

Les Cultures in vitro Végétales

Dans les programmes classiques d'amélioration des plantes, pour créer une nouvelle variété il faut compter de 8 à 15 ans selon l'espèce. C'est très long, d'autant que les objectifs de sélection peuvent évoluer avec le temps: goût du consommateur, contraintes industrielles, etc.

Les techniques de culture *in vitro* sont des outils qui peuvent aider l'obteneur de plantes à différents niveaux de son programme d'amélioration, notamment pour réduire les délais de mise sur le marché des nouveaux **cultivars**, mais aussi pour assainir les variétés, les conserver et réduire les coûts de production.

Définition : Les cultures *in vitro* végétales sont des cultures **d'explants** de plantes, sur un **milieu synthétique** dans des **conditions stériles**, dans un **environnement contrôlé** et dans un **espace réduit**.

1. Les explants peuvent être des parties d'organes ou des organes entiers, (tige, feuille, racine, fleurs, etc.), des tissus, des pièces florales, des graines ou des embryons, des bourgeons ou des **apex** ou des **méristèmes**, des cellules somatiques ou sexuelles, des **protoplastes**. Le choix de l'explant sera fonction de la **technique** utilisée, de l'objectif et de l'espèce travaillée.

2. Le milieu synthétique est adapté dans sa composition à la technique, l'explant, l'objectif et l'espèce, voire le **cultivar**. Il est en général composé d'**eau**, de macro et de micro-éléments, (**sels minéraux**), de **substances de croissance**: **phytohormones** et vitamines, de **sucre** et d'un agent **gélifiant** pour les milieux solides. Le **pH est ajusté** le plus souvent entre 5 et 6. On modifie le milieu au cours des différentes étapes de production, on doit utiliser un milieu neuf toutes les 3 ou 4 semaines en général.

3. Les conditions stériles sont obtenues par une **désinfection des explants**, une **stérilisation du milieu de culture** et des flacons ou **tubes de culture**. Les différentes opérations de mise en culture sont réalisées dans un **environnement stérile** obtenu par une hotte à flux laminaire horizontal: de l'air stérile est propulsé vers le vitroculteur.

Les conditions stériles sont primordiales à obtenir afin qu'aucun champignon ou bactérie ne vienne coloniser les milieux de culture, très favorables à leur prolifération, sous peine de nécrose de l'explant.

4. L'environnement contrôlé concerne notamment deux paramètres: la **température de culture**, et l'**éclairage**: intensité et longueur du jour. Ils sont obtenus artificiellement. Leurs valeurs dépendent de l'espèce travaillée ainsi que de la technique utilisée.

5. L'espace est réduit car les plantes sont **miniaturisées**, cultivées dans des récipients tenant sur des étagères éclairées, ce qui permet d'avoir la possibilité de replanter des hectares de terrain à partir de plants cultivés sur quelques mètres carrés. On peut également conserver d'innombrables variétés à l'abri des parasites et indéfiniment sur une petite surface au sol.

Propriétés

Les techniques de culture *in vitro* végétales utilisent la propriété de **totipotence** des cellules végétales mise en évidence en 1902 par **Haberlandt** : **En théorie, il est possible de régénérer une plante entière à partir de n'importe quelle cellule d'une plante** donneuse. Cette propriété s'exprime dans la nature et est exploitée depuis la nuit des temps dans les phénomènes de bouturage, drageonnage, marcottage etc.

Les techniques de Culture in vitro

Les différentes techniques de culture *in vitro* végétales sont la **micro propagation** , la **culture de méristèmes**, l'**embryogenèse somatique**, l'**haplo-diploïdisation** par androgenèse ou gynogenèse, la **création de variants**, le **sauvetage d'embryons** immatures issus de croisements interspécifiques par exemple.

D'autres techniques existent : la culture de cellules et la production de métabolites secondaires, la bio-encapsulation et la production de semences artificielles, la cryo-conservation à -196°C, la culture de protoplastes et la fusion somatique, la transformation génétique.

Etapas des cultures

En général il y a **4 étapes de culture**

- la **mise en place** des cultures (la plus délicate et difficile)
- la **multiplication**
- l'**enracinement**
- le **sevrage ou acclimatation**

Les applications

De **nombreuses espèces sont concernées par l'utilisation des cultures *in vitro***, tant au niveau de l'**élaboration de nouvelles variétés** qu'au niveau de la **production des plants**, et des centaines de millions de plantes *in vitro* sont acclimatées annuellement dans le monde. On estime à **plus de 300 espèces de plantes** qui sont multipliées *in vitro* de façon industrielle.

Certaines plantes vertes sont multipliées uniquement par *in vitro*. De nombreuses variétés de plantes horticoles et maraîchères de grand intérêt, anciennes ou nouvelles, ont été **sauvées de la menace de disparition**, car virosées, par culture de méristèmes. Aujourd'hui, la culture des orchidées s'est "démocratisée", grâce à la culture *in vitro*, on peut trouver dans le commerce des plantes carnivores protégées car elles sont multipliées *in vitro*.

On a créé des banques de conservation, par culture *in vitro*, des variétés anciennes et menacées de disparition. C'est un moyen de **sauvegarder la biodiversité** des espèces sauvages **et les espèces rares** ou difficiles à multiplier naturellement (peu de graines ou de rejets).

Enfin, les cultures *in vitro* permettent de **mettre plus rapidement sur le marché** les plants certifiés, ou encore d'**assainir des collections**.