HAL
archives-ouvertes.fr

La multiplication végétative in vitro des végétaux ligneux cultivés : cas des arbres fruitiers et discussion générale

Claude Martin, Monique CARRÉ, Roland VERNOY

To cite this version:

Claude Martin, Monique CARRÉ, Roland VERNOY. La multiplication végétative in vitro des végétaux ligneux cultivés : cas des arbres fruitiers et discussion générale. Agronomie, EDP Sciences, 1983, 3 (4), pp.303-306. <hal-00884513>

HAL Id: hal-00884513

https://hal.archives-ouvertes.fr/hal-00884513

Submitted on 1 Jan 1983

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

Agronomie, 1983, **3** (4), 303-306.

La multiplication végétative *in vitro* des végétaux ligneux cultivés : cas des arbres fruitiers et discussion générale

Claude MARTIN, Monique CARRÉ & Roland VERNOY

I.N.R.A., Station de Physiopathologie végétale, BV 1540, F 21034 Dijon Cedex.

RÉSUMÉ

La multiplication végétative *in vitro* de plusieurs espèces fruitières est étudiée depuis 1974 ; récemment 9 cultivars d'arbres fruitiers élevés sur leurs propres racines ont été comparés en verger à des témoins classiques greffés. Les premiers résultats montrent qu'il est possible d'obtenir des cultivars de pêcher, pommier, cerisier par multiplication végétative *in vitro*, de les cultiver en verger, sur leurs propres racines et d'obtenir des rendements très satisfaisants, au moins avec le pêcher, dès la deuxième année suivant la sortie de tube. Des recherches complémentaires sont encore nécessaires pour développer la technique, tant *in vitro* qu'au verger. Les résultats obtenus avec diverses plantes cultivées multipliées *in vitro* et cultivées sur leurs propres racines sont discutés.

Mots-clés additionnels : *Pommier, Pêcher, Cerisier.*

SUMMARY

In vitro micropropagation of fruit trees.

In vitro propagation of many mature fruiting selections is studied since 1974 ; recently trees of 9 own-rooted cultivars have been established in a test orchard and compared with grafted controls. The first results indicate that *in vitro* propagation of peach, apple and cherry cultivars is clearly feasible ; furthermore own-rooted cultivars of peach, at least, fruited less than two years from the culture jar and gave very good yields. Much additional research is required to extend the technique, *in vitro* and in orchard. The results obtained with different own-rooted cultivars issued from *in vitro* propagation are discussed.

Additional key-words : *Peach, Apple, Cherry cultivars.*

I. INTRODUCTION

Le greffage des espèces fruitières et de certaines espèces ornementales ligneuses a été, à l'origine, le seul moyen pratique de propager à grande échelle des cultivars aux qualités agronomiques, nutritives, organoleptiques ou décoratives exceptionnelles mais très difficilement multipliables par bouturage ou marcottage et évidemment impossibles à reproduire par multiplication sexuée.

Par la suite, l'extension et la diversification des cultures a justifié la recherche de porte-greffes adaptés aux sols calcaires ou asphyxiants, ou conférant des « vigueurs » différentes.

Mais en une décennie la multiplication végétative *in vitro* des plantes cultivées (MOREL, 1963; MARTIN, 1977, 1980, 1981 ; CARRÉ *et al.*, 1979), fille de la culture de méristèmes (MOREL & MARTIN 1952, 1955 ; MARTIN *et al.*, 1967), a pris une extension considérable. Appliquée d'abord à des espèces ornementales ou potagères herbacées, dahlia, œillet, orchidées, pomme de terre... elle est étendue depuis quelques années aux espèces fruitières et ligneuses. Les exemples du fraisier et du framboisier sont bien connus. C'est surtout le remarquable comportement des pêchers-amandiers GF 677 et GF 657 (CARRÉ *et al.*, 1979) et de diverses variétés de rosiers issus de culture *in vitro* (MARTIN *et al.*, 1981) qui nous a incités à faire porter nos efforts sur les arbres fruitiers de nos régions tempérées. Il faut insister ici sur les résultats très encourageants obtenus avec la culture de plusieurs variétés de rosiers issus de multiplication *in vitro* et élevés sur leurs propres racines ; ce sont ces résultats qui ont déterminé le choix des arbres fruitiers. Nous avons donc, à partir de 1978, mis en place des recherches en laboratoire et une expérimentation au champ qui portent sur diverses espèces fruitières : pêcher, pommier, cerisier, *Actinidia,* vigne. Le but de cette publication est de relater nos premiers résultats mais aussi d'attirer l'attention des arboriculteurs français sur la nécessité et l'urgence de coordonner les efforts de la recherche et de la profession en ce domaine qui fait l'objet de développements spectaculaires à l'étranger (ZIMMERMAN, 1981).

II. MATÉRIEL ET MÉTHODES

Pêcher : 3 variétés ont été retenues :

— 1 variété à chair jaune : « Red Haven »

— 1 variété à chair blanche : « Sylver Logan »
— 1 nectarine : « Fantasia ».

Pommier : 2 nouvelles variétés, affectées des numéros 1037 et 1043 sont à l'étude.

Cerisier : ici aussi, 3 nouvelles variétés, CX 85, 81-19, 81-21 et une ancienne variété, « la Chalonnaise » ont été mises en culture.

Les techniques de prélèvement du matériel, de désinfection, de mise en culture *in vitro*, la nature des milieux de culture et les modalités de sortie de tube et de passage en milieu naturel ont été décrites en détail précédemment (CARRÉ *et al.*, 1979).

Les facteurs de multiplication *in vitro* sont de 4 à 5 pour le pêcher, 5 à 7 pour le pommier et le cerisier pour une période de 4 à 5 semaines. Le pourcentage de reprise lors du passage des cultures en milieu naturel est de l'ordre de 80 p. 100. Les dates de sortie des tubes et de plantation en verger sont respectivement : le 10 octobre 1980 et le 15 mai 1981 pour les pêchers, le 20 mars 1981 et le 4 juin 1981 pour les pommiers et les cerisiers. Les témoins, greffés en 1979, ont été fournis par des pépiniéristes professionnels et transplantés en février 1981.

Les distances de plantation étaient de 3 m sur le rang et 4 m entre les rangs.

III. RÉSULTATS

A. Pêcher (planche 1)

Pour des raisons diverses qu'il est inutile de développer ici, les résultats concernent principalement le pêcher ; ils expriment les chiffres obtenus après la 1re récolte. Il est donc évident qu'il est nécessaire de poursuivre l'expérimentation plus avant, plus profondément et plus largement. Néanmoins, il nous paraît pleinement justifié de publier ces résultats encourageants et même spectaculaires en raison de la pléthore de publications étrangères trop hâtives dont la conséquence est une faible représentativité, dans la bibliographie, de l'école française qui est cependant à l'origine de la technique des cultures *in vitro*.

Le choc de la transplantation réalisée en 1981 ne permet pas de prendre en considération, cette année, les productions obtenues avec les témoins greffés issus de pépinières classiques ; ils sont donnés à titre indicatif comme référence pour le poids moyen des fruits (tabl. 1).

TABLEAU 1

Résultats en 1982
Resultats in 1982

Variété	Récolte kg/arbre	Poids moyen par fruit (g)	Hauteur des arbres (m)
Red Haven			
— 4 arbres greffés	1,350	150	2,15
— 8 arbres *in vitro*	2,700	145	2,38
Sylver Logan			
— 4 arbres greffés	3,400	127	2,30
— 7 arbres *in vitro*	6,350	161	2,67
Fantasia			
— 4 arbres greffés	0,750	151	1,93
— 13 arbres *in vitro*	13,060	148	2,45

B. Pommier et Cerisier

Pour ces 2 espèces (2 variétés de pommier, 4 variétés de cerisier) nos résultats sont plus modestes puisque les sorties de tube ont eu lieu en mars 1981. On peut cependant d'ores et déjà écrire qu'on obtient sur leurs propres racines :
— 1 scion de 1,20 m de hauteur en 5 mois
— 1 gobelet formé de 4 à 5 tiges bien ramifiées en 18 mois.

Les premières fructifications sont prévues pour 1983.

IV. DISCUSSION

Les résultats obtenus avec les 3 variétés de pêcher révèlent que des arbres issus de multiplication végétative *in vitro*, élevés sur leurs propres racines, peuvent produire à l'âge de 22 mois de 2,700 kg à 13 kg de fruits par arbre, selon la variété, et ce en Côte-d'Or, région peu propice à la culture du pêcher.

Par ailleurs, le poids moyen des fruits, comparé à celui des arbres greffés, ne révèle pas de différence significative sauf peut-être pour « Sylver Logan », en faveur de l'*in vitro* ; mais ce dernier point nécessite confirmation ou infirmation qui sera acquise dans les toutes prochaines années. Des résultats comparables ont été récemment annoncés avec du poirier obtenu par bouturage classique (THIBAULT & HERMANN, 1982).

Mais il faut surtout noter la remarquable homogénéité des arbres obtenus par multiplication *in vitro* ; c'est une observation que nous avons faite sur de nombreuses plantes ligneuses qui ont fait l'objet de culture *in vitro* dans notre laboratoire : framboisier, rosier, pêcher, mais aussi pommier, cerisier, *Actinidia*, vigne ; pour ces 4 dernières espèces, nous relaterons d'ici peu leur comportement et leurs performances. Mais nous tenons à exprimer ici les hypothèses que nous ont suggérées ces observations. Il est incontestable que les nombreux repiquages et tris de matériel qu'exige la multiplication végétative *in vitro* quand on travaille dans un but d'application pratique sérieux, donc efficace, aboutissent à l'obtention de « clones » qui, physiologiquement, sont beaucoup plus homogènes que les individus obtenus par développement direct des bourgeons prélevés aux différents niveaux d'un rameau. Il y a pensons-nous, une autre raison plausible à cette grande homogénéité. Lorsqu'on place en conditions harmonieuses de rhizogenèse *in vitro* ce matériel très homogène, on obtient une néoformation de racines sans formation de cal de cicatrisation : on a donc une parfaite connexion entre système vasculaire racinaire et système vasculaire caulinaire ; les plantes obtenues ressemblent beaucoup aux individus issus d'un semis de graines génétiquement homogènes, agronomiquement parlant. Cette caractéristique distingue la bouture obtenue *in vitro* de la bouture classique : dans ce dernier cas, le cal de cicatrisation, où sont néoformées les racines, crée un filtre, une chicane au passage de l'eau et des éléments nutritifs venant des racines et cette chicane est, d'observation courante, très différente d'une bouture à une autre. Nous émettons l'hypothèse qu'on tient au moins en grande partie, en ces deux raisons, l'explication du développement harmonieux et homogène des arbres issus de culture *in vitro* et élevés sur leurs propres racines.

Des observations accumulées depuis 4 ans sur le rosier issu de culture *in vitro* et élevé sur ses propres racines nous avaient amenés à émettre la même hypothèse ; en effet, ces rosiers sont beaucoup plus résistants au froid, au gel, que les rosiers greffés. Or, le bourrelet de greffe introduit éga-

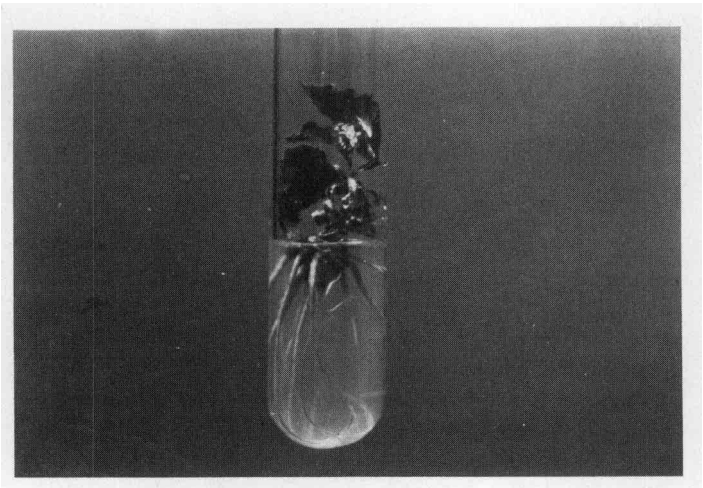

Figure 1

Une microbouture de pêcher, en tube, prête à être sortie (10.10.1980).

A micro-peach-tree, in tube, ready for transplantation (10.10.1980).

Figure 2

Un pêcher en verger, un an après la sortie de tube (9.10.1981). Hauteur de l'étiquette : 40 cm.

A peach tree in orchard, one year after transplantation (9.10.1981).

Figure 3

En fleurs le 15.04.1982.

In flowers on the 15.04.1982.

Figure 4

Fructification le 5.08.1982.

Fructification on the 5.08.1982.

Planche I

Microbouturage du pêcher et culture en verger.

Micropropagation of peach and culture in orchard.

lement un filtre, une chicane, comparable au cal de cicatrisation ; le rosier *in vitro* peut donc beaucoup plus rapidement répondre à une mobilisation des réserves et capacités racinaires que le rosier greffé, lorsqu'il y a un abaissement brutal de la température qui exige une modification rapide de la pression osmotique des cellules et tissus des parties aériennes. Cette interprétation est celle que donnent maintenant les pépiniéristes rosiéristes face au comportement des rosiers issus de culture *in vitro* et élevés sur leurs propres racines.

Il faut de plus noter que le système racinaire des plantes issues des cultures *in vitro* est très différent de celui des boutures classiques : on a régulièrement, avec l'*in vitro*, formation de 3 à 4 grosses racines dotées d'un chevelu abon-

dant qui ancrent bien la plante au sol ; la bouture classique fournit souvent un appareil racinaire superficiel et relativement fragile.

A propos de ce système racinaire, certains pensent que le porte-greffe est indispensable pour pallier les graves inconvénients des sols calcaires ou asphyxiants. Nous n'avons jamais nié l'importance des remarquables travaux sur les porte-greffes qui ont permis de minimiser ces inconvénients en culture traditionnelle ; mais nous posons les questions suivantes :

1) Qui connaît le comportement sur ces sols des variétés de pommier et de poirier actuellement cultivées, avec des sujets élevés sur leurs propres racines mais présentant une anatomie harmonieuse, relative en particulier à la parfaite connexion entre système racinaire et appareil caulinaire ci-dessus évoquée ?

2) En corollaire et par voie de conséquence, qui peut affirmer qu'il n'existe pas de variétés adaptées à ces sols et surtout qui peut prétendre qu'on n'a pas autant de chances de trouver des variétés présentant ces caractéristiques qu'on n'en a de trouver des clones de porte-greffes ?

Quoi qu'il en soit, il est fort probable qu'un « biotechnologue » essaiera un jour d'introduire les « gènes incriminés » dans un matériel récepteur digne de les recevoir. Ce matériel doit-il être le porte-greffe ou la variété fruitière ? Hormis le contrôle de la vigueur, d'où le choix de la forme de verger, on ne voit guère l'intérêt de choisir la première solution dans la mesure où l'on peut cultiver les variétés sur leurs propres racines. Nous reviendrons dans un autre article sur cet aspect « vigueur » en relation avec la culture *in vitro*.

Enfin, il a été et il est toujours dit et écrit que la multiplication végétative *in vitro* provoque souvent un retour irréversible à l'état juvénile. Nous n'avons jamais observé ce phénomène sur aucune des 37 espèces et des 994 clones que nous possédons en culture au laboratoire, depuis 1952 pour les premières, qui vont de la pomme de terre à la vigne en passant par le framboisier, le pêcher, le pommier, l'*Actinidia*, etc. Quatre à huit semaines après la sortie de tube, c'est-à-dire la mise en conditions naturelles, toutes les plantes que nous avons étudiées présentent les caractères des plantes adultes : développement de vrilles chez la vigne, de feuilles trilobées chez le fraisier et pentalobées chez la pomme de terre... à titre d'exemples. Il est vrai que nous attachons un soin tout particulier à éviter l'abus d'hormones et surtout la formation de cals dans nos cultures : on sait que la néoformation de bourgeons sur ces cals fournit souvent de très nombreux variants dont ce retour à l'état juvénile, mais aussi l'apparition de stérilité mâle, de déformations foliaires, d'altérations de pigmentation, etc.

V. CONCLUSIONS

Nous pensons qu'il faut développer la mise à l'épreuve de cette « biotechnologie » afin d'en estimer raisonnablement l'intérêt technique et économique. Les premiers résultats obtenus sur pêcher autorisent à espérer que la culture d'arbres fruitiers issus de multiplication végétative *in vitro* et élevés sur leurs propres racines sera aussi originale et bénéfique que celle du rosier *in vitro*. Pour cette plante, en effet, les derniers résultats acquis chez des rosiéristes professionnels se résument ainsi :

— des rosiers sortis de tube début juin, plantés en serre fin juillet, fournissent au 31 décembre de la même année une récolte qui paye les frais de plantation.

— des rosiers issus de cultures *in vitro* et actuellement en 4e année de production fournissent régulièrement de 15 à 20 p. 100 de fleurs de plus que les rosiers greffés et, selon les spécialistes eux-mêmes, de qualité supérieure ; leur vigueur en 1982 ne laisse en rien présager une réduction de ces performances à court terme.

Pour les arbres fruitiers, on ne connaîtra les performances des sujets issus de cultures *in vitro* qu'en les comparant à des sujets classiques greffés en n'oubliant pas qu'on a affaire à un nouveau matériel qu'il faut nourrir, conduire, soigner en fonction de ses caractéristiques et de ses exigences : jusqu'à ce jour on n'a jamais conduit un pommier sur franc de la même façon qu'un pommier greffé sur M9.

Ultimes remarques : il est évident qu'il sera beaucoup plus facile et beaucoup moins onéreux, avec cette nouvelle technique, de contrôler l'état sanitaire du matériel destiné à l'établissement des vergers, surtout si l'on part d'individus issus de culture de méristèmes.

Par ailleurs, la multiplication végétative *in vitro* permet d'envisager une prémunition efficace et aisément réalisable à l'égard de parasites redoutables, tels *Agrobacterium tumefaciens*, à titre d'exemple. Des expériences sur ce sujet précis sont en cours dans notre laboratoire depuis 2 ans en collaboration avec des pathologistes. Fidèle à notre éthique, nous n'en relaterons les résultats que lorsqu'ils seront scientifiquement et techniquement dignes d'être publiés.

Reçu le 7 octobre 1982.
Accepté le 23 novembre 1982.

REMERCIEMENTS

Les photographies de cet article sont dues à Michel GALLET que nous remercions.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Carré M., Martin-Tanguy J., Mussillon P., Martin C., 1979. La culture de méristèmes et la multiplication végétative *in vitro* au service de la pépinière. *Bull. petits Fruits,* **14,** 7-65.

Martin C., 1977. La culture de méristèmes et la multiplication végétative *in vitro*. La recherche au service de l'agriculture et de l'horticulture. *Jard. Fr.* mai 1977, 8-17.

Martin C., 1980. La multiplication végétative *in vitro* : une technique de pointe au service de l'agriculture. *C.R. Acad. Agric. Fr.,* **66,** 629-637.

Martin C., 1981. Biotechnologie et végétaux supérieurs. *Ann. des Mines.* Janvier 1981, 51-56.

Martin C., Carré M., Vernoy R., 1981. La multiplication végétative *in vitro* des végétaux ligneux cultivés : cas des rosiers. *C.R. Acad. Sci.,* **293,** 175-177.

Martin C., Dulieu H., Carré M., 1967. Sur la possibilité de rendre des plantes virosées indemnes de virus par la culture de méristèmes inflorescentiels et floraux. *C.R. Acad. Sci.,* **264,** 1024-1027.

Morel G., 1963. La culture *in vitro* du méristème apical de certaines orchidées. *C.R. Acad. Sci.,* **256,** 4955-4957.

Morel G., Martin C., 1952. Guérison de dahlias atteints d'une maladie à virus. *C.R. Acad. Sci.,* **235.** 1324-1325.

Morel G., Martin C., 1955. Guérison de pommes de terre atteintes de maladies à virus. *C.R. Acad. Agric. Fr.,* **41,** 472-475.

Thibault B., Hermann L., 1982. Comportement agronomique de poiriers « Williams » cultivés sur leurs propres racines. *Arboric. fruit.,* **341,** 35-36.

Zimmerman R.H., 1981. Micropropagation of fruit plants. *Acta Hortic.,* **120,** 217-222.