

Acclimatation de vitroplants de bananier (*Musa sp.*) en culture hydroponique: impact de différentes concentrations en cuivre sur la croissance des vitroplants

K.M. Mazinga^{1*}, M. Van Koninckxloo², M. Godoy Jara², L. Baboy Longanza^{3,4} & J. Louvieux²

Keywords : Banana- *Musa sp.*- Vitroplants- Copper- Growth- Hydroponics- DRC

Résumé

Les contraintes dues au cuivre et les conséquences de son accumulation par les vitroplants de bananier pendant la phase d'acclimatation ont été étudiées en culture hydroponique. Des doses de 0-100-500-1000 ppm de cuivre, sous forme de CuSO₄, ont été ajoutées au milieu nutritif en culture hydroponique. A 1000 ppm CuSO₄, les résultats obtenus ont mis en évidence des concentrations en cuivre élevées accumulées dans les racines contrairement aux organes caulinaires. De manière très frappante, la biomasse des organes caulinaires et racinaires a augmenté de manière significative à cette même concentration (à l'exception de la feuille). La croissance de la plante a été réduite sensiblement, même à 100 ppm CuSO₄, bien que la teneur en cuivre dans les tiges et les feuilles soit très faible.

Summary

Acclimatation of Banana's Vitroplants (*Musa sp.*) in Hydroponic Culture: Effects of Different Concentrations Copper on Growth of Vitroplants

Constraints due to copper and consequences of its accumulation in acclimatized banana in vitroplants have been studied in hydroponic culture. 0-100-500-1000 ppm copper was added to the nutrient medium in hydroponic culture. At 1000 ppm, copper was accumulated in the roots but not in the aerial parts. Surprisingly, biomass of shoots and roots was augmented significantly at this concentration (with leaves as an exception). Plant height was reduced strongly even at 100 ppm CuSO₄, although the copper content in shoots and leaves was very low.

Introduction

Le bananier (*Musa spp.*) constitue une importante source de revenus dans les pays en voie de développement, particulièrement en Afrique occidentale, en Amérique ainsi qu'en Afrique tropicale. Sa forte teneur en protéines fait d'elle une matière première en technologie agro-alimentaire tandis que sa teneur en vitamines contribue largement à la résolution des problèmes de malnutrition protéino-calorique (11). En République Démocratique du Congo (RDC), sur le plan national les bananes douces représentent les fruits les plus importants du pays, soit 1/3 de la production fruitière totale. Quant au plantain, il occupe la deuxième place parmi les produits vivriers cultivés en RDC, après le manioc (27). Dans le milieu

périurbain de Lubumbashi (RDC), la production de bananes est une activité agricole de longue date. Aujourd'hui encore, elle présente de nouvelles possibilités grâce à la forte demande sur le marché due à la pression démographique dans la ville de Lubumbashi (plus de 4 millions d'habitants), et les prix élevés. Récemment, BBT (Banana Bunchy Top), une maladie virale transmise par le puceron noir du bananier (*Pentalonia nigronervosa*), a commencé à causer d'importantes pertes de rendement. Ces attaques de BBT, seraient dues au matériel de plantation provenant de Zambie source de BBT, introduit par les agriculteurs dans les nouvelles plantations (5). Les rejets sont produits par les paysans eux-mêmes et sont pour la plupart contaminés, la technique de reproduction par culture de tissus est inconnue (19).

1 Université de Lubumbashi, Laboratoire de culture *in vitro* des plantes, Lubumbashi, RDC.

2 Centre pour l'agronomie et l'agro-industrie de la Province de Hainaut (CARAH asbl) associé à la Haute Ecole Provinciale de Hainaut Condorcet, Ath, Belgique.

3 Faculté des Sciences Agronomiques, Lubumbashi, RDC.

4 Université Libre de Bruxelles (Service d'Écologie du Paysage et Systèmes de Production Végétale, Bruxelles, Belgique).

* Auteur correspondant : michelmaz2003@yahoo.fr

Reçu le 20.06.11 et accepté pour publication le 22.10.12.

L'assainissement du matériel serait nécessaire pour lutter contre les pathogènes qui imposent aux agriculteurs l'utilisation de doses massives de pesticides tels que les benzimidazoles et les triazoles dommageables pour la santé et l'environnement (25). Mais pour que ce matériel s'adapte dans son nouveau milieu et donne un bon rendement, leur plantation doit se faire sur des sols sains (11). La présence excessive en cuivre due aux activités des usines hydro métallurgiques de la Gécamines constitue un problème pour l'environnement et le paysage du Haut-Katanga (9).

Depuis l'avènement de la libéralisation économique en République Démocratique du Congo (RDC), de petites unités artisanales d'exploitation minière ont commencé l'extraction et la transformation de minerais. Les déchets d'extraction et de transformation pouvaient se trouver partout dans la ville. Le ruissellement et le vent facilitent ensuite ces métaux toxiques, dont le cuivre, à pouvoir gagner de plus en plus des surfaces, à tel point que les concentrations sont devenues élevées. Les cultures ont difficile à croître suite aux concentrations élevées en cuivre. En raison de la formation du complexe organocuvré, le Cu en excès peut être hautement toxique (18). Seules les espèces n'ayant pas un intérêt alimentaire, pour la plupart des espèces sauvages possédant une phytotoxicité élevée se sont adaptées à ces conditions et ont pu se développer (23). Cette situation peut avoir un impact majeur sur la sécurité alimentaire locale. Par ailleurs, lorsque le Cu n'est pas disponible, la plante développe des symptômes des carences spécifiques, dont la plupart affectent les jeunes feuilles et les organes reproducteurs. Ainsi, les plantes ont besoin de Cu comme un micronutriment essentiel pour leur meilleure croissance et leur développement normal (2). L'étude de l'effet de la toxicité des doses croissantes de Cu dans le milieu de culture d'enracinement en culture *in vitro* sur les paramètres biochimiques de vitroplants a mis en évidence l'interaction de Cu avec un large éventail de processus physiologiques et biochimiques des espèces des plantes (10). En culture *in vitro* de bananier, l'effet des concentrations de Cu a été rapporté sur un petit nombre de cultivars (3, 21). Par ailleurs, les résultats des études menées en culture *in vitro* de bananier suggèrent que les concentrations élevées de Cu (0,64-6,4 ppm), inhibent l'induction de la rhizogénèse, la croissance et le développement normal du bananier (3, 21). Dans ce travail, nous avons étudié la croissance de vitroplants de bananier en présence de concentrations croissantes en cuivre (Cu) dans le milieu de culture en conditions contrôlées en

hydroponie lors de la phase d'acclimatation en serre. Ensuite, nous avons évalué la teneur en cuivre accumulée dans les différents organes (caulinaires et racinaires) de vitroplants de bananier.

Matériels et méthodes

Matériel végétal

Dans cette étude, nous avons utilisé pour l'ensemble de traitements comme matériel végétal les vitroplants enracinés de l'hybride FHIA-23, ITC 1265, issus du croisement entre «Gros Michel» comme femelle à génome AAA et cv «Highgate 3362SH», mâle. Ces vitroplants ont été initiés au laboratoire du centre de transit de l'INIBAP, à K.U. Leuven (Katholieke Universiteit Leuven). Cependant, la phase de multiplication et d'enracinement de juin 2009 jusqu'en juin 2010 a été réalisée au laboratoire de culture *in vitro* du Centre pour l'Agronomie et l'Agro-industrie de la province de Hainaut (CARAH), HEPH - Condorcet (Haute Ecole Provinciale de Hainaut-Condorcet) à Ath en Belgique. Les vitroplants avaient en moyenne: 5 racines, 3 feuilles et mesuraient en moyenne 5 cm de longueur au bout de 45 jours de la phase d'enracinement *in vitro*. Lors des différentes phases en culture *in vitro*, le milieu de base utilisé est constitué de sels minéraux et de vitamines de (Murashige & Skoog, 1962) additionné des phytohormones dont 10 μM de N6-Benzylaminopurine (BAP), 1 $\mu\text{M.l}^{-1}$ d'acide indole acétique (AIA) et de saccharose à 30 g/l en phase de prolifération contre 20 g.l⁻¹ en phase d'enracinement. Le pH a été ajusté à 5,8. Le milieu de culture a été solidifié à l'agar 'vitro' de Duchefa 7 g.l⁻¹. L'ensemble de culture a été placé à la lumière à 27°C de température, une photopériode de 16 h, pour un séjour total de 45 jours pour chaque phase. Par ailleurs, 1,00% charbon actif a été additionné au milieu d'enracinement.

Cet hybride FHIA-23, dont les fruits sont consommés comme dessert est largement cultivé à Cuba, où il est deux fois plus productif que Cavendish en l'absence de traitements phytosanitaires fongicides appliqués contre les attaques de la maladie des raies noires. Il est également résistant à la race 1 de la fusariose.

Méthode de culture

Une culture *hydroponique* a été réalisée dans des bacs en plastique contenant chacun 5 l de solution nutritive enrichie en Cu aux concentrations différentes; témoin (zéro CuSO₄), 100 ppm, 500 ppm et 1000 ppm constituant les quatre traitements appliqués dans le cadre de cet essai. Ces

concentrations sont similaires à des concentrations en Cu total dans le sol de la forêt claire 116-220 ppm et en ceinture de savane arbustive 200-800 ppm (1, 17). Dans le sol contaminé (Gécamines/Penga Penga/Lubumbashi) la teneur peut dépasser 30000 ppm empêchant ainsi la colonisation végétale, même pour des espèces réputées très tolérantes (22).

On ajoutait 1 litre de solution nutritive (Tableau 1) tous les sept jours et 1 litre de l'eau osmosée tous les trois jours. Un pH de 5,6 était ajusté avec du HNO₃, à raison de 1 ml/litre de solution. Nous avons mis en place un total de 40 pots garnis de perlite dans chacun desquels était repiqué un vitroplant de bananier. Chaque traitement était réparti dans 2 bacs dans lesquels on avait placé 5 pots. Un dispositif de bullage pour l'oxygénation des racines a été installé et relié à une pompe à air (Vacuum gaz pomp, VWR PROLABO), comprenant à son sein deux ouvertures dont une entrée et une sortie.

Tableau 1
Composition de la solution nutritive (Hoagland modifiée).

Éléments	Hoagland modifié.	marque
	(polyvalente)	
	mg/l	mg/l
MgSO ₄ ·7H ₂ O	492	Epsotop
KH ₂ PO ₄	136	Krista MKP
KNO ₃	505	Krista K
Ca(NO ₃) ₂ ·4H ₂ O	1180	Calcinite
Fe-EDTA (6%)	15	
MnSO ₄ ·H ₂ O	1,81	
H ₃ BO ₃	2,86	
ZnSO ₄ ·7H ₂ O	0,22	
CuSO ₄ ·5H ₂ O	0,051	
(NH ₄) ₆ Mo ₇ O ₂₄ ·4H ₂ O	0,12	

Les observations sur les paramètres de croissance sont réalisées tous les quinze jours pendant 8 semaines. Après les 8 semaines de culture, les organes caulinaires et racinaires ont été récoltés (feuilles, pseudo tronc et racines).

La biomasse fraîche a été pesée et les organes récoltés ont par la suite été lavés à l'eau ultra pure et séchés pendant 48 heures à 70°C. La matière sèche a été pesée et broyée puis ensuite calcinée à 450°C et minéralisée dans un mélange d'acide nitrique et perchlorique (1:1). La concentration en Cu des échantillons a ensuite été mesurée par spectrométrie d'absorption Atomique (AAS Varian 220).

Analyses statistiques

Les résultats sur la production de biomasse et la teneur en cuivre dans les plantes ont été comparés au moyen d'une analyse de variance à un facteur (ANOVA). Une analyse de variance à deux facteurs a été utilisée pour analyser l'évolution de la croissance et le développement des vitroplants selon les différentes dates de prélèvements et les différentes doses de Cu. Les moyennes ont ensuite été comparées au moyen des tests de Newman-Keuls. Les analyses ont été réalisées au risque de première espèce $\alpha=0,05$ au moyen du logiciel Statbox 7.1.

Résultats

Teneur en Cu dans les organes caulinaires et des organes racinaires de vitroplants

L'ANOVA ne montre aucune différence significative entre les traitements du point de vue concentration de cuivre dans les organes caulinaires exprimé en ppm par poids sec total. Quelles que soient les concentrations de cuivre: 0 ppm, 100 ppm, 500 ppm ou 1000 ppm, il n'y a pas de différences significatives entre les traitements pour les feuilles et les tiges (Figure 1). Par ailleurs, des différences significatives de concentration en Cu dans les racines existent entre les traitements (Figure 1). L'ANOVA, montre un effet traitement. Des tous les traitements appliqués, les teneurs les plus élevées ont été enregistrées dans les racines (Figure 1).

Importations en Cu des organes caulinaires et racinaires par plante pour différents traitements

Les importations sont calculées en multipliant les teneurs dans les organes par la biomasse de ces organes respectifs. Une différence significative de concentration en Cu importée dans les feuilles a été révélée, l'ANOVA montre un effet traitement. Les vitroplants se trouvant en présence des concentrations élevées en cuivre ont fixé les quantités les plus élevées en cuivre dans la racine, la feuille, ainsi que dans la tige (Tableau 2). L'organe racinaire a importé la valeur la plus élevée (7,26 mg/plante), suivie de la feuille (0,20 mg/plante) et enfin la tige (0,18 mg/plante) (Tableau 2). L'ANOVA appliquée aux résultats relatifs aux quantités totales de Cu fixées par les vitroplants a également révélé une différence significative: les vitroplants de bananier alimentés par la solution nutritive contenant 1000 ppm de CuSO₄ ont importé une grande quantité de Cu. D'une manière générale, la quantité de cuivre importé par la plante est fonction de la concentration se trouvant dans le traitement appliqué.

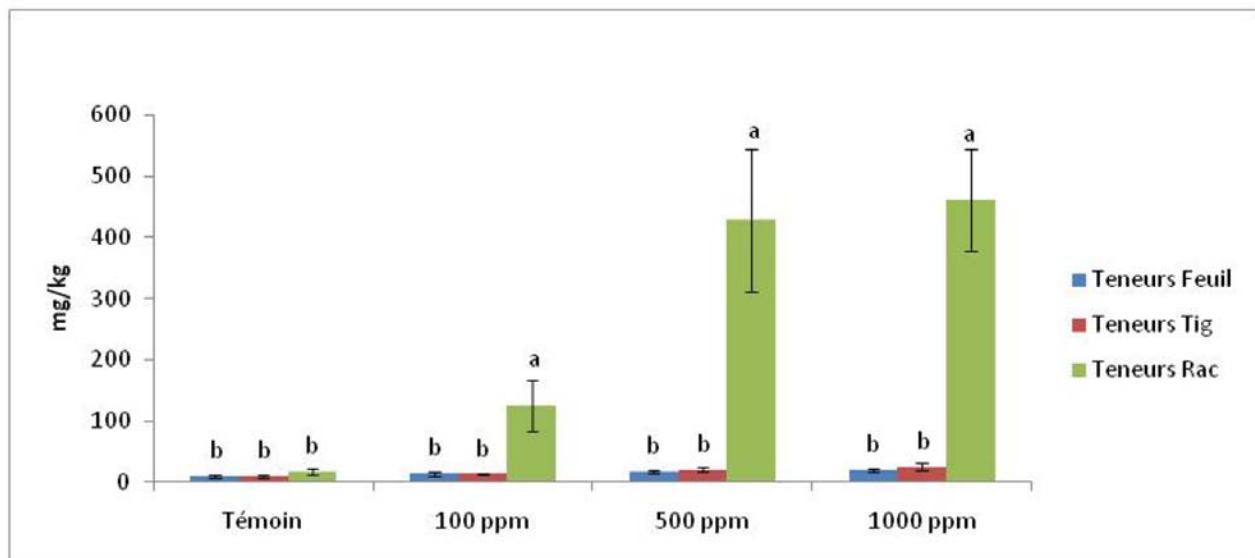


Figure 1: Variation de la teneur en Cu dans les organes caulinaires et racinaires des vitroplants de bananier au cours d'acclimatation en hydroponique.

Les barres d'erreur sont les Écarts types. Les moyennes surmontées d'une même lettre pour une série soit un traitement (Témoïn, 100 ppm, 500 ppm et 1000 ppm) ne sont pas statistiquement différentes (Test de Newman-Keuls au seuil 5%).

Tableau 2

Variation des importations en Cu dans les organes caulinaires et racinaires et l'importation moyenne totale par le bananier en phase d'acclimatation.

Traitement	Importation Feuill/plant	Importation Tig/plant	Importation Rac/plant	Import Total	Répétitions
Témoïn	0,09 ± 0,02c	0,05 ± 0,01c	0,06 ± 0,01b	0,20 ± 0,02b	N=10
100 ppm	0,14 ± 0,04cb	0,07 ± 0,01bc	0,77 ± 0,9b	0,99 ± 0,90b	N=10
500 ppm	0,16 ± 0,03ab	0,11 ± 0,02b	1,64 ± 0,36b	1,92 ± 0,39b	N=10
1000 ppm	0,20 ± 0,03a	0,19 ± 0,06a	7,27 ± 4,51a	7,66 ± 4,59a	N=10

Moyennes ± Ecart-types, N= nombre de répétitions. Pour chaque paramètre, les valeurs avec les mêmes lettres ne sont pas différentes après comparaison par le Test de Newman-Keuls au seuil 5%.

L'évaluation des paramètres de croissance et de développement de vitroplants de bananier sous une contrainte environnementale due au Cu

Impact de la quantité de cuivre importée par la plante sur sa croissance (taille)

Selon nos résultats, l'analyse de la variance réalisée sur la taille des vitroplants révèle un effet significatif des traitements. Les vitroplants de bananier cultivés sans enrichissement en cuivre (0 ppm) de la solution nutritive ont eu une meilleure croissance (effet hautement significatif de traitement). La réponse à la croissance varie fortement selon la concentration en Cu (traitements) (Figure 2). Les vitroplants cultivés, n'ayant pas été enrichis en Cu ont enregistré une croissance deux fois plus grande (22,3 cm de hauteur de plante). La croissance de vitroplants de bananier est considérablement inhibée en présence

à partir de 100 ppm de cuivre dans la solution nutritive (Figure 2).

Réponse de la variation périodique de croissance des vitroplants de bananier en présence du Cu

Une mesure de la taille des vitroplants a été réalisée après 2, 4, 6 et 8 semaines pour tous les traitements. De façon générale, la taille des vitroplants variait fortement selon la période et surtout selon le traitement. L'ANOVA montre et confirme un effet significatif du traitement au cuivre et du temps d'observation. La taille des vitroplants de Bananier du traitement témoin (non enrichi au Cu) est supérieure à chaque période d'observation cela pendant toute la période d'acclimatation (Figure 3).

De la même manière, nous avons mesuré le diamètre des pseudo-troncs aux mêmes périodes (Figure 4).

Le rythme de l'évolution de la croissance du diamètre du pseudo-tronc était aussi similaire à celui de la taille de plant, une différence nettement significative a été mesurée l'ANOVA réalisée à chaque période d'acclimatation montre un effet traitement et période. A partir de 4 semaines, 6 semaines, 8 semaines et même pour la moyenne

totale, le diamètre des pseudo-troncs vitroplants du témoin a été deux fois plus élevé.

Nous avons également prélevé le nombre de feuilles formées sur chaque vitroplant lors de chaque période. Aucune différence significative n'a été révélée entre les traitements sur le nombre de feuilles quelle que soit la période d'observation.

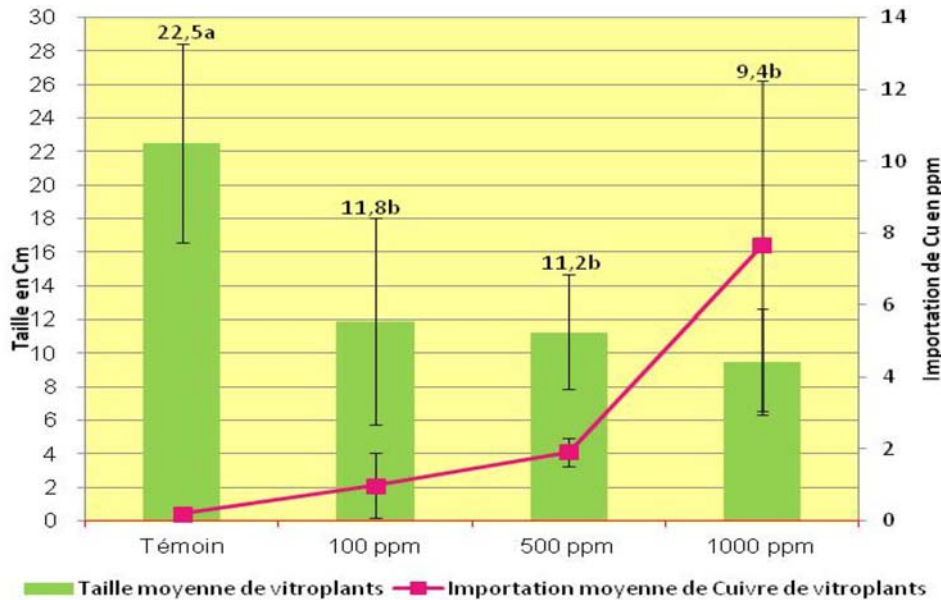


Figure 2: La taille moyenne de vitroplants et importation moyenne totale de Cu par rapport à la dose apportée au bout de 8 semaines d'acclimatation.

Les barres d'erreur sont les Écarts types. Les moyennes des traitements suivies d'une même lettre ne sont pas statistiquement différentes (Test de Newman-Keuls au seuil 5%).

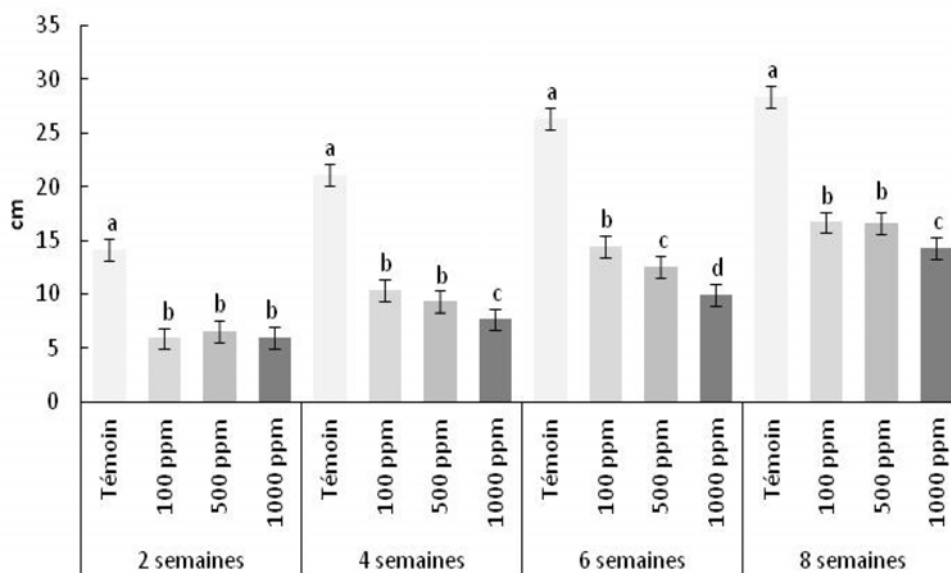


Figure 3: Évolution de la taille moyenne des vitroplants de bananier en fonction du traitement au cuivre et du temps.

Les barres d'erreur sont les Écarts types. Les moyennes (chiffres) des traitements suivies d'une même lettre ne sont pas statistiquement différentes pour une période d'observation; tandis que les moyennes surmontées par deux lettres différentes montrent qu'elles sont intermédiaires (Test de Newman-Keuls au seuil 5%).

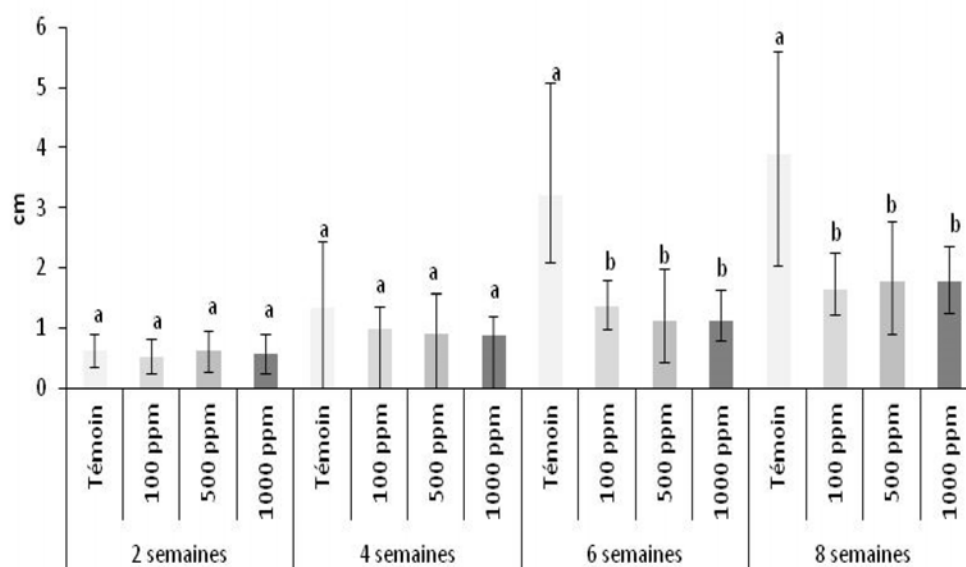


Figure 4 : Représente les variations de la croissance du diamètre du pseudo-tronc observées tous les 15 jours, pendant 60 jours.

Les barres d'erreur sont les écarts types. Les moyennes des traitements suivies d'une même lettre pour une période d'observation ne sont pas statistiquement différentes (Test de Newman-Keuls au seuil 5%).

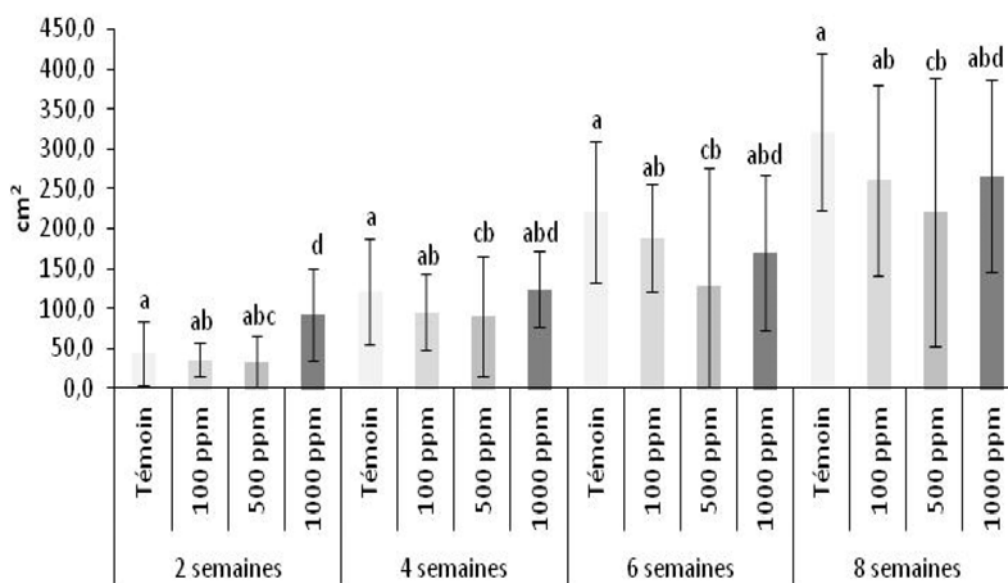


Figure 5: Variations de la surface foliaire des vitroplants sous contrainte environnementale due au cuivre à chaque période au cours d'acclimatation. Les barres d'erreur sont les Écarts types.

Les moyennes des traitements surmontées d'une même lettre à chaque 2 semaines ne sont pas statistiquement différentes (Test de Newman-Keuls au seuil 5%).

La mesure de la surface foliaire a montré des légères variations selon les traitements et selon la période. La surface foliaire était meilleure pour les vitroplants témoin à 0 ppm de CuSO₄ (Figure 5).

La biomasse des organes caulinaires, racinaires et la biomasse totale des vitroplants de bananier par traitement

L'analyse de la variance effectuée sur la biomasse des tiges, des racines ainsi que la biomasse totale, montre un effet traitement. La biomasse la plus élevée statistiquement significative est enregistrée

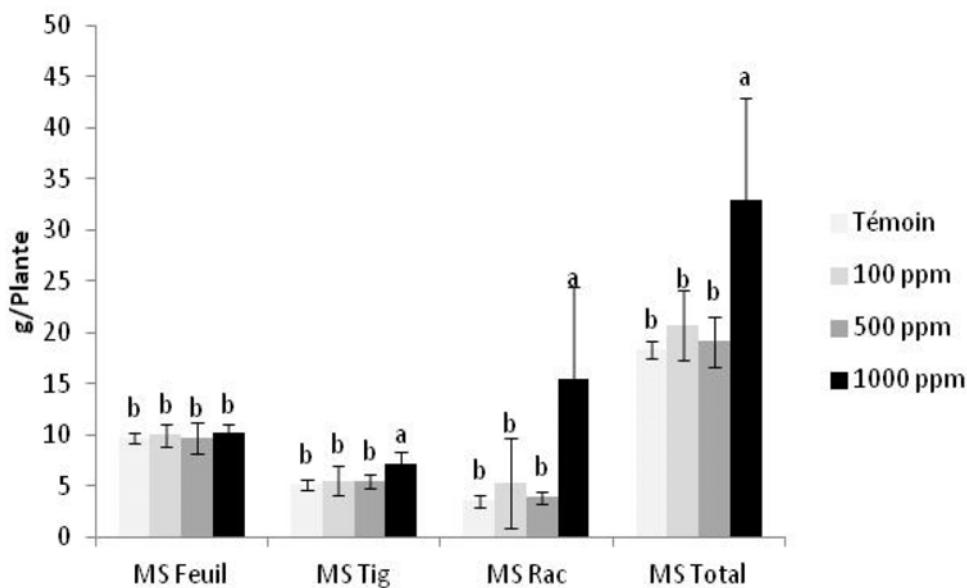


Figure 6: Variation de la biomasse des organes caulinaires et racinaires des vitroplants de bananier cultivés en hydroponique en présence des doses en Cu dans la solution nutritive. Pour chaque traitement, dix répétitions ont été réalisées.

Les barres d'erreur sont les écarts types. Les moyennes surmontées d'une même lettre pour une série (MSFeuil = matière sèche des feuilles par plant, MS Tig= matière sèche du pseudo tronc, MS Rac= matière sèche des racines par plant, MS Total= matière sèche totale par plant) ne sont pas statistiquement différentes (Test de Newman-Keuls au seuil 5%).

avec le traitement à 1000 ppm de Cu (Figure 6). La réponse à la biomasse varie fortement selon la concentration en Cu (traitements). Les vitroplants issus du traitement témoin, ont une biomasse presque deux fois plus petite (18,3 g/plant) que celle obtenue chez les vitroplants cultivés en présence de 1000 ppm de Cu (32,8 g/plant). L'ANOVA de la biomasse foliaire n'a montré aucune différence entre les traitements témoins non enrichis au Cu et ceux enrichis au Cu.

Discussion

Nous avons observé un effet négatif et statistiquement significatif du traitement au cuivre sur la croissance (mesurée par la taille et le diamètre) du pseudotrunc des vitroplants de bananier. Les vitroplants du traitement témoin, n'ayant pas été enrichi au Cu, ont enregistré une croissance deux fois plus grande. Ainsi, les vitroplants de bananier n'ayant pas bénéficié du jeu de la sélection naturelle en réponse à des teneurs en Cu élevées, ne tolèrent donc pas la présence de fortes concentrations en cuivre. Les traitements ont montré une inhibition de la croissance à 100, 500 et 1000 ppm Cu. Nos résultats sont en accord avec ceux obtenus par d'autres auteurs qui ont enregistré une meilleure croissance de la plantule (taille) du cultivar Bantala de bananier avec un milieu de culture contenant une faible concentration soit 0,06 ppm Cu (3). Par ailleurs, l'inhibition

significative de la croissance ainsi qu'une réduction de la teneur en eau dans les racines et les feuilles des jeunes plants de *Vigna radiata* traités avec (0-25 ppm) CuSO₄ en culture hydroponique a été également rapporté (2).

D'autres auteurs (6) ont montré que, la concentration en Mn dans le sol est souvent corrélée positivement avec la concentration en Cu dans la plante, et inversement pour le P, K, Ca et Fe. L'utilisation du substrat (terreau) contenant du manganèse, utile pour la croissance et le développement de la plante n'est bénéfique aux vitroplants de bananier que dans la mesure où les teneurs en cuivre de l'eau d'irrigation ainsi que du terreau ont été bien assainies. Par ailleurs, les résultats d'autres études ont indiqué que l'exposition au Cu induit les changements dans le métabolisme minéral, en particulier pour Fe et Zn (24).

La présence des champignons mycorhiziens favorise aussi la prise de métaux lourds (13) et pourrait influencer la teneur en Cu importée par la plante. Mais aussi entraîner une inhibition de la croissance des vitroplants de bananier au cours de l'acclimatation. Aussi, lors de la phase d'acclimatation de vitroplants de bananier en culture hydroponique, le contrôle régulier du pH pour le maintien de son niveau à plus ou moins (pH: 5,6) est nécessaire. Ceci dit, un pH au-

dessous de 5,25 entraîne une diminution de la macroporosité et de la perméabilité. En outre, l'acidification de la solution nutritive souvent constatée lors de notre essai, pouvait provoquée la diminution de l'assimilation du phosphore et du manganèse, accroître la solubilité d'ions toxiques. Ce qui pouvait ainsi entraîner la diminution de la croissance de vitroplants de bananier. Par ailleurs, pour une meilleure croissance de vitroplants de bananier, l'activité du système racinaire et du système foliaire devant être optimale, il importe que la plante soit elle-même dans les conditions écologiques les plus appropriées. Le respect de certains équilibres entre éléments minéraux est essentiel (11).

Les résultats de notre étude montrent clairement que la concentration en Cu dans les feuilles est faible, aucune différence de capacité d'accumuler le cuivre dans les feuilles n'a été relevée entre les traitements. Ces résultats sont en parfait accord avec ceux obtenus par Lopez et Solis (15) qui stipulent que les bananiers poussant sur un sol à fortes concentrations en cuivre ont un contenu en cet élément qui est plus faible dans les feuilles malgré le fort taux de cuivre au niveau racinaire. Contrairement pour *Phragmites australis*, où les valeurs des teneurs en cuivre dans les feuilles sont très élevées selon la teneur de la source de pollution et diminuent avec l'éloignement de la source de pollution (13). Nos résultats montrent que les vitroplants de bananier n'accumulent pas le cuivre dans les feuilles. On parle d'accumulation lorsque des concentrations importantes de cuivre sont réelles dans les tissus caulinaires mais aussi lorsque les concentrations dans les organes caulinaires sont supérieures à celles du sol. L'accumulation s'accompagne alors d'une détoxification des métaux par séquestration dans les vacuoles des feuilles (7).

Nos résultats montrent une différence significative entre les traitements en ce qui concerne la surface foliaire. Elle pourrait être associée à une variation due à la réponse des vitroplants de bananier au stress environnemental (11). Une observation similaire a été faite par Bandita et Nayak (3) stipulant que le niveau plus élevé de Cu (6,4 ppm), a un effet toxique à l'égard du retard de croissance des feuilles observé en culture *in vitro* du cultivar Bantala. Elle pouvait être aussi due à une forte accumulation de cuivre dans le système racinaire. Les racines étant la charnière entre la photosynthèse et la protéosynthèse (11). La diminution de pigments photosynthétiques pourrait également expliquer la faible croissance de la surface foliaire de bananier (3). Il a été observé une diminution de pigments photosynthétiques chez le

cultivar Bantala en présence des concentrations de Cu élevées dans le milieu de culture (3).

Nos résultats sur la teneur tout comme l'importation en cuivre dans les racines montrent une différence hautement significative. Les teneurs ainsi que les importations en cuivre sont nettement plus élevées dans les racines des vitroplants de bananiers alors qu'elles sont faibles dans les tiges et les feuilles. Ces résultats sont en accord avec les conclusions d'autres auteurs (12, 20). Des résultats similaires ont également été obtenus chez *Phragmites australis* (28) où les 80% des métaux absorbés resteraient localisés dans les organes racinaires. On observe l'absence chez le bananier de nombreux processus moléculaires impliquant l'accumulation des métaux, à savoir la capacité à mobiliser les métaux du sol pour les pénétrer dans les racines, en emmagasinant une partie dans les vacuoles des cellules racinaires, en transférant une autre partie des racines vers les parties aériennes à travers le xylème d'une part; mais également à les distribuer vers les organes aériens jusqu'aux vacuoles des cellules foliaires. Contrairement à l'étude menée par Bandita et Nayak (3), suggérant que les vitroplants du cultivar Bantala sont tolérants envers les stress métalliques, les résultats de notre étude grâce au dosage des teneurs en Cu dans différents organes de vitroplants de bananier ont mis en évidence l'incapacité d'accumuler et le manque de mécanismes de tolérance des concentrations élevées de Cu chez le bananier (FHIA-23). Cependant, les végétaux tolérants au cuivre absorbent les métaux mais limitent le transport vers les organes caulinaires en séquestrant les métaux dans les tissus racinaires (30) alors que les résultats de notre étude montrent tout de même le transfert de Cu des racines vers les tiges et les feuilles malgré sa faible concentration dans les organes caulinaires. Néanmoins, l'accumulation des concentrations élevées en Cu dans les racines observée en culture hydroponique peut se produire différemment dans des conditions écologiques particulières, qui ne se réalisent pas en culture expérimentale (6). Il est également connu la stratégie typique des métalphytes exclueurs de métaux selon laquelle, la relation suggère que le mécanisme de tolérance au cuivre empêcherait la translocation du Cu dans les feuilles chez ces espèces sauvages dont: *Silene vulgaris* (26), *Esholtzia splendens* (29), *Haumaniastrum katangense*.

La biomasse des racines est la plus élevée avec le traitement à 1000 ppm de Cu. La réponse à la biomasse varie fortement selon la concentration en Cu (traitements). Les vitroplants issus du traitement témoin, ont une biomasse presque deux fois plus

petite (18,3 g/plant) que celle obtenue chez les vitroplants cultivés en présence de 1000 ppm de Cu (32,8 g/plant). Par ailleurs, les résultats similaires ont été obtenus par Faucon et collaborateurs (7) qui ont enregistré une forte diminution de biomasse dans la population non-métallicole en réponse au Cu. Au contraire, trois populations métallicoles sur quatre montraient une augmentation significative de la biomasse en réponse au Cu.

Toutes les parties aériennes et souterraines de la plante (à l'exception de la feuille) ont montré une augmentation significative de la biomasse à 1000 ppm de CuSO₄, alors que la croissance (taille) des vitroplants de bananier diminuait fortement à partir de 100 ppm de CuSO₄. Cette observation est appuyée par les résultats de Chipeng et collaborateurs (4) où aucune population métallicole de *C. tenuis* et de *C. perennis* ne montre une diminution de la biomasse à 0,60 ppm de CuSO₄. Dans les mêmes conditions expérimentales, des espèces réputées non tolérantes au cuivre montraient une diminution de la croissance racinaire dès 0,25 ppm de CuSO₄ chez *Arabidopsis thaliana* (Lequeux résultats non publiés) et dès 0,05 ppm chez *Nicotiana*. À l'inverse, les résultats de Macnair *et al.* (16) sur le bananier montrent que les cuprophytes absolues, dont la distribution est strictement liée aux sols cuprifères, pourraient être incapables de coloniser les sols non-métallifères.

La croissance et le développement en phase d'acclimatation des vitroplants de bananier, sont absolument liés à la bonne conduite des travaux d'assainissement environnemental. Malgré que ces vitroplants de bananier soient sains, homogènes et vigoureux, ils ne seront pas capables d'assurer une meilleure croissance dans un environnement non assaini au Cu. Nos résultats montrent l'effet inhibiteur des concentrations élevées de Cu sous forme de CuSO₄ sur la croissance normale et le développement de vitroplants de l'hybride FHIA-23 de bananier lors de l'acclimatation. Cependant, dans une étude réalisée en culture *in vitro* de bananier, d'autres auteurs ont enregistré un bon résultat avec le chlorure de cuivre qu'avec le sulfate de cuivre sur la croissance des pousses et d'autres paramètres testés (20).

Notre étude d'impact des concentrations en Cu sur la croissance de l'hybride FHIA-23 de bananier en culture hydroponique en phase d'acclimatation est la première. Par rapport aux études d'effet des concentrations de Cu menées en culture *in vitro* de bananier par plusieurs auteurs, nous avons réalisé des analyses chimiques de dosage de Cu contenu

dans les différents organes de bananier. Sur base des résultats de notre étude, il peut être conclu que le bananier est dépourvu des processus d'accumulation et des mécanismes de tolérance au Cu. Nos données indiquant l'inhibition de la croissance (taille, diamètre du pseudo-tronc, et surface foliaire) seront certainement utiles pour les chercheurs qui utilisent le Cu comme inducteur de la rhizogénèse en culture *in vitro*. La qualité physiologique et morphologique de vitroplants de l'hybride FHIA-23 cultivés en culture hydroponique en présence des différentes concentrations croissantes en Cu synchronisées dans un milieu de culture chimiquement défini devrait fournir un système expérimental idéal. Par ailleurs, l'utilisation de vitroplants enracinés en culture hydroponique a permis d'appliquer le Cu à des concentrations 1000x plus élevées comparativement aux autres études réalisées en culture *in vitro*, utilisant l'explant ou méristème de 1-2 cm de long contre 0,5 cm de diamètre. Aussi, ces concentrations 1000x élevées sont appliquées en référence aux teneurs en Cu dans le sol de la forêt claire 116-220 ppm, en ceinture de savane arbustive 200-800 ppm et celui de sol contaminé de milieu périurbain de Lubumbashi (Gécamines/Penga Penga/Lubumbashi) 30000 ppm où est prévu l'introduction de l'hybride FHIA-23 (1,17, 22).

En plus, la biomasse des différents organes de vitroplants récoltée à la fin de l'acclimatation en culture hydroponique est représentative pour réaliser des analyses chimiques de dosage de Cu par apport la biomasse obtenue au bout d'une phase de culture *in vitro*. Nous suggérons que d'autres études puissent tester une large gamme de macro-ou micronutriments (Cu) et des différentes concentrations sur la croissance et le développement de bananier en culture hydroponique.

Conclusion

Nous avons mis en évidence des concentrations en cuivre élevées dans les racines et faibles dans les parties aériennes suite à l'enrichissement du milieu nutritif en cuivre. De la même manière, suite aux doses croissantes de cuivre, les vitroplants de bananier ont montré une croissance plus faible, mesurée par la taille et le diamètre des pseudo-troncs. Une différence nettement significative de croissance était réelle entre les vitroplants cultivés dans une solution nutritive non enrichie au cuivre et ceux ayant des concentrations supérieures à 100 ppm. Les résultats obtenus dans cette étude sont significatifs et montrent de façon claire que la présence excessive de cuivre à partir de 100 ppm inhibe la croissance des vitroplants de bananier.

L'acclimatation de vitroplants de bananier nécessite un très bon assainissement en Cu de l'eau d'irrigation et du sol pendant cette phase.

Remerciements

Les auteurs remercient la CUD (Commission Universitaire au Développement) et le CARAH asbl (Centre pour l'agronomie et l'agro-industrie de la province de Hainaut) en Belgique.

Références bibliographiques

- Andres L., 2008, *Etude des contaminations métalliques sur les propriétés des sols autour de Lubumbashi*. Mémoire inédit, Faculté des Sciences Agronomiques de Gembloux, Belgium, 77 p.
- Azmat R. & Khan N., 2011, Nitrogen metabolism as a bio indicator of Cu stress in *Vigna radiata*. *Pak. J. Bot.*, **43**, 1, 515-520.
- Bandita D. & Nayak P.K., 2011, Study of copper phytotoxicity on in vitro culture of *Musa acuminata* cv. 'Bantala'. *J of Agricul. Biotechnol. and Sustainable Dev.*, **3**(8), 136-140
- Chipeng K.F., Hermans C., Colinet G., Faucon M.P., Ngongo Luhembwe M., Meerts P. & Verbruggen N., 2009, Copper tolerance in the cuprophyte *Haumaniastrum katangense* (S. Moore) P.A. DuVign. & Plancke. Accepté dans *Plant and Soil*.
- F.A.O., 2009, Joint meeting of the fourth session of the sub-group on bananas and the fifth session of the sub-group on tropical fruits. CCP: BA/TF 09/CRS 4. p., **14**, 1-10.
- Faucon M.P., Colinet G., Ngongo Luhembwe M., Verbruggen N. & Meerts P., 2009a, Soil influence on Cu and Co uptake and plant size in the cuprophytes *Crepidiorhopalon perennis* and *C. tenuis* (Scrophulariaceae) in SC Africa. *Plant Soil*, **317**, 201-212.
- Faucon M.P., Parmentier I., Colinet G., Mahy G., Ngongo Luhembwe M. & Meerts P., 2009b, May rare metallophytes benefit from disturbed soils following mining activity? The case of the *Crepidiorhopalon tenuis* in Katanga (DR Congo). *Restor. Ecol.*, in press.
- Fomina M.A., Alexander I.J. & Gadd G.M., 2005, Solubilization of toxic metal minerals and metal tolerance of mycorrhizal fungi. *Soil Biol. Biochem.*, **37**, 851-866.
- Katemo Manda B., Colinet G., André L., Chocha Manda A., Marquet J.-P. & Micha J.-C., 2010, Evaluation de la contamination de la chaîne trophique par les éléments traces (Cu, Co, Zn, Pb, Cd, U, V et As) dans le bassin de la Lufira supérieure (Katanga /RDCongo). *Tropicultura*, **28**(4), 246-252.
- Jouili H. & Ezzedine EF., 2003, Changes in antioxidant and lignifying enzyme activities in sunflower roots (*Helianthus annuus* L.) stressed with copper excess. *C. R. Biol.* **326**, 639-644.
- Lassoudière A., 2007, Le bananier et sa culture. Editions Quae, RD 10, 78026 Versailles Cedex, France, **283**, 83-87.
- Lidon FC., Ramalho J. & Henriques FS., 1993, Copper inhibition of rice photosynthesis. *J. Plant Physiol.*, **142**, 12-17.
- Liu Y., Christie P., Zhang J. & Li X., 2009, Growth and arsenic uptake by Chinese brake fern inoculated with and arbuscular mycorrhizal fungus. *Environmental Botany*. In press.
- Loeillet D., 2005, Le marché international de la banane: entre révolution et évolution. *Fruitrop*, **129**, 2-19.
- Lopez M.A. & Solis B.P., 1992, Acumulación de cobre en suelos dedicados al cultivo de banano en el Pacífico Sur de Costa Rica. I. Estado actual de las plantaciones. *Corbana Revista* (CRI), **16**(38), 9-19.
- Macnair M.R., Tilstone G.H. & Smith S.E., 2000, The genetics of metal tolerance and accumulation in higher plants. In: *Phytoremediation of contaminated soil and water* (eds. Terry N., Banuelos G., Vangronsveld J.), CRC Press, Boca Raton, 235-250.
- Malaisse F., 1997, *Se nourrir en forêt claire africaine: approche écologique et nutritionnelle*. Les presses agronomiques de Gembloux-CTA. 384 p.
- Marschner H., Romheld V. & Kissel M., 1986, Different strategies in higher plants in mobilization and uptake of iron. *J. Plant Nutr.*, **3**, 905-921.
- Mobambo K.N., 2002, Stratégie de gestion intégrée des cultures pour la production de bananier plantain et le contrôle de la cercosporiose noire en R.D. Congo. *INFO Musa*, **11**,1, 3-6.
- Moya J.L., Ros R. & Picazo I., 1993, Influence of cadmium and nickel on growth, net photosynthesis and carbohydrate distribution in rice plants. *Photosynth. Res.*, **36**, 75-80.
- Nassar A.H., 2004, Effect of some copper compounds on rhizogenesis of micropropagated banana shoots. *Int. J. Agri. Biol.*, 1560-8530: 06-3-552-556.
- Ngoy Schustha M., 2010, *Phytostabilisation des sols contaminés en métaux lourds par l'activité minière au Katanga «Cas du quartier Gécamines/Penga Penga contaminés en métaux par les émissions de la fonderie de cuivre de l'Usine Gécamines/Lubumbashi»*. Thèse de doctorat inédite, Université Lubumbashi, p. 218, 12-58.
- Reeves R.D. & Baker A.J.M., 2000, Metal-accumulating plants. In: *Raskin I and Ensley BD (eds) Phytoremediation of toxic metals*. Wiley, New York, 193-221.
- Reboredo F., 1994, Interaction between copper and zinc and their uptake by *Halimione portulacoides* L. Aellen. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, **52**, 598-605.
- Sarah J.L., 1996, Parasites et ravageurs de Musa, Fiche technique n°1.
- Schat H., Kuiper E., Ten Bookum W.M. & Vooijs R., 1993, A general model for the genetic control of copper tolerance in *Silene vulgaris*: evidence from crosses between plants from different tolerant populations. *Heredity*, **70**, 142-147.
- SNSA, 1995, Rapports annuels des statistiques agricoles. Service National des Statistiques Agricoles. Ministère de l'Agriculture, Kinshasa.
- Southichak B., Nakano K., Nomura M., Chiba N. & Nishimura O., 2006, Phragmites australis, a novel biosorbent for the removal of heavy metal from aqueous solution. *Water Res.*, **40**, 12, 2295-2302.
- Weng G., Wu L., Wang Z., Luo Y. & Christie P., 2005, Copper uptake by four *Elsholtzia* ecotypes supplied with varying levels of copper in solution culture. *Environ. Int.*, **31**, 880-884.
- Verbruggen N., Hermans C. & Schat H., 2009, Molecular mechanisms of metal hyperaccumulation in plants. *New Phytol.*, **181**, 759-776.

K.M. Mazinga, Congolais, DEA Production Végétale, Ingénieur Agronome. Assistant de recherche à l' Université de Lubumbashi, Laboratoire de culture in vitro des plantes, B.P 1825, Lubumbashi, RDC. michelmaz2003@yahoo.fr.

M. Van Koninckxloo, Belge, Docteur en Sciences Agronomiques, Ingénieur Agronome. Directeur scientifique du Centre pour l'agronomie et l'agro-industrie de la Province de Hainaut (CARAH asbl). Inspecteur général de l'enseignement supérieur de la Province de Hainaut , rue Paul Pastur 11, 7800 Ath, Belgique.

M. Godoy Jara, Chilien, Docteur en Sciences. Maître Assistant, Haute Ecole Provinciale de Hainaut Condorcet. Directeur du laboratoire de culture in vitro du centre de Recherches Centre pour l'agronomie et l'agro-industrie de la Province de Hainaut (CARAH asbl), rue Paul Pastur 11, 7800 7800 Ath, Belgique.

L. Baboy Longanza, Belge, Docteur en Sciences Agronomiques et Ingénierie Biologique (ULB); DESS - Défense des Végétaux (UCL) et Bio-Ingénieur (Ingénieur Agronome - UNAZA-IFA). Professeur Associé à l'Université de Lubumbashi, RD Congo (Faculté des Sciences Agronomiques, B.P 1825, Lubumbashi, RDC) et Collaborateur Scientifique à l'Université Libre de Bruxelles (Service d'Écologie du Paysage et Systèmes de Production Végétale, Avenue F.D. Roosevelt 50, CP 169, B-1050 Bruxelles, Belgique).

J. Louvieux, Belge. Ingénieur Agronome. Responsable d'expérimentations en phytotechnie au Centre pour l'agronomie et l'agro-industrie de la Province de Hainaut (CARAH asbl). Maître Assistant à la Haute Ecole Provinciale de Hainaut Condorcet/ rue Paul Pastur 11, 7800 Ath, Belgique.