détermine une augmentation de la croissance de 70% et à la concentration M.  $10^{-6}$  une inhibition de 70% par rapport aux contrôles. *Pisum* est beaucoup plus sensible et à la concentration M.  $10^{-7}$  l'inhibition est de 90%. Il semble donc qu'avant d'agir comme inhibiteur, le 2,4-D exerce, dans les conditions où nous l'avons étudié, un effet hormonal positif. La différence essentielle réside dans le fait qu'en fonction de la concentration la toxicité du 2,4-D augmente beaucoup plus rapidement que celle de l'acide indole-3-acétique, d'où l'effet herbicide (11) du premier.

Une autre substance est actuellement à l'ordre du jour, l'hydrazide de l'acide maléique. Nous avons montré que cette substance inhibe chez *Pisum* la biosynthèse de la chlorophylle et celle des caroténoïdes (12). Comme SCHOENE et HOFFMANN l'ont montré (13), l'hydrazide maléique est un inhibiteur de la croissance racinaire. Soixante-dix  $\gamma$  d'hydrazide maléique pour 20 cm<sup>3</sup> de milieu de KNOP dans lequel croît une plantule de *Pisum* déterminent une inhibition de 50% de la formation des racines latérales; l'activité des points végétatifs de ces dernières est plus rapidement entravée que celle du point végétatif de la racine principale.

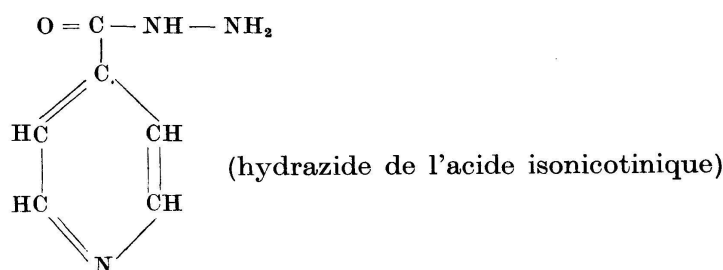


L'effet de l'hydrazide maléique est particulièrement remarquable sur les racines de *Pisum* en culture pure. Avec moins de 100  $\gamma$  pour 10 cm<sup>3</sup> de milieu de BONNER la croissance de la racine est diminuée de 50%. Un tel blocage suggère que l'hydrazide maléique doit, d'une manière ou d'une autre, empêcher l'action de l'hormone gouvernant la croissance racinaire. En effet, dans des conditions de concentration bien déterminées, l'acide indole-3-acétique est apte à rendre réversible l'effet de l'hydrazide maléique. Ce dernier fonctionne donc comme *anta-*

*goniste physiologique* de l'hormone de croissance. Quoique le chimisme du phénomène ne soit pas clair pour l'instant, un tel antagonisme est apte à nous faire mieux saisir le mécanisme de l'action hormonale.

Les *antibiotiques* n'intéressent que la bactériologie et la médecine, semble-t-il. On oublie que divers antibiotiques, parmi les plus actifs, sont produits par des Champignons dont beaucoup se trouvent dans le sol (*Streptomyces* par ex.). Pour autant que ces derniers croissent sur un substrat favorable, ils produiront dans la nature les inhibiteurs qu'on les oblige à former en fortes quantités *in vitro*. Ces antibiotiques naturels doivent agir sur la microflore, éventuellement sur les plantes supérieures et constituent un facteur écologique. Il importait donc d'examiner si ces antibiotiques n'agissent pas sur la croissance radiculaire, *in vitro* (plantules et racines en culture pure). Effectivement, la croissance radiculaire (racine principale et racines latérales chez *Pisum* cultivé sur milieu de KNO<sub>3</sub>) est plus ou moins fortement inhibée par la streptomycine (14), la guanidine, constituant de cette dernière, la chloromycétine, l'auromycine et la pénicilline; les trois premières de ces substances sont également antichlorophyllogènes et anticarotinogènes. La sensibilité de la racine de *Pisum* en culture pure est plus grande encore; un taux de streptomycine de 12,5  $\gamma$  diminue la croissance de plus de la moitié (14).

Le rimifon (hydrazide de l'acide isonicotinique), actif sur *Mycobacterium tuberculosis* et dont jusqu'à maintenant on ne connaissait que les propriétés antibactériennes s'est révélé être un inhibiteur fort actif de la croissance radiculaire. *In vivo*, le rimifon est également anticarotinogène (14).



Une étude approfondie de l'action de l'hydrazide de l'acide isonicotinique sur la racine *in vitro* nous a montré, qu'ici encore, dans des conditions déterminées de concentration, l'acide indole-3-acétique rend réversible l'inhibition produite par le rimifon. La figure suivante le démontre nettement (voir fig. 1).

Il y a donc antagonisme physiologique entre l'hormone de croissance et l'hydrazide de l'acide isonicotinique.

Toutes les substances dont nous venons d'évoquer l'effet agissent en ralentissant puis en bloquant les divisions cellulaires des méristèmes; il n'est pas démontré qu'elles agissent directement sur les mitoses; leur action primaire doit être recherchée dans le cytoplasme.

L'application de la méthode des cultures de racines à l'étude des *antagonismes compétitifs* a permis de préciser la nature de ces derniers. Un antagonisme est dit «compétitif» lorsqu'un inhibiteur déplace de son

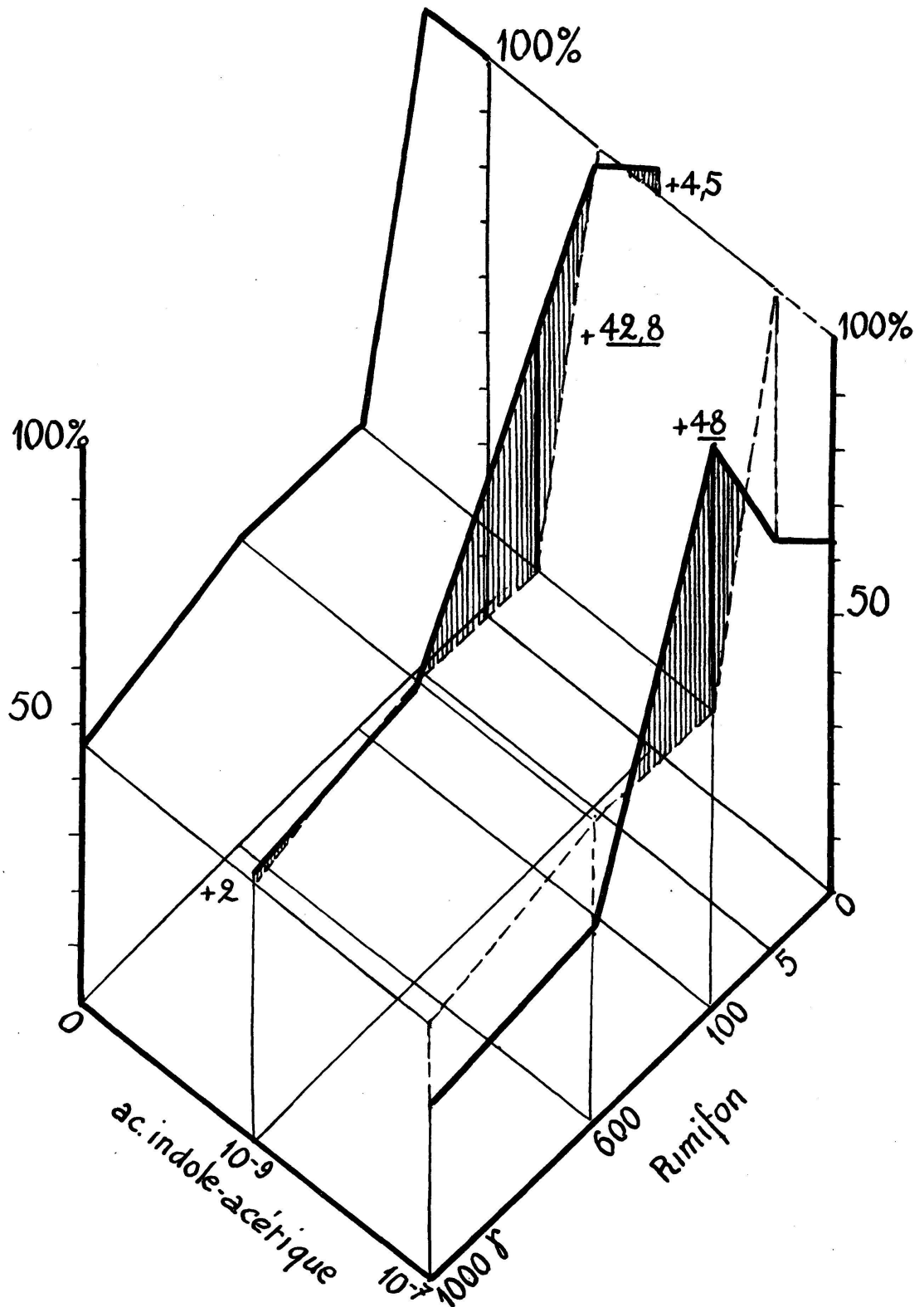
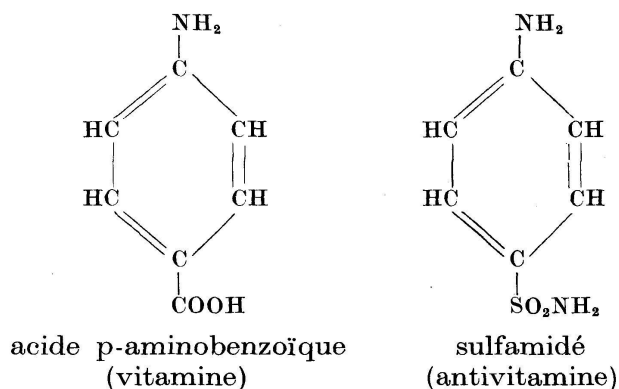


Fig. 1

Action de l'hydrazide de l'acide isonicotinique (rimifon) et de l'acide indole-3-acétique sur la racine de *Pisum* in vitro. La courbe de gauche exprime l'effet inhibiteur du rimifon seul. Les zones hachurées (avec M.  $10^{-7}$  et  $10^{-9}$  d'acide indole-3-acétique) indiquent l'intensité de la désinhibition soit la différence entre le rimifon seul et le rimifon + acide indole-3-acétique. Les croissances sont exprimées par rapport au contrôle comptant pour cent. Les cultures sont faites dans 20 cm<sup>3</sup> de milieu.

support un métabolite essentiel (vitamine fonctionnant comme co-ferment); de structure très voisine il se substitue à lui mais ne peut assumer ses fonctions; il en résulte un blocage d'une chaîne métabolique importante et, par voie de conséquence, un arrêt de la division cellulaire, de la multiplication et de la croissance. L'action sur le métabolisme est primaire, celle sur la morphogénèse secondaire.

Un sulfamidé est bactériostatique car, selon les expériences et les théories de WOODS (15) et FILDES (16), il déplace l'acide *p*-aminobenzoïque, vitamine nécessaire au développement; il agit comme une anti-vitamine (17, 18).



L'effet bactériostatique du sulfamidé est rendu réversible par l'addition d'acide *p*-aminobenzoïque (APAB); ce dernier agit d'une manière très spécifique. Pourtant, en 1946 (19), nous avons montré que la désinhibition pouvait être obtenue non seulement à l'aide d'APAB, mais aussi de purines, adénine par ex. On sait que l'APAB est un constituant de l'acide folique. On peut donc admettre que l'APAB fait partie d'un système enzymatique participant à la biosynthèse des purines à partir d'un précurseur plus simple; les purines elles-mêmes sont des constituants des acides ribonucléiques et désoxyribonucléiques, ainsi que de coferments importants. Des faits identiques ont été mis en évidence par SHIVE et ROBERTS (20) à l'aide d'*Escherichia coli*. A la suite de ces observations il est aujourd'hui admis que le déplacement de l'APAB par le sulfamidé est un phénomène primaire dont l'effet est un arrêt de la biosynthèse de purines; l'effet final du déplacement s'exprime, entre autre, par une perturbation de la biosynthèse des acides nucléiques. Il a été démontré que la biosynthèse de certains acides aminés est également bloquée.

Or, nous avons montré que le sulfamidé arrête également la croissance radriculaire d'une plantule de *Pisum*; l'APAB est désinhibiteur. W. ANKER, dans un travail très détaillé, a retrouvé les mêmes phénomènes avec une culture pure de racine de *Pisum*. La figure 2 résume une expérience particulièrement démonstrative, faite avec l'irgafène (diméthyl-benzoyl-sulfanilamide) et l'APAB (21, 22).

A la concentration 1:6.10<sup>5</sup> l'irgafène inhibe fortement; après addition d'APAB à la concentration 1:6.10<sup>5</sup>, la désinhibition est presque totale après 26 jours de culture.



Ici encore la désinhibition peut être obtenue avec d'autres substances que l'APAB; lorsque l'inhibiteur est le cibazol (sulfanilamido-thiazol), la guanine et l'acide adénosinephosphorique ont une action compensatrice; lorsqu'on opère avec l'irgafène, la guanine et, parmi les pyrimidines, la thymine, l'uracile et la cytosine, qui sont également des constituants des acides nucléiques, fonctionnent comme désinhibiteurs.

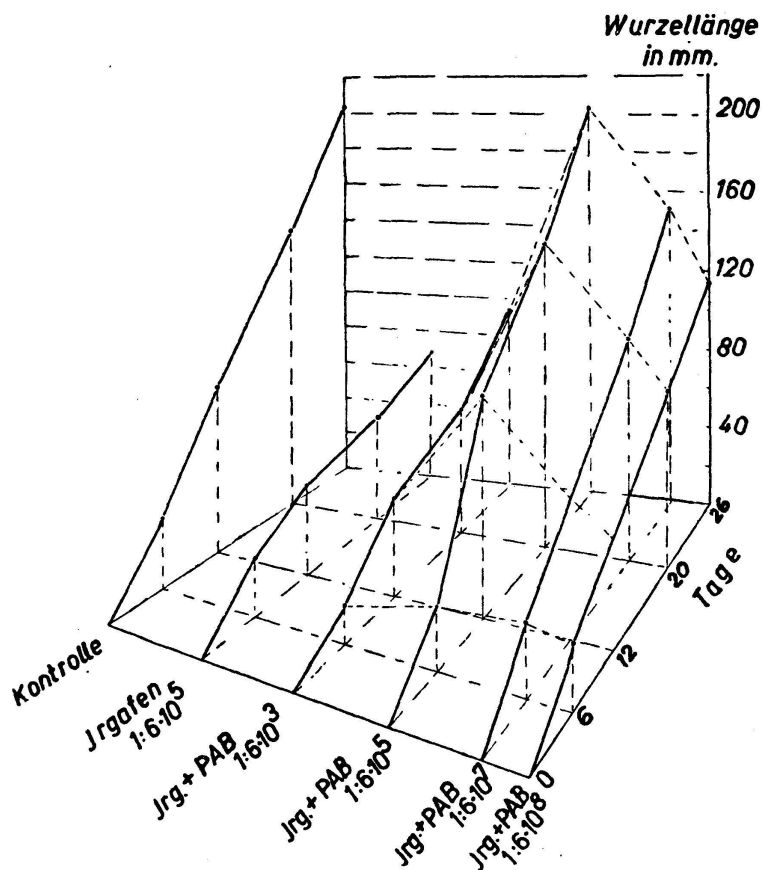


Fig. 2

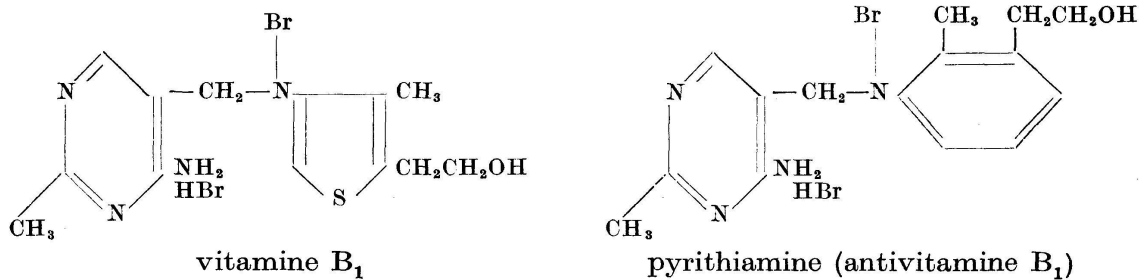
Croissance de la racine de *Pisum* en présence d'irgafène seul ou additionné d'APAB (d'après W. ANKER, 1951)

Pour la racine comme pour le microorganisme (*Saccharomyces*) il faut admettre que le sulfamidé perturbe le métabolisme des acides nucléiques; avec les cellules embryonnaires du méristème infiniment mieux qu'avec un microorganisme, il est possible de le démontrer par voie cytochimique. On relève entre autres que l'acide ribonucléique cytoplasmique des cellules méristématiques ayant subi l'action du cibazol est beaucoup plus rapidement attaqué par la ribonucléase que chez les cellules des méristèmes témoins.

Cet effet des sulfamidés nous permet d'entrevoir leur utilisation éventuelle en cytogénétique; en effet, les travaux de PETERS et ceux de FULLER attestent que certains sulfamidés ont une action polyploïdisante sur les cellules des méristèmes radiculaires d'*Allium cepa*; cette action,

plus faible que celle de la colchicine est cependant très symptomatique du fait que l'agent troublant les mitoses dérègle le métabolisme des acides nucléiques.

Une autre antivitamine, la pyriéthiamine, antagoniste de l'aneurine (vitamine B<sub>1</sub>, antipolynévritique) nous a fourni des résultats inattendus. La pyriéthiamine diffère de l'aneurine du fait que le 4-méthyl-5-β oxyéthyl-thiazol de cette dernière est remplacé par une 2-méthyl-3-β oxyéthyl-pyridine (23 à 26).



Cette pyriéthiamine, déplaçant l'aneurine de son support, peut déclencher chez l'animal une avitaminose B<sub>1</sub> artificielle aux symptômes aussi marqués que ceux déterminés par l'absence d'aneurine dans le régime. (D. W. WOOLLEY et A. G. C. WHITE, 1943) (27).

La pyriéthiamine se révèle être un remarquable inhibiteur de la croissance racinaire de *Pisum*; avec 0,5 γ pour 10 cm<sup>3</sup> de milieu, la croissance n'est plus que le 50% de celle des contrôles; l'inhibition est rendue réversible par addition d'aneurine. Comme c'est le cas chez l'animal nous déclenchons chez la racine en culture pure une avitaminose artificielle dont le siège se trouve dans les cellules embryonnaires du méristème. Un certain nombre de faits nous autorise à admettre que le point d'attaque primaire de l'antivitamine doit être recherché dans le cytoplasma (28).

Nous serions tenté de croire que, seul, le déplacement de la vitamine B<sub>1</sub> est responsable de l'arrêt de la croissance. Ce n'est pas le cas. Nous avons déterminé dans des racines ayant subi l'action de doses croissantes de pyriéthiamine, le taux de diverses vitamines synthétisées, hydro-solubles, autres que l'aneurine à l'égard de laquelle la racine est hétérotrophe: pyridoxine (vitamine B<sub>6</sub>) acide folique, vitamine B<sub>12</sub>, acide nicotinique, acide pantothénique, biotine, riboflavine (29). Après avoir subi l'action de 1 γ de pyriéthiamine, les taux de toutes les vitamines citées sont fortement modifiés:

pyridoxine,	très forte hypervitaminose
vit. B <sub>12</sub> ,	très forte hypervitaminose
ac. folique,	forte hypervitaminose
ac. pantothénique,	faible hypervitaminose
ac. nicotinique,	faible hypervitaminose
biotine,	taux inchangé
riboflavine,	faible hypovitaminose
aneurine,	accélération de la destruction, ou de l'inactivation

On croit, avec cette molécule de pyriéthiamine, ne toucher qu'un point de l'infrastructure cytoplasmique, là où s'insèrent les molécules de vitamine B<sub>1</sub> ajoutées; il en va tout différemment et le trouble apporté dans le métabolisme et le fonctionnement de l'aneurine se répercute dans tout *l'équilibre vitaminique* qui subit de profondes modifications. Nous insistons sur l'importance de cette notion nouvelle d'équilibre vitaminique qui peut être si facilement vérifiée à l'aide de microorganismes. Pour que la croissance s'effectue normalement, il faut que toutes les vitamines synthétisées ou présentes dans un organe se trouvent entre elles dans des rapports définis; le déplacement de l'aneurine mais aussi les conséquences lointaines de ce dernier sont les facteurs déterminant l'inhibition.

D'autres problèmes, importants pour la physiologie végétale, ne peuvent être abordés qu'à l'aide des cultures de racines. Nous évoquons celui de la biosynthèse des vitamines ou d'autres substances actives. Nous savons qu'une plante verte est, dans une très large mesure, autotrophe pour les facteurs vitaminiques dont elle a besoin. Mais, dans quels organes ces biocatalyseurs sont-ils fabriqués? Comment se comportent les organes sans chlorophylle? Les biosynthèses s'effectuent-elles obligatoirement dans les feuilles? L'analyse globale de la plante ne nous donne aucun renseignement pas plus que celle d'organes détachés de la plante après avoir reçu de cette dernière toutes les substances dont ils ont besoin. Si l'on trouve le facteur étudié dans la racine, nous ne pouvons savoir si elle l'a fabriqué elle-même ou si elle l'a reçu de la feuille; il est nécessaire d'effectuer une culture d'organe. Ces problèmes ont été abordés dès que les tests microbiologiques pour la détermination des vitamines ont été au point.

Étudiant diverses racines en culture pure (lin, trèfle, luzerne, tomate), J. BONNER constate qu'après de nombreux repiquages (de 4 à 36 selon l'espèce) le pouvoir de synthèse de la racine isolée est toujours présent (30). R. LOUIS, étudiant la racine de *Pisum* arrive à la même conclusion; la racine isolée est donc douée d'une certaine autonomie physiologique; elle paraît à première vue surprenante si l'on songe à la proximité immédiate de la tige et de la feuille chez une plantule complète. Le pouvoir de synthèse de la racine isolée est-il vraiment aussi intense que celui de la racine in vivo en communication avec les autres organes? La question paraît difficile à résoudre. R. LOUIS y est parvenu en ajoutant à la racine en culture pure in vitro des extraits de feuilles préparés selon une technique spéciale; l'adjonction de ces derniers détermine une très nette augmentation du taux de la biotine radiculaire. L'autonomie physiologique de la racine in vitro n'est donc que partielle; il doit exister in vivo des corrélations physiologiques feuille-racine telles que la première gouverne, sans pourtant la contrôler complètement, la biosynthèse de la biotine dans la seconde (31).

La riboflavine, l'acide nicotinique et la pyridoxine sont également synthétisées dans la racine in vitro; après sept passages, les taux de ces vitamines ne subissent que peu de modifications.

L'acide pantothénique semble se comporter tout différemment. L'extrémité de racine inoculée est riche en cette vitamine; elle en contient 43,9  $\mu\text{g}$  par  $\text{mg}/\text{sec}$ . Après le premier passage une forte diminution du taux se manifeste déjà et après le troisième passage la racine, qui se développe pourtant, n'en contient pour ainsi dire plus. Il n'a pas pu être démontré que l'acide pantothénique se transformait et, après plusieurs repiquages, se trouvait sous une forme inaccessible au micro-organisme test. Ce surprenant phénomène imposait un contrôle consistant à déterminer le taux en acide pantothénique de racines *in vivo*, en relation avec les feuilles. R. LOUIS observe que si la plante conserve ses feuilles ou seulement sa tige, le taux en acide pantothénique de la racine reste appréciable après sept semaines; par contre, si la tige est coupée, la racine se comporte *in vivo* de la même manière qu'*in vitro*; après trois semaines l'acide pantothénique ne peut être retrouvé. Il est donc clairement démontré que des corrélations essentielles existent entre la feuille et la racine en ce qui concerne l'acide pantothénique; le pouvoir de synthèse de la racine est extrêmement affaibli, tout au moins avec les conditions de culture utilisées, et c'est la feuille qui produit ce facteur vitaminique essentiel qu'elle livre à la partie radiculaire (32).

Ce seul problème atteste les services que la technique de culture de racine peut rendre pour la résolution de problèmes de physiologie essentiels à tous les points de vue.

En étudiant le comportement de l'organe isolé, en culture, nous ignorons tout de sa physiologie *in vivo*, et inversement. Seule la confrontation des résultats obtenus *in vivo* et *in vitro* nous permet d'entrevoir la complexité des corrélations biochimiques à l'intérieur d'un être vivant dont nous savons qu'il est un tout, tant du point de vue morphologique que du point de vue physiologique.

En terminant cet exposé évoquons encore un problème d'un tout autre ordre apte à montrer jusqu'où peut conduire la technique de culture d'organe.

Nous avons séparé les organes d'une plante, isolé la racine qui a été cultivée séparément; les corrélations normales ont été supprimées et l'autonomie physiologique partielle de la racine a été mise en évidence. Ne serait-il pas possible de réunir à nouveau les parties isolées et de reconstituer une plantule entre les organes de laquelle les corrélations se rétabliraient? C'est ce que nous avons tenté avec R. LOUIS (33).

Des cultures de méristèmes radiculaires de *Pisum* ont été effectuées sur milieu de BONNER avec aneurine; après quelques jours les méristèmes sont extraits et placés dans du sable stérile arrosé avec du liquide de KNOP; des points végétatifs de tige, du même âge, sont greffés dans une fente de la racine de 1 mm environ de diamètre et le tout est maintenu par une ligature. Un début de soudure s'effectue et la plantule ainsi reconstituée se maintient pendant deux à trois semaines au cours desquelles la racine croît par suite d'un allongement des cellules et d'une division de celles-ci dans le méristème. Après trois semaines l'épibiotte dépérit alors que l'hypobiotte (racine) reste plus longtemps en vie. La

réussite n'est que partielle et il semble que les corrélations normales ont de la peine à s'établir. En effet, normalement, l'épibioté feuillé devrait synthétiser l'acide pantothénique et le fournir à la racine comme c'est le cas pour une plantule normale. La démonstration n'est pas encore faite; les corrélations feuille-racine, dans les deux sens, sont certainement plus compliquées qu'on ne se l'imagine.

Les recherches devront être complétées en variant les conditions de culture, en ajoutant au milieu (sable) non seulement du liquide de KNOP mais aussi divers facteurs actifs dont la biosynthèse, au début, ne s'effectue peut-être que difficilement dans l'épibioté. Si la greffe est viable il nous sera possible d'accomplir avec la plantule reconstituée et relativement aux corrélations biochimiques les mêmes expériences qu'avec les plantules normales.

Examen de l'activité de substances, réactions cytologiques et caryologiques des cellules méristématiques aux herbicides, aux hormones et aux antibiotiques, analyse du mode d'action de ces substances, étude des potentialités et de l'autonomie biochimiques des organes séparés, mise en évidence des corrélations biochimiques, détermination des organes dans lesquels s'effectuent des biosynthèses importantes: la variété des problèmes très brièvement évoqués au cours de cet exposé atteste l'importance que prennent les cultures d'organes en physiologie végétale.

Un procédé cesse d'être une simple technique et devient une méthode lorsqu'il contribue à la résolution de problèmes aussi importants que ceux venant d'être esquissés. C'est bien le cas pour la technique de culture d'organes.

#### Travaux cités

- (1) R. GAUTHERET. Recherches sur la culture des tissus végétaux. Rev. Cytol. et Cytophysiol. végét., 1935, mém. n° 1, 279 p.
- (2) R. GAUTHERET. Manuel technique de culture des tissus végétaux. Paris, Masson, 1942, 172 p.
- (3) L. NICKEL. Plants and Garden, 1950, 6, 123.
- (4) W. J. ROBBINS. Bot. Gaz., 1922, 73, 376.
- (5) W. H. SCHOPFER. Arch. f. Mikrobiol., 1934, 5, 511.
- (6) W. J. ROBBINS and M. A. BARTLEY. Science 1937, 85, 246.
- (7) PH. WHITE. Plant Physiology, 1937, 12, 803.
- (8) J. BONNER and F. ADDICOTT. Proc. Nat. Acad. Sc. Washington, 1937, 23, 453.
- (9) M. GEIGER-HUBER und E. BURLET. Jahrb. f. wiss. Bot., 1926, 84, 233.
- (10) M. BEIN et W.-H. SCHOPFER. Experientia, 1948, 4, 222.
- (11) M. BEIN. Thèse doct. Inst. Bot. Berne, 1951, 74 p.
- (12) W.-H. SCHOPFER, E. GROB et Mlle G. BESSON. Arch. Sc. Genève, 1952, 5, 5.
- (13) D. L. SCHOENE and O. L. HOFFMANN. Science, 1949, 109, 588.
- (14) W.-H. SCHOPFER, E. GROB et Mlle G. BESSON. Arch. Sc. Genève, 1952, 5, 1 et 9.
- (15) D. D. WOODS. Brit. Jl. Exptl. Pathol., 1940, 21, 74.
- (16) P. FILDES. Lancet, 1940, 1, 955.
- (17) W.-H. SCHOPFER. Colloque de Lyon sur les antivitaminés. Bull. Soc. chim. biol., 1948, 30, 748.
- (18) D. D. WOODS. 1<sup>er</sup> Coll. intern. de chimie microbiologique. - Bull. Organ. mondiale de la santé, 1952, 6, 35.

- (19) W.-H. SCHOPFER. *Experientia*, 1946, 2, 188. — *Helv. Physiol. Acta*, 1946, 4, C 24.
- (20) W. SHIVE and E. C. ROBERTS. *J. Biol. Chem.*, 1946, 162, 463.
- (21) W.-H. SCHOPFER et W. ANKER. *Experientia*, 1949, 5, 117.
- (22) W. ANKER. Thèse doct. Inst. bot. Berne. *Mitt. Naturforsch. Ges. Bern, Neue Folge*, 1951, 8, 55.
- (23) A. H. TRACY and C. R. ELDERFIELD. *J. Org. Chem.*, 1941, 6, 54.
- (24) A. N. WILSON and A. HARRIS. *J. Amer. chem. Soc.*, 1949, 71, 2231.
- (25) A. DORNOW und W. SCHACHT. *Ber. d. d. chem. Ges.*, 1949, B 82, 117.
- (26) R. F. RAFFAUF. *Helv. Chim. Acta*, 1950, 33, 102.
- (27) D. W. WOOLLEY and A. G. C. WHITE. *Jl. exp. Med.*, 1943, 78, 489.
- (28) W.-H. SCHOPFER. Colloque de Lyon sur les antivitaminés, *Bull. Soc. Chim. biol.*, 1948, 30, 940.
- (29) W.-H. SCHOPFER. *Coll. int. Biologie médicale, Catania*. — *La Riforma medica*, 1951, n° 16-17, 423.
- (30) J. BONNER. *Amer. Jl. Bot.*, 1940, 27, 692. — *Vitamins and Hormones*, 1948, 6, 225.
- (31) R. LOUIS. Thèse doct. Inst. Bot. Berne (sous presse).
- (32) R. LOUIS. *Experientia*, 1952, 8, 388.
- (33) W.-H. SCHOPFER et R. LOUIS. *Experientia*, 1952, 8, 388.