Etude de l'Influence de Teneurs Réduites en Oxygène sur Deux Processus de Culture *in Vitro* du Caféier (*Coffea arabica*): l'Embryogènese Somatique et le Microbouturage

C.BROCHERIEUX[1], M.DUFOUR[2]

[1]ISTOM, Cergy, France
[2]CIRAD/CATIE/IICA-PROMECAFÉ, Turrialba, Costa Rica

ABSTRACT

The effect of reduced oxygen concentrations was studied on *in vitro* culture of coffee (*C. arabica*), through two processes: microcutting and somatic embryogenesis.

Already established *C. arabica* var. Icatu microcuttings were multiplied on a Murashige and Skoog medium supplemented with 4.44 µM BA. Those microcuttings were used for several experiments and their leaves were eventually removed in order to be submitted to somatic embryogenesis induction through two methods: an indirect technique, with abundant callus formation through a sequence of two different media, and a method involving a single medium (Yasuda's medium) allowing direct somatic embryogenesis on leaf blades.

Reduced levels of oxygen (9% and 12%) were obtained through a device called "Oxyreducer" which testes the oxygen concentration in a culture chamber, through a probe and regulates it by N_2 injections from a pressure tank.

The monitoring of microcuttings development through height and weight measurement showed a significant reduction in growth at 9% O_2 without loss of viability. This phenomenon can constitute an efficient kind of medium-term preservation.

Also, the embryogenic response of the leaf explants was modified by low O_2 concentrations as shown by callus reduction and higher average number of somatic embryos. In this case, lowering the oxygen concentration allows the somatic embryo to be in conditions physiologically similar to that of the zygotic embryo in the seed.

RÉSUMÉ

L'effet de différentes teneurs en oxygène a été étudié sur deux processus de culture *in vitro* du caféier: le microbouturage et l'embryogenèse somatique. Des microboutures déjà établies ont été multipliées sur un milieu de Murashige et Skoog contenant 4.44 µM de BAP. Ces microboutures ont servi aux diverses expériences et leurs feuilles ont été prélevées afin d'être mises en induction d'embryogenèse somatique selon deux méthodes: un procédé indirect, avec formation de cal, mettant en jeu une séquence de deux milieux différents, et un procédé sur un milieu unique, dit de Yasuda, permettant l'apparition des embryons somatiques sur le limbe de l'explant d'origine avec très peu de cal.

Les teneurs réduites (12% et 9%) en oxygène ont été obtenues par l'intermédiaire d'un appareil, l'"Oxyreducer", qui, à l'aide d'une sonde, teste la concentration en oxygène à

l’intérieur d’une enceinte de culture et l’ajuste et la maintien au niveau désiré (généralement plus bas), par injection d’azote.

Le suivi du développement des microboutures, évalué par leur hauteur, a permis de mettre en évidence une réduction de croissance notoire, mais non rédhibitoire, pour 9%, constituant une possibilité de conservation à moyen terme.

Egalement, la réponse embryogène des explants foliaires (abondance du cal, nombre d’embryons formés par explant, abondance de la réaction) a été modifiée par des teneurs réduites, ce qui se rapproche des conditions physiologiques observées dans la graine pour un embryon zygotique.

De plus, un marqueur de stress, la proline, a été analysé pour les microboutures. La capacité du caféier à accumuler cet acide aminé montre sa bonne résistance au stress induit par la diminution de la teneur en oxygène.