

Recherches sur la culture *in vitro* des embryons de palmier à huile (*Elaeis guineensis* Jacq.)

XI. Effets de la pression osmotique sur la croissance et le développement et sur l'absorption des sucres

H. RABÉCHAULT, J. BUFFARD-MOREL et C. VARÉCHON (1)

Pour assurer un développement normal de l'embryon excisé, il est nécessaire que la composition du milieu de culture soit le reflet de celle de l'albumen de la graine, tout au moins en ce qui concerne les matériaux qui sont à la base du métabolisme. Les sucres, qui proviennent de la transformation des lipides, comptent parmi ces éléments indispensables.

C'est le saccharose à 20 p. 1 000 qui assure la meilleure croissance et le meilleur développement *in vitro* des embryons de palmier à huile ; le glucose à 10 p. 1 000 est un peu moins efficace [Buffard-Morel, 1968]. Cependant, il s'agit là d'une appréciation globale car d'autres auteurs ont constaté [Rappaport, 1954 et Raghavan, 1966] que les embryons avaient des besoins en sucres différents selon les phases de leur développement.

Au début, l'embryon vit en **hétérotrophie** et, comme il est incapable de fixer le gaz carbonique de l'air ni de procéder à certaines biosynthèses, il dépend du milieu dans lequel il se développe (albumen ou milieu de culture), qui doit lui fournir les matériaux élémentaires nécessaires à son métabolisme et à la différenciation de ses organes.

Après 15 jours de culture, tandis qu'apparaît la gemmule et que se différencie la radicule (non encore individualisée dans l'embryon de palmier à huile), la période d'**autotrophie** débute progressivement. L'embryon devient presque autonome, ses feuilles verdissent et peuvent assimiler le gaz carbonique de l'air ; la racine peut puiser dans le milieu les autres éléments nutritifs. Aussi la concentration du milieu, surtout en ce qui concerne les glucides, n'a pas besoin alors d'être aussi élevée.

Pendant la phase d'**hétérotrophie**, qui est la plus importante puisqu'elle conditionne l'organogenèse, les effets des fortes concentrations s'exercent non seulement par la qualité chimique des éléments concernés mais aussi par l'intermédiaire de leurs propriétés physico-chimiques comme la pression osmotique. Ainsi, on a pu reproduire les effets de fortes concentrations en sucre en augmentant la concentration de l'hydrolysate de caséine [Ziebur *et al.*, 1950], des éléments minéraux [Raghavan *et al.*, 1963, Rabéchault *et al.*, 1970] ou en remplaçant le sucre par un agent osmotique non métabolisé comme le mannitol.

Dans cette étude, nous nous proposons de déterminer les effets de la pression osmotique sur la croissance et le développement de l'embryon et sur l'absorption des sucres.

A. — MATÉRIEL ET MÉTHODES

Les embryons ont été extraits aseptiquement de graines récoltées sur les palmiers de la lignée DA 40 à la station I.R.H.O. de Pobé (Dahomey) et cultivés en milieux liquides selon des techniques décrites précédemment [Rabéchault, 1962]. Les graines ont été réhydratées jusqu'à 17 p. 100 d'eau par rapport à la matière sèche, puis stockées 10 jours.

Les expériences comportaient au minimum 15 répétitions par traitement. Chaque tube de culture recevait un embryon et 3 ml de milieu et était disposé sur un clinostat tournant à 26 t/mn sous des tubes fluorescents « Blanc lumière du jour de lux » Philips de 40 W, qui dispensaient pendant 10 h par jour un éclairage de 5 000 lux au niveau des cultures.

Le milieu de culture était constitué par la solution minérale de Heller (1953), ajustée à pH 5,8. La pression osmotique de ce milieu de base sans sucre était égale à 0,994 atm (≈ 1 atm). Les sucres : saccharose, glucose et lévulose, seuls ou associés au mannitol, ont été ajoutés à ce milieu selon des proportions définies plus loin.

Dispositif expérimental.

a) Effets de la pression osmotique. — La part qui revient à la pression osmotique dans les effets des sucres sur la croissance et l'organogenèse des embryons a été déterminée, soit en utilisant des milieux renfermant des teneurs croissantes en saccharose (0 à 90 p. 1 000, soit en remplaçant ce sucre par des quantités plus ou moins importantes de mannitol (0 à 20 p. 1 000) Ce polyalcool voisin des sucres a été choisi parce qu'il s'est avéré être l'une des substances les mieux tolérées par les embryons. En outre, plusieurs auteurs ont montré [Homès, 1967 b] qu'il n'empêche ni la croissance des tissus et des racines, ni la formation des embryons adventifs. De plus, il n'est pas en général métabolisé par les cellules végétales.

b) Effets de la pression osmotique sur l'absorption des sucres. — Les sucres absorbés en fonction de leur qualité et de leur quantité ont été déterminés par l'analyse du milieu. Les sucres solubles totaux et les réducteurs libres ont été dosés par la méthode de Nelson (1944) selon Bell (1955) avec un coefficient de variation de 1,7 p. 100 avec notre matériel, tandis que le lévulose était déterminé par la méthode de Roe (1934) avec un coefficient de variation de 2,3 p. 100. Le glucose était évalué par différence.

(1) Laboratoire de Physiologie Végétale des Services Scientifiques Centraux de l'O. R. S. T. O. M., 70, route d'Aulnay, 93140 Bondy.

23 MAI 1986 O. R. S. T. O. M. Fonds Documentaire

N° : 20208
Cote : B1

O. R. S. T. O. M.

Collection de Référence

22 OCT 1974

no 66 Bio. S. Huel

c) Dégradation des sucres par l'autoclavage. — Certains auteurs ont prétendu que l'autoclavage du saccharose, en présence de sels minéraux, pouvait provoquer son altération et son hydrolyse avec libération de sucres réducteurs (glucose et lévulose) [Burström, 1941; Evans, 1942], ce qui peut se traduire par une élévation de la pression osmotique. Rietsema *et al.* (1953) ont estimé cette hydrolyse du saccharose à 4 p. 100 de la teneur initiale. Il nous a paru indispensable de déterminer l'importance de ce phénomène dans les conditions de nos expériences.

Nous avons ajouté 20 p. 1 000 de saccharose (soit une quantité théorique d'hexose de 21,05 g/l) à un milieu minéral selon Heller (1953); le pH a été ajusté à 5,8. Les résultats des analyses de ce milieu avant et après autoclavage à 120 °C pendant 20 mn ont été consignés dans le tableau I.

TABLEAU I

Perte de saccharose dans le milieu minéral de Heller à pH 5,8 par autoclavage (en g/l)

Traitements	Sucres solubles totaux	Réducteurs libres	Fraction non réductrice (saccharose)
Avant autoclavage	20,90	0,91	19,99
Après autoclavage	20,60	0,94	19,66
Différence	-0,30	+0,03	-0,33
Différence (%) de la quantité initiale	-1,44 %	+0,14 %	-1,58 %

La quantité de saccharose perdue est donc très inférieure, dans les conditions de l'expérience, à celle indiquée par Rietsema *et al.* [*loc. cit.*] et, comme on ne retrouve pas cette proportion sous forme de réducteurs libres dans le milieu, on peut donc admettre qu'elle correspond plutôt à une dégradation qu'à une hydrolyse.

B. — RÉSULTATS

I. — Effets de la pression osmotique sur la croissance et le développement des embryons.

a) Augmentation de la pression obtenue à l'aide du saccharose.

1) Croissance de l'embryon. — Au cours des 10 premiers jours de culture, c'est-à-dire pendant la vie en **hétérotrophie**, l'allongement de l'embryon précède la sortie de la gemmule et de la radicule. Cet allongement a été proportionnel à la concentration en saccharose du milieu de culture jusqu'à 30 p. 1 000. Au-dessus de cette dose, les différences constatées par rapport à l'optimum n'étaient plus significatives : les allongements étant tantôt égaux ou tantôt inférieurs ou supérieurs.

Par conséquent, la croissance de l'embryon n'est pas affectée par les concentrations supérieures à 30 p. 1 000 de saccharose (87,6 mM), soit pour une pression osmotique du milieu complet de 3,12 atm.

2) Organogenèse de l'embryon. — Pendant la période d'hétérotrophie le saccharose accroît et accélère l'apparition de la gemmule (Stade IV), déjà formée

dans l'embryon, et de la radicule, non encore individualisée [Vallade, 1966].

Les premières gemmules apparaissent à la concentration 30 p. 1 000 comme l'a déjà observé Buffard-Morel (1968). C'est aussi à cette concentration que le maximum d'embryons parviennent au Stade IV le plus rapidement (100 p. 100 au bout de 30 j. Tabl. II).

TABLEAU II

Pourcentages d'embryons ayant atteint le Stade IV (apparition de la gemmule)

Temps de culture	Concentrations en saccharose ‰								
	5	10	20	30	40	50	60	80	90
20 j	30	58	50	45	66	30	10	0	0
30 j	50	83	83	100	66	80	30	0	0
38 j	80	100	100	100	83	90	50	0	0
55 j	100	100	100	100	83	90	80	57	62

La formation de la radicule requiert semble-t-il une proportion plus importante de sucre car les premiers embryons racinés sont apparus à la concentration 50 p. 1 000 (146 mM), soit pour une pression osmotique du milieu complet de 4,54 atm (Tabl. III). Au-dessous de la concentration 20 p. 1 000 (58,4 mM), soit une pression osmotique du milieu de 2,41 atm, la rhizogenèse est pratiquement nulle.

TABLEAU III

Pourcentages d'embryons ayant atteint le Stade V (apparition de la radicule)

Temps de culture	Concentrations en saccharose ‰								
	5	10	20	30	40	50	60	80	90
20 j	0	0	0	0	0	10	0	0	0
30 j	0	0	0	27	16	30	0	0	0
55 j	0	0	16	63	16	80	10	0	0
65 j	0	0	50	90	66	80	60	57	12

L'examen du tableau III permet de constater en outre que, pour une concentration élevée : 80 p. 1 000 (233,5 mM), soit pour une pression osmotique du milieu de 6,67 atm, la rhizogenèse, retardée, a atteint malgré tout le pourcentage appréciable de 57 p. 100. En fait, seuls les embryons dont la radicule est sortie ont fait l'objet du dénombrement. A cette forte concentration, la radicule s'est formée mais elle n'a pas pu « s'exprimer », c'est-à-dire croître pour se dégager des tissus, à cause d'une trop forte pression osmotique.

Pendant la période d'**autotrophie**, l'embryon, qui a de moins en moins besoin de la source de carbone du milieu de culture, est encore sensible à la concentration des sucres.

La figure 1 représente les allongements des feuilles et des racines en fonction de la teneur des milieux en saccharose. Dans des solutions aqueuses de saccharose de plus en plus concentrées, sans éléments minéraux (courbes en tirets), on remarque que la croissance résiduelle des organes (F.e. et R.e.) est inhibée proportionnellement à la teneur des milieux en sucre et à la pression osmotique. Par contre, dans les milieux complets, avec la solution minérale de Heller, l'em-

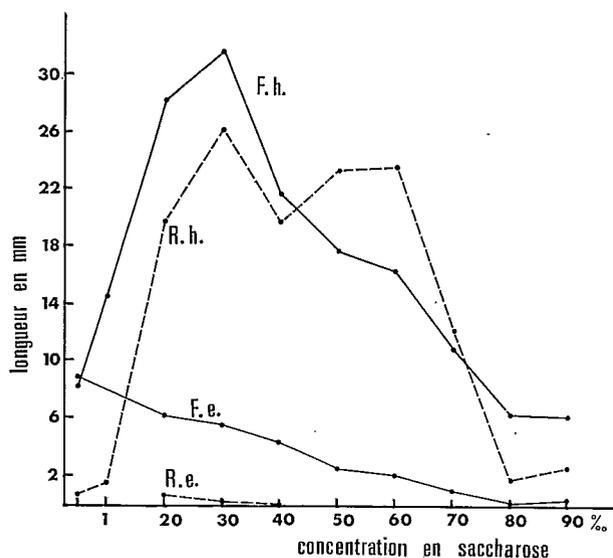


FIG. 1. — Allongements moyens des organes des embryons après 40 j de culture en fonction de la teneur du milieu en saccharose : F.e. et R.e. allongements respectifs résiduels de la partie aérienne et de la racine dans des solutions aqueuses de sucre ; F.h. et R.h., allongements respectifs de la partie aérienne et de la racine dans un milieu de Heller plus ou moins enrichi en sucre.

bryon disposant des éléments nécessaires à son métabolisme, **l'allongement de la partie aérienne (F.h.)** atteint un maximum avec 30 p. 1 000 de saccharose (87,6 mM), soit pour une pression osmotique du milieu complet de 3,2 atm. Au-dessus, la croissance est inhibée proportionnellement à la concentration.

Un fait remarquable concerne la **croissance de la racine** qui présente un développement optimal pour une gamme de concentrations beaucoup plus étendue. L'allongement est proportionnel à la concentration au-dessous de 30 p. 1 000 comme pour la partie aérienne puis il est maximal et marque un palier jusqu'à 60 p. 1 000 (175 mM), soit pour une pression osmotique de 5,25 atm du milieu complet. Ce n'est qu'au-dessus de cette dernière concentration que commence l'inhibition de la croissance.

On peut donc conclure que la racine est capable de tolérer des pressions osmotiques plus importantes que les parties aériennes.

Pour les fortes concentrations, la quantité de sucre nécessaire au métabolisme est largement suffisante, l'inhibition ne peut donc être due qu'à la pression osmotique. Afin de vérifier qu'il en est bien ainsi, nous avons substitué au saccharose un agent osmotique non métabolisable : le mannitol.

b) Effets de la pression osmotique obtenue à l'aide de diverses concentrations en saccharose et mannitol.

A un milieu de Heller renfermant 20 p. 1 000 de saccharose (teneur inférieure à l'optimum 30 p. 1 000 ou moins, nous avons ajouté des quantités plus ou moins importantes de mannitol (0 à 20 p. 1 000). Nous avons obtenu ainsi 16 combinaisons différentes dont les pressions osmotiques variaient entre 1,33 et 5,10 atm (Tabl. IV).

1) Croissance de l'embryon. — Les milieux renfermant du mannitol seul (à la place du saccharose) n'ont donné aucun accroissement de longueur ou de poids des embryons. Lorsque le mannitol était ajouté à un milieu renfermant 30 p. 1 000 ou plus de saccharose,

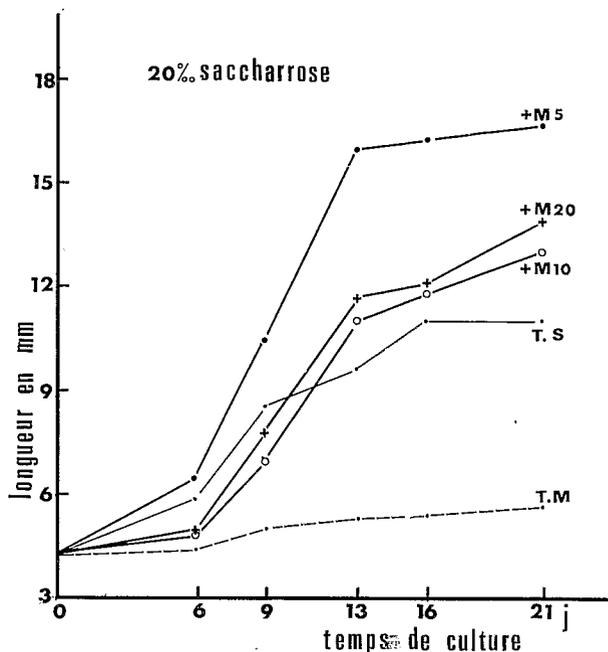


FIG. 2. — Effets de la pression osmotique sur la croissance des embryons : T. M., allongement des embryons dans un milieu de Heller additionné de 10 p. 100 de mannitol ; T.S., allongement dans un milieu de Heller additionné de 20 p. 100 de saccharose ; + M 5, + M 10, et + M 20, allongement sur milieu T.S. auquel on a ajouté 5, 10 ou 20 p. 1000 de mannitol.

la croissance était inhibée avec d'autant moins de mannitol que le milieu de base renfermait plus de saccharose. Avec 30 p. 1 000 de saccharose (optimum), les différences d'augmentations de la longueur des embryons obtenues grâce à l'addition de mannitol n'étaient pas significatives. C'est la raison pour laquelle l'expérience définitive a été effectuée avec des teneurs en saccharose inférieures à l'optimum.

Avec 20 p. 1 000 de saccharose et moins, l'apport de mannitol a provoqué des allongements significativement supérieurs à celui d'embryons cultivés en présence de 20 p. 1 000 de saccharose seul (Fig. 2). C'est donc la preuve de l'effet de la pression osmotique.

Enfin le mannitol ajouté à un milieu de base renfermant 5 p. 1 000 de saccharose donne des allongements peu différents de ceux observés avec 5 p. 1 000 de saccharose seul (Fig. 3). Dans ce cas, nous pensons

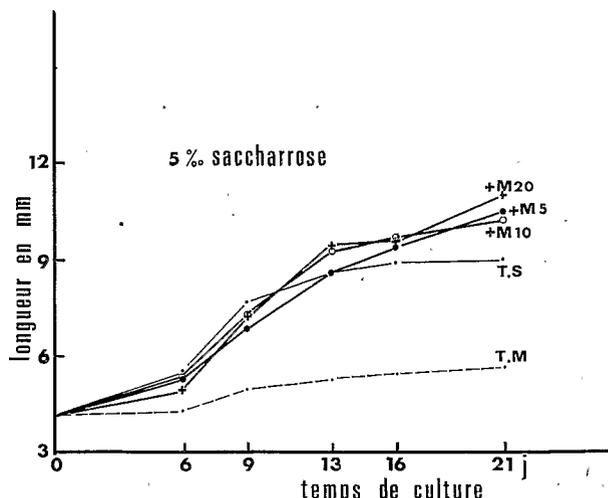


FIG. 3. — Ibid. Fig. 2 mais T.M. avec 5 p. 1000 de mannitol et T.S. avec 5 p. 1000 de saccharose,

que l'effet de la pression osmotique était limité par la faible quantité en source de carbone utilisable pour le métabolisme.

2) Organogenèse. — L'addition de mannitol à des milieux renfermant 0 à 20 p. 1 000 de saccharose n'a pas amélioré de façon significative la vitesse ou le pourcentage d'apparition du Stade IV (sortie de la gemmule préformée dans l'embryon). Par contre, la production de racines (Stade V) a été stimulée par l'apport de mannitol (Tabl. IV).

TABLEAU IV
Effet de la pression osmotique
sur l'apparition de la radicule (Stade V)

(Les chiffres entre parenthèses
sous les pourcentages d'embryons ayant atteint le Stade V
indiquent la pression osmotique du milieu complet)

Concentrations en mannitol ‰	Concentrations en saccharose ‰				Stade V % moyens dus au mannitol
	2,5	5	1,00	2,00	
0	5,5 (1,17)	14 (1,35)	25 (1,70)	41 (2,41)	17,1
2,5	0 (1,40)	15 (1,68)	30 (2,04)	25 (2,75)	17,5
5	0 (1,84)	0 (2,01)	53,8 (2,37)	33 (3,08)	21,7
10	10 (2,51)	26,6 (2,69)	18,7 (3,04)	35 (3,75)	22,5
20	14 (3,85)	0 (4,02)	26,6 (4,38)	61 (5,09)	25,4
Stade V % mo- yens dus au saccharose ..	6,0	10,4	32,27	38,5	

Il est donc ainsi confirmé que l'effet des fortes concentrations en saccharose (expérience précédente) sur la rhizogenèse des embryons est dû en partie à la pression osmotique provoquée par le sucre dans le milieu de culture.

II. — Absorption des sucres en fonction de la pression osmotique.

Des embryons ont été cultivés dans des milieux ayant des teneurs plus ou moins importantes en saccharose, en glucose, en lévulose ou en glucose et lévulose. Les dosages des sucres de ces milieux, effectués au bout de 11, 18 et 25 j. de culture, ont permis de déterminer la proportion qui a été consommée (Tabl. V).

Dans les milieux ne renfermant qu'un seul sucre à des doses non inhibitrices, le glucose et le saccharose ont été absorbés d'autant plus que leur concentration était plus forte tandis que l'inverse a été observé dans le cas du lévulose (Tabl. V). Lorsque le milieu contenait à la fois du glucose et du lévulose à doses égales, le glucose était consommé de façon préférentielle.

Pour une même pression osmotique, l'absorption du glucose est plus importante lorsqu'il est seul dans le milieu que lorsqu'il est accompagné par le lévulose. C'est peut-être la raison pour laquelle, au cours de nos expériences, les mélanges glucose - lévulose ont toujours été moins efficaces que le saccharose.

C. — DISCUSSION

L'embryon de palmier à huile présente deux phases principales de développement au cours desquelles il est plus ou moins sensible à la nature et à la concentration de la source de carbone du milieu.

Pendant la phase d'*hétérotrophie*, il exige une quantité de saccharose plus importante que pendant la phase d'*autotrophie* mais une partie de cet effet serait due à l'augmentation de la pression osmotique car si l'on ajoute du mannitol à un milieu ayant une teneur en saccharose inférieure à la dose optimale, l'accroissement de la pression osmotique obtenu se traduit par une augmentation finale de la longueur de l'embryon et par une rhizogenèse accrue.

L'optimum pour la production de gemmules se situe à la concentration 30 p. 1 000 (87,6 mM), soit pour une pression osmotique du milieu complet de 3,12 atm, tandis que les premières racines apparaissent avec

TABLEAU V
Sucre consommé p. 100 de la quantité initiale
(pH = 5,6 n. a. = non analysé)

Sucre p. 1 000	Pression osmotique du milieu (en atm.)	Nombre de jours de culture		
		11	18	25
Glucose 5,2	1,70	3,84	7,69	17,30
Glucose 10,5	2,42	1,90	8,57	9,52
Glucose 15,7	3,13	8,91	11,33	14,00
Glucose 20,0	3,71	11,50	15,00	29,50
Glucose 30,0	5,07	21,33	30,00	53,33
Lévulose 10	2,35	10,00	20,00	30,00
Lévulose 20	3,71	10,00	14,00	21,50
Lévulose 30	5,07	1,66	10,00	22,00
Saccharose 10	1,70	8,00	11,00	n. a.
Saccharose 20	2,41	10,00	23,00	n. a.
Saccharose 30	3,12	16,66	25,00	n. a.
Gl. 5,2 + Lév. 5,2	4,73	32,69/0	42,30/0	51,92/0
Gl. 15 + Lév. 15	5,07	52,00/13,33	56,00/39,33	61,33/52,66

50 p. 1 000 de saccharose (146 mM) soit pour le milieu complet une p.o. de 4,54 atm. Or, la gemmule est déjà formée dans l'embryon tandis que la racine n'est pas encore ébauchée [Vallade, 1966].

La rhizogenèse est retardée par les concentrations supérieures à 50 p. 1 000 mais non inhibée de façon irréversible : la racine réussit à se former mais elle ne peut « s'exprimer », c'est-à-dire se dégager des tissus de l'embryon. Or, les pourcentages indiqués dans le tableau III, ne représentent que la proportion des embryons dont la racine est apparue. Au fur et à mesure que les cultures vieillissent, le maximum d'embryons racinés se déplace vers les plus fortes concentrations en sucre. Avec 80 p. 1 000 de saccharose (233,5 mM, soit une pression osmotique du milieu de 6,67 atm), on observe encore 57 p. 100 d'embryons parvenus au Stade V après 65 jours de culture.

Cette observation confirme celles rapportées dans la littérature concernant les besoins élevés en sucre nécessaires aux tout premiers stades du développement des végétaux. On assiste en effet à une augmentation de la pression osmotique au cours de la phase de reproduction des végétaux et tout d'abord au cours de l'organogenèse florale [Rabéchault, 1965, 1967]. Cette pression osmotique est due surtout à une augmentation de la teneur des tissus en carbohydrates, qui se maintient ensuite jusqu'après la fécondation au cours des premiers stades de la formation des embryons. L'embryogenèse normale [Rappaport, 1954], comme la formation des embryons adventifs dans les tissus somatiques [Homès, 1967], nécessitent de fortes concentrations en sucre.

Tuckey (1933) a observé que les embryons extraits de graines d'arbres fruitiers exigeaient 20 p. 1 000 de glucose pour se développer, tandis que ceux de graines mûres germaient dans un milieu sans sucre. Il faut 180 p. 1 000 de saccharose pour que les embryons de Capselle au Stade « cordiforme » se développent, tandis qu'au Stade suivant « torpedo », ils n'en ont plus besoin que de 80 p. 1 000 [Rijven, 1952]. Il en est de même pour ceux de *Datura* [Rietsema *et al.*, 1953 ; Paris *et al.*, 1953].

Une partie de l'effet des fortes concentrations en sucre est due à la pression osmotique qu'ils exercent dans le milieu puisqu'on a pu reproduire cet effet en élevant la teneur des milieux en éléments minéraux [Raghavan et Torrey, 1963 ; Rabéchault *et al.*, 1970] ou en utilisant des agents osmotiques non métabolisables comme le mannitol [Paris *et al.* 1952 ; Homès, 1967 *a* et *b*]. Nos résultats obtenus grâce à l'utilisation du mannitol confirment donc les faits rapportés dans la littérature. Cependant, il est bon de noter aussi que la pression osmotique dans les noix de palme doit être particulièrement élevée. Elle n'a pas encore été mesurée mais on peut penser qu'elle doit être du même ordre que celle du lait de coco (7 atm) déterminée par Scholander (1955).

Ajoutons que les fortes pressions osmotiques réalisées au début de la culture des embryons juvéniles immatures auraient un effet protecteur sur les cellules embryonnaires. Les fortes concentrations en sucre, selon certains auteurs [Raghavan, 1966], empêcheraient l'auxésis prématuré des cellules méristématiques, comme celles que l'on observe dans la zone rhizogène « M » de l'embryon de palmier à huile, et favoriseraient

ainsi la mise en place de tous les tissus racinaires. Le passage ensuite des embryons dans des milieux à faible pression osmotique permet une germination normale.

Au cours de la *période d'autotrophie*, la croissance des organes de l'embryon peut être gênée par les trop fortes pressions osmotiques. Alors que la partie aérienne présente un maximum de croissance localisé à la concentration 30 p. 1 000 de saccharose, celui de la racine s'étend des concentrations 30 à 60 p. 1 000, ce qui montre que cette dernière peut s'adapter à de fortes pressions osmotiques ($\geq 5,25$ atm).

Enfin, l'augmentation de la pression osmotique a pour effet d'accélérer l'absorption du glucose et du saccharose. L'inverse semble se produire en ce qui concerne le lévulose, et c'est peut-être la raison pour laquelle les mélanges glucose-lévulose sont moins actifs sur la croissance et le développement des embryons de palmier à huile que le saccharose à égalité de concentration ou de pression osmotique. Dans un mélange glucose-lévulose, le glucose est absorbé de façon préférentielle. Des observations similaires ont été effectuées à l'aide de cultures de *Scenedesmus* [Taylor, 1960], de *Peltigera* [Harley *et al.*, 1956] ou de racines de Tomate [Dormer *et al.*, 1949 ; Weston *et al.*, 1968]. Une stimulation de cette absorption par la présence de lévulose, suggérée par certains auteurs, n'a pas été observée avec les embryons de palmier à huile au cours de nos expériences et mériterait de nouvelles investigations.

D. — CONCLUSIONS

Les embryons de palmier à huile, extraits de graines ayant une teneur en eau de 17 p. 100, ont besoin d'une forte concentration en sucre pour parachever leur organogenèse pendant leur vie en hétérotrophie. La caulogenèse la plus rapide et la plus importante a lieu avec 30 p. 1 000 de saccharose (87,6 mM), soit pour une pression osmotique du milieu complet de 3,12 atm. La vitesse d'apparition de la racine présente un maximum avec 50 p. 1 000 de saccharose (146 mM), soit pour une pression osmotique du milieu de 4,54 atm.

La racine, qui n'est pas individualisée dans l'embryon comme la gemmule, exige donc de plus fortes concentrations en sucre que la partie aérienne pour se développer. Le déplacement de l'optimum d'embryons racinés vers les plus fortes concentrations, au fur et à mesure du vieillissement des cultures, indique que la rhizogenèse nécessite de fortes pressions osmotiques, ce qui est conforme aux observations faites par d'autres auteurs sur l'organogenèse des embryons d'autres espèces ou sur la formation d'embryons adventifs dans les cultures de tissus somatiques.

Les sucres agissent non seulement comme source de carbone mais aussi grâce à la pression osmotique qu'ils exercent dans le milieu de culture puisqu'en remplaçant partiellement le saccharose, au-dessous de sa concentration optimale, par un agent osmotique non métabolisable, le mannitol, on améliore la croissance et le développement des embryons.

Lorsque la racine est initiée et que l'embryon commence sa vie en autotrophie, au cours de laquelle il ne dépend plus autant du milieu de culture pour la synthèse de ses carbohydrates, la croissance de ses

organes peut être plus ou moins inhibée par de trop fortes concentrations en sucre. Des concentrations en saccharose supérieures à 30 p. 1 000 inhibent la croissance de la partie aérienne, tandis que le maximum de croissance de la racine a lieu entre 30 et 60 p. 1000 (87,6 à 175 mM), soit pour une pression osmotique du milieu de 3,12 à 5,25 atm, ce qui indique une meilleure adaptation que la partie aérienne vis-à-vis de la pression osmotique.

Enfin la quantité de sucre absorbée augmente avec la pression osmotique en ce qui concerne le glucose et le saccharose. L'absorption du lévulose tend au contraire à diminuer. Ceci explique sans doute qu'à égalité de pression osmotique, un mélange glucose — lévulose est moins actif que le saccharose. Le glucose est absorbé de façon préférentielle, ce qui est en accord avec les observations rapportées par d'autres auteurs sur d'autres espèces.

BIBLIOGRAPHIE

- [1] BECKER H. C., ENGLIS D. T. (1941). — *Industr. Engng. Chem., Anal. Edit.*, 13, 15, p. 15-18.
- [2] BELL D. J. (1955). — In : K. Paech et M. V. Tracey Edit. *Moderne Methoden der Pflanzenanalyse*, (Springer Verlag), 2, p. 20-21.
- [3] BOATMAN S. G., CROMBIE W. M. (1958). — *J. Exper. Bot.*, 9, 25, p. 52-74.
- [4] BUFFARD-MOREL J. (1968). — *Oléagineux*, 23, 12, p. 707-711.
- [5] BURSTRÖM H. (1941). — *Ann. Agr. Coll. Sweden*, 9, p. 264-284.
- [6] DORMER K. J., STREET H. E. (1949). — *Ann. Bot.*, 13, p. 169-217.
- [7] EVANS W. L. (1942). — *Chem. Rev.*, 31, p. 537.
- [8] HARLEY J. L., SMITH D. C. (1956). — *Ann. Bot.*, 20, p. 513-543.
- [9] HELLER R. (1953). — *Ann. Sci. Nat., Bot.*, 11, 14, p. 1-223.
- [10] HOMES J. L. A. (1967 a). — *Colloque CNRS sur la culture des tissus végétaux* (CNRS, Paris 1968), p. 49-60.
- [11] HOMES J. L. A. (1967 b). — *C. R. Soc. Biol.*, 161, 5, p. 1143-1145 et 161, 12, p. 2641-2644.
- [12] NELSON N. (1944). — *Biol. Chem.*, 153, p. 375.
- [13] PARIS D., RIETSEMA J., SATINA S., BLAKESLEE A. F. (1953). — *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, 39, p. 1205-1212.
- [14] RABÉCHAULT H. (1962). — *Oléagineux*, 17, 10, p. 757-764.
- [15] RABÉCHAULT H. (1965-1967). — *Chrysanthème*, Lyon, 68, 369, p. 21-26 et *Thèse Doct. 3^e cycle : Physiologie végétale*, Orstom Edit. Paris, 146 p.
- [16] RABÉCHAULT H., GUÉNIN G., AHÉE J. (1969). — *Oléagineux*, 24, 5, p. 263-268.
- [17] RABÉCHAULT H., GUÉNIN G., AHÉE J. (1970). — *Oléagineux*, 25, 10, p. 519-524.
- [18] RAGHAVAN V. (1966). — *Biol. Rev.*, 41, 1, p. 1-58.
- [19] RAGHAVAN V., TORREY J. (1963). — *Amer. J. Bot.*, 50, p. 540-551 et *Plant Physiol.*, 39, p. 691-699.
- [20] RAPPAPORT J. (1954). — *Bot. Rev.*, 20, p. 201-225.
- [21] RIETSEMA J., SATINA S., BLAKESLEE A. E. (1953). — *Amer. J. Bot.*, 40, p. 538-545.
- [22] RIJVEN A. H. G. C. (1952). — *Acta bot. Neerl.*, 1, p. 157-200.
- [23] ROE J. H. (1934). — *Biol. Chem.*, 107, p. 15-22.
- [24] SCHOLANDER P. F. (1955). — *Plant Physiol.*, 30, 6, p. 560-561.
- [25] TAYLOR P. J. (1960). — *Proc. Roy. Soc., B.*, 151, p. 400-418.
- [26] TUCKEY H. B. (1933). — *Proc. Amer. Soc. Hort. Sci.*, 30, p. 209-218 et *J. Hered.*, 24, p. 1-12.
- [27] VALLADE J. (1966). — *C. R. Acad. Sci., Paris, D*, 262, p. 856-859 et 1961-1964.
- [28] WESTON G. D., STREET H. E. (1968). — *Ann. Bot., N. S.*, 32, p. 521-529.
- [29] ZIEBUR N. K., BRINK R. A., CRAFT L. H., STAHMANN M. A. (1950). — *Amer. J. Bot.*, 37, p. 144-148.

