

Modélisation des conditions d'environnement des bocaux de culture *in vitro* : bocaux avec agar et vitroplants

Yao TCHETCHE ^{1*}, Djézia François-Xavier BOUO BELLA ¹, Huguette SALLANON ², Alain COUDRET ² et Harumi ISAKA ³

 ¹ Université d'Abobo-Adjamé, UFR des Sciences fondamentales et appliquées, 02 BP 801 Abidjan 02, Côte d'Ivoire.
 ² Faculté des Sciences, Université d'Avignon et des Pays de Vaucluse, 33 rue Louis Pasteur, 84 470 Avignon, France.
 ³ Laboratoire de météorologie physique, Université Blaise Pascal, 24 avenue des Landais, 63177 Aubière, France.

* Correspondance, courriel : tchetcheyao@yahoo.fr

Résumé

La présente étude traite de la modélisation des conditions des plantes en culture in *vitro*. Lorsque des vitroplants sont introduits dans les bocaux, l'humidité de l'air intérieur varie en fonction de leur stade de développement et ce en accord avec les courbes expérimentales. Les variations diurnes du déficit de pression de vapeur (DPV) présentent un maximum pendant la photopériode et un minimum pendant la nyctipériode.

Par ailleurs, grâce à la prise en compte des réservoirs de la plante, le modèle permet de décrire la déshydratation et la réhydratation des tissus, ce qui est potentiellement d'un intérêt pratique. Au cours du cycle diurne, la teneur en eau relative varie entre 75 et 90 %. Les flux d'eau dans la plante concordent bien avec les variations de la teneur en eau du réservoir plante et caractérisent bien les deux types de régimes de circulation de l'eau dans la plante : le régime de flux conservatif et le régime de flux non conservatif.

Mots-clés : *Modélisation, culture in vitro, humidité de l'air intérieur, réservoir-plante, déshydratation, réhydratation*

Abstract

Modeling the microclimate inside a vessel in *in vitro* culture : vessel with agar and plantlets

This present study deals with the modelling of the microclimate inside a vessel of *in vitro* culture. When plants are introduced into the vessels, the humidity of the internal air is a function of their stage of development. This is in good agreement with the experimental data. The diurnal variations of the vapour pressure deficit (VPD) present a maximum during the photoperiod and a minimum during the nyctiperiod.

In addition, by including the water storage aspect of the plants, the model is able to describe the dehydratation and the rehydratation of cells, which is potentially of some practical interest. During the diurnal cycle, the relative water content varies between 75 and 90 %. Water flows in the plant agree well with the variations of the water storage of and characterize well the two modes of circulation of water in the plant : the mode of conservative flow and the mode of non conservative flow.

Keywords : Modeling, in vitro culture, humidity of internal air, water storage, dehydratation, rehydratation

1. Introduction

Nous avons entrepris une modélisation des processus physiques ayant lieu dans des bocaux utilisés en culture *in vitro* et contenant uniquement un milieu nutritif [1,2]. L'importance de chacun des paramètres intervenant dans les processus (coefficient d'échange de vapeur d'eau, fuites vers l'extérieur, humidité relative des chambres de culture, milieu gélosé, thermopériode, intensité de l'éclairement, degré de "pureté" des parois, quantité d'eau condensée) a pu ainsi être évaluée. Des travaux de modélisations de bocaux de culture contenant des vitroplants ont été menés en vue de prédire les variations d'humidité et la température interne, mais ceux-ci ne tenaient pas compte du stade de développement des plants [3,4].

La présente étude fait suite à la précédente [2] et permet de compléter la construction du modèle entrepris. En effet, nous intégrons les vitroplants dans les bocaux et ceux-ci deviennent donc un nouveau compartiment du modèle physique. Des modifications ont été apportées car les vitroplants interviennent dans les échanges thermiques et hydriques. Pour cela, aux fins de décrire les échanges de surface, nous nous sommes servi du modèle dynamique de transfert hydrique du système gélose-vitroplant-atmosphère [5] et du modèle radiatif de Deardorff [6,7]. Notre objectif est de montrer l'influence du couvert végétal sur l'humidité à l'intérieur des bocaux. Il est important de souligner que l'amplitude des variations de l'humidité relative de l'air à l'intérieur des bocaux ne dépasse pas 4 % et varie entre 96 % et 100 % [8]. Bien que ces faibles variations soient suffisantes pour influencer la croissance des plants [9], il est cependant, très difficile dans ces conditions de mettre en évidence chez les plants, les modifications hydriques, qui pourraient en résulter. Par cette étude, nous apportons la réponse des plants, et notamment les variations de leurs réserves en eau, aux modifications hydriques du microclimat interne.

2. Modélisation

2-1. Modèle dynamique

Ce modèle revient à admettre en marge du circuit principal gélose-feuilleatmosphère, l'existence d'un réservoir plante capable de céder ou de récupérer de l'eau à travers une résistance R₁ *(Figure 1)*. Entre la surface des racines (si racines il y a), ou des cals formés à la base des explants et les chambres sous stomatiques, l'eau rencontre une résistance R_p. Le trajet entre les chambres sous stomatiques et l'atmosphère est représenté par une résistance Ra, somme des résistances stomatique et aérienne [10]. Mais, en phase de multiplication dans notre cas, les vitroplants de rosiers ne présentant pas de régulation

stomatique (les stomates étant toujours ouverts), cette résistance est essentiellement constituée par la composante aérienne.



Figure 1 : Schématisation des transferts hydriques dans le système gélose-plante-atmosphère

Du point de vue des flux hydriques nous distinguons :

- l'absorption de la plante A1 à travers la résistance Rp;

- un flux q1, traversant la résistance R1;

- la transpiration, somme algébrique de deux précédents flux :

$$T_{ra} = A_1 + q_1 \tag{1}$$

Les principales équations qui caractérisent la dynamique de l'eau dans un tel système sont obtenues par l'application de la loi d'Ohm sur chaque trajet.

$$\begin{cases} \Psi_{s} - \Psi_{f} = R_{p}A_{1} \\ \Psi_{p} - \Psi_{f} = R_{1}q_{1} \\ \Psi_{f} - \Psi_{a} = R_{a}T_{ra} \end{cases}$$
(2)

où, Ψ_{s} , Ψ_{f} , Ψ_{p} , et Ψ_{a} désignent respectivement les potentiels hydriques du sol (gélose), des feuilles, du réservoir plante et de l'atmosphère.

Par ailleurs, si v_p désigne le volume à un instant donné du réservoir plante, Vp sa valeur maximale et ρ_p la pente de la courbe du potentiel hydrique Ψ_p par rapport à la teneur en eau relative ω_p ($\omega_p = v_p/V_p$), nous pouvons écrire :

$$q_1 = -\frac{V_p}{\rho_p} \frac{d\Psi_p}{dt}$$
(3)

La combinaison des équations précédentes conduit au système d'équations différentielles en Ψ_f et Ψ_f suivant :

$$\begin{cases} C_1 R_1 \frac{V_p}{\rho_p} \frac{d\Psi_p}{dt} + C_2 \Psi_p = \Psi_a + C_3 \Psi_s \\ C_1 R_1 \frac{V_p}{\rho_p} \frac{d\Psi_f}{dt} + C_2 \Psi_f = \Psi_a + C_3 \Psi_s + R_1 \frac{V_p}{\rho_p} \frac{d\Psi_a}{dt} \end{cases}$$
(4)

avec:
$$C_1 = 1 + \frac{R_a}{R_p} + \frac{R_a}{R_1}$$
 $C_2 = 1 + \frac{R_a}{R_p}$ $C_3 = \frac{R_a}{R_p}$

Nous définissons ci-après la relation caractéristique entre le potentiel hydrique et la teneur en eau relative du réservoir plante *(Figure 2)*:

$$\Psi_{p}(\omega_{p}) = \begin{cases} b_{0} \left(\frac{\omega_{p} + a_{0} - 2}{\omega_{pc} + a_{0} - 2} \right)^{1/2} + c_{0} & \omega_{pc} \le \omega_{p} \le 1 \\ a_{1}\omega_{p} + b_{1} & \omega_{po} \le \omega_{p} \le \omega_{pc} \\ a_{2}(1 - \omega_{p})^{6} + b_{2} & 0 \le \omega_{p} \le \omega_{po} \end{cases}$$
(5)

La continuité aux limites de cette fonction définie par intervalle permet de déterminer les différents coefficients et, de la littérature [11,12], nous

Yao TCHETCHE et al.

pouvons les valeurs critiques suivantes : $\omega_{pc} = 0.9$; $\Psi_s = -5$ bar; $\omega_{p0} = 0.6$; $\Psi_{p0} = -12.6$ bar et a très proche de 1.



Figure 2 : Relation entre le potentiel hydrique (Ψ_p) et la teneur en eau relative (ω_p) du réservoir plante.

A notre connaissance, ce modèle dynamique n'a jamais été appliqué à des vitroplants. A défaut de valeurs des paramètres caractéristiques du matériel végétal, nous avons fait des considérations empiriques sur les résistances en particuliers. Le système d'équations différentielles (4) dont les variables d'entrées sont Ψ_s et Ψ_a est initialisé avec l'hypothèse de flux conservatif (absence d'échange d'eau entre le réservoir plante et les feuilles) et résolu selon le schéma de Runge-Kutta d'ordre quatre.

2-2. Modèle radiatif du type Deardorff

La présence du couvert végétal modifie fortement les échanges de surface. Ce modèle décrit donc les bilans d'énergie au niveau des feuilles et au niveau de la gélose. Le couvert végétal y est représenté de façon très simple au moyen de deux paramètres : l'indice de couverture σ_r ,

égal à la fraction de gélose effectivement couverte par le végétal, et l'indice de surface foliaire, If, qui est le rapport entre la surface totale des feuilles et la section du bocal. Ces deux indices sont proportionnels et le rapport I_f/σ_f vaut 15 pour la forêt et 7 pour les herbes rases [13]. Par ailleurs, puisque les vitroplants connaissent une croissance et un développement, nous avons adopté les formulations suivantes :

$$\begin{cases} \sigma_{f} = at + \sigma_{f0} \\ I_{f} = \sigma_{f} b \exp(ct) \end{cases}$$
(6)

où t indique le temps de simulation. Aussi, à défaut de valeurs expérimentales sur des vitroplants, nos constantes ont-elles été calées de manière à obtenir des valeurs de déficits de pression de vapeur (DPV) comparables à celles expérimentalement mesurées dans les bocaux de culture.

Précisons que le bilan énergétique au niveau de la gélose reste inchangé :

$$Rns - Hs - LvEs - S = 0$$
(7)

Mais, seulement les trois premiers termes (rayonnement net, flux de chaleur sensible et flux de chaleur latente) sont modifiés de la manière suivante :

- Rayonnement net (Rns) :

$$R_{ns} = (1 - \sigma_f)(1 - r_g)(1 - R_0^*)(1 - \exp(-\alpha z_1)) + \sigma_s(1 - \sigma_f)F(T_{pa}^4 - T_{gs}^4) - \sigma_s\sigma_f(T_{gs}^4 - T_f^4)$$
(8)

où F est fonction des facteurs d'angles et des surfaces de la gélose et des parois. Tf, Tpa et Tgs sont respectivement les températures des vitroplants, des parois du bocal et de la surface de la gélose, rg et α coefficients de réflexion et d'atténuation du milieu gélosé, z1 l'épaisseur de la première couche de gélose et le coefficient de Stefan.

- Flux de chaleur sensible (Hs) :

$$H_{s} = (1 - \sigma_{f})\rho_{a}C_{pa}Ch(T_{gs} - T_{in})$$
(9)

Yao TCHETCHE et al.

avec Ch le coefficient d'échange par convection, et ρ_a , Cpa et Tin respectivement la masse volumique, la chaleur spécifique et la température de l'air interne des bocaux.

- Flux de chaleur latente (LvEs) :

$$L_{v}E_{s} = (1 - \sigma_{f})L_{v}\frac{M}{R}Ch\left[\frac{E_{gs}}{T_{gs}} - \frac{E_{in}}{T_{in}}\right]$$
(10)

où E*gs* et E*in* représentent la pression partielle de vapeur d'eau respectivement de la surface de la gélose et de l'air à l'intérieur du bocal ; Lv, la chaleur latente de vaporisation ; R, la constante des gaz parfaits et M la masse moléculaire de l'eau.

Au niveau du couvert végétal, si nous négligeons le stockage de l'énergie et sa consommation par la photosynthèse, la somme des flux de chaleur sensible Hf et latente LvEf est égale à la différence entre les flux entrant et sortant de rayonnement net ΔR_{nc} . Si LvEf est estimé à partir de la transpiration (Ef = Tra) par application de la loi d'Ohm sur le trajet feuilles-atmosphère, les autres termes sont déterminés avec les formulations suivantes :

$$\Delta R_{nc} = \sigma_f \left[a_f R_0^* + \sigma_s (T_{pa}^4 - T_f^4) + \sigma_s (T_{gs}^4 - T_f^4) \right]$$
(11)

$$H_{f} = dI_{f}\rho_{a}Cp_{a}Ch(T_{f} - T_{in})$$
(12)

où af est le coefficient d'absorption du rayonnement visible par les feuilles estimé à 0,63 [14] et d un coefficient qui tient compte des parties du végétal qui ne transpirent pas, mais sont néanmoins des sources de chaleur (d = 1,1) [7].

3. Résultats et discussion

Afin de montrer l'impact de la végétation sur les différents processus physiques et en particulier sur l'humidité interne des bocaux, nous représentons (*Figure 3*) les courbes simulées et les courbes

expérimentales de déficit de pression de vapeur (DPV) des bocaux contenant des plantes âgées de 1 jour et 21 jours. Les variations diurnes du DPV présentent les mêmes caractéristiques que pour les simulations sans vitroplant : maximum pendant la photopériode et minimum pendant la nyctipériode [1,2].



Figure 3 : Courbes de comparaison de déficit de pression de vapeur (DPV) simulé et expérimental des bocaux de culture contenant des plants âgés de 1 et 21 jours. — sur l'axe des abscisses, correspond à la nyctipériode

Toutefois, une remarque très importante se dégage : le DPV est faible pendant la photopériode pour les bocaux de 21 jours, mais identique en nyctipériode dans les deux cas.

Notons qu'entre 1 et 21 jours de simulation (durée d'un cycle de multiplication des vitroplants) les indices de couverture et foliaire varient respectivement de 0,2 à 0,3 et de 0,3 à 1,5. Ainsi, en présence de vitroplants bien développés (21 jours) qui transpirent principalement pendant la phase éclairée, l'humidité augmente. Les maxima sont de l'ordre 70 Pa au lieu de 140 Pa après 1 jour.

L'évaporation de l'eau contenue dans la gélose n'est plus la seule source de vapeur d'eau de l'air du bocal et la contribution des deux composantes de l'évapotranspiration (évaporation, transpiration) dépendra du stade de développement végétal et surtout de l'indice foliaire. Les résultats de simulation sont bien en accord avec ceux obtenus expérimentalement par *Sallanon et Coudret* [15].

La *Figure 4* représente les variations journalières de la teneur en eau relative du réservoir plante et les variations journalières des flux d'eau dans la plante.



Figure 4 : Variations journalières de la teneur en eau relative du réservoir plante (a) et des flux d'eau dans la plante (b). — sur l'axe des abscisses, correspond à la nyctipériode

Yao TCHETCHE et al.

Ces données montrent essentiellement la participation des réserves en eau de la plante au cours du cycle diurne. Au cours de ce cycle, la teneur en eau relative varie entre 75 et 90%.

La teneur en eau relative diminue pendant la phase de réchauffement et se stabilise autour de 75 % pendant la phase stabilisée de la photopériode. Cette valeur correspond à un seuil au-dessous duquel une régulation stomatique s'impose [16] pour conserver les capacités de croissance. Les vitroplants, dépourvus de régulation stomatique, peuvent donc être en état de stress hydrique bien que l'atmosphère soit très riche en eau.

En phase stabilisée de la photopériode, la transpiration est égale à l'absorption, le débit du réservoir est nul et, nous sommes en régime de flux conservatif. Par contre, pendant la nyctipériode et le début de la photopériode (phase de réchauffement), cette égalité n'est plus satisfaite. Les débits du réservoir ne sont plus nuls ; nous sommes en régime de flux non conservatif. Le réservoir plante récupère de l'eau pendant la nyctipériode qu'il cède pendant la phase réchauffement à cause d'une intense transpiration. Précisons par ailleurs que les flux d'eau dans la plante concordent avec les variations de la teneur en eau du réservoir plante et caractérisent bien les deux types de régimes de circulation de l'eau dans la plante : le régime de flux conservatif et le régime de flux non conservatif.

4. Conclusion

D'une manière générale, l'humidité de l'air des bocaux augmente en présence des vitroplants, ce qui est en accord avec les courbes expérimentales de DPV. La variation du taux d'occupation et l'indice foliaire au cours de la croissance et du développement des vitroplants se sont révélés avoir une nette influence sur l'humidité de l'air. Par ailleurs au cours du cycle journalier, le réservoir plante se réhumecte pendant la nyctipériode et se déshydrate pendant la phase de réchauffement. Durant la phase stabilisée de la photopériode la transpiration est égale à l'absorption.

Bien que l'humidité relative de l'atmosphère soit toujours supérieure à 96 %, l'état hydrique des plants présente d'importantes variations journalières. La teneur en eau relative varie entre 75 et 90 %. Ceci permet également de mesurer l'importance des alternances de température journalières dans l'alimentation hydrique des plants.

Nous envisagerons pour la suite la validation du modèle global, après calage des paramètres caractéristiques des vitroplants.

Dans la phase ultime du développement du modèle, nous pensons inclure un module de croissance et développement de vitroplants, module qui dépendrait de l'espèce végétale. Ce module nous permettrait de simuler finement la production de la biomasse, de la transpiration, du gaz carbonique et de l'éthylène due à la mise en place du système foliaire.

Références

- [1] Y. TCHETCHE, *Thèse de Doct. Univ.*, Clermont-Ferrand II, France, N°483 (1993) 165
- [2] Y. TCHETCHE, D. F. X. BOUO BELLA, H. SALLANON, A. COUDRET and H. ISAKA, (2007), *Sciences et Nature*, 4(1) (2007) 75-84.
- [3] C. CHEN, *Biosystems Engineering*, 85(1) (2003) 67-77.
- [4] C. CHEN, Biosystems Engineering, 88(2) (2004) 231-241.
- [5] N. KATERJI, M. HALLAIRE, A. PERRIER, R. DURAND, Acta Oecologia, Oecol. Plant, 4 (1983) 11-26.
- [6] J. W. DEARDORFF, J. Appl. Meteor., 16 (1977) 1182-1185.
- [7] J. W. DEARDORFF, J. Geophys. Res., 83(C4) (1978) 1889-1903.
- [8] T. KOSAI, Y. KOYAMA. and I. WATANABBE, Acta Hort., 230 (1988) 121-127.
- [9] H. SALLANON et Y. MAZIERE, *Plant Cell Tisue and Organ Culture*, 30 (1992) 121-125.
- [10] H. BARRY. et N. TOBY, Agr. and For. Met., 52 (1990) 5-43.
- [11] H. G. JONES, J. Applied Ecolo., 15 (1978) 613-626.

- [12] P. J. SLABBERS, Irrigation Science, 1 (1980) 185-196.
- [13] Mc CUMBER, Ph. D., Univ. of Virginia, Charlotteville, (1980) 255p.
- [14] R. HELLER, R. ESNAULT, *Physiologie végétale : 1 nutrition,* Ed. Masson, (1988) 410
- [15] H. SALLANON, A. COUDRET, C. R. Acad. Sci. Paris, 310 (1990) 607-613.
- [16] T. R. SINCLAIR, M. M. LUDLOW, *Aust. J. Plant Physio.*, 12 (1985) 213-217.