

Biotechnologie et Conservation Végétale

Un des objectifs établis par le Projet SEMCLIMED est la mise en oeuvre de nouvelles technologies de conservation de matériel génétique végétal. Les 50 dernières années ont été témoins d'une évolution sans précédent de notre connaissance sur la conservation et ses interrelations avec l'objectif du développement durable. Aujourd'hui la conservation est, bien sûr, plus qu'un concept, preuve faite par le grand effort consacré à mettre au point les bases scientifiques, techniques, sociologiques et économiques nécessaires à l'implantation efficace des actions de conservation. La cause est simple. La diversité biologique mondiale est en train de diminuer à une vitesse sans précédent, cela constitue déjà une constatation alarmante contre laquelle il faut prendre des mesures urgentes. Quelques données prouvent cette affirmation. Pendant la période 1996-2004, 8321 espèces végétales ont été incluses dans la Liste Rouge d'Espèces Menacées de l'Union Mondiale pour la Nature (UICN). Le principal objectif de cette Liste Rouge est de cataloguer les taxons confrontés à un risque très grand d'extinction globale (c'est à dire, les

taxons considérés en danger critique, en danger et vulnérables). Précisément, pendant cette même période, il y a eu une augmentation de plus de 60% du nombre des plantes considérées en danger critique. Cette situation demande des mesures immédiates de conservation, in situ et ex situ, afin d'arrêter la disparition de génotypes et, par conséquent, l'irréversible réduction de la diversité génétique.

Il est bien connu que parmi toutes les méthodes de conservation ex situ de germoplasme végétal, les banques de semences ont été la stratégie la plus utilisée jusqu'à présent. Cette stratégie exploite les caractéristiques de résistance des semences de nombreuses espèces de plantes supérieures, leur permettant de survivre dans des conditions optimales de conservation pendant de longues périodes de temps. Cependant, la conservation de semences ne satisfait pas toutes les situations observées fréquemment dans la Nature. Ainsi, les espèces qui, naturellement, s'étendent par voie végétative, les espèces produisant des semences récalcitrantes (des semences qui ne tolèrent pas la dés-

hydratation et, par conséquent, ont une période de conservation très courte) ou de basse qualité en ce qui concerne le pourcentage de germination ou survie de la plantule ou les espèces dont les populations sont déjà très réduites et peu accessibles pour y réaliser une collecte efficace de semences, etc., resteraient en dehors de nos efforts de conservation. Par conséquent, nous avons besoin des alternatives qui complètent la conservation de semences en évitant leurs limitations. Les alternatives, on les trouve dans le domaine de la biotechnologie.

Les deux premiers apportent des outils de plus en plus efficaces permettant de mesurer la diversité génétique d'une population végétale, contrôler les changements génétiques qui ont eu lieu dans le temps ou sont la conséquence d'actions déterminées sur cette population, et d'obtenir des informations plus précises sur l'état phytosanitaire des individus qui seront conservés.

Il y a quatre secteurs principaux de la biotechnologie moderne qui peuvent faire-part directement des programmes de conservation végétale.

- a) Technologie des marqueurs moléculaires.
- b) Diagnostique moléculaire.
- c) Culture de tissus (technologies in vitro).
- d) Cryoconservation.

Les deux dernières constituent l'apport de la biotechnologie aux outils actifs de conservation: la culture de tissus par des techniques in vitro orientée vers la régénération de plantes complètes (micropropagation); et la cryoconservation, ou maintien de matériel biologique (cellules, tissus ou organes) surgelés à la température d'azote liquide (-196°C). Ces deux actions ont été incluses dans le Projet SEMCLIMED avec comme objectif de chercher des techniques complémentaires de conservation de matériel génétique végétale dans une phase du projet qui sera coordonnée par la Direction Générale du Milieu Naturel de la Consejería de Industria et Medio Ambiente de la Région de Murcie (Espagne).

L'exécution de cet objectif s'est faite à travers de deux aspects : la formation et la recherche. La formation : en même temps qu'a eu lieu à Murcie la première réunion générale du Projet SEMCLIMED (25-29 septembre 2006), on a organisé le Séminaire sur

Récipient d'azote liquide avec des échantillons végétaux cryopreservés

la Biotechnologie, le 26 septembre 2006.

On conduira aussi des actions spécifiques de formation de personnel intéressé dans l'application de ces techniques, lequel recevra la formation appropriée en techniques de micropropagation et cryoconservation par les spécialistes du groupe de Murcie.

Le travail portera sur le développement de protocoles spécifiques en propagation et cryopréservation pour les espèces suivantes



choisies par l'équipe de Murcie :

Tamarix boveana
Tetraclinis articulata
Cistus heterophyllus
 subsp. *carthaginensis*
Astragalus nitidiflorus

Développer un protocole de micropropagation suppose d'accomplir une série d'étapes :

1. Sélection des explants appropriés (sections de tissus ou organes qui vont être utilisés afin de commencer la culture in vitro).
2. Sélection de la stratégie de régénération à employer (généralement, celle qui comporte un risque mineur de variation génétique, par exemple, la prolifération de bourgeons axillaires ou méristèmes apicaux).
3. Mise au point d'une méthode de stérilisation des explants choisis (basé sur la combinaison d'agents mouillants comme l'éthanol et des agents oxydants comme l'hypochlorite sodique).
4. Adaptation et stabilisation des explants aux conditions in vitro.
5. Mise au point d'un système de multiplication des explants (afin d'obtenir un nombre théoriquement illimité de nouveaux explants à partir du premier)
6. Élongation et enracinement des explants obtenus.
7. Acclimatation aux conditions du milieu ex vitro des explants enracinés.



Après développement du protocole de micropropagation, on n'aura une voie de reproduction clonale à caractère illimité pour l'espèce donnée, mais aussi la possibilité d'utiliser ces mêmes explants pour la phase suivante. Cette phase consiste dans la mise au point d'une stratégie de cryoconservation en utilisant pour ceci, la technologie de stockage de matériel biologique à la température de l'azote liquide, c'est-à-dire -196°C , température

à laquelle tous les processus métaboliques et la division cellulaire s'arrêtent ; permettant ainsi, le stockage à long terme des ressources génétiques végétales. Avec cette technologie, on peut aborder la cryoconservation de semences complètes, d'embryons zygotiques, de bourgeons ou méristèmes, de tissus, de suspensions cellulaires, d'embryons somatiques, de pollen, de callus, etc.

En définitive, cette phase du Projet SECLIMED réunit un défi scientifique important, tel que le fait d'aborder la multiplication de plantes et le maintien du matériel génétique viable isolé de la plante mère, avec une course contre la montre qui suppose arrêter la perte de diversité biologique en fournissant le plus grand nombre d'outils les plus efficaces.

Comme dans le cas de la micropropagation, la cryoconservation a aussi besoin de l'optimisation de différentes étapes spécifiques :

1. Sélection d'explants et prétraitement. Il est nécessaire d'établir la taille optimale de l'explant, ainsi que le fait d'appliquer ou ne pas appliquer un prétraitement consistant à un processus d'adaptation aux basses températures, un traitement avec une forte concentration de sucres, etc. Avec tout ceci les explants sont en capacité de mieux tolérer les étapes successives du processus.
2. Sélection de la stratégie appropriée de cryoprotection. Tous les tissus ont besoin d'être traités afin de tolérer la surgélation sans formation de glace, qui serait létale pour la survie cellulaire. Les nombreuses possibilités existantes permettent de trouver la meilleure pour chaque type d'explant: cryoprotection chimique (traitement avec des cryoprotecteurs ou anticongélants chimiques, par exemple, saccharose, mannitol, sorbitol, diméthylsulfoxyde, polyéthylenglycol, etc.), déshydratation, vitrification (traitement des explants avec une solution très concentrée d'une combinaison de cryoprotecteurs chimiques) ou encapsulation (inclusion des explants dans une capsule d'alginate calcique) associée à une déshydratation ou vitrification, etc.
3. Surgélation.
4. Dégivrage.
5. Récupération post-surgélation (vérifier que les explants ont conservé leur viabilité, leur capacité morphogénétique, leur stabilité génétique, etc.).