

Rapport final 2010

Collection *in vitro*
PAN 03-89





Schweizerische Kommission für die Erhaltung von Kulturpflanzen
Commission suisse pour la conservation des plantes cultivées
Commissione svizzera per la conservazione delle piante coltivate

Table des matières:

1. Introduction.....	3
2. Maintien <i>in vitro</i> et caractérisation des pommes de terre	3
3. Installation <i>in vitro</i> du matériel	3
4. Assainissement	3
5. Mise à jour des données dans la BDN.....	3
6. Remerciements	3
7. Conservation <i>in vitro</i> des pommes de terre et assainissement (C.-L. Lê).....	4



1. Introduction

Selon le concept pour la conservation et l'utilisation durable des ressources phylogénétiques en Suisse, les pommes de terre sont conservées en culture *in vitro* dans la collection primaire. La Commission suisse pour la conservation des plantes cultivées (CPC) exécute en étroite collaboration avec le groupe Biotechnologie Végétale de la station de recherche Agroscope Changins-Wädenswil ACW ce projet. Les personnes responsables de ce projet sont C.-L. Lê pour ACW et Christoph Köhler pour le secrétariat de la CPC.

2. Maintien *in vitro* et caractérisation des pommes de terre

Au 31.12.2010, l'ensemble des variétés de la liste positive (75 en 2010) sont maintenues de manière *in vitro* selon le concept et directives des pommes de terre (2006). Un certain nombre d'accession présent sur le catalogue européen a été éliminé de la liste positive, qui en comptait 97 début 2010. Les détails concernant les travaux effectués dans le laboratoire *in vitro* se trouvent dans le rapport rédigé par C.-L. Lê dans le chapitre 7.

L'ensemble des variétés de la liste positive a été caractérisé génétiquement au moyen de 20 microsatellites. Les résultats montrent que 54 variétés ont une empreinte unique et 43 ont une empreinte similaire. Les variétés génétiquement similaires ont été regroupées afin de procéder à une identification morphologique:

- A travers le projet de description morphologique;
- Par un essai au champ à ACW Changins en 2009.

En comparaison avec les résultats obtenus par le projet de description morphologique, les variétés identiques seront éliminées, selon les décisions du groupe de travail, lors de la prochaine phase.

3. Installation *in vitro* du matériel

L'ensemble des variétés de la liste positive sont maintenant installées dans le conservatoire *in vitro* d'ACW. Les détails concernant les travaux effectués dans le laboratoire *in vitro* se trouvent dans le rapport rédigé par C.-L. Lê dans le chapitre 7.

4. Assainissement

Toutes les accessions conservées dans la collection *in vitro* sont assainies. Lors de cette phase une vingtaine d'accessions ont été assainies. Ce procédé permet de livrer du matériel sain à la collection dupliquée de Flawil et ainsi de remettre en circulation des tubercules absents de virus.

5. Mise à jour des données dans la BDN

Les accessions de pomme de terre ont été mises à jour dans la Base de données nationale.

6. Remerciements

La CPC tient à remercier vivement l'OFAG pour sa confiance ainsi que pour son soutien financier.



Schweizerische Kommission für die Erhaltung von Kulturpflanzen
Commission suisse pour la conservation des plantes cultivées
Commissione svizzera per la conservazione delle piante coltivate

7. Conservation *in vitro* des pommes de terre et assainissement (C.-L. Lêt)

Rapport final | 4 février 2011

Rapport final 2007-2010

Conservation des ressources
génétiques des pommes de terre
(NAP 03 – 89)

Dr Lê – công – Linh
Station de recherche Agroscope Changins-Wädenswil
ACW

Table des matières

Introduction.....	3
1. Conservation.....	3
2. Nouvelles introductions.....	3
3. Assainissement.....	4
4. Semences artificielles.....	4
5. Conformité variétale.....	4
6. Fourniture de matériel.....	6
7. Caractérisation.....	6
8. Vulgarisation.....	6
9. Contact et Collaboration.....	8
10. Remerciements.....	8
11. Bibliographie.....	9



Introduction

Le présent rapport rend compte des activités du conservatoire *in vitro* durant la période 2007-2010 (phase 3 du projet PAN 03-89). Les activités sont regroupées sous les lignes directrices suivantes :

- Conservation
- Nouvelles introductions
- Assainissement
- Semences artificielles
- Conformité variétale
- Fourniture de matériel de base
- Caractérisation
- Vulgarisation
- Contact et Collaboration

Durant la période écoulée, une collection de près d'une centaine de variétés de pomme de terre a pu être établie *in vitro*, selon le mandat du plan d'action national. Une attention particulière a été accordée aux travaux de conservation *in vitro*, notamment le contrôle de la stabilité génotypique (conformité) des accessions ayant séjourné pendant plusieurs mois (voire plusieurs années) à +4°C. Nous avons également régénéré des génotypes

anciens contaminés par les viroses graves, dont certains ont hébergé plusieurs virus. L'identité génétique des accessions de pomme de terre maintenues au conservatoire a aussi été établie moyennant des microsatellites. De même, un document rassemblant toutes les données relatives à l'origine du matériel, à l'état sanitaire, à la conservation ainsi qu'aux moyens d'identification, a également été élaboré pour chacune des accessions entrant dans le conservatoire *in vitro*.

1. Conservation

Au terme de la troisième phase du projet PAN 03-89, le conservatoire *in vitro* a entretenu une collection de 97 génotypes de pomme de terre à l'abri de tous les risques de contamination provoqués par la présence des agents pathogènes en milieu extérieur. Cette collection constitue un stock de matériel de haute qualité sanitaire prêt à l'emploi. La disponibilité en matériel de base de qualité offre ainsi la possibilité d'initialiser des nouvelles cultures à tout moment de l'année avec des plantes souches reconnues conformes aux génotypes.

2. Nouvelles introductions

Sur la décision du groupe de travail, plusieurs nouveaux génotypes ont été introduits dans la collection *in vitro*, à savoir :

<u>Génotypes</u>	<u>Provenance</u>	<u>Pays</u>
<i>Ackersegen</i>	ART	CH
<i>Augusta</i>	ART	CH
<i>Baselbieter Müsli</i>	ART	CH
<i>Behaarte Kartoffel</i>	ART	CH
<i>Blaue Hindenbank</i>	IPK	D
<i>Blaue Zimmerli</i>	ART	CH
<i>Ilse</i>	IPK	D
<i>Prima</i>	IPK	D
<i>Ulla</i>	IPK	D
<i>Odenwälder</i>	IPK	D
<i>Jetta</i>	IPK	D
<i>Rosafolia</i>	ART	CH

<i>Safier</i>	ART	CH
<i>Bodenkraft</i>	SASA	UK
<i>Erdgold</i>	SASA	UK
<i>Eigenheimer</i>	SASA	UK
<i>Maritta</i>	IPK	D
<i>Lumbrein</i>	PSR	CH
<i>Madeira</i>	IPK	D
<i>Blaue Suti</i>	IPK	D
<i>Maritta</i>	INRA	F
<i>Tasso</i>	INRA	F

L'introduction au conservatoire *in vitro* de nouvelles accessions de pomme de terre a pour but non seulement d'élargir le nombre de matériel de référence nécessaire aux travaux d'identification des génotypes cultivés, mais aussi de retrouver le type de « matériel d'origine » permettant ainsi d'éviter des appellations abusives pour certains génotypes non conformes .

3. Assainissement

Une vingtaine (20) d'accessions de pomme de terre anciennes reçues au cours de la période écoulée se sont révélées toutes infectées par les viroses PVM, PVS, PVX et PVY. Le recours à un traitement à la chaleur (thermothérapie) associé à la culture de méristèmes en conditions axéniques, est indispensable pour éliminer ces génotypes de leurs agents pathogènes (voir tableau 1).

Tableau 1. Accessions de pomme de terre régénérées *in vitro*.

Prima	Blaue Zimmerli
Jetta	Baselbieter Müsli
Jakobi	Odenwälder Blaue
Lumbrein	Behaarte Kartoffel
Ackersegen	Blaue Suti
Augusta	Weltwunder
Rosafolia	Majestic
Safier	Saphir
Madeira	Hertha
Fina	Saskia

Il est à noter que certaines accessions entrant dans les opérations d'assainissement nécessitent plusieurs cycles de régénération (thermothérapie + extraction de méristèmes + régénération), cela en raison soit de leur faible capacité de régénération, soit de par la gravité des maladies (pluri-infection virale).

4. Semences artificielles

La conservation de longue durée par encapsulation des bourgeons axillaires dans une matrice nutritive a été rendue possible pour la plupart des génotypes maintenus dans le conservatoire *in vitro*. Les derniers essais montrent que le prolongement de la période de conservation de ces « semences artificielles » pourrait être étendue à une année et plus sans trop de difficulté. Pour cela, il faut doubler la couche protectrice des organes en croissance au ralenti. Le doublement des couches protectrices permet de maintenir un minimum d'hydratation tout au long de la période de conservation, et également de fournir des substances nutritives nécessaires aux tissus végétaux conservés (fig. 1a et b).

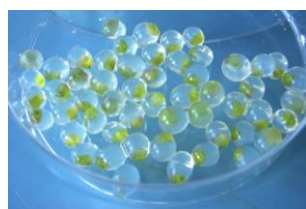


Fig.1a. Conservation des semences de pomme de terre sous forme de microbilles à +4°C



Fig.1b. Reprise de croissance après un an de conservation à +4°C.

5. Conformité variétale

Le maintien des ressources génétiques nécessite des contrôles réguliers de la conformité variétale des accessions mises en collection. Des examens portant sur l'aspect anatomo-morphologique des accessions conservées *in vitro* ont été réalisés selon les recommandations de l'OEPP (1999). Sur huitante (80) accessions contrôlées visuellement en serre, une vingtaine de génotypes ont dû être

réexaminés en plein champ pour leurs caractéristiques morphologiques.

Même en conditions de plein champ, certains génotypes ne sont pas distinctement reconnaissables, par exemple : Aargauer Müsli, Acht-Wochen-Nüdeli, Müsli Oberkirch et Virgule de Béroche ne sont pas distinguées entre elles et ressemblent fortement à la variété de pomme de terre Ratte. En revanche, le cultivar Lilaschalige Uetendorf est reconnu bien distinctement de l'Institut de Beauvais tant par son expression florale que par ses caractéristiques du tubercule (fig. 2 et 3).

Fig. 2. Fleurs des cultivars de pomme de terre *Institut de Beauvais* et *Lilaschalige Uetendorf*.

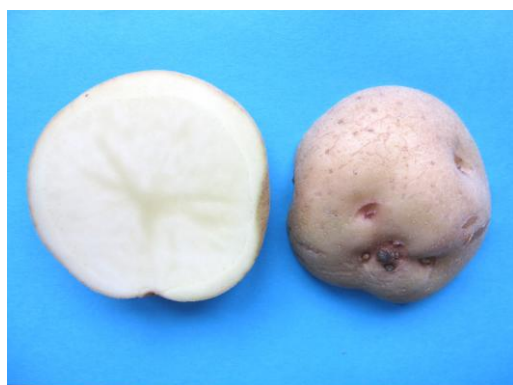


Institut de Beauvais



Lilaschalige Uetendorf

Fig. 3. Tubercules des cultivars de pomme de terre Institut de Beauvais (haut) et Lilaschalige Uetendorf (bas).



De même, il existe une forte ressemblance entre les variétés Vriner, Roseval et Fläckler avec la variété Désirée. En outre, on trouve chez la même variété Fläckler plusieurs morphotypes différents (fig. 4). Cette variation serait-elle due à son instabilité génétique ?

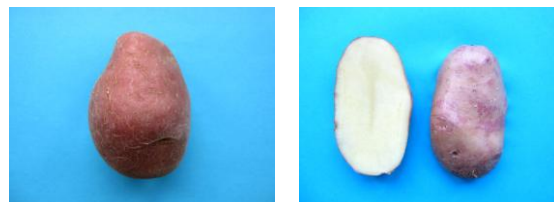


Fig. 4. Variété Fläckler, type normal (à gauche) et variant (à droite).

Un autre groupe formé de quatre variétés Wiesner aus Wiesen, Wiesner aus Zillis, Parli et Pfavi présente également des ressemblances entre elles en regard de leurs caractéristiques morphologiques (fig. 5).

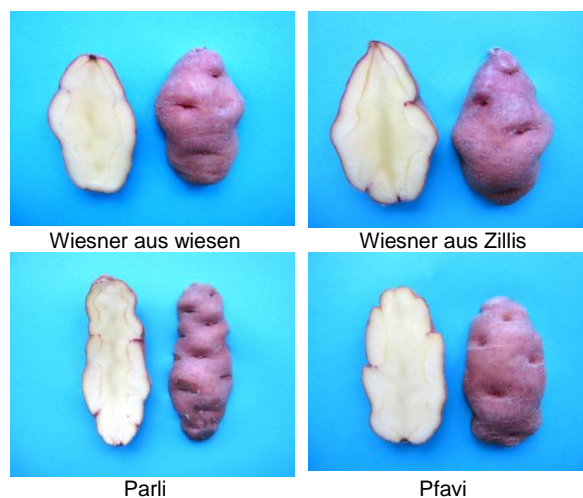


Fig. 5. Variétés Wiesner aus Wiesen, Wiesner aus Zillis, Parli et Pfavi.

Des analyses fines par voie moléculaire sont nécessaires pour élucider ces cas douteux.

6. Fourniture de matériel de base

Au cours de la période de 2007 à 2010, soixante et une (61) variétés de pomme de terre anciennes ont été reproduites *in vitro* et livrées à l'Institut agricole de Flawil (SG) pour constituer le matériel de base servant à toute production de matériel de haute qualité sanitaire. Ces génotypes anciens sont destinés à une large diffusion auprès du public suisse (voir tableau 2).

Tableau 2. Soixante et un (61) génotypes de pomme de terre anciens livrés à Flawil (SG) pour la période de 2007-2010.

<i>Müsli Oberkirch</i>	<i>Industrie</i>
<i>Aargauer Müsli</i>	<i>Bona</i>
<i>Allerfrüheste Gelbe</i>	<i>Parnassia</i>
<i>Avenir</i>	<i>King Edward</i>
<i>Centafolia</i>	<i>Jubel</i>
<i>Jakobi</i>	<i>Deodora</i>
<i>Kaiserkrone</i>	<i>Lori</i>
<i>Rosafolia</i>	<i>Cosima</i>
<i>Datura</i>	<i>Bodenkraft</i>
<i>Patrones</i>	<i>Wohltmann</i>
<i>Voran</i>	<i>Carla</i>
<i>Ideaal</i>	<i>Ultimus</i>
<i>Aaran Banner</i>	<i>Isola</i>
<i>Up to date</i>	<i>Goldsegen</i>
<i>Alma</i>	<i>Appell</i>
<i>Baselbieter Müsli</i>	<i>Benedetta</i>
<i>Christa</i>	<i>Eigenheimer</i>
<i>Erdgold</i>	<i>Ostara</i>
<i>Prima (ART)</i>	<i>Prima (IPK)</i>
<i>Saskia</i>	<i>Tasso</i>
<i>Ukama</i>	<i>Weltwunder</i>
<i>Ratte</i>	<i>Augusta</i>
<i>Aula</i>	<i>Behaarte Kartoffel</i>
<i>Eersteling</i>	<i>Fina</i>
<i>Granola</i>	<i>Hertha</i>
<i>Iroise</i>	<i>Majestic</i>
<i>Marijke</i>	<i>Matilda</i>
<i>Odenwälder blaue</i>	<i>Palma</i>
<i>Saphir</i>	<i>Saturna</i>
<i>Jetta</i>	<i>Maritta</i>
<i>Désirée</i>	

7. Caractérisation

Sept nouveaux marqueurs ont été mis au point durant 2010, portant le total à vingt microsatellites testés sur toutes les accessions.

Plus de 100 accessions ont été testées en 2010 portant le nombre de profils de la base de donnée à plus de 200. Quelques-unes de ces nouvelles accessions concernaient le projet PAN :

- 8 accessions ont été testées afin de confirmer ou infirmer les accessions existantes.

- 14 accessions ont été testées sur différents tissus de Fläckler, Lilaschalige Uetendorf et Institut de Beauvais afin de démontrer que ces accessions n'étaient pas des chimères.

- 2 accessions mentionnées comme accessions suisses dans l'European potato database mais ne faisant pas partie de la liste positive ont été analysées. La Blaue Suti est identique à la Blaue Schweden et la Madeira est unique.

- 5 nouvelles variétés soupçonnées d'être des doublons de la liste positive ont été testées (une sixième est en cours de test). Ces variétés sont bel et bien des doublons de variétés déjà conservées.

- La Maritta a été ajoutée au conservatoire.

La présence de doublons détectée par microsatellites a été confirmée lors de l'analyse morphologique de 11 accessions. Dans l'optique de valider nos résultats, en plus de l'addition de nouveaux profils en vue d'étayer notre base de données, le laboratoire d'identification a pris part en octobre et novembre à un test inter-laboratoire organisé par le GNIS-SOC, les résultats sont attendus en 2011.

8. Vulgarisation

Une collaboration inter-institutionnelle entre le Château et Musée national de Prangins, le Conservatoire et Jardin botaniques de Genève, l'Alimentarium de Vevey et Agroscope ACW de Nyon, a permis d'organiser au cours de l'année internationale de la pomme de terre (2008) les journées « Portes Ouvertes » destinées à un large public. Durant les trois jours (13, 14 juin et 1 novembre), d'importants travaux relatifs au laboratoire *in vitro* comme, par exemple, l'assainissement des génotypes gravement atteints de maladies virales, la détermination de l'identité des variétés inconnues, la conservation de matériel génétique, le contrôle de la conformité des cultivars de pomme de terre ainsi que la pratique en plein champ (culture, maladies, protection, etc.) ont pu être présentés aux visiteurs qui ont montré un vif intérêt pour cette espèce vivrière (fig. 6a, b et c).



Fig. 6a. Portes ouvertes lors de l'année internationale de la pomme de terre au Conservatoire *in vitro* à Changins.



Fig. 6b. Un public composé de différentes générations suit une démonstration de multiplication *in vitro* dans un environnement stérile (flux laminaire).



Fig. 6c. Les élèves des écoles apprennent à reconnaître les variétés de pomme de terre anciennes.

En 2010, l'année de la Biodiversité a été une nouvelle fois l'occasion pour le conservatoire *in vitro* d'approcher le public au travers des journées « **Portes Ouvertes** » de la station de recherche Agroscope Changins-Wädenswil ACW. Les visiteurs ont pu découvrir durant la saison estivale - du 18 au 20 juin - les nombreuses activités du conservatoire *in vitro* (fig. 7a et b).



Fig. 7a. Afflux de visiteurs au stand du conservatoire *in vitro* lors des journées portes ouvertes à Agroscope ACW.

A cette occasion, les importantes informations concernant les interventions de la biotechnologie dans le domaine de la sauvegarde des ressources génétiques de la pomme de terre, ont été dispensées auprès des visiteurs, cela sous la forme d'un concours participatif (fig. 7b). Les explications en détail sur les techniques de sauvetage et de préservation des variétés anciennes de pomme de terre ont été remarquablement assurés par les collaborateurs du conservatoire avec l'appui des affiches (posters) préparées spécialement pour ces journées.

De même, nous n'avons pas manqué, à chaque fois que l'occasion s'est présentée, d'informer le public sur les travaux de conservation des ressources génétiques des pommes de terre soit par la voie de presse (voir articles « **le sauveur des patates suisses** », *24Heures*, 1^{er}-2 novembre 2008 ; « **Changins : semences conservées** », *La Côte*, 18 février 2009 ; « **Patates : le laboratoire de la dernière chance** », *Le Temps*, 23 mars 2010),



Fig. 7b. Les visiteurs s'informent sur les techniques de laboratoire pour sauvegarder les ressources génétiques des pommes de terre.

soit par les émissions radiophoniques de la Radio Suisse Romande (RSR-la première) : « **La patate *in vitro*** » - 3 octobre 2008, à 17h00 ; « **Conservation *in vitro*** » - 7 octobre 2008, à 17h00 ; ou encore par la participation à des congrès : « **Lorsque les exigences de sécurité de la culture de la pomme de terre rejoignent celles des produits sanguins** », STS /ASMT, Zürich 29 août 2008 ; « **Assainissement et Conservation *in vitro* des pommes de terre cultivées en Suisse** », SGP Frühjahrstagung, Flawil 11 mars 2010 ; « **Diversité des variétés – En quoi consiste sa valeur ?** », PAN-RPGAA Rütli /Zollikofen 18 novembre 2010), et aux journées d'information qui ont eu lieu à : Altikon (ZH), Berne, Changins, Genève, Reckenholz (ZH), Wetzikon, ETHZ (ZH), Bercher (VD).

9. Contact et Collaboration

Au cours de l'année 2007, nous avons eu l'opportunité de visiter l'institut IPK genbank (Leibniz-Institut für Pflanzengenetik und Kulturpflanzenforschung) à Gross Lüsewitz (Allemagne) dans l'optique d'établir une collaboration dans le domaine de la conservation des ressources génétiques des pommes de terre cultivées (fig. 8). Suite à cette visite riche en informations pratiques tant sur le plan du maintien des génotypes de pomme de terre en milieu stérile que sur la caractérisation par voie moléculaire des accessions conservées au conservatoire, une collaboration étroite avec IPK genbank a pu se concrétiser dès cette année-là.



Fig. 8. Vue de la collection des accessions de pomme de terre conservées *in vitro* à IPK - Gross Lüsewitz (Allemagne).

Cette collaboration nous a permis de nous approvisionner en matériel de base indispensable à notre collection *in vitro*, requise par le projet NAP 03-89, cela conformément aux règlements de l'utilisation des ressources génétiques dans le cadre de la Biodiversité (voir tableau 3).

Tableau 3. Douze accessions de pomme de terre anciennes fournies par IPK durant la période de 2007-2010.

Génotypes	Année
Blaue Hindelbank	2007
Colmo	2007
Ilse	2007
Odenwälder rote	2007
Odenwälder blaue	2007
Prima	2007
Ulla	2007
Jetta	2008
Maritta	2009
Blaue Suti	2010
Eigenheimer	2010
Madeira	2010

De même, en 2010 un échange de méthodologie concernant l'application des techniques de caractérisation par microsatellites sur les accessions de pomme de terre conservées *in vitro* a pu également être réalisé avec le groupement national Interprofessionnel des semences et plants (GNIS) – Service officiel de contrôle et certification (SOC) en France. Cette collaboration inter laboratoires nous est d'une grande utilité pour valider nos résultats portant sur les travaux de reconnaissance de plusieurs accessions de pomme de terre faisant partie de notre collection de base dont l'appellation est faussement attribuée.

10. Remerciements

Au terme de cette troisième phase du plan d'action national pour la conservation et l'exploitation durable des ressources génétiques pour l'alimentation et l'agriculture (PAN/RPGAA), nous ne saurions manquer de remercier l'Office Fédérale de l'Agriculture (OFAG) pour son appui financier indispensable à la réalisation des travaux de conservation *in vitro*. Nos remerciements s'adressent également à la direction de la station de recherche Agroscope Changins-Wädenswil ACW pour l'autorisation de participer à ce projet qui représente un grand intérêt pour

la Biodiversité en Suisse. Nous remercions vivement tous les membres de la Commission suisse pour la conservation des plantes cultivées (CPC) pour leur encouragement et leurs conseils. Nos remerciements vont aussi à Leibniz-Institut für Pflanzengenetik und Kulturpflanzenforschung (IPK genbank) à Gross Lüsewitz en Allemagne, à Pro Specie Rara (PSR), à l'Institut agricole de Flawil (LZSG) à Saint-Gall, aux collègues des stations de recherche Agroscope Changins-Wädenswil ACW et Agroscope Reckenholz-Tänikon ART, ainsi qu'aux producteurs de semences de pomme de terre du canton de Saint-Gall (SZG) pour leur précieuse collaboration à ce projet NAP (03-89).

11. Bibliographie

Lê C. L., 2007. Kartoffeln : Neue Methode aus Changins – Zuchtmaterial besser zuordnen. Schweizer Bauer, Mittwoch 10 Januar 2007, p. 11.

Lê C. L., 2007. Identité des variétés de patates. Agri. p. 9, vendredi 12 janvier 2007.

Lê C. L., 2008. Le conservatoire des pommes de terre à Changins.

Lê C. L., 2008. Technologie *in vitro* : Au service des paysans. Terre et Nature, jeudi 31 janvier 2008, p. 18.

Lê C. L., 2008. Lorsque les exigences de sécurité de la culture de la pomme de terre rejoignent celles des produits sanguins. *In* : www.transfusion-suisse.ch/news .

Lê C. L., 2009. Changins : semences conservées. La Côte, mercredi 18 février 2009, p. 2.

Lê C. L., Thomas D., 2009. Production de microtubercules de pomme de terre *in vitro*. Revue suisse Agric., vol. 41 (5), 289 – 293.

Lê C. L., Thomas D., 2010. Production de microtubercules de pomme de terre *in vitro* : effet de la durée de culture. Recherche Agronomique Suisse, vol. 1 (11-12), 404 – 409.