

**La culture *in vitro***  
**et ses applications horticoles**

# Sommaire

## Chapitre 1

|                                                                                        |          |
|----------------------------------------------------------------------------------------|----------|
| <b>L'historique et les fondements de la culture <i>in vitro</i>, par G. BEAUCHESNE</b> | <b>1</b> |
| 1. Historique                                                                          | 1        |
| 2. Fondements                                                                          | 3        |
| 2.1. La dédifférenciation, 3. 2.2. L'organogenèse à partir de tissus, 4                |          |

## Chapitre 2

|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        |          |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------|
| <b>Les phénomènes physiologiques liés à la réalisation des cultures <i>in vitro</i>, par R. AUGÉ</b>                                                                                                                                                                                                                                                   | <b>7</b> |
| 1. Les régulateurs de croissance                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       | 7        |
| 1.1. L'auxine, 8. 1.2. Les gibbérellines, 10. 1.3. Les cytokinines, 12. 1.4. L'éthylène, 13. 1.5. Les inhibiteurs de croissance, 14. 1.6. Conclusion, 16                                                                                                                                                                                               |          |
| 2. Le choix de l'explant                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               | 16       |
| 2.1. Rappels sur la physiologie du développement, 16. 2.2. Choix de l'explant en fonction du stade et de l'âge du pied-mère, 20. 2.3. Choix de l'explant en fonction de l'époque de prélèvement, 22. 2.4. Choix de l'explant en fonction de sa localisation sur le pied-mère, 22. 2.5. Choix de l'explant en fonction de sa taille et de sa nature, 23 |          |
| 3. Les réactions de l'explant mis en culture                                                                                                                                                                                                                                                                                                           | 24       |
| 3.1. Explants possédant une structure ébauchée ou organisée, 24. 3.2. Explants constitués de tissus différenciés, 26                                                                                                                                                                                                                                   |          |

## Chapitre 3

|                                                                                                |           |
|------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| <b>Les besoins nutritifs des tissus cultivés en conditions aseptiques, par J. BOCCON-GIBOD</b> | <b>31</b> |
| 1. Le milieu de culture                                                                        | 31        |
| 1.1. Composition chimique, 31. 1.2. Qualités physiques, 33                                     |           |
| 2. Les facteurs physiques de l'environnement des cultures                                      | 35        |
| 2.1. Les besoins en lumière, 35. 2.2. L'influence de la température, 36                        |           |

## Chapitre 4

|                                                                                                                                                                                                                                                                                         |           |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| <b>La technologie de la culture <i>in vitro</i>, par J. BOCCON-GIBOD</b>                                                                                                                                                                                                                | <b>37</b> |
| 1. Equipement du laboratoire                                                                                                                                                                                                                                                            | 38        |
| 1.1. Organisation et installation des locaux, 38. 1.2. Le matériel de base, 42. 1.3. Le petit matériel, 44                                                                                                                                                                              |           |
| 2. Réalisation d'une culture                                                                                                                                                                                                                                                            | 47        |
| 2.1. Généralités sur les conditions d'asepsie, 47. 2.2. Le milieu de culture, 47. 2.3. L'isolement des tissus et la mise en culture, 57. 2.4. La conduite de la culture, 61. 2.5. Les infections et quelques unes de leurs causes, 61. 2.6. Petits problèmes techniques et insuccès, 62 |           |
| 3. Conclusion                                                                                                                                                                                                                                                                           | 62        |

## Chapitre 5

|                                                                                                                                                                                                                                     |    |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Les applications à l'horticulture, par R. AUGÉ et J. BOCCON-GIBOD</b>                                                                                                                                                            | 63 |
| 1. Les cultures de méristèmes                                                                                                                                                                                                       | 63 |
| 1.1. Prélèvement de méristèmes, 64. 1.2. Composition du milieu, 65. 1.3. Taux de réussite, 65. 1.4. Contrôles nécessaires, 67. 1.5. Intérêt de la technique, 67. 1.6. Un exemple de culture des méristèmes : le Crosne du Japon, 68 |    |
| 2. La multiplication végétative                                                                                                                                                                                                     | 69 |
| 2.1. Un exemple : la multiplication végétative du Saintpaulia, 70. 2.2. Les quatre phases de la micropropagation, 71. 2.3. Les problèmes particuliers, 79                                                                           |    |
| 3. Les cultures d'anthers et de pollen                                                                                                                                                                                              | 82 |
| 3.1. Technique utilisée, 82. 3.2. Intérêt de la technique, 83                                                                                                                                                                       |    |
| 4. La culture de protoplastes                                                                                                                                                                                                       | 84 |
| 4.1. Technique de culture, 85. 4.2. Intérêt de la technique, 87                                                                                                                                                                     |    |

## Chapitre 6

|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |     |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| <b>Les biotechnologies en horticulture : possibilités et perspectives, par J. BOCCON-GIBOD, R. JALOUZOT</b>                                                                                                                                                                                                              | 91  |
| 1. Introduction                                                                                                                                                                                                                                                                                                          | 91  |
| 2. La fusion de protoplastes et ses produits : les hybrides somatiques                                                                                                                                                                                                                                                   | 95  |
| 2.1. Intérêt et utilisation des hybrides somatiques en sélection, 95. 2.2. Limites et difficultés : le verrou de la totipotence cellulaire et la variation génétique, 101. 2.3. Les espèces capables de régénérer une plante à partir d'une cellule, 101. 2.4. Obtention et caractérisation des hybrides somatiques, 104 |     |
| 3. Les haplométhodes                                                                                                                                                                                                                                                                                                     | 108 |
| 3.1. Intérêt et importance des plantes haploïdes en sélection, 108. 3.2. L'androgenèse : limites et difficultés, 109. 3.3. La gynogenèse, 112. 3.4. L'utilisation d'anomalies naturelles de fécondation et de développement embryonnaire, 112. 3.5. Pollen irradié, 113                                                  |     |
| 4. La variation somaclonale                                                                                                                                                                                                                                                                                              | 113 |
| 4.1. Les techniques de culture : néoformation de bourgeons sur cal ou obtention d'embryons somatiques, 114. 4.2. Types de cribles, 115. 4.3. Trois exemples modèles : la pomme de terre, le pois, la tomate, 116. 4.4. Les causes génétiques de la variation somaclonale, 117                                            |     |
| 5. La génétique moléculaire                                                                                                                                                                                                                                                                                              | 118 |
| 5.1. Introduction - Historique, 118. 5.2. Vecteurs de transfert d'ADN hétérologue aux plantes, 120. 5.3. Les plantes transgéniques, 124. 5.4. Applications à l'étude de l'identité et de la variabilité génétique, 126. 5.5. Remarques en conclusion, 126                                                                |     |
| 6. L'embryogenèse somatique : vers les semences artificielles                                                                                                                                                                                                                                                            | 128 |
| 6.1. Quelques exemples d'embryogenèse somatique et les étapes principales, 128. 6.2. Les problèmes génétiques et physiologiques, 130. 6.3. Les applications vers des semences artificielles ?, 130                                                                                                                       |     |
| 7. Conclusion                                                                                                                                                                                                                                                                                                            | 131 |

## Chapitre 7

|                                                                                                                                                                                                                                             |     |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| <b>L'aspect génétique : conformité ou non conformité du matériel végétal reproduit <i>in vitro</i>, par L. DECOURTYE</b>                                                                                                                    | 133 |
| 1. Multiplication conforme                                                                                                                                                                                                                  | 134 |
| 1.1. La multiplication accélérée par micro-bouturage, 134. 1.2. La stabilité des chimères cultivées <i>in vitro</i> , 135                                                                                                                   |     |
| 2. La multiplication non conforme                                                                                                                                                                                                           | 137 |
| 2.1. Variations chromosomiques en culture <i>in vitro</i> , 137. 2.2. Les mutations, 138. 2.3. Modifications épigénétiques ou physiologiques, 138                                                                                           |     |
| 3. Apport des vitrométhodes pour l'amélioration des plantes                                                                                                                                                                                 | 139 |
| 3.1. Utilisation de la variabilité spontanée, 139. 3.2. Mutagenèse sur micro-boutures, 140. 3.3. Hybridations somatiques - Cultures d'embryons, 141. 3.4. Cas des haploïdes et des haploïdes doublés, 142. 3.5. Introgression de gènes, 143 |     |
| 4. Conclusion générale                                                                                                                                                                                                                      | 143 |

## Chapitre 8

|                                                                                                                                            |     |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| <b>Mycorhizes et culture <i>in vitro</i>, par D.G. STRULLU</b>                                                                             | 145 |
| 1. La symbiose mycorhizienne                                                                                                               | 147 |
| 1.1. Principaux types de mycorhizes, 147. 1.2. Les partenaires, 150. 1.3. Intérêt de la mycorhization, 152                                 |     |
| 2. Culture <i>in vitro</i> et ectomycorhizes                                                                                               | 153 |
| 2.1. Rappel des synthèses réalisées avec des plantules issues de graines, 153. 2.2. Synthèses effectuées avec des vitroplants clonaux, 153 |     |
| 3. Culture <i>in vitro</i> et endomycorhizes à vésicules et arbuscules (VA)                                                                | 158 |
| 3.1. Culture pure des champignons, 158. 3.2. Synthèses axéniques, 159                                                                      |     |
| 4. Culture <i>in vitro</i> et endomycorhizes à pelotons                                                                                    | 164 |
| 5. Conclusion                                                                                                                              | 164 |

## Chapitre 9

|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |     |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| <b>L'aspect sanitaire et les interactions avec les microorganismes, par B. DIGAT et J.CI. MORAND</b>                                                                                                                                                                                                                                                 | 167 |
| 1. Bactéries et cultures <i>in vitro</i>                                                                                                                                                                                                                                                                                                             | 167 |
| 1.1. Intérêt des cultures <i>in vitro</i> dans l'étude des interactions bactéries-cellules végétales, 167. 1.2. Problèmes posés par la pollution bactérienne des cultures <i>in vitro</i> , 176. 1.3. La culture <i>in vitro</i> , méthode de sélection génétique du matériel végétal de base et de sélection sanitaire vis-à-vis des bactéries, 178 |     |
| 2. Elimination des virus par la culture de méristèmes                                                                                                                                                                                                                                                                                                | 179 |
| 2.1. Méristème et régénération, 180. 2.2. Contrôle de l'efficacité, 181. 2.3. Multiplication <i>in vitro</i> , 181                                                                                                                                                                                                                                   |     |

## Chapitre 10

|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |     |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| <b>Les aspects pratiques actuels et les perspectives, par J.P. REYNOIRD et H. VIDALIE</b>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    | 185 |
| 1. Les applications pratiques conduites actuellement                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         | 185 |
| 1.1. La culture <i>in vitro</i> est un outil puissant de multiplication, 185. 1.2. La culture <i>in vitro</i> est une voie possible pour la production de plantes indemnes de maladies, 187. 1.3. La culture <i>in vitro</i> maintient les plantes dans un état juvénile, 187. 1.4. La culture <i>in vitro</i> n'est qu'un nouveau mode de multiplication végétative et ne peut en aucun cas être considérée comme un mode de production, 188. 1.5. La culture <i>in vitro</i> nécessite la maîtrise de l'acclimatation, 188 |     |
| 2. Les perspectives d'avenir                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 | 194 |
| 2.1. Culture <i>in vitro</i> et multiplication conforme, 194. 2.2. Culture <i>in vitro</i> et amélioration génétique, 196. 2.3. Conclusion, 197                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |     |

## Chapitre 11

|                                                                                                                                                                                             |     |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| <b>Le point de vue d'un utilisateur, par R. MINIER</b>                                                                                                                                      | 199 |
| 1. Avantage                                                                                                                                                                                 | 199 |
| 1.1. Vitesse de reproduction, 199. 1.2. Prix de revient, 199. 1.3. Suppression des pieds-mères, 200. 1.4. Avantages culturels, 201                                                          |     |
| 2. Contraintes                                                                                                                                                                              | 201 |
| 2.1. Prix de revient, 201. 2.2. Problèmes physiologiques de masse, 201. 2.3. Maîtrise de l'endurcissement des plantules, 201. 2.4. Notions relatives de "jeunes plants" et de "plante", 202 |     |
| 3. Présent et avenir de la multiplication végétative <i>in vitro</i>                                                                                                                        | 202 |
| 3.1. Plantes fleuries et fleurs coupées, 202. 3.2. Plantes vertes, 202. 3.3. Bulbes, 202. 3.4. Pépinières d'ornement, 203. 3.5. Pépinières fruitières, 205                                  |     |