



Schweizerische Eidgenossenschaft
Confédération suisse
Confederazione Svizzera
Confederaziun svizra

Département fédéral de
l'économie DFE

Station de recherche

Agroscope Changins-Wädenswil ACW



R A P P O R T 2 0 0 8

Conservation *in vitro* des baies et petits fruits (NAP 03 – 88)

Biotechnologie Végétale

Changins, le mercredi 11 février 2009

Dr Lê-công-Linh

Rapport 2008

« Conservation *in vitro* des baies et petits fruits »

1. Situation générale

Au cours de l'année 2008, le conservatoire *in vitro* ACW a ajouté dans sa collection douze nouvelles accessions de baies et petits fruits, dont quatre (4) de fraisier et neuf (9) de rubus (framboisier et mûre). Au total, nous avons enregistré 94 génotypes qui sont conservés sous forme de microplantes *in vitro*.

2. Nouvelles accessions

Fraisier

Sur la proposition du groupe de travail « baies et petits fruits », nous avons reçu onze (11) nouvelles accessions de fraisier à introduire dans le conservatoire *in vitro*.

Un contrôle de l'état sanitaire par le test ELISA révèle que dix (10) clones de fraisier sur les onze (11) contrôlés sont infectés de virus SMYEPV (tableau 1).

Tableau 1. Accessions de fraisier à introduire dans le conservatoire *in vitro*.

<i>Génotypes</i>	<i>SMYEPV</i>	<i>Date de Contrôle</i>
BE - 2	+	27.05.2008
BE - 16	+	27.05.2008
BE - 304	+	27.05.2008
BE - 332	+	27.05.2008
BE - 450	+	27.05.2008
BE - 445	+	27.05.2008
BE - 458	+	27.05.2008
BE - 549	+	27.05.2008
BE - 633	+	27.05.2008
BE - 658	0	27.05.2008
BE - 730	+	27.05.2008

Framboisier

De même, quatorze (14) nouvelles accessions de framboisier, dont une morte au cours du transfert, ont été également livrées à Changins pour leur conservation (tableau 2).

Tableau 2. Accessions de framboisier à introduire dans le conservatoire *in vitro*.

Génotypes	RpRSV	RBDV	Date de Contrôle
BE – 25	+		22.06.2008
BE – 28	+		22.06.2008
BE – 35	+		22.06.2008
BE – 45	0	0	22.06.2008
BE – 58	mort	mort	22.06.2008
BE – 229	+		22.06.2008
BE – 255		+	22.06.2008
BE – 300	0	0	22.06.2008
BE – 357	0	0	22.06.2008
BE – 371		+	22.06.2008
BE – 382	0	0	22.06.2008
BE – 383	0	0	22.06.2008
BE – 480	0	0	22.06.2008
BE – 615	0	0	22.06.2008

A la réception du matériel à introduire dans le conservatoire, certaines variétés présentaient des symptômes d'infection virale. Cela nous a obligé de procéder à un contrôle de leur état sanitaire (test ELISA) avant de les introduire dans la collection *in vitro*. Les résultats d'analyses ont révélé que six (6) accessions sur les treize (13) testées sont effectivement contaminées par les virus RpRSV et RBDV (tableau 2).

3. Installation *in vitro*

Etant donné que l'état de croissance des plantes-mères était faible à la réception, nous avons alors procédé à leurs installation rapide *in vitro*, afin de pouvoir les préserver dans des conditions axéniques. Le tableau 3 illustre les résultats obtenus sur les différentes accessions de fraisier et de framboisier au cours de l'année 2008.

Tableau 3. Installation *in vitro* des accessions de fraisier et framboisier en 2008.

Fraisier		Framboisier	
Génotypes	<i>In vitro</i>	Génotypes	<i>In vitro</i>
BE – 2	+	BE – 25	+

BE – 16	-	BE – 28	-
BE – 304	-	BE – 35	+
BE – 332	-	BE – 45	-
BE – 450	-	BE – 229	+
BE – 445	+	BE – 255	+
BE – 458	-	BE – 300	+
BE – 549	+	BE – 357	+
BE – 633	-	BE – 371	+
BE – 658	+	BE - 382	+
BE - 730	-	BE - 383	-
		BE - 480	+
		BE - 615	-

Chez le fraisier, il est à noter que la quantité de matériel initiale était restreinte à un exemplaire par accession, souvent affaibli par la contamination du virus. En outre, les plantes-mères ne produisent pas de stolons. Cela complique par conséquent nos travaux d'installation *in vitro*. En revanche, nous avons pu installer avec moins de difficultés les accessions de framboisier, même si celles-ci sont toujours contaminées par l'agent pathogène.

Les premières opérations de prolifération *in vitro* sont en cours de réalisation sur les génotypes installés *in vitro*, cela afin de pouvoir produire du matériel indispensable à l'assainissement.

4. Conservation à basse température

Nous avons également mis en place, au cours de l'année écoulée, les premiers travaux de conservation à basse température (+ 4°C) dans la perspective de maintenir le matériel *in vitro* pour de longues durées de conservation. A cet effet, des microboutures de fraisier (cvs. BE-239, BE-242, BE-246 et BE-629) prélevées sur le matériel reproduit *in vitro* sont maintenues dans un environnement climatique contrôlé (+ 4°C / 8h de lumière / 55 $\mu\text{mole/m}^2/\text{sec}$) sur milieu CMS (Lê et Collet 1985), cela pour différentes périodes de conservation (voir figures 1 et 2).



Fig. 1 Microplante à la mise en conservation à + 4 °C



Fig. 2 Reviviscence de la microplante après 6 mois de conservation à + 4°C

Des essais de conservation sous forme de microbilles ont été également réalisés sur le fraisier (cvs. BE-41 et BE-680). Pour ce faire, des bourgeons axillaires prélevés sur la plante-mère *in vitro* sont enrobés dans une matrice d'alginate de calcium contenant des éléments nutritifs nécessaires à leur survie à basse température (+ 4°C).



Fig. 2 Microbille de fraisier à l'entrée de la conservation à + 4°C



Fig. 4 Reviviscence du matériel maintenu après six mois de conservation à + 4°C

Ce mode de conservation nous a permis d'obtenir à ce jour la survie du matériel maintenu durant six mois à + 4 °C. La reviviscence des microbilles après de nombreux mois en conservation s'effectue sans aucune difficulté particulière (figures 3 et 4). Des travaux ultérieurs visent à étendre la durée de conservation à plus d'une année avec l'assurance d'une parfaite stabilité génotypique.

5. Fourniture de matériel *in vitro*

Dans le but de donner une réponse claire sur la qualité du matériel conservé *in vitro* de retour dans les conditions de culture conventionnelles, le groupe de travail a décidé de réaliser un essai avec des plants issus de cultures *in vitro* pour l'année en cours compte tenu du manque de vérification sur ce point. Pour ce faire, douze (12) géotypes de framboisier ont été préparés jusqu'au stade de plants sevrés, qui sont prêts à être cultivés en conditions traditionnelles. Un contrôle de la qualité sanitaire moyennant le test ELISA a été également effectué sur ce matériel avant son envoi à Conthey (André Ançay) pour examen de comportement (tableau 4).

Tableau 4 . Liste des accessions de framboisier livrées en 2008.

Géotypes	Quantité	Etat sanitaire	Date de livraison
BE – 32	7	sain	19.06.2008
BE – 42	9	sain	19.06.2008
BE – 47	4	sain	19.06.2008
BE – 49	7	sain	19.06.2008

BE – 56	2	sain	19.06.2008
BE – 255	8	sain	19.06.2008
BE – 267	4	sain	19.06.2008
BE – 353	7	sain	19.06.2008
BE – 354	13	sain	19.06.2008
BE – 572	3	sain	19.06.2008
BE – 819	4	sain	19.06.2008
BE – 820	8	sain	19.06.2008

6. Identification

La caractérisation des génotypes de petits fruits par marqueurs moléculaires a été effectuée sur les accessions de fraisier et de framboisier. Les premiers résultats montrent que le marqueur UFFa04G04 se révèle être efficace pour discriminer les premières accessions de fraisier ainsi que le marqueur chloroplastique CCMP6 pour le framboisier (figure 5).

Figure 5. Profils d'ADN des accessions de fraisier et framboisier.

