

Agroscope RAC Changins: 25 ans de culture *in vitro*

C. L. LÊ, C. JULMI, L. NOWBUTH, M. MANIÈRE, D. THOMAS, J.-P. de JOFFREY et F. TSCHUY,
Agroscope RAC Changins, CP 1012, CH-1260 Nyon

@ E-mail: cong-linh.le@rac.admin.ch
Tél. (+41) 22 36 34 422.

Résumé

Un bilan des activités en biotechnologie végétale d'Agroscope RAC Changins a été établi pour les vingt-cinq dernières années. Ce domaine de recherche poursuit trois objectifs principaux: la reproduction rapide et conforme de clones, l'élimination des pathogènes et la conservation. Des applications pratiques illustrent les multiples facettes de cette biotechnologie au service de l'agriculture en Suisse.



Fig. 1. Microplantes d'absinthe (*A. absinthium* L.).

Introduction

A la Station fédérale de recherches agronomiques Agroscope RAC Changins, la culture *in vitro* a commencé dans les années soixante, mais les applications à large échelle de cette technique ont réellement débuté à la fin des années septante. Dans le service de Biologie végétale, des techniques de reproduction végétative accélérée ont été mises au point pour un large éventail de végétaux, allant des plantes herbacées aux plantes médicinales et aromatiques, en passant par des plantes ligneuses fruitières et forestières. Ces méthodes ont été développées pour répondre à des besoins précis concernant les nombreuses recherches réalisées à Agroscope RAC Changins. Ainsi, les préoccupations qui conduisent une station de recherche appliquée à utiliser la culture *in vitro* se partagent entre trois objectifs principaux:

- ☞ Multiplication rapide (ou micro-propagation)
- ☞ Élimination des maladies à virus
- ☞ Conservation des collections de génotypes de plantes cultivées.

Le présent travail passe en revue les principales activités du service de culture *in vitro* pratiquées durant ces vingt-cinq ans.

Espèces végétales cultivées *in vitro* à Agroscope RAC Changins

Espèces horticoles: *Aeschynanthus*, *Anthurium*, *Nematanthus*, *Eustoma*, *Fragaria*, *Gerbera*, *Primula*, *Rosa*, *Rubus*, *Saintpaulia*, *Spathyphillum*, *Streptocarpus*, *Syringa* et *Viola*.

Plantes maraîchères: Echalote, chou-fleur et asperge.

Pomme de terre: environ 100 variétés.

Plantes arboricoles: Variétés de pommier Gravenstein et Golden, porte-greffe de pommier (M9, M25, M26, M27 et MM106), porte-greffe de pêcher St Julien (GF655/2), porte-greffe du cerisier F 12/1 et EDABRIZ, variétés de poirier Conférence et Comice, porte-greffe de poirier et de cognassier (*Cydonia oblonga*, BA 29, OHF, COCO 1 et COCO 2), porte-greffe d'abricotier (Pixy) et châtaignier (*Castanea sativa* Mill.).

Espèces forestières: *Betula*, *Platanus*, *Quercus* et *Sorbus*.

Plantes aromatiques et médicinales: *Hyssopus officinalis*, *Lavandula angustifolia*, *Origanum majorana*, *Uncaria gambir*, *Thymus vulgaris*, *Salvia officinalis*, *Artemisia annua*, *Artemisia absinthium* (absinthe), *Artemisia umbelliformis* (genépi), *Leontopodium alpinum* (edelweiss), *Pinguicula caudata* et *Arnica montana*.

Espèces viticoles: Cépages de vigne Gamay × Reichensteiner, Solaris, Chasselas, Rouge de Diolly, Diolinoir, Pinot noir et porte-greffe 5BB et 3309.

Plantes diverses: *Stevia rebaudiana*, *Simmondsia chinensis*, *Anagallis tenella*, *Cyphomandra betacea* et *Centaurea jacea*.



Fig. 2a. Edelweiss (*L. alpinum* L.).



Fig. 2b. Genépi blanc (*A. umbelliformis* L.).



Fig. 4. Microplante issue de méristème de pomme de terre débarrassée de ses pathogènes viraux.

Guérison des maladies à virus

L'obtention de plantes exemptes de maladies provoquées par les micro-organismes pathogènes (virus, bactéries et champignons) est rendue possible par la technique de culture de méristèmes (tissus végétaux se trouvant aux extrémités des tiges), seule ou en combinaison avec un traitement à la chaleur (thermothérapie). Des travaux d'assainissement réalisés à Agroscope RAC Changins ont permis de régénérer de nombreuses variétés d'échalotes et de pommes de terre atteintes de viroses graves (fig. 4).

L'élimination des maladies virales sur les sélections d'échalotes et les variétés de pommes de terre confirme que la culture *in vitro* est une technique indispensable et pratique offrant deux atouts majeurs:

- remise sur pied et réintroduction dans le circuit commercial de matériel dont la qualité agronomique est fortement appréciée, mais qui est malheureusement sensible aux maladies;
- contribution à l'amélioration de l'environnement agricole en diminuant les sources d'épidémie au champ.

Cet assainissement a permis non seulement de débarrasser les pommes de terre cultivées de leurs agents pathogènes, mais encore de sauver nombre d'anciennes variétés de pommes de terre cultivées en Suisse (tabl.1).

Cette technique de guérison des maladies virales nous permet également d'apporter, en collaboration avec la Direction du développement et de la coopération Suisse (DDC), une aide directe aux pays en développement (tabl. 2), en soignant des variétés de pommes de terre atteintes de graves maladies virales et en fournissant rapidement en retour des souches parfaitement saines, indispensables au renouvellement du matériel de base. Ce mode de guérison contribue principalement à remédier au manque important de ma-

Reproduction rapide et conforme

La miniaturisation des organes végétaux en culture *in vitro* permet de raccourcir le cycle de multiplication et d'en augmenter la fréquence. En outre, la mise au point des conditions de culture appropriées à chacune des espèces végétales cultivées permet de propager rapidement et en respectant leur patrimoine génétique des génotypes (cultivars) présentant des caractéristiques agronomiquement importantes (voir encadré).

Dans les travaux de sélection et d'hybridation, on ne dispose souvent que d'une quantité restreinte de matériel végétal, produite après de nombreuses années de sélection. La culture *in vitro* est, dans ce cas, d'une grande utilité pour accélérer la reproduction d'exemplaires (têtes de clones) intéressants pour les essais d'amélioration et/ou pour une éventuelle commercialisation. De nombreuses sélections de plantes médicinales et aromatiques, avec des caractères très performants sur le plan agronomique et phytochimique (fig. 2a,b), ont ainsi été reproduites afin de disposer rapidement du matériel initial nécessaire aux programmes d'amélioration.

Concernant la micropropagation des plantes ligneuses fruitières et forestières, l'application des connaissances acquises au cours des travaux *in vitro* a permis d'améliorer leur capacité d'enracinement (fig. 3), notamment sur les porte-greffe reconnus difficiles.



Fig. 3. Microplante de poirier (porte-greffe COCO, sélectionné à Agroscope RAC Changins) enracinée.

Tableau 1. Variétés de pommes de terre cultivées en Suisse atteintes de maladies virales et régénérées *in vitro*.

Variétés	Viroses
Acht-Wochen-Nüdeli	PVS
Ackersegen	PVS
Bleue	PVS, PVY
Blauschalige Bristen	PVA, PVM, PVS, PVY, PLRV
Blaue Emmensteg	PVS
Blaue Ludiano	PVS, PVY, PLRV
Blaue Schweden	PVS, PLRV
Blaue Zimmerli	PVA, PVS, PVX, PVY
Early Rose	PVA, PVS
Eerstling	PVS, PVX
Eigenheimer	PVS, PVX
Erdgold	PVS, PVX
Fläckler	PVM, PVS
Guarda	PVA, PVY
Hermès	PVS
Highland Burgandy	PVA, PVS, PVX, PVY, PLRV
Institut de Beauvais	PVA, PVS, PVY, PLRV
Lauterbrunnen	PVS
Lilaschalige Üetendorf	PVS
Maikönig	PVM, PVS, PVX
Patata Verrayes	PVA, PVM, PVS, PVY, PLRV
Parli	PVA, PVS, PVX, PVY, PLRV
Roosevelt	PVA, PVM, PVY, PLRV
Roseval	PVS
Rote Lötschentaler	PVS, PVY
Safier	PVS
Virgule de Béroche	PVM, PVS
Vitelotte	PVY
Vriner	PVY
Weisse Lötschentaler	PVS
Weltwunder	PVA, PVS, PVX
Wiesner aus Wiesen	PVA, PVS, PVY
Wiesner aus Zillis	PVY

tériel de base sain, dans le cadre de l'aide en matière de biotechnologie aux pays émergents (tabl. 2).

Conservation des génotypes

Une collection de génotypes en parfait état sanitaire a été mise en place, comprenant des plantes médicinales et aromatiques très intéressantes sur le plan phytochimique, des variétés de pommes de terre anciennes et celles de l'assortiment suisse, ainsi que des espèces horticoles, maraîchères, forestières, viticoles et arboricoles (fig. 5).

La conservation *in vitro* confère effectivement à l'ensemble de notre matériel de base une protection totale contre les risques d'infection dus à la présence permanente de micro-organismes pathogènes dans la culture en plein champ. Ce type de conservation permet également d'abaisser les frais engagés dans le maintien de telles collections de génotypes et de fournir chaque année, rapidement et sans limite, du matériel de base en Suisse (des pommes de terre, par exemple). Cette prestation est de première importance lorsqu'il s'agit de réintroduire rapidement les souches de base ou de remédier aux dégâts provoqués par des destructions répétées comme c'est le cas dans des pays en guerre.

A Agroscope RAC Changins, les végétaux cultivés sont préservés des risques de contamination en miniaturisant des organes de conservation, permettant de conserver dans un espace minimal une collection de plusieurs centaines de

Tableau 2. Assistance biotechnologique aux pays en développement fournie par Agroscope RAC Changins: pays et variétés de pommes de terre assainies *in vitro*.

Pays	Variétés
Bolivie	Désirée
Burundi	Sangema
Corée du Nord	Potai 1000 Djangin Baik Am Yangdok Taihondan Kamsa Chonjin Pujon
Népal	Kathmandu local red Syandorje Sarkhari Seto
Rwanda	Sangema



Fig. 5. Conservatoire *in vitro* à Agroscope RAC Changins.



Fig. 6. Une collection de génotypes de poirier conservés *in vitro*.



Fig. 7. Explants uninodaux (Ø 5 mm) de pomme de terre enrobés dans une matrice d'alginate de calcium conservés *in vitro* à +4 °C.



Fig. 8. Collection d'anciennes variétés de pomme de terre maintenues *in vitro*.

génotypes. On estime qu'un millier d'exemplaires de plantes pourraient être maintenus par mètre carré de chambre de culture (fig. 6).

Cette quantité pourrait encore être multipliée si l'on diminuait la taille des explants en ne gardant, par exemple, que le strict minimum de tissus ou d'organes nécessaires à leur survie (fig. 7).

A cet égard, un conservatoire *in vitro* a été créé en 2003 à Agroscope RAC Changins, en accord avec la Commission suisse pour la conservation des plantes cultivées (CPC), afin de garantir la préservation et l'utilisation durable des ressources génétiques des pommes de terre et des petits fruits en Suisse (fig. 8).

Cette banque de génotypes de pommes de terre constitue, à présent, une collection dont certaines variétés sont plus que centenaires. Elle fournit également, de par son rôle de conservatoire, du matériel initial (têtes de clones) en parfait état sanitaire et conforme aux exigences de la production des semences de pommes de terre en Suisse.

Remerciements

Nous remercions vivement la direction d'Agroscope RAC Changins pour avoir autorisé le développement de cette nouvelle biotechnologie. Merci au Secrétariat d'Etat à l'éducation et à la recherche (SER) au travers des Actions COST (87, BRIDGE, G4, 822 et 843)

pour son appui financier nécessaire au développement des biotechnologies végétales appliquées en Suisse. Nos remerciements vont également à tous nos collègues de la Station fédérale de Changins, ainsi qu'à ceux des Actions COST pour leur aide précieuse et leurs conseils avisés qui nous ont accompagnés tout au long de ces vingt-cinq ans d'expérience.

Conclusions

- ❑ Au cours de ces vingt-cinq années, la Station fédérale de recherches agronomiques de Changins, faisant figure de pionnier dans cette nouvelle discipline, a réalisé d'importants travaux visant à promouvoir le développement et l'application des techniques *in vitro* (biotechnologies végétales) dans de nombreux domaines de l'agriculture.
- ❑ Les recherches conduites dans ce cadre ont montré, au travers des expériences effectuées sur des espèces végétales cultivées, le rôle important que la culture *in vitro* peut jouer dans l'agriculture suisse. Autrement dit, les possibilités de recherche offertes par la culture *in vitro* sont nombreuses, de la mise au point des techniques en laboratoire à l'utilisation pratique à large échelle.
- ❑ La culture *in vitro* permet également de répondre aux besoins du pays en lui offrant un outil important et efficace pour:
 - constituer rapidement de nouvelles sources de matériel végétal nécessaire aux travaux de domestication et d'amélioration;
 - assainir les génotypes de pommes de terre et d'échalotes atteints de maladies virales;
 - conserver à l'abri des contaminations les ressources phylogénétiques servant de matériel initial pour une agriculture durable;
 - sauvegarder des espèces végétales menacées de disparition dans leur habitat naturel suite à des déprédations et des cueillettes sauvages;
 - apporter une assistance directe et importante en matière de biotechnologie dans les projets d'aide aux pays en développement.

Zusammenfassung

Agroscope RAC Changins: 25 Jahre *in vitro* Kultur

Agroscope RAC Changins hat über die Aktivitäten im Bereich *in vitro*-Kultur eine Bilanz der letzten 25 Jahre erstellt. Die Projekte in diesem Forschungsbereich formulierten sich rund um folgenden drei Hauptgebieten: Die rasche und konforme Vermehrung von Klonen, die Beseitigung der Krankheitserreger, und die Konservierung. Zweckmässige Anwendungen veranschaulichen die zahlreichen Facetten dieser Biotechnologie im Dienste der Schweizer Landwirtschaft.

Summary

Agroscope RAC Changins: 25 years of *in vitro* culture

An inventory of *in vitro* culture activities for the last 25 years at Agroscope RAC Changins has been established. In this field of research, topics were developed in three main axis including rapid and true-to-type micropropagation, pathogen elimination and conservation. Practical applications illustrate the many aspects of this biotechnology in agriculture.

Key words: tissue culture, pathogen elimination, *in vitro* conservation.

Bibliographie

Sur demande, une liste complète de références bibliographiques rapportant les travaux réalisés dans le domaine des biotechnologies végétales appliquées à Agroscope RAC Changins peut être obtenue auprès du premier auteur.