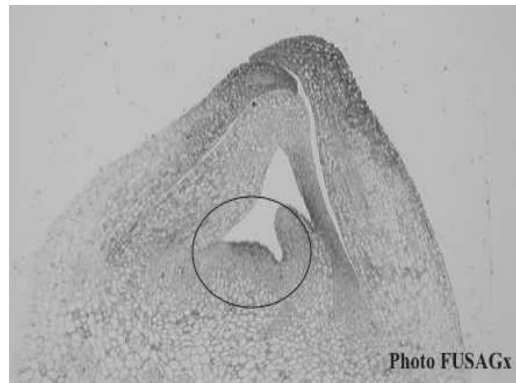


LA CULTURE DE MERISTEMES

1. Introduction

Les méristèmes sont des petits massifs de cellules indifférenciées, qui conservent la capacité de se diviser. Lorsqu'ils sont mis en culture, leur capacité de prolifération et leur potentialité d'organogenèse permettent la reconstitution de plantes entières.

Les termes « méristème » et « apex » doivent être utilisés en fonction de la taille de l'inoculum et du type de tissu que l'on considère. Anatomiquement, le méristème est formé par des cellules non différenciées de caractères embryonnaires : le dôme. La taille de ce dernier ne dépasse pas 0,1 mm. Par contre, l'apex méristématique fait référence au dôme additionné de quelques ébauches de feuilles de taille variable.



Aspect d'un méristème de bananier

Les études de Limasset et Cornuet réalisées en 1949 à partir des plants infectés de tabac ont montrées que le nombre de particules virales décroît régulièrement des parties anciennement formées vers les parties apicales : les feuilles contenues dans le bourgeon apical renferment 150 fois moins de virus que les feuilles moyennes. La culture de méristèmes a ainsi été utilisée avec succès pour l'assainissement de plantes telles que la pomme de terre, la vigne, la tomate et autres. Donc, il est indispensable de recourir à la culture de méristèmes pour produire des plantes saines et indemnes de virus en particulier. Les variétés obtenues par cette voie *in vitro* peuvent être contrôlées par des tests sérologiques afin d'assurer la qualité de leur état sanitaire.

2. Type de méristèmes

On distingue deux types de méristèmes, suivant leur origine :

Méristème primaire

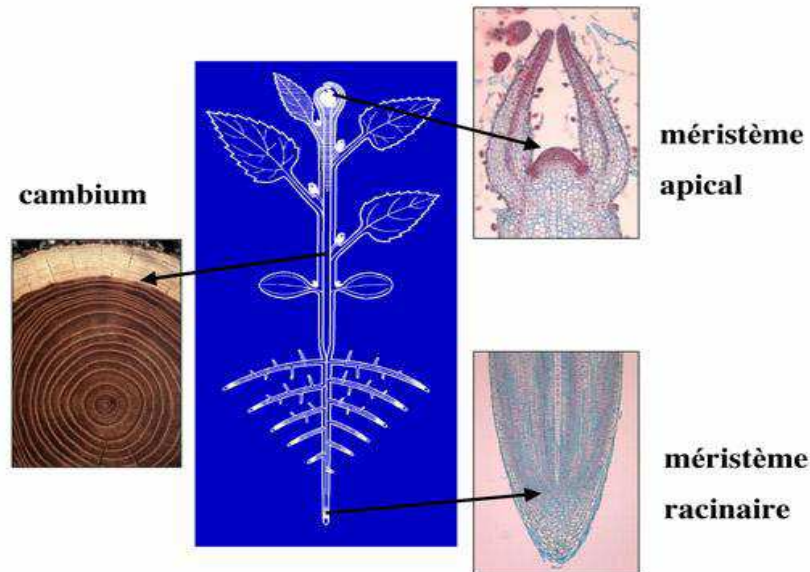
Ils permettent la croissance en longueur sont situés à l'apex des racines et dans les bourgeons apicaux à l'extrémité des tiges et des rameaux (méristèmes apicaux), dans les bourgeons.

- axillaires à l'aisselle des feuilles.
- (méristèmes axillaires), et dans les entre-nœuds (méristèmes intercalaires).

Méristème secondaire

- Permettrait la croissance de la tige.
- Principale est le cambium.

Dans les tiges, ce tissu est situé entre le Xylème primaire à différenciation centrifuge dans la tige et centripète dans la racine d'une part, et d'autre part le phloème primaire, à différenciation centrifuge. Il va ainsi créer des tissus conducteurs secondaires ; les cellules qui le constituent effectuent des divisions radiales.



3. Intérêt de la technique

La propagation par méristème ou apex méristématique se réalise le plus souvent pour :

- l'étude du fonctionnement du méristème.
- La reconstitution de clones sains à partir des plantes mères contaminées.
- La propagation végétative avec un coefficient multiplicatif très élevé.
- Le rajeunissement des espèces végétales et l'obtention des plants plus vigoureux.

On s'oriente vers la culture de méristèmes dans les cas suivants :

- pour les espèces végétales à propagation végétative, la probabilité d'infection de la plante mère virosée à sa descendance est très grande ;
- pour les espèces végétales multipliées par semis où le pourcentage de transmission des virus par semences est élevé.

4. Techniques de culture des méristèmes

4.1. Prélèvement du méristème

L'expression culture de méristèmes devient tout à fait impropre lorsqu'elle s'applique à des explants de taille supérieure à 500 μ voire 1 mm. Le risque de conserver les virus s'accroît rapidement avec l'augmentation de la taille de l'explant (MARGARA, 1982). Le terme exact est alors culture d'apex, qui désigne l'extrémité de la tige.

Le méristème est naturellement protégé par des feuilles et des ébauches foliaires (figure 10), ce qui facilite la désinfection. Généralement, la stérilisation de ce matériel végétal s'effectue par des produits moins agressifs (l'eau de javel diluée par exemple). Après la désinfection, on passe à la deuxième étape qui consiste à prélever le méristème. C'est une phase très délicate : il faut faire très attention à ne pas endommager l'explant. Pour cela, on doit sectionner les ébauches foliaires une à une sous une loupe binoculaire à l'aide d'un micro scalpel

Le méristème isolé est repiqué immédiatement dans le tube renfermant le milieu nutritif. Toutes ces opérations doivent être réalisées dans le minimum de temps pour éviter le dessèchement du méristème et de réduire le maximum les risques d'infection.

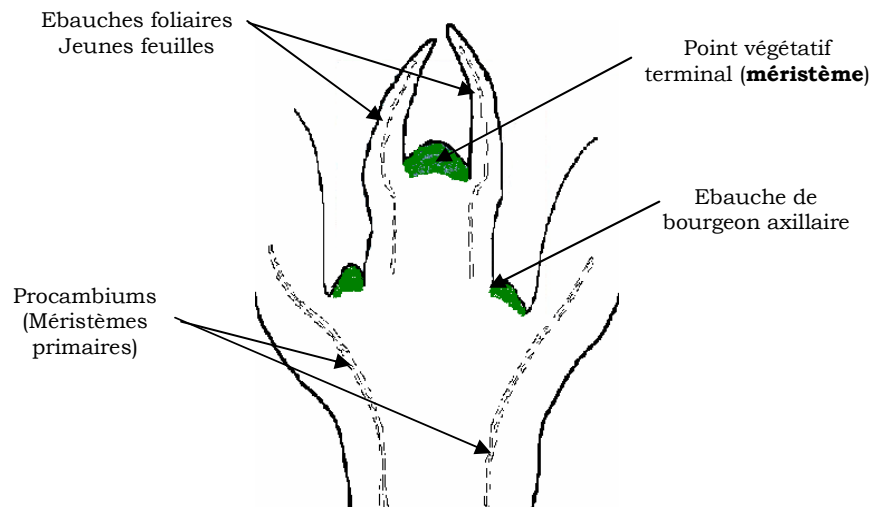


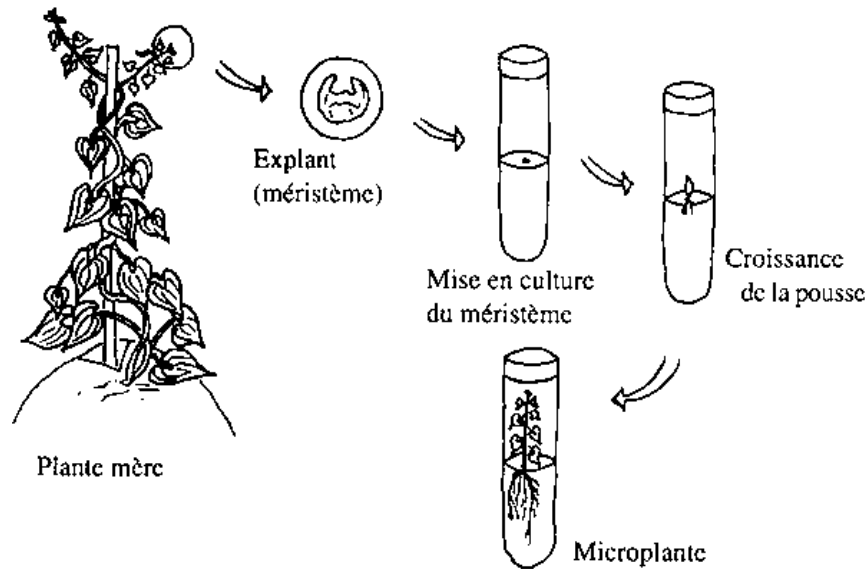
Figure 10 - Représentation schématique d'une coupe longitudinale dans un bourgeon (avec l'emplacement du méristème apical et axillaire)

4.2. Mis en culture

Le méristème isolé est cultivé sur un milieu nutritif. Ce dernier doit être riche en sels minéraux, en particulier en potassium dont sa teneur doit être élevée : le milieu de Murashige et Skoog convient bien à ce type de culture (AUGE et al., 1982). Les mêmes chercheurs signalent l'effet de certains facteurs nutritifs sur la réussite de la culture des méristèmes. En effet, des doses de 20 à 60 g/l de saccharose sont indispensables pour le

développement de ces explants. De plus, les phytohormones sont eux aussi les déterminants de la réussite. En général, une auxine est indispensable avec des faibles concentrations de cytokinines pour assurer la division et la multiplication cellulaire. D'un autre côté, une gibbérelline est nécessaire pour l'allongement de l'apex méristématique.

Dans le cas de la culture des méristèmes des essences ligneuses, l'addition aux milieux de cultures des antioxydants (acide ascorbique par exemple) est indispensable pour limiter le brunissement dû le plus souvent aux composés phénoliques.



Schématisme de la culture de méristème



Chambre artisanale de thermothérapie maintenant les plantes à une température d'environ 39°C et dans une atmosphère humide pendant 3 semaines



Régénération d'une plante à partir d'un méristème