

N° 2 septembre 2001
7^{ème} édition



DOSSIER *FiBL*

Techniques de sélection végétale

Évaluation pour l'agriculture biologique

En collaboration avec:



Soil Association



Bioland
ÖKOLOGISCHER LANDBAU

Les semences constituent la base de toute production agricole, mais la plupart des agriculteurs bio connaissent assez mal la production de leurs semences. Des discussions internes au mouvement de l'agriculture biologique ont été engagées sur la compatibilité des techniques de sélection végétale. Elles ont été accélérées par les discussions publiques sur le génie génétique. Ce débat est important pour définir un cadre pour la sélection végétale biologique et donc pour faciliter les investissements des sociétés semencières.

Ce dossier présente toutes les techniques standards utilisées par la sélection végétale moderne et explique pourquoi elles ont été développées. Il souligne aussi les conséquences d'un possible refus de certaines techniques en sélection végétale biologique et il propose des techniques alternatives qui pourraient être adoptées pour les remplacer.

Introduction

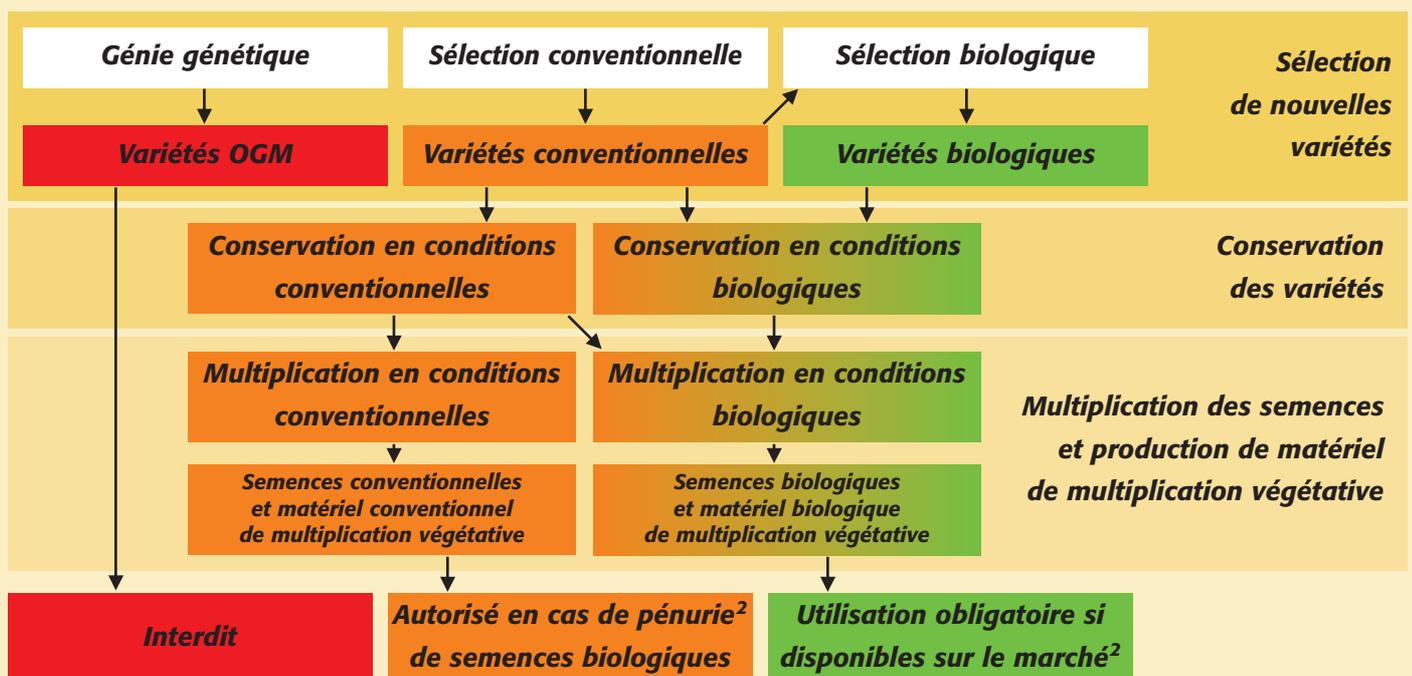
Nous devons identifier et examiner les techniques de sélection, de multiplication et de conservation pour s'assurer de leur compatibilité avec les objectifs techniques, éthiques et environnementaux de l'agriculture biologique. Cette démarche contribuera aux discussions nationales et internationales sur le sujet. Elle prend toute son importance face à la future obligation de n'utiliser que des semences biologiques dès 2004 (Réglementation 2092/91 de l'UE).

La question des techniques de sélection végétale et de leur compatibilité avec l'agroécologie est rendue complexe par la diversité des techniques disponibles et des demandes en matière de performances des variétés cultivées. Pour être appropriée, la sélection végétale biologique doit servir à développer des variétés améliorées spécifiquement pour les systèmes biologiques sans renoncer à l'intégrité éthique et environnementale de l'agriculture biologique.

Actuellement, seule l'utilisation de variétés transgéniques est interdite par le cahier des charges européen de l'agriculture biologique (Réglementation 2092/91 de l'UE), qui stipule en outre que les plantes qui produisent les semences des cultures annuelles doivent avoir été cultivées pendant au moins une génération dans les conditions de l'agriculture biologique, et au moins pendant deux ans pour les plantes bisannuelles et pérennes. La figure 1 précise et explique la définition des «semences biologiques» et des «variétés biologiques» tout en distinguant les différents niveaux de sélection, de conservation et de multiplication.

Le but de ce dossier est de nourrir le débat sur l'avenir de la sélection végétale biologique en rassemblant les informations nécessaires sur les techniques actuellement utilisées en sélection végétale. On explique donc le mécanisme de la sélection conventionnelle et des techniques de multiplication à l'aide d'illustrations simples. Cette explication est complétée par une description des conséquences du rejet de telle ou telle technique et par la présentation d'alternatives. Et enfin, la dernière partie de ce dossier contient, à titre d'aide à la réflexion, une liste de critères d'évaluation de la compatibilité des techniques de sélection et de multiplication avec la sélection biologique.

Figure 1: Vue d'ensemble des différents niveaux de sélection, de conservation et de multiplication



1 Les plantes parentales des semences des cultures annuelles doivent être cultivées pendant au moins une génération dans les conditions de l'agriculture biologique, et pendant au moins deux ans dans le cas des plantes bisannuelles et pluriannuelles (cultures pérennes).

2 Ces clauses du Règlement 2092/91 de l'UE sont valables jusqu'au 31.12.2003. À partir de 2004, les agriculteurs biologiques devront utiliser uniquement des semences biologiques et du matériel de multiplication végétative biologique.

La sélection végétale agrobiologique: une nécessité

Au cours des cinquante dernières années, la sélection végétale s'est largement développée en réponse aux demandes d'une production agricole intensive basée sur l'utilisation de fertilisants artificiels et de pesticides. L'objectif était d'augmenter les rendements, d'améliorer la conservation et la qualité visuelle des produits agricoles. Si les agriculteurs biologiques ont utilisé ces variétés issues de l'agriculture conventionnelle, une question revient souvent: «Ces variétés satisfont-elles réellement aux besoins de l'agriculture biologique?». En d'autres termes, les semences et le matériel de multiplication végétative normalement issus des programmes traditionnels et conventionnels de sélection sont-ils adaptés aux conditions de l'agriculture biologique? Et encore, savons-nous ce que les consommateurs attendent des variétés biologiques? Des produits sains, délicieux et spécifiques?

Il faut en outre considérer le fait que la qualité des produits biologiques peut être influencée non seulement par ce mode de culture, mais aussi par d'autres facteurs de conduite culturale. Il faut donc tenir compte de cet aspect lorsqu'on juge la valeur des lignées de sélection destinées à la production agricole ou horticole.

Il ne fait aucun doute que les buts de certains programmes modernes de sélection présentent un certain nombre de similitudes avec des programmes biologiques de sélection. Pourtant, quelques considérations sont particulièrement importantes pour le développement de variétés adaptées aux conditions de l'agriculture biologique:

- l'adaptation optimale aux conditions pédoclimatiques locales: climat, dynamique de disponibilité des éléments fertilisants;
- la valorisation des éléments fertilisants;
- la durabilité des résistances et des tolérances aux ravageurs et aux maladies;
- la stabilité des rendements;
- l'aptitude à la conservation;
- la qualité nutritionnelle et sensorielle.

Les objectifs de la sélection végétale biologique devraient être définis culture par culture en tenant compte de l'avis et des attentes des agriculteurs, des sélectionneurs, des commerçants et des consommateurs.

Techniques de sélection végétale et de multiplication

Le fonctionnement de la sélection végétale et de la multiplication

En général, on peut décrire la sélection végétale comme le total des opérations nécessaires à l'amélioration des propriétés génétiques d'une espèce végétale cultivée.

Un sélectionneur développe une nouvelle variété dans un ou plusieurs buts spécifiques. Pour ce faire, il doit rechercher des plantes parentales (autres variétés ou parents sauvages) qui possèdent les caractères désirés. Pour obtenir des plantes qui possèdent la combinaison de caractères recherchée, le sélectionneur procède à des croisements entre les plantes parentales. Le résultat de ces croisements est un grand nombre de graines possédant toutes un génome différent (population). Au cours du développement de la génération issue de ces graines-là, le sélectionneur doit choisir les plantes individuelles qui présentent les meilleures combinaisons génétiques. Différentes techniques permettent de faciliter la sélection. Le choix de ces techniques dépend du mode de multiplication des espèces (espèces autogames, espèces allogames, espèces à multiplication végétative) et du type de caractères qu'il cherche à obtenir.

Les nouvelles variétés sont comparées en pleine terre à des variétés standards de référence dans des essais variétaux officiels. S'il est possible de distinguer une nouvelle variété de toutes les autres variétés et que son apparence est uniforme et assez stable dans le temps, le sélectionneur va conserver la variété puis la multiplier pour la mettre sur le marché.



Classification générale des principales techniques de sélection

La sélection végétale comprend donc trois étapes principales:

- induction de la variabilité par des croisements ou par des traitements induisant des variations;
- sélection de nouvelles variétés en fonction des caractères désirés;
- conservation et multiplication des lignées de sélection.

Plusieurs techniques différentes peuvent être utilisées à chacune de ces étapes. On peut distinguer de manière générale entre les techniques de sélection végétale et de multiplication qui ont un impact aux niveaux suivants:

- plante/population;
- cellule/tissus;
- ADN.

Le tableau 1 présente une vue d'ensemble de toutes les techniques. Les couleurs et symboles qu'il contient permettent de mieux s'y retrouver dans le corps de ce dossier. Les techniques qui interviennent au niveau des plantes et des populations leur sont appliquées en conditions «naturelles» (cultures en pleine terre), tandis que les techniques qui interviennent au niveau des tissus, des cellules et de l'ADN sont appliquées en laboratoire avant de tester les variétés qui en résultent dans les conditions au champ. Les techniques intervenant au niveau de l'ADN et quelques-unes de celles qui interviennent au niveau des cellules permettent de franchir certaines barrières naturelles.

Toutes les techniques intervenant au niveau des tissus et des cellules reposent sur la capacité des cellules végétales de croître sur des milieux de culture artificiels et de se différencier quand elles sont stimulées par les mélanges appropriés d'hormones végétales. Toutes ces techniques imposent aussi de travailler en conditions stériles avec du matériel végétal superficiellement stérilisé pour éviter toute contamination par des microbes.

Tableau 1: Techniques de sélection et de multiplication: les étapes (induction de la variabilité, sélection, multiplication) et les niveaux auxquels elles interviennent (plante, cellule, ADN)

	Plantes/Populations	Cellules/Tissus	ADN
Induction de la variabilité	<ul style="list-style-type: none"> • Sélection par combinaison • Croisement de variétés • Bridging cross¹ • Rétrocroisement répété • Traitement thermique • Pistil coupé ou greffé • Technique du pollen mentor • Sélection par hybridation F1 • Induction de mutations 	<ul style="list-style-type: none"> • Culture d'anthers ou de microspores • Pollinisation <i>in vitro</i> • Culture d'ovaires ou d'embryons • Polyploidie • Fusion protoplastique ou cytoplasmique • Variation somatoclonale 	<ul style="list-style-type: none"> • Génie génétique <ul style="list-style-type: none"> – Transfert d'ADN : <ul style="list-style-type: none"> – transfert par PEG – électrophoration – micro-injection – pistolet à particules – agrobacterium
Sélection	<ul style="list-style-type: none"> • Sélection massale • Sélection généalogique • Sélection d'après la station • Modification de l'environnement • Modification de l'époque du semis • Semis en forme d'épi • Sélection indirecte • Croisement tests 	<ul style="list-style-type: none"> • Sélection <i>in vitro</i> 	<ul style="list-style-type: none"> • Sélection à l'aide de marqueurs
Multiplication	<ul style="list-style-type: none"> • Multiplication sexuée • Multiplication végétative <ul style="list-style-type: none"> – tubercules divisés – bulbes écaillés, évidés, divisés – oignons à repiquer, bulbilles – bulbes fils etc. – pousses marcottées, bouturées ou greffées – rhizomes • Apomixie 	<ul style="list-style-type: none"> • Multiplication <i>in vitro</i> • Culture de méristèmes • Embryogenèse somatique 	

¹ Bridging cross = croisement interspécifique faisant intervenir une espèce relais («pont»)

Les prochains chapitres décriront les techniques de sélection en commençant par les méthodes appliquées au niveau des plantes ou des populations, puis au niveau des tissus et des cellules, pour finir par le niveau de l'ADN. Les techniques touchant les cellules et l'ADN sont les plus controversées par rapport à la sélection végétale biologique. Ces techniques dites «*in vitro*» deviennent de plus en plus communes dans la sélection végétale conventionnelle, et elles forment maintenant la base de la sélection pour un grand nombre de cultures de légumes, de fleurs et de céréales. Il est toutefois possible de considérer que ces techniques sont inappropriées pour l'agriculture biologique parce qu'il n'y a pas de contact direct entre la plante et le sol durant ce processus. Les rubriques «arguments pour et contre», «conséquences d'un rejet» et «alternatives» compléteront pour chacune des techniques *in vitro* les rubriques «description» et «applications». On distinguera deux niveaux à l'intérieur de la rubrique «conséquences d'un rejet»:

- les conséquences au niveau de la variété: le rejet d'une technique interdit du même coup l'utilisation de toutes les variétés dont la sélection a fait appel ne serait-ce qu'une fois à la technique en question;
- les conséquences au niveau de la sélection: le rejet d'une technique imposera des restrictions aux futurs cultivars et programmes de sélection.

L'utilisation d'organismes génétiquement modifiés (OGM) est interdite en agriculture biologique (Règlement 2092/91 de l'UE). C'est la raison pour laquelle ce dossier ne fournit pas de détails sur ces techniques. Puisqu'elle n'induit aucune modification génétique de l'ADN des plantes, les techniques de diagnostic sur ADN, qui permettent d'opérer une sélection au niveau de l'ADN, ne doivent pas nécessairement être assimilées au génie génétique. C'est la raison pour laquelle ces techniques pourraient être utilisées en sélection végétale biologique et qu'elles sont décrites dans le cadre de ce dossier. On décrit en outre aussi la technique dite de la fusion protoplasmique, bien qu'elle soit souvent considérée comme faisant partie du génie génétique, car elle peut provoquer le transfert de grandes séquences chromosomiques provenant d'espèces différentes.

L'histoire simplifiée de la sélection et de la multiplication des tomates



On ôte les anthères d'une fleur d'une plante de tomate sélectionnée ...



... pendant qu'on émascule une fleur prélevée sur une plante de tomate sélectionnée.



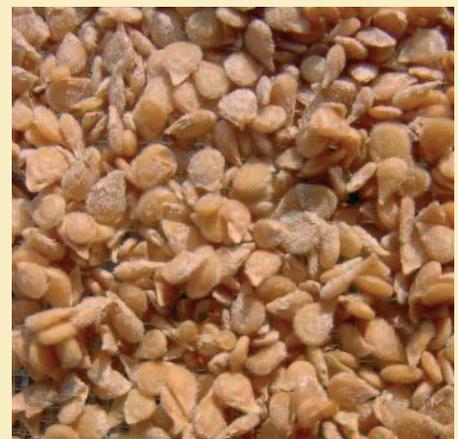
Le pollen est ensuite transféré sur le pistil pour effectuer la fécondation. Ce croisement induit une variation.



Les descendants issus de ce croisement sont **sélectionnés** d'après divers critères comme la résistance aux maladies, le goût, le rendement.



Après une longue période de tests, la nouvelle variété est **multipliée** ...



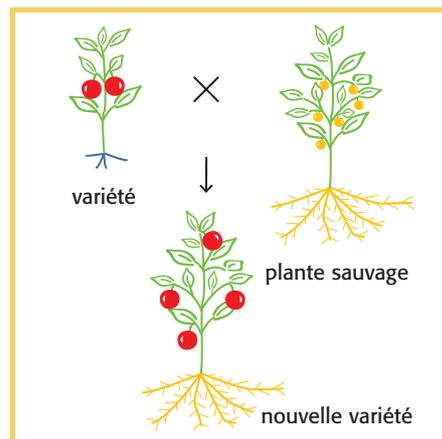
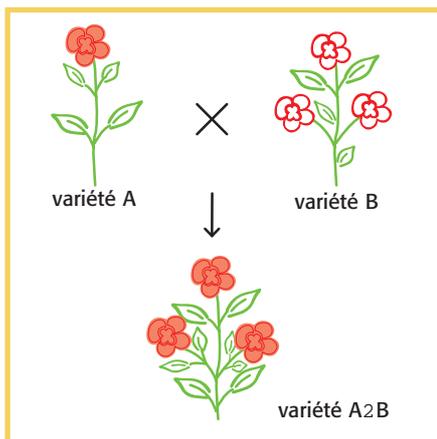
... pour obtenir des semences commercialisables.

Techniques: description, applications, alternatives

Techniques utilisées pour induire de la variabilité au niveau des plantes et des populations



Croisement du blé: préparation de la fleur (émasculation) ...



... pollinisation manuelle ...



... et protection des épis avec des petits sacs après leur pollinisation.

Sélection par combinaison



Description:

Croisement de deux génotypes de la même espèce, par exemple deux cultivars bien implantés. Selon que l'espèce se reproduit de manière asexuée (végétative), de manière autogame ou de manière allogame, plusieurs générations sont produites et sélectionnées après croisements.

Applications:

La sélection par combinaison est largement utilisée pour créer une variabilité dans les lignées de sélection.

Croisement de variétés ou d'espèces

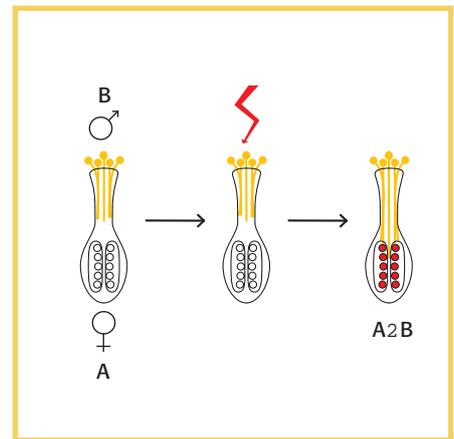
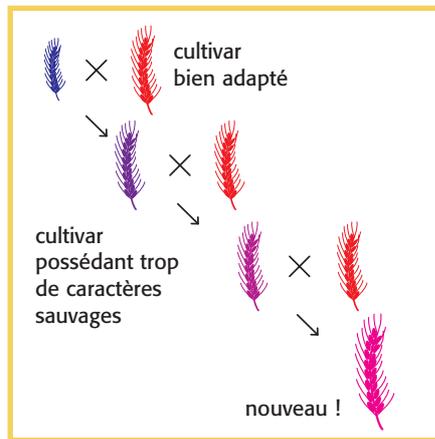
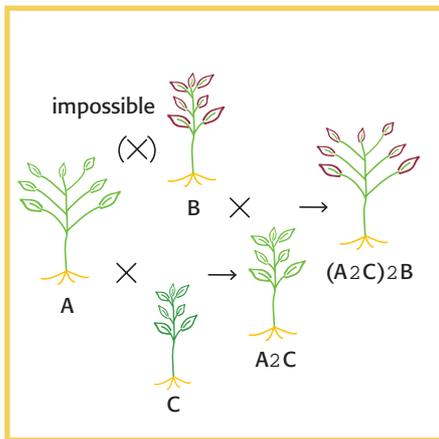


Description:

Croisement de plantes avec des cultivars provenant d'autres conditions climatiques, avec des parents sauvages ou avec d'autres espèces assez proches. Normalement les capacités d'une plante à féconder une plante d'une autre espèce sont limitées, mais les sélectionneurs ont développé un certain nombre de méthodes pour contourner ces barrières de croisement, par exemple par traitement sur la fleur ou par sauvetage d'embryons. Ces méthodes utilisées en serre ou en laboratoire sont décrites plus loin dans ce dossier.

Applications:

Techniques largement utilisées avec un succès assez variable.



Bridging cross



Description:

En utilisant au cours d'un croisement intermédiaire une troisième espèce ou un troisième génotype partiellement compatible avec chacun des deux premiers, cette méthode permet de franchir la barrière d'incompatibilité entre deux espèces ou génotypes. La plante sauvage est d'abord croisée avec une autre espèce, éventuellement sauvage elle aussi, et les descendants issus de ce croisement sont sélectionnés d'après les caractères désirés pour être croisés avec le cultivar.

Applications:

Cette technique est utilisée dans les cas où le caractère désiré est facile à sélectionner. Les croisements de sélection nécessitent beaucoup de temps. Une fois le caractère implanté dans le cultivar, un certain nombre de rétrocroisements sont nécessaires pour éliminer le plus possible de caractères «sauvages» indésirables.

Rétrocroisements répétés



Description:

Les croisements d'espèces différentes peuvent engendrer des descendants qui possèdent trop de caractères sauvages pour permettre une sélection directe des caractères recherchés. Dans ces cas, des rétrocroisements répétés avec un cultivar bien adapté permet d'éliminer certains des caractères sauvages et/ou exotiques pour finalement produire un génotype fortement similaire à celui du cultivar mais possédant les caractères supplémentaires désirés. Les sélectionneurs doivent normalement effectuer trois à quatre rétrocroisements avant de pouvoir passer à la sélection généalogique (voir page 15).

Applications:

Les rétrocroisements répétés sont toujours utilisés lorsqu'un nouveau caractère désiré est incorporé dans une variété existante. Cette technique a déjà prouvé son efficacité pour un grand nombre de variétés en leur permettant de gagner une grande tolérance au stress biotique et abiotique. On citera comme exemples l'introduction de gènes de résistance à des races spécifiques de champignons pathogènes dans les laitues, dans les tomates et dans de nombreuses céréales.

Traitement thermique du pistil



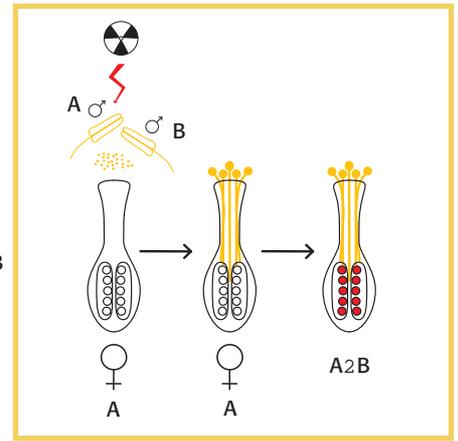
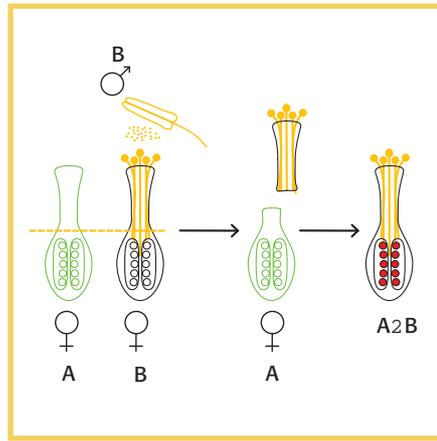
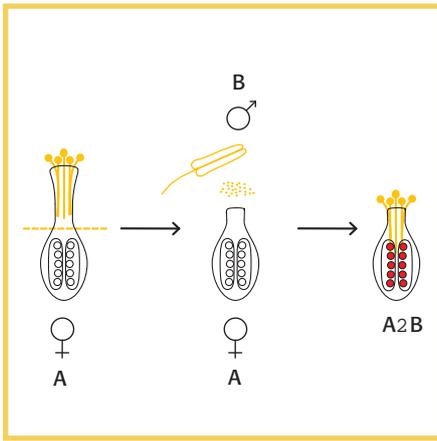
Description:

Le fait d'exposer la plante ou son pistil pendant un certain temps à de hautes températures peut permettre de franchir certaines des barrières d'incompatibilité entre espèces qui existent au niveau du pistil. Après ce traitement thermique, le pollen peut parvenir à cheminer dans le pistil pour atteindre l'ovaire.

Applications:

Cette technique est surtout utilisée dans le domaine des plantes ornementales (par exemple les lis).





Pistil coupé



Description:

Cette technique est utilisée lorsque les grains de pollen germent sur les stigmates mais que leurs tubes polliniques ne poussent pas suffisamment loin dans le pistil. L'ovaire n'est alors jamais fécondé. On peut quelquefois permettre la fécondation en coupant tout ou partie du pistil de la plante femelle et en déposant le pollen mélangé à un jus de stigmates à l'endroit de la coupe. Le tube pollinique n'a maintenant plus qu'une courte distance à franchir en grandissant, ce qui augmente les chances de fécondation.

Applications:

Cette technique n'est utile que pour certaines plantes qui possèdent des pistils très longs, comme c'est par exemple le cas de certaines plantes d'ornement. Pour obtenir des graines, il faut toutefois que les deux espèces soient des proches parentes.

Pistil greffé



Description:

Cette technique peut être utilisée lorsque le pollen ne parvient pas à germer sur les stigmates de la plante femelle. Il faut d'abord déposer le pollen sur un stigmate d'une plante de la même espèce pour le faire germer. Lorsque les tubes polliniques commencent à croître dans le pistil, ce dernier est coupé juste en dessous du point atteint par les tubes polliniques, puis il est greffé sur la base d'un pistil de la plante femelle choisie. Lorsque les deux pistils sont joints, les tubes polliniques continuent à descendre dans le pistil de la plante femelle pour aller féconder l'ovaire.

Applications:

Pour des raisons pratiques, cette technique n'est utilisable que pour des plantes possédant un pistil relativement long et épais. On l'utilise donc surtout pour des plantes d'ornement comme les lis.

Technique du pollen mentor

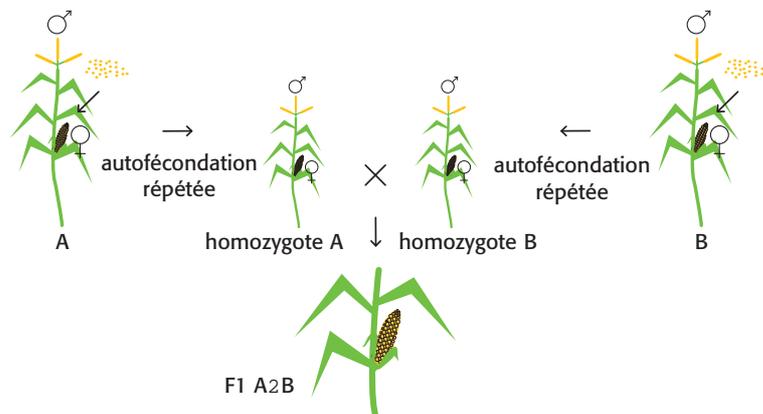


Description:

La technique dite du pollen mentor peut être utilisée pour résoudre certains problèmes de reconnaissance et de croissance. Le pollen de la plante père est mélangé à du pollen de la même espèce que la plante mère. Ce dernier pollen a au préalable été partiellement inactivé par irradiation; il peut encore germer mais non féconder. Les tubes polliniques du pollen mentor «guident» les tubes polliniques de la plante père désirée vers l'ovaire de la plante mère pour le féconder. On peut aussi utiliser du pollen mentor non irradié, et donc toujours fécond, mais c'est moins efficace à cause de la compétition qui s'instaure entre les deux pollens pour féconder l'ovaire de la plante mère.

Applications:

Cette technique est surtout utilisée pour la sélection des plantes d'ornement.



Hybridation F1

Description:

L'hybridation est une méthode qui permet d'obtenir des variétés très homogènes et productives. Pour que les lignées parentales (ou pollinisateurs croisés) deviennent homozygotes, elles doivent subir une autofécondation artificielle pendant plusieurs générations. L'hybride F1 (la variété hybride) est le résultat du croisement de deux lignées parentales homozygotes aussi appelées lignées pures ou lignées consanguines. Ces lignées homozygotes ont perdu une partie de leur vigueur, mais leur descendance (l'hybride F1) est très homogène et vigoureuse à cause de l'effet d'hétérosis. Cet hybride F1 représente la nouvelle variété qui sera vendue telle quelle au client. C'est la raison pour laquelle il faut produire de grandes quantités de semences en fécondant la lignée maternelle homozygote avec le pollen de la lignée homozygote paternelle. Pour les espèces dont les inflorescences mâles et femelles sont physiquement séparées (monoïques), par exemple le maïs, on enlève mécaniquement les inflorescences mâles de la lignée choisie comme lignée femelle; l'émasculature de certaines autres espèces doit se faire à la main ou en induisant une stérilité mâle cytoplasmique (CMS) de la lignée maternelle par croisement ou par fusion protoplasmique (pour plus de détails, voir la rubrique sur la fusion protoplasmique). Pour la conservation des lignées femelles, on utilise des lignées dites Restorer qui possèdent le même génome que la lignée maternelle sans être mâle-stérile. Dans les cultures de production de semence, ces gènes Restorer sont aussi présents dans les lignées paternelles, ce qui explique que l'hybride F1 qui en résulte puisse produire du pollen fertile et former des semences.

À cause de la nature hétérozygote des semences hybrides F1, leurs descendants seront fortement hétérogènes (séparation des caractères intéressants). Il est donc très peu vraisemblable que les semences issues d'un hybride F1 puissent produire la même qualité et le même rendement que les semences F1 achetées à l'entreprise de sélection ou à la société semencière (protection intrinsèque du produit). Les agriculteurs sont donc obligés d'acheter chaque année de nouvelles semences, et cet aspect économique est la principale raison de la popularité des hybrides chez les sélectionneurs.

Applications:

Technique largement utilisée pour de nombreuses cultures (par exemple: légumes, maïs, seigle, tournesol).

Arguments pour et contre:

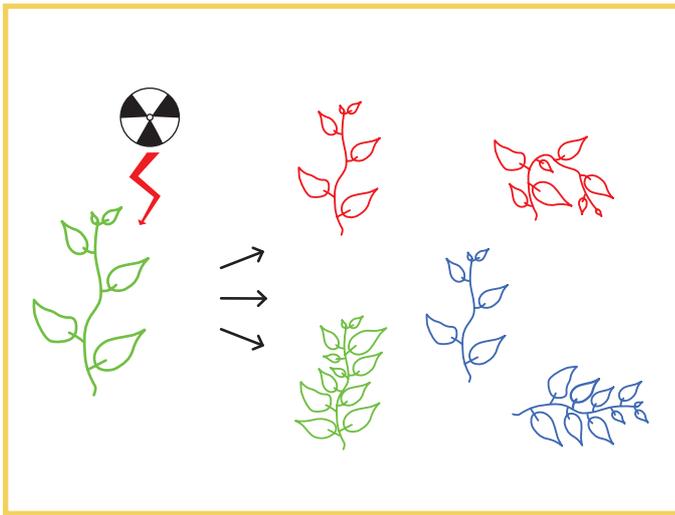
- Pour:**
- variétés uniformes et productives;
 - protection intrinsèque du produit, donc garantie économique pour les sélectionneurs.
- Contre:**
- l'autofécondation répétée des lignées parentales peut conduire à des plantes affaiblies;
 - les hybrides ne peuvent produire eux-mêmes aucune semence utilisable, ce qui force les agriculteurs à racheter de nouvelles semences chaque année;
 - la valeur nutritionnelle des variétés hybrides est controversée.

Conséquences d'un rejet:

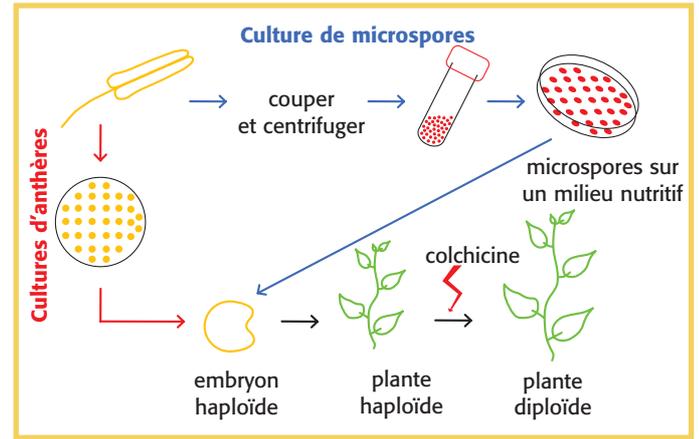
- Au niveau des variétés: un rejet total des hybrides F1 pour toutes les espèces cultivées mettrait en difficulté la production maraîchère pour les 5 à 15 prochaines années car il faudrait remplacer de nombreuses variétés actuellement bien implantées. Si le rejet se limite aux hybrides CMS dépourvus de gènes Restorer, seul un petit nombre de variétés de légumes (poireau, chou) devraient être interdites en agriculture biologique (voir aussi la rubrique sur la fusion protoplasmique).
- Au niveau de la sélection: il faudrait mettre en place des programmes de sélection à long terme pour produire des variétés possédant des propriétés similaires. Il faudrait en plus introduire de nouvelles lois pour protéger le travail des sélectionneurs.

Alternatives:

L'augmentation de la qualité et du rendement peut aussi être obtenue par une sélection généalogique ou par une sélection massale parmi les variétés pollinisatrices issues du domaine public. Si on estime que la sélection d'hybride F1 en tant que telle est incompatible avec l'agriculture biologique, il faudra réévaluer culture par culture toutes les autres techniques «traditionnelles» qui permettraient de démarrer des programmes de sélection spécifiques pour l'agrobiologie.



Techniques permettant d'induire de la variabilité au niveau des tissus et des cellules



Induction de mutations (mutagenèse)



Description:

Les nouveaux caractères sont souvent le résultat de mutations ou de modifications de l'ADN. Les mutations peuvent être spontanées (par exemple causées par l'exposition à la lumière solaire, au froid ou au chaud, à des radicaux libres) pendant la division cellulaire ou provoquées artificiellement en exposant les plantes à une irradiation ou à des produits chimiques. La plupart des mutations sont récessives et ne sont pas directement détectables sur la plante traitée. Cependant, les génotypes mutants peuvent être identifiés dans leur descendance, par autofécondation, lorsque deux allèles récessifs sont combinés dans la même plante.

Applications:

Comme exemples de variations génétiques dues à des mutations induites, citons la modification de la couleur des fleurs de certaines plantes ornementales, certaines variétés de cerises et certains gènes de nanisme dans les céréales. Bien qu'il y ait encore un grand choix de mutagènes éprouvés sur le marché, cette technique n'est plus utilisée très souvent. Cette méthode est souvent combinée à la sélection *in vitro* pour la résistance au sel, aux métaux lourds et autres substances toxiques.

Arguments pour et contre:

- Pour: - induction rapide de variabilité lorsqu'on a besoin de nouveaux caractères.
- Contre: - utilisation de substances toxiques ou de radiations;
- peut être remplacée par des techniques moins hasardeuses.

Conséquences d'un rejet:

- Au niveau des variétés: un rejet total et rétroactif de cette technique nous priverait d'un certain nombre de variétés dans diverses cultures (par exemple cerise, plantes ornementales). Il n'est cependant pas certain qu'on puisse retracer l'histoire de l'obtention de variétés «critiques».
- Au niveau de la sélection: conséquences peu importantes.

Alternatives:

Les mutations peuvent aussi apparaître spontanément. Combinée aux techniques habituelles de croisement, la variabilité génétique naturelle des plantes cultivées et sauvages pourrait d'ailleurs suffire pour obtenir les caractères désirés.

Cultures d'anthers et de microspores



Description:

Des anthers ou des grains de pollen immatures sont cultivés *in vitro* pour forcer les grains de pollen à développer des structures pluricellulaires et en particulier des embryons avec un seul jeu de chromosomes (plantes haploïdes). Lorsque de telles plantes ou embryons haploïdes sont traités avec des produits provoquant un doublement des chromosomes, par exemple de la colchicine, ils retrouvent leur nombre normal de chromosomes (et donc leur fertilité). Les plantes ainsi obtenues forment des lignées pures (homozygotes, autofécondées, consanguines). Dans certains cas, le doublement des chromosomes peut survenir spontanément au cours de la culture *in vitro*.

La culture de microspores (grains de pollen) est un nouveau développement de la culture d'anthers. Au lieu d'utiliser des anthers entières, on n'utilise que les microspores.

Applications:

Les cultures d'anthers ou de microspores sont normalement utilisées au début d'un programme de sélection. Ces techniques, dont le but principal est de produire rapidement des plantes homozygotes, sont couramment utilisées dans la sélection de l'orge, des crucifères et des solanées.

Arguments pour et contre:

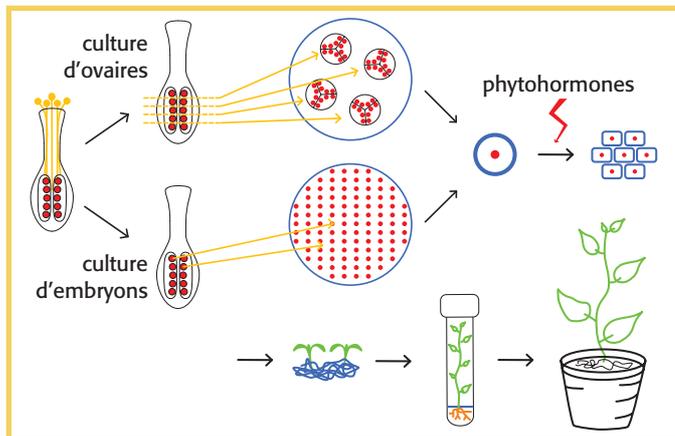
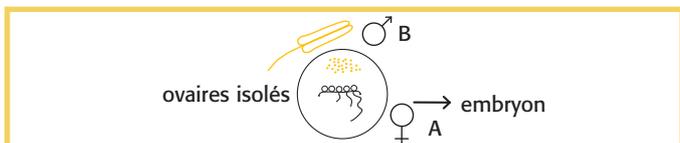
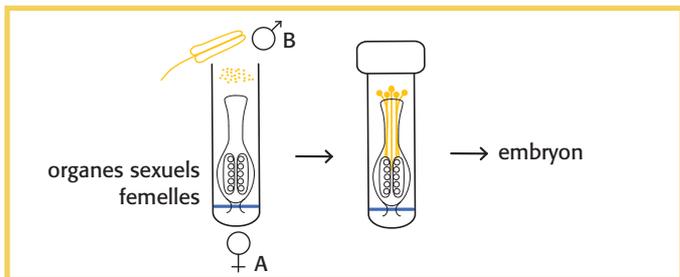
- Pour: - permet de gagner du temps dans la production de lignées pures destinées à l'hybridation.
- Contre: - utilisation de substances toxiques;
- un processus sexué est transformé en processus végétatif.

Conséquences d'un rejet:

- Au niveau des variétés: un rejet total et rétroactif de cette technique nous priverait d'un certain nombre de variétés d'orge, de chou de Bruxelles et de poivron. Il n'est cependant pas certain qu'on puisse retracer l'histoire de l'obtention des variétés «critiques».
- Au niveau de la sélection: pour obtenir des lignées pures, il faudrait recourir à des techniques plus lentes.

Alternatives:

Ces techniques ont pour but de simplifier le processus de sélection et d'accélérer la production de lignées pures destinées à la production d'hybrides F1. Elles ne servent cependant pas à ajouter de nouveaux caractères. D'un point de vue purement génétique, les plantes issues de cultures d'anthers ou de microspores sont identiques aux lignées pures obtenues par autofécondation. La sélection traditionnelle peut donc obtenir les mêmes résultats, mais elle demande plus de temps et de travail.



Pollinisation *in vitro*

Description:

Lors de croisements, par exemple entre un cultivar et son homologue sauvage, la fécondation échoue parfois, soit parce que le pollen ne germe pas, soit parce qu'il ne parvient pas à atteindre l'ovaire. Il est parfois possible de mener à bien la pollinisation et la fécondation *in vitro*. Les ovaires ou les ovules sont séparés des plantes en laboratoire en conditions stériles puis fécondés *in vitro* avec du pollen, ce qui permet de vaincre les barrières qui, entre le stigmate et l'ovaire, font obstacle à la fécondation.

La coupe et le greffage de pistils (voir page 8) peuvent aussi être effectués *in vitro*: au lieu d'être faits sur les organes d'une plante entière, on les applique à des ovules isolés cultivés dans des éprouvettes ou des boîtes de petri.

Applications:

Cette technique est normalement utilisée au début d'un programme de sélection dans le but spécifique d'introduire un caractère déterminé dans un cultivar, par exemple un gène de résistance provenant d'une espèce (sauvage) proche parente. On peut ainsi obtenir plus de combinaisons génétiques qu'avant. Cette méthode a néanmoins un taux de succès assez bas, qui dépend fortement des espèces utilisées et des combinaisons effectuées. Elle est surtout utilisée dans la sélection des plantes d'ornement.

Arguments pour et contre:

- Pour: - augmente les chances, minimes dans la nature, de vaincre les barrières naturelles qui limitent les croisements.
- Contre: - violation de barrières naturelles en conditions artificielles et stériles.

Conséquences d'un rejet:

- Au niveau des variétés: certaines variétés de plantes d'ornement devraient être abandonnées. Il n'est cependant pas certain qu'on puisse retracer l'histoire de l'obtention des variétés «critiques».
- Au niveau de la sélection: le rejet de cette technique n'aurait pas de conséquences majeures parce qu'il existe d'autres techniques.

Alternatives:

Les techniques des «pistils coupés» et des «pistils greffés» pourraient remplacer la pollinisation *in vitro*.

Cultures d'ovaires et d'embryons

Description:

Malgré la réussite de la fécondation, il peut arriver qu'un embryon ne se développe pas en graine fertile. Le but des cultures d'ovaires et d'embryons est de transférer très tôt l'embryon dans un milieu nutritif artificiel pour qu'il ne dépende plus des ressources de la plante.

Dans le cas des cultures d'ovaires, des ovaires entiers ou coupés en tranches sont placés sur le substrat. Lorsque les ovules ont suffisamment gonflé, on les sépare des ovaires pour les cultiver. À ce stade, les ovules sont en fait devenus des graines capables de germer.

Dans le cas des cultures d'embryons, les embryons sont prélevés sur des fleurs fécondées puis placés sur un milieu nutritif pour les faire germer.

Applications:

Les cultures d'embryons ou d'ovaires sont les techniques les plus fréquemment utilisées pour introduire par croisement des gènes provenant d'une espèce (sauvage) proche parente. Ces techniques ont souvent été utilisées pour la tomate, le poivron, la courgette, la laitue, le blé et de nombreuses autres cultures. Entre 80 et 100 % des cultivars actuels proviennent de croisements interspécifiques. Ils permettent de plus nombreuses combinaisons que les croisements standards: après les premières étapes de l'embryogenèse sur la plante, le développement se poursuit par culture d'embryon sur substrat.

Arguments pour et contre:

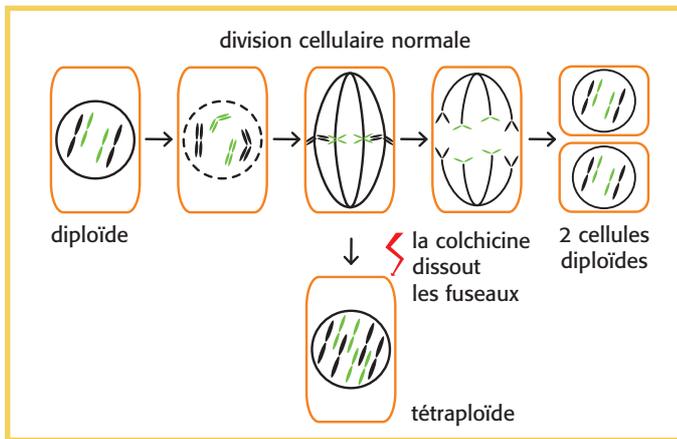
- Pour: - augmente les chances, minimes dans la nature, de vaincre les barrières naturelles qui limitent les croisements.
- Contre: - violation de barrières naturelles en conditions artificielles et stériles, phytohormones de synthèse.

Conséquences d'un rejet:

- Au niveau des variétés: la plupart des variétés modernes de tomates et de nombreuses variétés de poivrons, de laitues et de courgettes ont été sélectionnées selon cette méthode et seraient donc perdues pour l'agriculture biologique.
- Au niveau de la sélection: les techniques alternatives prennent beaucoup de temps.

Alternatives:

Pour remplacer la culture d'embryons, il faudrait faire beaucoup plus de croisements, c.-à-d. plus de 1000 lieu de 50, pour obtenir quelques graines viables. Une autre alternative serait de sélectionner de nouvelles lignées parentales parmi les populations existantes ou les souches sauvages.



Polypléidisation

Description:

Une cellule végétale possède normalement deux copies de chaque chromosome (diploïde). Une cellule est dite polypléide si elle possède au moins le double du nombre normal de chromosomes (tétraploïde). La polypléidie peut être spontanée ou provoquée par des substances chimiques comme la colchicine. Pendant la division cellulaire, le fuseau, qui se forme normalement dans chaque cellule, assure la réorganisation de chaque moitié du jeu de chromosomes dans deux nouvelles cellules. Du fait que la colchicine dissout le fuseau, les chromosomes restent dans la même cellule, pour ensuite s'y doubler (cellule tétraploïde). Si de petits méristèmes ou des graines sont traités avec de la colchicine, ils peuvent donner une plante dotée d'un génome entièrement doublé.

Applications:

Doubler le nombre de chromosomes est parfois nécessaire pour restaurer la fertilité de plantes obtenues par des croisements interspécifiques ou par haploïdisation. La polypléidisation est cependant aussi utilisée pour obtenir des plantes possédant un double jeu de chromosomes (pommes de terre, trèfle, plantes fourragères). Ces plantes sont généralement plus grandes ou plus robustes que celles qui ont le nombre normal de chromosomes. Elles peuvent donc donner plus de rendement et/ou avoir une plus grande valeur ornementale.

Arguments pour et contre:

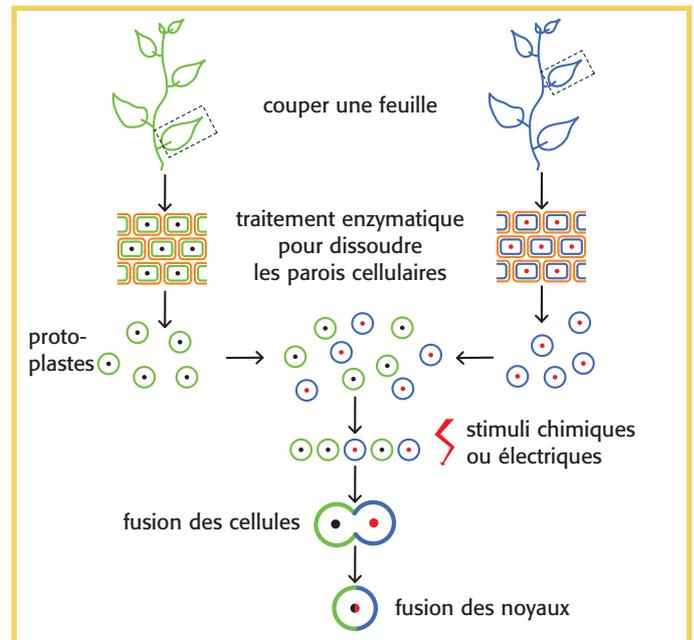
- Pour: - moyen facile de restaurer la fertilité de certaines plantes et d'obtenir des variétés plus grandes et plus robustes.
- Contre: - utilisation d'une substance chimique toxique (la colchicine).

Conséquences d'un rejet:

- Au niveau des variétés: comme il est difficile de savoir après coup si la duplication d'un génome est d'origine naturelle ou artificielle, il est difficile de juger les variétés polypléides. On sait pourtant pour certaines cultures que de la colchicine a été utilisée pour développer les lignées parentales (par exemple pommes de terre avec la résistance Pallida ou graminées fourragères tétraploïdes).
- Au niveau de la sélection: l'abandon de la polypléidisation rendrait difficile la restauration de la fertilité de certaines espèces végétales.

Alternatives:

Si nécessaire, on peut sélectionner, en culture vivrière ou ornementale, des plantes polypléides spontanées.



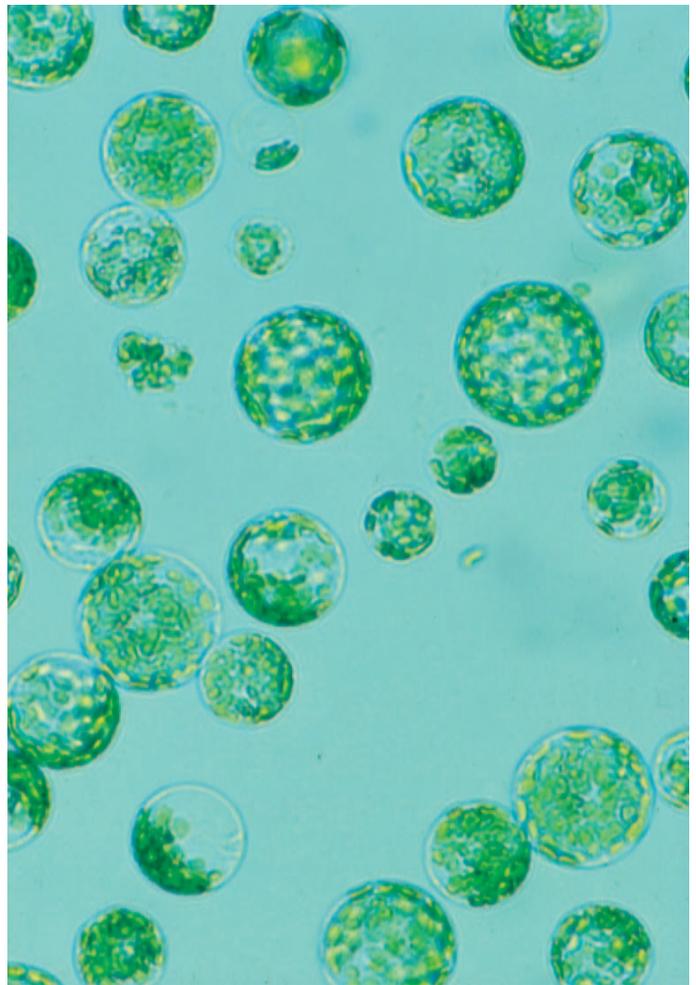
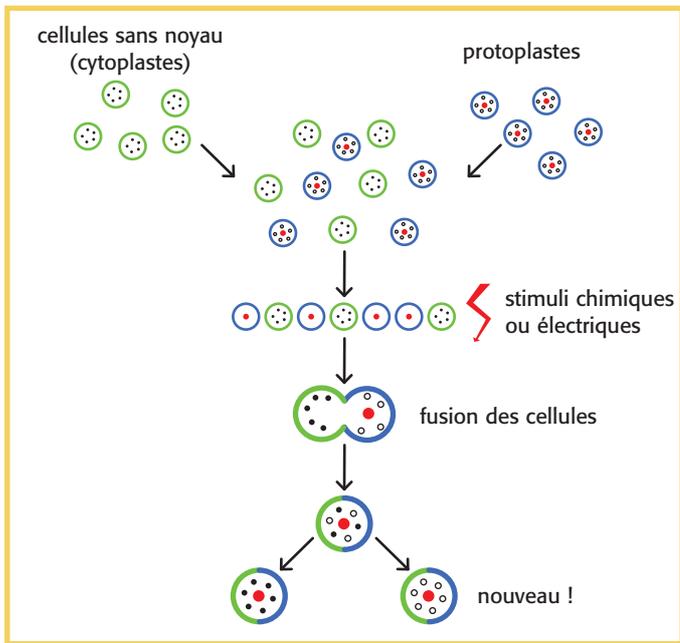
Fusion des protoplastes ou des cytoplastes

Description:

Les protoplastes sont des cellules sans paroi cellulaire obtenues en traitant des fragments de feuilles avec des enzymes qui dissolvent les parois cellulaires. Les protoplastes forment ensuite une nouvelle paroi cellulaire puis se divisent, formant un cal à partir duquel des plantes peuvent se former. Il est possible de fusionner des protoplastes de différentes espèces en leur appliquant des stimuli chimiques ou électriques (hybridation somatique). Pendant cette fusion, les organites (chloroplastes et mitochondries) des deux plantes se combinent, alors que dans les croisements, les seuls chloroplastes et mitochondries maternels sont transmis à la descendance. Le produit tétraploïde de cette fusion possède donc les caractéristiques des deux espèces parentales. On peut aussi mixer les chromosomes et les organites des deux parents pendant la régénération pour produire de nombreuses combinaisons. Pour éviter les échanges de chromosomes, les protoplastes peuvent être traités de manière à supprimer ou à fragmenter les noyaux. Ce qu'on appelle alors les cytoplastes contiennent les organites mais pas les chromosomes de la plante donneuse. Cela permet de transmettre à d'autres espèces végétales le caractère CMS (stérilité mâle cytoplasmique). Les entreprises de sélection utilisent diverses sources végétales de CMS et font breveter l'utilisation de ces types de CMS en décrivant les modifications de l'ADN du génome mitochondrial qui leur sont associées.

Applications:

Combiner les organites maternelles et paternelles permet d'obtenir de nouvelles combinaisons génétiques. On citera comme exemple la stérilité mâle, qui est déterminée par des organites (les mitochondries). Cette méthode était utilisée pour transférer la CMS naturelle du radis au chou et celle du tournesol à l'endive. Après la fusion, la sélection est menée selon les caractéristiques cytoplasmiques. La méthode des protoplastes est utilisée pour insérer dans un cultivar des fragments complets de chromosomes d'une espèce peu apparentée.



Protoplastes de tabac.

Arguments pour et contre:

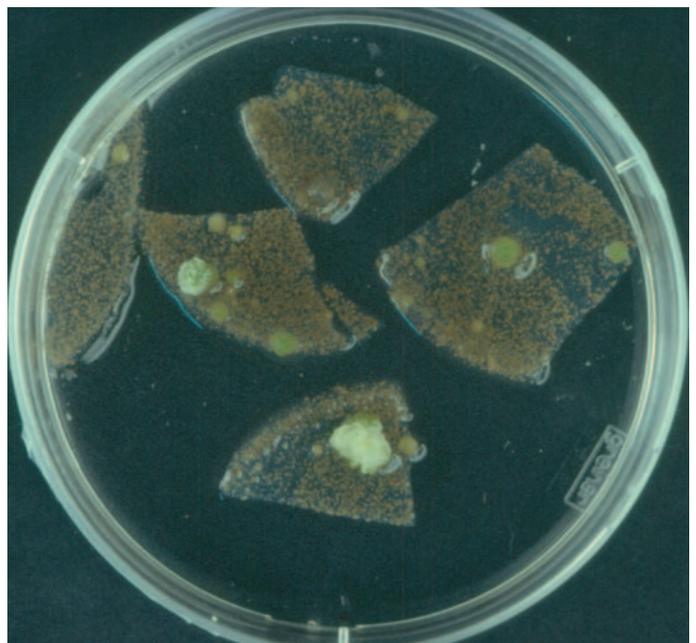
- Pour: - méthode rapide pour obtenir de nouvelles combinaisons et caractères impossibles dans la nature.
- Contre: - cette méthode qui viole les barrières naturelles est très proche du génie génétique.

Conséquences d'un rejet:

- Au niveau des variétés: seules quelques variétés modernes de chou, de chicorée, de poireau et d'endive devraient être interdites en agriculture biologique.
- Au niveau de la sélection: la sélection protoplasmique ne revêt pas encore une grande importance. Il est possible d'atteindre sans elle les objectifs de la sélection végétale biologique. La fusion cytoplasmique est par contre très importante pour induire une CMS.

Alternatives:

Un programme de sélection du chou par hybridation pourrait aussi se baser sur l'auto-incompatibilité (autofécondation impossible) qui caractérise certaines espèces de choux.



Après fusion, les protoplastes sont régénérés (cultures vertes).



Techniques de sélection utilisées au niveau des plantes et des populations

Photo: Institut Louis Bolk



Sélection massale: des salades sont sélectionnées en fonction de divers critères (par exemple résistances à des maladies) dans des parcelles d'essais en plein champ.

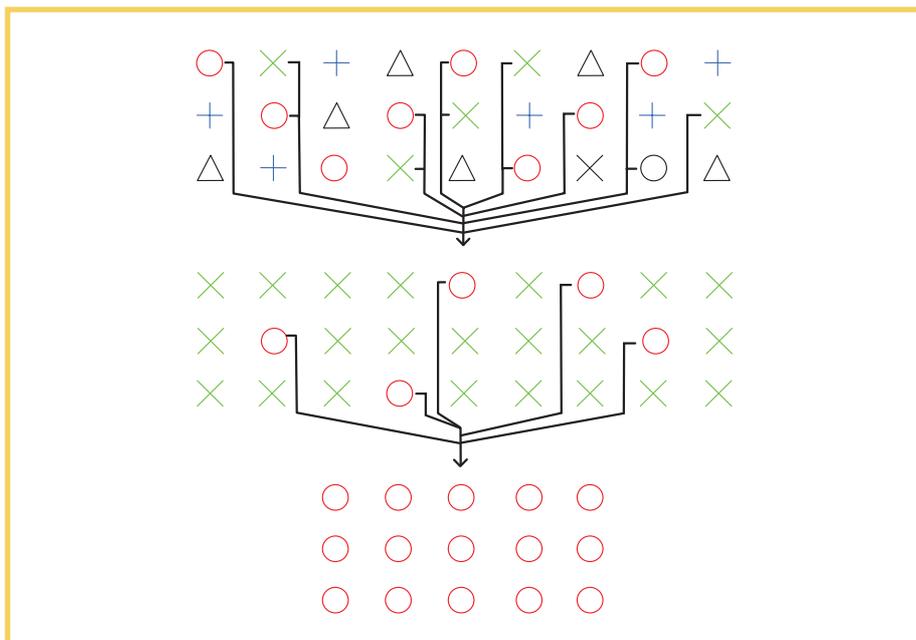
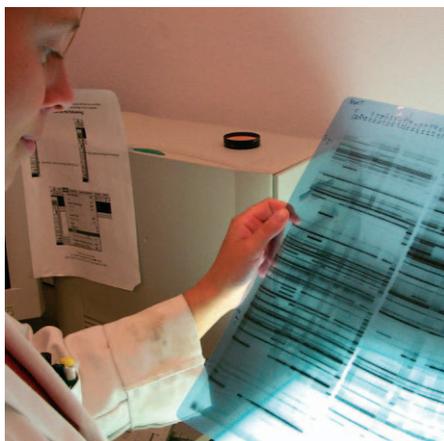


Photo: Michel Haring



Sélection à l'aide de marqueurs: évaluation de l'autoradiogramme d'un gel contenant des marqueurs d'ADN (cf. page 18).

Sélection massale

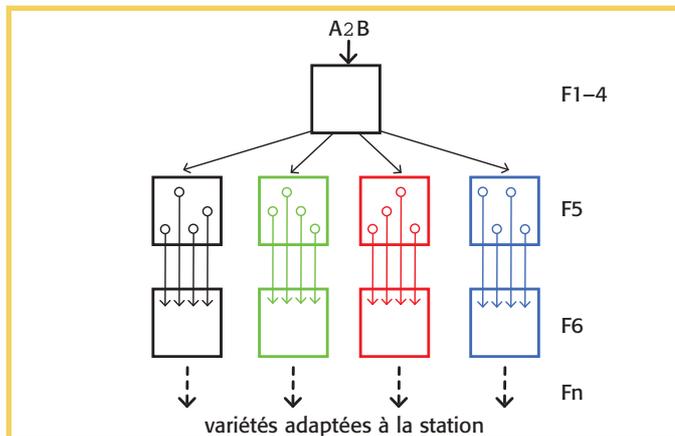
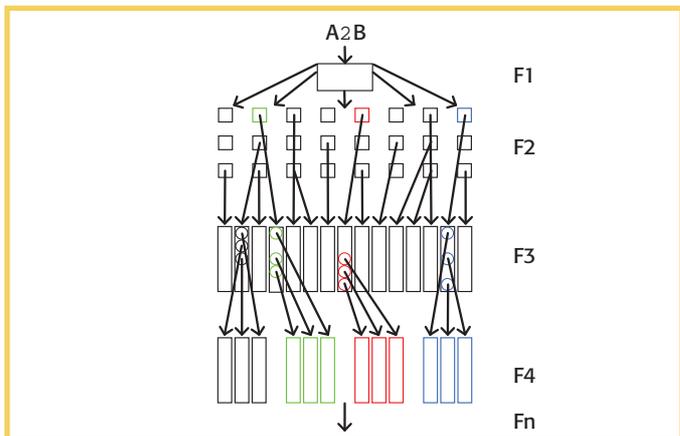


Description:

La sélection massale est basée sur la capacité de reconnaître des caractères désirables ou indésirables parmi les plantes d'une population. Les plantes qui semblent être les meilleures sont maintenues ensemble (sélection massale positive) tandis que les plantes possédant trop peu de caractères désirés sont éliminées (sélection massale négative). Puisque cette sélection est basée sur le phénotype, cette technique est particulièrement efficace pour sélectionner des caractères influencés par des facteurs environnementaux et qui ne sont pas hérités en tant que caractères récessifs ou dominants mais plutôt comme caractères complexes.

Applications:

Cette technique est surtout utilisée pendant les premières étapes d'un programme de sélection quand il n'y a pas suffisamment de plantes ou de semences représentatives pour faire des tests répétés, lorsqu'il faut améliorer des semences ou quand des programmes de sélection disposent de peu de moyens financiers. La sélection basée uniquement sur la sélection massale est un processus très lent. C'est la méthode de sélection qui ressemble le plus à la sélection naturelle.



Sélection généalogique

Description:

Dans la sélection généalogique, des lignées de plantes élites sont développées à partir de plantes individuelles. Chaque plante sélectionnée est récoltée séparément puis cultivée en lignée distincte l'année suivante. Seules les lignées suffisamment performantes sont conservées. Les meilleures plantes de la lignée sont identifiées et leurs graines sont à leur tour récoltées séparément pour le prochain semis. La sélection se base sur des aspects généraux (phénotype) et sur l'hérédité des caractères recherchés (génotype).

Applications:

La sélection généalogique met en jeu la sélection visuelle de plantes individuelles sur plusieurs générations. Du fait de l'application d'une sélection à chaque génération, chaque génération doit être cultivée dans un environnement qui permet aux différences génétiques de s'exprimer (les serres et les pépinières hors saison peuvent donc s'avérer inutiles). La sélection généalogique produit plus vite de nouveaux cultivars que la sélection massale. Cette méthode convient particulièrement bien dans le cas des plantes autogames.

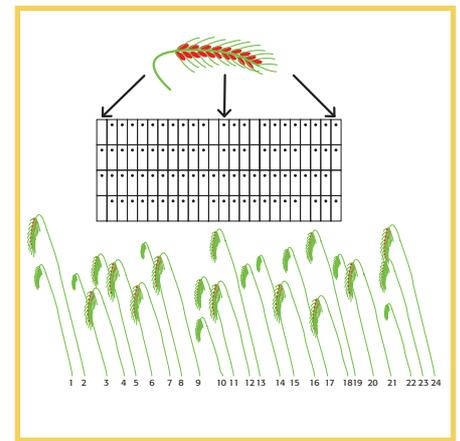
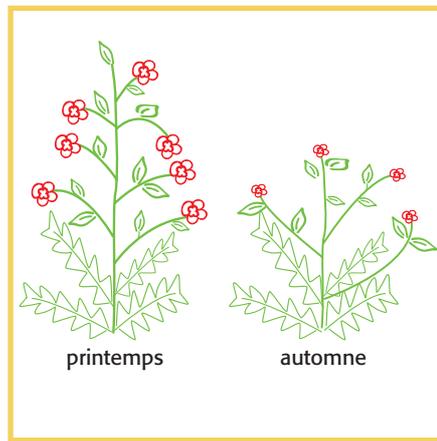
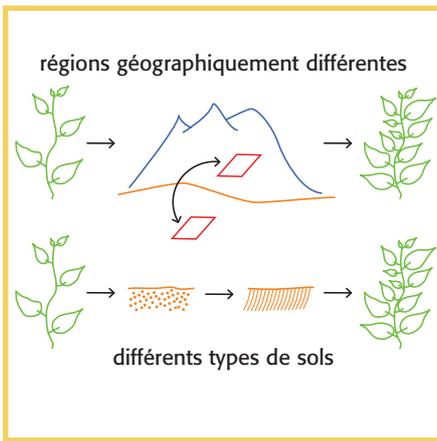
Sélection d'après la station

Description:

L'objectif de cette méthode de sélection est d'obtenir des variétés et quelquefois des populations variétales qui sont parfaitement bien adaptées à des conditions régionales spécifiques. Les lignées parentales sont donc sélectionnées en gardant à l'esprit les caractéristiques de la station (région, emplacement) où sera effectivement cultivée la nouvelle variété. Les croisements sont effectués dans un centre où on sème aussi la F1 et les premières générations suivantes (F2 à F4). Les plantes des générations F5 à Fn sont ensuite testées à différents endroits et sélectionnées selon la méthode généalogique. Cette méthode combine donc la sélection naturelle et la sélection artificielle. En d'autres termes, les facteurs environnementaux déterminent les caractères qui seront exprimés et lesquels ne le seront pas, et cela peut influencer les décisions du sélectionneur au sujet de phénotypes prometteurs.

Applications:

Dans les programmes de sélection végétale agrobiologique, cette méthode est surtout utilisée pour des céréales comme le blé, l'orge, le seigle et l'épeautre. Il est cependant théoriquement possible de l'utiliser pour d'autres cultures.



Changement d'environnement

Description:

Le changement d'environnement en cours de sélection est aussi appelé sélection alternée ou *shuttle breeding*. Cette méthode est utilisée pour sélectionner des géotypes très polyvalents parmi des populations en cours de sélection.

Applications:

Cette méthode peut être utilisée pour des cultures autogames et allogames.

Certains sélectionneurs bio-dynamiques utilisent aussi cette technique pour induire une variabilité et même pour améliorer la vigueur d'une variété.

Changement d'époque de semis

Description:

Le changement d'époque de semis (début et fin de printemps, début et fin d'automne) permet de sélectionner certains caractères comme l'absence de sensibilité à la photopériode, la réduction du besoin de vernalisation, la stabilité du rendement et de la qualité lorsque la durée de la culture varie.

Applications:

Cette méthode peut être utilisée pour des cultures autogames et allogames.

Certains sélectionneurs bio-dynamiques utilisent aussi cette technique pour améliorer la qualité des semences, en particulier celles des céréales.

Semis en forme d'épi

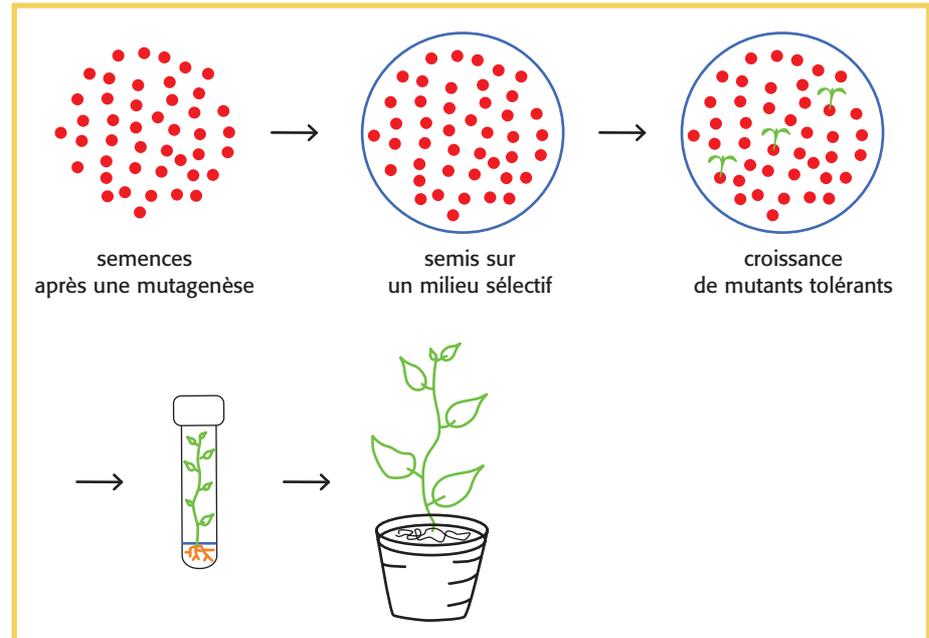
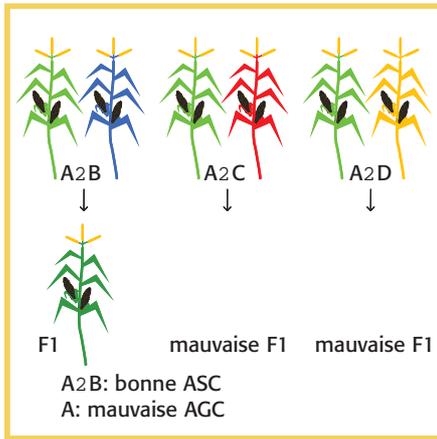
Description:

Le semis en forme d'épi consiste à réaliser un lit de semence dans lequel les grains d'un même épi sont semés selon un schéma qui respecte la place qu'ils occupaient dans l'épi. Les plantes ainsi semées en forme d'épi reflètent donc la qualité de l'épi de départ.

Applications:

Cette méthode de sélection a été spécialement développée pour les céréales par des sélectionneurs bio-dynamiques, mais elle peut aussi être utilisée pour d'autres cultures.

Techniques de sélection utilisées au niveau des tissus et des cellules



Croisements tests



Description:

Les génotypes parentaux prometteurs sont croisés avec de nombreux autres génotypes connus. Les descendants sont cultivés séparément et testés en fonction des caractères désirés. Des mesures sont réalisées pour déterminer l'aptitude générale de combinaison (AGC) et l'aptitude spécifique de combinaison (ASC), données nécessaires pour faire des croisements efficaces.

Applications:

En sélection, il ne suffit pas de sélectionner les meilleurs cultivars, il faut aussi avoir à disposition des parents qui possèdent une bonne aptitude au croisement pour qu'un certain nombre de caractères importants se combinent entre eux et soient transmis aux descendants. C'est particulièrement nécessaire pour les plantes à reproduction asexuée et pour les hybrides. Les croisements demandent d'importantes installations d'expérimentation et prennent beaucoup de temps. Ils restent cependant un investissement important pour l'avenir.

Sélection *in vitro*



Description:

La sélection *in vitro* utilise la variation somatoclonale ou l'induction de mutations pour sélectionner des plantes dotées de nouveaux caractères. Par exemple, pour obtenir des plantes qui tolèrent bien le sel, on effectue la sélection dans un environnement salin. On peut y parvenir en traitant des cellules végétales individuelles qui croissent dans une culture de tissus ou en traitant des semences et en les faisant ensuite germer sur un milieu nutritif sélectif. La sélection des résistances aux maladies et aux ravageurs peut donc être faite *in vitro*: en milieu contrôlé, on applique aux plantes l'organisme pathogène ou une toxine qu'il produit.

Applications:

Cette technique est utilisée pour vérifier une caractéristique spécifique dans de nombreuses plantes ou cellules. C'est une sorte de présélection destinée à réduire le nombre de plantes qu'il faudra tester en pleine terre. Après la sélection *in vitro*, les plantes sont toujours testées en pleine terre pour pouvoir observer l'expression des divers caractères qui apparaissent dans les conditions normales de culture. Les plantes issues de ce processus de sélection peuvent directement être commercialisées comme une nouvelle variété (après multiplication *in vitro*) ou utilisées comme plantes parentales dans d'autres programmes de sélection.

Arguments pour et contre:

- Pour: - méthode bon marché pour présélectionner des plantes et pour réduire le nombre de plantes à tester en pleine terre.
Contre: - les conditions artificielles et stériles qui règnent en laboratoire ne favorisent pas la sélection pour des cultures biologiques.

Conséquences d'un rejet:

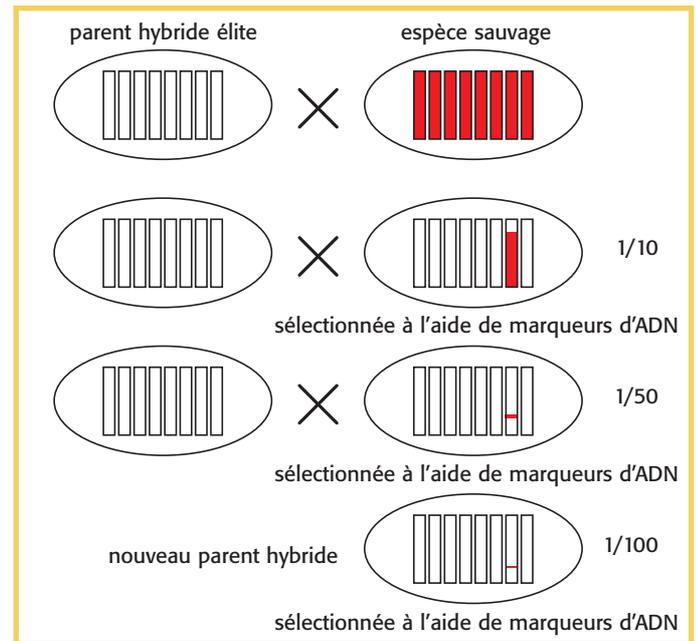
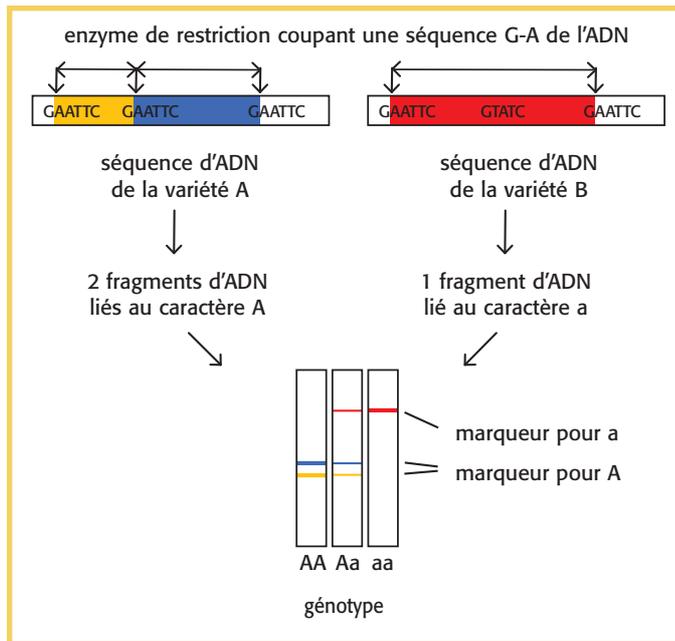
- Au niveau des variétés: certaines variétés de diverses cultures devraient être interdites en agriculture biologique si cette technique était interdite en sélection végétale biologique. La sélection *in vitro* ne peut pas être décelée sur le produit et ne peut donc pas être contrôlée.
- Au niveau de la sélection: il faudrait procéder à un plus grand nombre de sélections en pleine terre, ce qui prend beaucoup de temps.

Alternatives:

Pour certains caractères, une sélection similaire pourrait être effectuée à l'aide des techniques de sélection en pleine terre mentionnées plus haut, mais cela prend beaucoup plus de temps. D'un autre côté, la sélection en pleine terre favorise la découverte de plantes bien adaptées à une plus large palette de facteurs environnementaux.



Techniques de sélection utilisées au niveau de l'ADN



Sélection à l'aide de marqueurs d'ADN

Description:

Les techniques biochimiques et moléculaires sont fréquemment utilisées pour la sélection directe. Le polymorphisme des plantes est fixé à différents niveaux: moléculaire, biochimique, phénotypique. Au niveau biochimique, certaines protéines végétales (enzymes) peuvent avoir une composition légèrement différente selon les variétés. Elles peuvent être distinguées en chromatographie par des agencements de bandes différents (isozymes). L'analyse génétique permet de relier telle ou telle bande à un caractère désirable (rendement, goût, résistance). Une fois que ce lien est établi, la présence du marqueur (bande isozyme) dans une lignée de sélection suggère que le caractère en question est aussi présent.

De manière similaire, on peut rendre visible une variation de la séquence de l'ADN autour d'un ou plusieurs gènes qui déterminent un caractère recherché. Après isolement de l'ADN, celui-ci est traité par des enzymes de restriction et par des «étiquettes» radioactives ou fluorescentes. Ces enzymes sont naturellement présentes dans certaines bactéries. Elles sont actuellement le plus souvent produites par génie génétique sous forme d'enzymes recombinantes, bien qu'on puisse les extraire aussi des bactéries. Les enzymes recombinantes, qui ne sont pas distinguables des enzymes non recombinantes, peuvent être isolées à peu de frais. Après traitement de l'ADN, on recherche sur l'échantillon en bande des différents fragments d'ADN les bandes qui sont reliées au caractère souhaité de la plante. Cette méthode n'est pas utilisée pour pratiquer une transgénèse, mais elle permet d'analyser l'ADN de chaque descendant pour effectuer une présélection sur la présence d'un caractère connu.

Applications:

Les marqueurs moléculaires peuvent être utilisés pour un segment particulier d'ADN relié à un caractère intéressant. Les caractères peuvent être déterminés par un ou plusieurs gènes. L'objectif de la sélection à l'aide de marqueurs d'ADN est d'accélérer la sélection et de pouvoir sélectionner directement pour des caractères recherchés. Cette technique devrait permettre à l'avenir de rechercher dans de grandes populations la présence

de marqueurs (donc de caractères) connus avant de les tester en pleine terre. Pour pouvoir faire une sélection à l'aide de marqueurs, il faut d'abord identifier un marqueur étroitement lié au caractère recherché. Cela nécessite un programme de cartographie génétique considérable avant de pouvoir appliquer cette technique dans un programme de sélection. Les marqueurs moléculaires développés par les entreprises de sélection sont le plus souvent brevetés pour éviter que des concurrents développent les mêmes caractères. Cette technique est de plus en plus utilisée dans de nombreux programmes de sélection.

Arguments pour et contre:

- Pour: - méthode de sélection efficace et rapide;
- permet la pyramidisation des gènes de résistance pour améliorer les résistances.
- Contre: - réduit la plante à la somme de toutes ses séquences d'ADN;
- utilisation de substances toxiques.

Conséquences d'un rejet:

- Au niveau des variétés: pour le moment, la sélection végétale moderne utilise cette technique avant tout pour accélérer la sélection et en diminuer les coûts. Actuellement, seules quelques rares variétés sélectionnées avec cette technique sont sur le marché.
- Au niveau de la sélection: la sélection à l'aide de marqueurs d'ADN ne peut pas être décelée sur le produit et ne peut donc pas être contrôlée.

Alternatives:

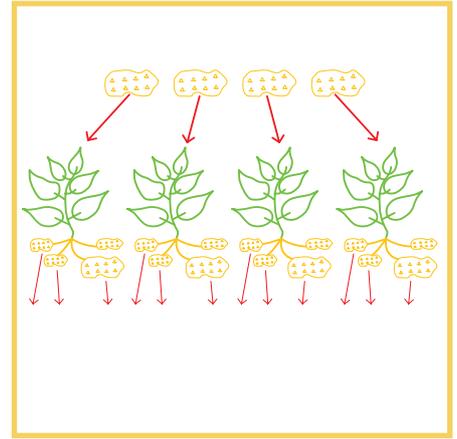
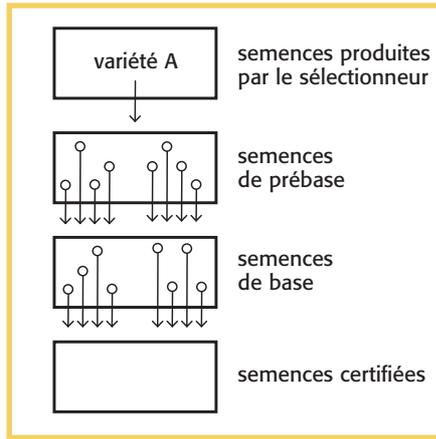
Dès que des marqueurs auront été découverts pour des caractères importants, cette technique contribuera à améliorer l'efficacité et la rapidité de la sélection, mais elle peut être remplacée par la plupart des techniques de sélection à condition qu'on ne soit pas soumis à des restrictions budgétaires ou d'infrastructures.

Techniques de multiplication utilisées au niveau des plantes et des populations

Photo: Markus Kellerhals, FAW



Multiplication de plants directs de pommiers.



Multiplication des plantes à reproduction sexuée

Description:

Lorsqu'une nouvelle variété a été sélectionnée après induction d'une nouvelle variabilité génétique, elle doit être conservée et multipliée en tant que lignée pure. Pour les plantes autogames et allogames, les génotypes sélectionnés sont cultivés dans des conditions d'isolement pour la floraison. Une sélection massale positive assure ensuite que les lignées parentales d'élite sont de haute qualité et possèdent toutes les caractéristiques d'une variété. Même si toutes les maladies des plantes parentales ne sont pas transmises aux semences, il faut accorder une attention particulière à certaines maladies transmises par les semences comme l'alternaria des carottes et la carie ordinaire du blé. La plupart des graines peuvent ensuite être stockées pendant d'assez longues périodes.

Applications:

Cette technique est utilisée pour toutes les plantes à reproduction sexuée.

Multiplication des plantes à reproduction asexuée

Description:

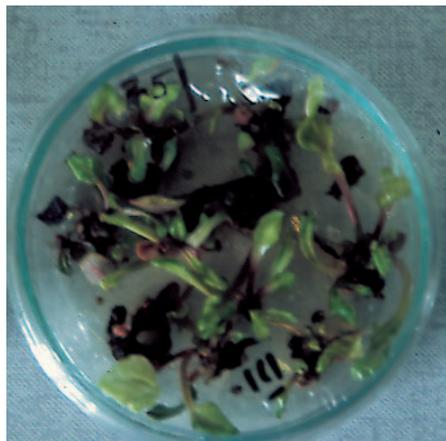
Dans le cas des plantes à reproduction asexuée comme les betteraves, les pommes de terre, les plantes à bulbes ou les plantes greffées, il faut prendre des précautions spéciales pour éviter toute détérioration de l'état sanitaire des semences ou des plants. Comme les plantes vivantes se conservent mal en conditions de stockage, ces lignées sont conservées grâce à un processus continu de multiplication. L'avantage de la reproduction asexuée reste cependant que toute la descendance conserve exactement le même génotype que les parents, qu'ils soient hétérozygotes ou homozygotes.

Applications:

Cette technique est utilisée pour toutes les plantes à reproduction asexuée.

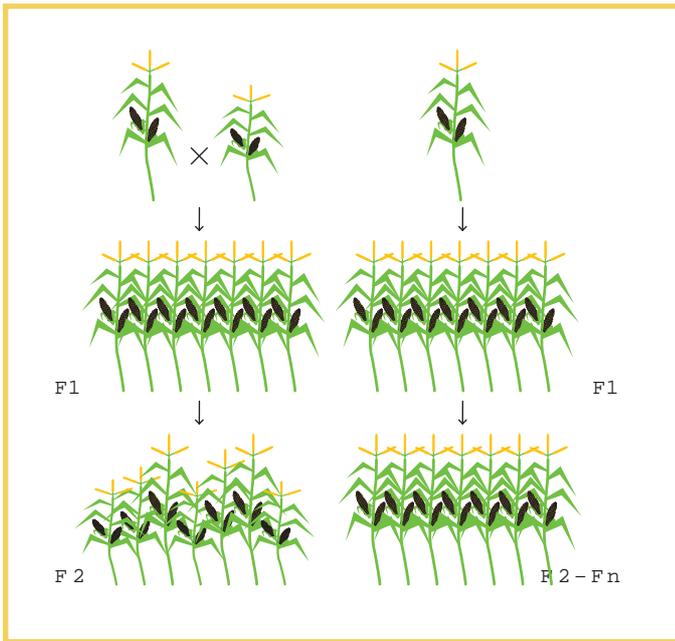


Multiplication *in vitro* de betteraves sucrières.

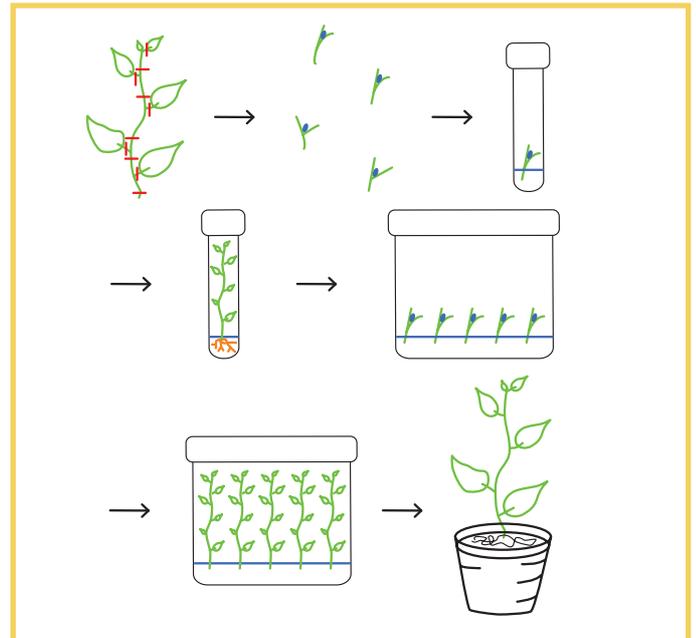


Culture de méristèmes de betteraves sucrières dans une boîte de petri.

Photos: Gumilla Lissek-Wolf



Techniques de multiplication utilisées au niveau des tissus et des cellules



Apomixie

Description:

Certaines plantes se reproduisent asexuellement par des graines. Ce phénomène est appelé apomixie. Pendant le processus de formation des graines, la méiose, qui est essentielle pour la reproduction sexuée, est soit supprimée soit contournée de manière à ce que l'embryon soit génétiquement identique à la plante mère. Certaines plantes sont des plantes apomictiques obligatoires, c.-à-d. que leurs graines contiennent des embryons apomictiques, d'autres sont des plantes apomictiques facultatives, c.-à-d. qu'elles sont capables de former dans leurs graines aussi bien des embryons sexués qu'apomictiques.

Application:

L'apomixie survient chez des plantes cultivées (pâturin des prés, oranges, plantes tropicales) et sauvages. Elle a attiré l'attention des sélectionneurs parce qu'elle combine les avantages de la multiplication par des graines – santé et maintien de la qualité – avec ceux d'une reproduction identique au génotype maternel. La multiplication apomictique est considérée comme une méthode prometteuse pour conserver les variétés et pour fixer l'effet d'hétérosis des hybrides. Cette technique est encore très peu utilisée en sélection végétale, mais, avec l'aide du génie génétique, elle devrait être disponible dans un proche avenir pour un grand nombre d'espèces cultivées.

Multiplication *in vitro*

Description:

Selon les espèces végétales, une partie d'une plante est cultivée *in vitro*. Le plus souvent il s'agit d'un bout de rameau avec un bourgeon axillaire, de morceaux de feuilles ou d'une écaille prélevée sur un oignon. Ces bouts de plantes se développent en pousses qui peuvent à leur tour être sectionnées et multipliées. Ce processus peut être répété plusieurs fois pour avoir assez de plantes. Ces dernières sont ensuite cultivées jusqu'à ce qu'elles aient un système racinaire suffisamment développé pour être d'abord endurcies puis transférées dans une serre normale ou en pleine terre.

Applications:

Cette méthode est souvent utilisée pour obtenir assez de matériel de base pour pouvoir mettre une nouvelle variété sur le marché. De plus, cette technique est utilisée plus régulièrement pour la conservation des lignées parentales des variétés hybrides.

Arguments pour et contre:

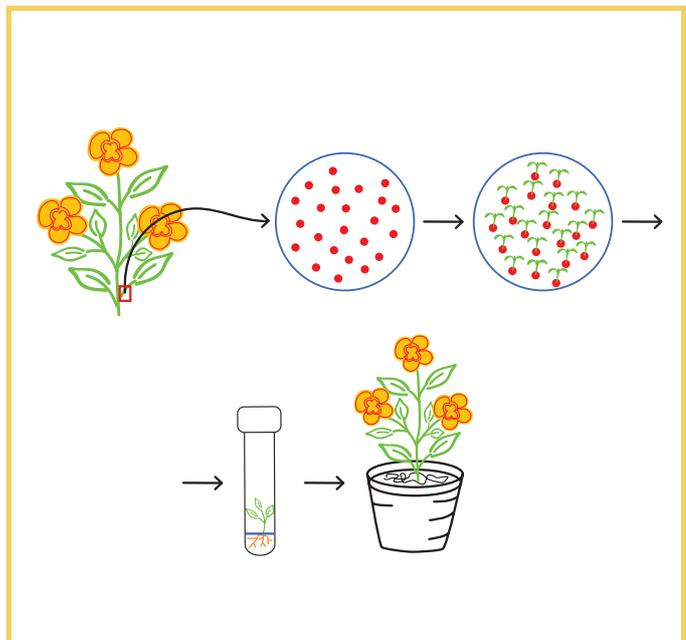
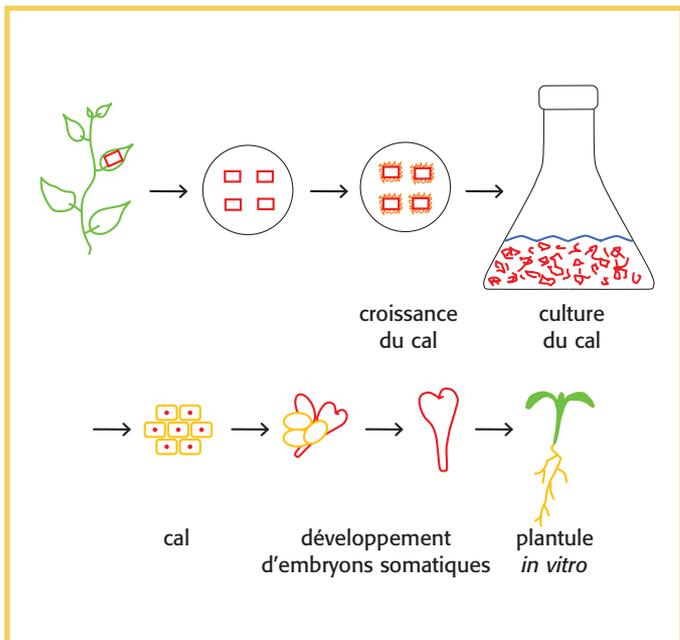
- Pour: - moyen rapide et bon marché de produire un grand nombre de plantes.
 Contre: - les conditions stériles et artificielles pourraient provoquer une sélection d'après la station en fonction des conditions de laboratoire.

Conséquences d'un rejet:

- Au niveau des variétés: cela priverait l'agriculture biologique d'un certain nombre de variétés de fleurs coupées et d'hybrides de poireau.
- Au niveau de la multiplication: il faudrait recourir à des techniques qui prennent plus de temps et qui coûtent plus cher.

Alternatives:

Il existe pour la plupart des cultures d'autres méthodes de multiplication relativement efficaces.



Embryogenèse somatique



Description:

Des embryons somatiques sont créés à partir d'un fragment de matériel végétal prélevé sur la plante mère, avec passage ou non par la phase du cal. Le cal, qui est habituellement multiplié dans un milieu liquide, est ensuite homogénéisé pour former une suspension de cellules. Des hormones végétales sont ajoutées aux cellules prélevées sur la plante mère – cal ou suspension de cellules – pour stimuler la transformation des cellules en embryons somatiques. Ces embryons sont à leur tour souvent capables de former des embryons secondaires, conduisant ainsi à un processus de multiplication continue. Ensuite, toujours *in vitro*, ces embryons vont se développer en plantes complètes.

Applications:

Cette méthode possède un immense potentiel de développement. Elle demande moins de travail que d'autres méthodes de multiplication *in vitro*. Elle peut assez facilement être mise en œuvre pour des productions à grande échelle et même automatisées.

Arguments pour et contre:

- Pour: - méthode très rapide et bon marché pour multiplier de grands nombres de plantes.
- Contre: - les conditions stériles et artificielles pourraient provoquer une sélection adaptée aux conditions de laboratoire;
- utilisation de phytohormones de synthèse;
- risque de mutations spontanées.

Conséquences d'un rejet:

- Au niveau des variétés: l'interdiction de cette technique entraînerait celle d'un grand nombre de variétés de fleurs coupées.
- Au niveau de la multiplication: il faudrait recourir à des techniques qui prennent plus de temps et qui coûtent plus cher.

Alternatives:

Il existe pour la plupart des cultures d'autres méthodes de multiplication relativement efficaces.

Cultures de méristèmes



Description:

Pour cultiver des méristèmes, on prélève des fragments de méristèmes qu'on cultive sur un milieu nutritif. On utilise ensuite la méthode ELISA pour vérifier que les plantes obtenues sont bien exemptes de virus. Les plantes non infectées sont ensuite multipliées de la manière décrite plus haut.

Applications:

La culture de méristèmes est souvent la seule possibilité d'obtenir du matériel végétal exempt de virus (par exemple: fraises, bulbes, pommes de terre). Les virus peuvent être spécialement persistants dans les plantes à multiplication asexuée car ils sont transmis aux plants produits pour l'année suivante (par exemple: ail). Les virus prolifèrent et se répandent dans toute la plante, mais ils ne parviennent jamais tout à fait à gagner de vitesse la division cellulaire dans les méristèmes. Cette méthode est largement utilisée pour produire des porte-greffe fruitiers, des plants de fraisiers, des bulbes de fleurs, des légumes.

Arguments pour et contre:

- Pour: - cette méthode est la meilleure et souvent la seule qui permette d'obtenir des plants exempts de virus.
- Contre: - utilisation de phytohormones de synthèse.

Conséquences d'un rejet:

- Au niveau des variétés: la plupart des porte-greffe fruitiers et des plants de petits fruits ainsi que de nombreuses variétés de légumes devraient être interdits en agriculture biologique.
- Au niveau de la multiplication: il faudrait développer de nouvelles techniques.

Alternatives:

À condition de n'utiliser que les parties les plus jeunes des plantes, il devrait aussi être possible de produire des plants exempts de virus en utilisant des méthodes standards de multiplication.



Évaluation de la compatibilité des diverses techniques de sélection et de multiplication végétales avec les principes de l'agriculture biologique

Pour élaborer des directives et des concepts directeurs de la sélection végétale agrobiologique, il faut pouvoir évaluer si les diverses techniques de sélection et de multiplication végétales sont compatibles avec les principes de l'agriculture biologique. Les discussions aux niveaux national et international ont montré qu'il faut commencer par définir des critères d'évaluation. (Wiethaler et al., 2000). Ces critères peuvent découler de l'application des principes de base de l'agriculture biologique à la sélection végétale. En Hollande, l'Institut Louis Bolk a élaboré des propositions qui vont dans ce sens (Lammerts van Bueren et al., 1999). Les auteurs de ces propositions ont utilisé comme point de départ trois principes fondamentaux de l'agriculture biologique:

- cycles de production fermés;
- autorégulation naturelle;
- biodiversité.

Afin de proposer un cadre pour la sélection végétale biologique, on peut extrapoler ces principes au niveau de la plante. Les trois critères d'évaluation de la sélection végétale biologique deviennent donc:

- aptitude des plantes à se reproduire naturellement;
- aptitude à s'adapter aux conditions de l'agriculture biologique;
- diversité génétique respectant l'authenticité et les caractéristiques des espèces naturelles.

Comme la sélection est aussi une activité socio-économique, ces principes peuvent aussi s'appliquer au niveau socio-économique:

- participation fortement interactive des agriculteurs, des sélectionneurs, des commerçants et des consommateurs aux programmes de sélection végétale;
- réglementations tenant compte des principes de l'agriculture biologique;
- biodiversité agricole: la diversité des programmes de sélection est nécessaire pour avoir une bonne diversité génétique. Cette nécessité inclut le libre échange de variétés entre les sélectionneurs. Il faudrait donc conserver les variétés de manière à ce qu'elles restent capables de transmettre des gènes aux futurs programmes de sélection. Cela implique la nécessité de produire des graines fertiles et de renoncer à breveter les variétés.

Sur la base des principes énoncés ci-dessus, ce sont les techniques qui interviennent au niveau des plantes et des populations qui conviennent le mieux dans le cadre d'un système interactif de sélection végétale biologique. Ces principes aboutiraient donc logiquement à des techniques de sélection qui permettraient à tout le processus de sélection de se dérouler dans les conditions de l'agriculture biologique (sol). Ici apparaît un dilemme éthique: cela implique-t-il que la plus petite entité vivante sur laquelle les programmes biologiques de sélection végétales puissent travailler soit la plante ou la population? Ou alors la plus petite entité est-elle la cellule parce qu'elle est capable de se multiplier et de se différencier pour produire une nouvelle plante? Ou encore voulons-nous accepter de réduire la vie à la complexité du matériel héréditaire, l'ADN? Le tableau 2 étudie la conformité des techniques de sélection et de multiplication avec la sélection végétale biologique à la lumière de ces trois niveaux d'interprétation éthique de la plus petite entité vivante acceptable – la plante, la cellule, l'ADN.

Les résultats de l'évaluation de ces techniques selon ces différents points de vue auraient des conséquences très différentes pour la disponibilité actuelle des semences dans les principaux groupes de cultures: acceptable:

- si les plantes sont considérées comme la plus petite entité vivante: il faudrait interdire quelques rares variétés de céréales, de nombreuses variétés de légumes (par exemple: tomates, poivron, laitue, chou), quelques variétés de fruits, quelques cépages, quelques cultures fourragères et de nombreuses plantes ornementales;
- si les cellules sont considérées comme la plus petite entité vivante: il ne faudrait interdire que quelques rares variétés de légumes (par exemple: certaines variétés de choux) et plus tard des variétés de pommes de terre et de maïs;
- si l'ADN est considéré comme la plus petite entité vivante: aucunes conséquences sur la disponibilité des semences.

En outre, toute réglementation restrictive devrait clairement définir et différencier les techniques autorisées et interdites, et ces différences doivent être contrôlables. Une autre possibilité d'améliorer la «qualité» de la sélection végétale biologique serait de certifier les sélectionneurs qui respectent un programme défini de sélection végétale biologique.

Dans le but de promouvoir et d'accélérer la production de plantes compatibles avec une agriculture biologique cohérente, le mouvement biologique dans son ensemble a besoin de trouver une manière claire et réaliste de définir la sélection végétale agrobiologique.

Bibliographie

Lammerts van Bueren, E. T., Hulscher, M., Jongerden, J., van Mansvelt, J.D., den Nijs, A. P. M. and Ruivenkamp, G. T. P. (1999) Sustainable organic plant breeding. Final report: a vision, choices, consequences and steps. Louis Bolk Institut, Driebergen. 59 pages.

Wiethaler, C., Oppermann, R. and Wyss, E. (2000) Organic plant breeding and biodiversity of cultural plants. Reports on the international conferences. Naturschutzbund Deutschland et Institut de recherche de l'agriculture biologique (IRAB/FiBL). 115 pages.

Tableau 2: Évaluation de la compatibilité des techniques de sélection et de multiplication en considérant soit la plante, soit la cellule, soit l'ADN comme étant la plus petite entité vivante sur laquelle on a le droit d'agir

	La plus petite entité vivante est ...		
	La plante	La cellule	L'ADN
Induction de la variabilité			
Sélection de combinaison, croisements de variétés, croisements de sélection, rétrocroisements répétés, coupe et greffe du pistil, traitement thermique du pistil	↑	↑	↑
Sélection par hybridation F1, technique du pollen mentor non irradié	↗	↑	↑
Cultures d'ovaires et d'embryons, pollinisation in vitro, cultures d'anthères et de microspores	↘	↑	↑
Polypléidisation, variabilité somatoclonale	↘	↗	↑
Hybridation pour obtenir des CMS sans gène Restorer, technique du pollen mentor irradié	↓	↗	↑
Fusion protoplasmique	↓	↘	↑
Génie génétique (déjà interdit)	↓	↓	↓
Sélection	La plante	La cellule	L'ADN
Sélection massale, sélection généalogique, sélection environnementale, changement d'environnement, changement d'époque de semis, semis en forme d'épi, croisements tests	↑	↑	↑
Sélection in vitro	↓	↗	↑
Sélection à l'aide de marqueurs d'ADN	↓	↗	↑
Multiplication	La plante	La cellule	L'ADN
Multiplication sexuée	↑	↑	↑
Multiplication végétative	↑	↑	↑
Apomixie	↘	↑	↑
Cultures de méristèmes	↘	↗	↑
Multiplication in vitro, embryogenèse somatique	↓	↗	↑

Les couleurs et les flèches indiquent le «degré de compatibilité»: ↑ = pas de problème, ↗ = ok, ↘ = non compatible mais provisoirement autorisé, ↓ = non compatible.

Impressum

Éditeur: Institut de recherche de l'agriculture biologique (IRAB/FiBL), Ackerstrasse, Postfach, CH-5070 Frick, tél. +41 (0)62 865 72 72, fax +41 (0)62 865 72 73, email admin@fibl.ch, site Internet www.fibl.ch
Institut de recherche de l'agriculture biologique (IRAB/FiBL) Berlin e.V., Rungestrasse 19, D-10179 Berlin, tél. +49 (0)30 27 58 17 50, fax +49 (0)30 27 58 17 59, email berlin@fibl.de

Auteurs: Eric Wyss (IRAB/FiBL, Frick), Edith Lammerts van Bueren (Institut Louis Bolk, Driebergen), Marjolein Hulscher (Institut Louis Bolk, Driebergen), Michel Haring (Université d'Amsterdam)

Coauteurs: Christine Arncken-Karutz (IRAB/FiBL, Frick), Robert Haward (Soil Association, Bristol), François Lhopiteau (Institut Technique pour l'Agriculture Biologique, Paris), Eckard Reiners (Bioland Verband Deutschland, membre du comité de l'IFOAM pour le cahier des charges cadre), Klaus-Peter Wilbois (IRAB/FiBL, Berlin)

Collaboration: Beat Keller (Université de Zurich), Jos van Damme

(Niederländisches Institut für Ökologie, Heteren), Peter van Dijk (Niederländisches Institut für Ökologie, Heteren), Michael Winzeler (Station fédérale de recherches en agroécologie et en agriculture, Zurich-Reckenholz)

Rédaction: Thomas Alföldi (IRAB/FiBL, Frick)

Mise en page: Daniel Gorba (IRAB/FiBL, Frick)

Traduction: Manuel Perret et Jean-François Lizot (version française), Robert Haward (version anglaise), Jessamijn Miedema et Anne Bruinsma (version hollandaise), Eric Wyss et Markus Bär (version allemande)

Photo de couverture: castration d'une fleur de chou-fleur, Jan Velema (Vitalis Biologische Zaden BV)

Ce dossier existe en anglais, en allemand, en néerlandais et en français.

Prix: 5 Euros

N° ISBN 3-906081-12-5

Vente: IRAB/FiBL

© IRAB/FiBL

Glossaire



ADN	L'ADN (acide désoxyribonucléique) est une double hélice de nucléotides qui contient l'information génétique d'une cellule. L'ADN contient l'information codée nécessaire à la synthèse des protéines, et il est capable de se reproduire lui-même.	Gène	Les gènes sont des unités héréditaires qui peuvent être attribuées à une séquence d'ADN qui occupe une position déterminée dans le génome. Un gène sert à coder la production d'une protéine ou d'un ARN responsable d'un certain caractère.
Allèle	Membre d'une paire de gènes ou série de gènes qui occupe une position spécifique sur un chromosome spécifique; forme ou état que peut revêtir un gène dans une plante.	Génotype	Le génotype d'un individu est son patrimoine génétique, qui est déterminé par les allèles présents dans ses chromosomes.
ARN	L'acide ribonucléique est le messager moléculaire transcrit à partir d'un gène et ensuite transformé en protéine.	Hétérozygote	Hétérozygote signifie qu'un organisme possède deux allèles différents sur ses chromosomes homologues.
Autopollinisation	Transfert du pollen des anthères au pistil d'une fleur de la même plante ayant pour résultat l'autofécondation d'une lignée de sélection.	Homozygote	Homozygote signifie qu'un organisme possède deux allèles identiques sur ses deux chromosomes homologues.
Cal	Tissu constitué de cellules proliférantes non différenciées.	Isozyme	Désigne toutes les protéines possédant la même activité enzymatique.
Chloroplastes	Organites cellulaires capables de fixer le dioxyde de carbone en utilisant l'énergie solaire pour la photosynthèse. Ce phénomène fournit aux plantes des supports d'énergie, par exemple les sucres et l'ATP. Les chloroplastes possèdent leur propre ADN, qu'ils héritent principalement de la mère, mais ils continuent de dépendre du matériel génétique du noyau de la cellule.	Marqueur	Fragment d'ADN polymorphe par la taille ou la séquence. Peut être utilisé pour différencier le matériel génétique des variétés et des espèces utilisées dans des croisements.
Chromosomes	Double chaîne continue d'ADN contenant de nombreux gènes. La plupart des organismes pluricellulaires possèdent plusieurs chromosomes dont l'ensemble forme le génome. Les organismes à reproduction sexuée possèdent deux copies de chaque chromosome, chacune d'entre elles provenant d'un des deux parents.	Mitochondrie	Les mitochondries sont des organites présents dans les cellules où une respiration aérobie se déroule. Les mitochondries possèdent leur propre ADN, qu'elles héritent principalement de la mère, mais elles continuent de dépendre du matériel génétique du noyau de la cellule.
Cytoplasme	Fluide intracellulaire qui baigne toutes les organites contenues dans une cellule.	Organites	L'intérieur des cellules végétales comporte plusieurs compartiments ou organites: le noyau, les mitochondries, les chloroplastes, les vacuoles et de nombreuses structures de type vésiculaire.
Électrophorèse gel	L'ADN est fragmenté par des enzymes de restriction (ciseaux moléculaires) puis transféré sur un gel d'agar. Les fragments d'ADN migrent dans le gel sous l'impulsion d'un champ électrique. La longueur des fragments d'ADN détermine leur vitesse de déplacement, et donc leur positionnement en bandes dans le gel. L'échantillon en bandes ainsi obtenu est utilisé pour déterminer quelles bandes correspondent à un caractère recherché d'une plante donnée.	Phénotype	Combinaison des caractéristiques observables d'un organisme. Il reflète en principe le génotype, qui est la composition génétique d'un organisme, mais le phénotype est le résultat de l'interaction entre le génotype et l'environnement.
Effet d'hétérosis	C'est le résultat d'un croisement entre deux plantes différentes et de parenté éloignée de la même espèce. Les descendants sont plus vigoureux et souvent plus résistants aux maladies.	Pollinisation croisée	Transfert du pollen d'une plante aux fleurs d'une autre plante.
Enzymes	Protéines qui stimulent (en agissant comme des catalyseurs) les réactions biochimiques qui se déroulent à l'intérieur de la cellule.	Polyploidie	Constitution chromosomique d'une cellule contenant un multiple du nombre normal de chromosomes.
		Protéine	Produit de la translation d'un gène. On peut se représenter les protéines comme des chaînes d'acides aminés ordonnés d'après la définition du code génétique d'un gène spécifique.
		Protoplaste	Les protoplastes isolés sont des cellules «nues», c.-à-d. des cellules dont la paroi cellulaire a été supprimée au cours d'un processus mécanique ou enzymatique.