

Embryogenèse somatique

L'embryogenèse somatique est une technique couramment utilisée en culture in vitro. Elle permet de générer un embryon à partir d'un cal ou de suspensions cellulaires.

Cette technique fait appel à la notion de totipotence (la capacité d'une cellule à se différencier en n'importe quelle cellule spécialisée et de se structurer en formant un organisme au complet).

On distingue:

- l'embryogenèse somatique *directe*, quand les embryons sont induits directement à partir des cellules somatiques de l'explant,
- de l'embryogenèse somatique *indirecte*, qui passe par l'intermédiaire de cals.

- Génération d'un embryon à partir d'un méristème, d'un cal ou de suspensions
- L'embryogenèse somatique est provoqué à partir de plusieurs tissus végétaux (tissus de racine, de tige, de pétioles, de feuilles,..). Cependant, les tissus provenant d'embryons sont les plus réactifs (Photo) (MARGARA, 1982).



Embryons somatiques cotylédonnaires de mélèze hybride
(Source M.A. Lelu, INRA Orléans)

L'embryogenèse somatique présente plusieurs avantages par rapport à la micropropagation conventionnelle :

- Les taux de multiplication sont généralement importants et chez certaines espèces, les embryons peuvent être encapsulés et traités comme des graines artificielles.

- Des plantes complètes sont obtenues directement suite au processus de germination. Les manipulations sont donc simplifiées par rapport à la micropropagation traditionnelle qui nécessite plusieurs milieux différents pour le développement des tiges et des racines et l'obtention de plantules complètes.

Avec la technique d'embryogenèse somatique, il est possible d'effectuer la multiplication végétative des meilleurs individus issus de croisements dirigés recommandés.

Cette technique de multiplication végétative permet d'obtenir une multitude de plants génétiquement identiques à partir d'une seule semence, sans manipulation génétique.

L'embryogenèse somatique est un processus en plusieurs étapes qui sont dépendantes l'une de l'autre et requiert des conditions de culture particulières et contrôlées.

On compte six principales étapes :

1. l'**induction**, qui consiste à produire du tissu embryogène (structure différenciée constituée d'embryons somatiques) à partir par exemple d'un embryon zygotique extrait de la semence ;
2. la **maintenance** qui permet une multiplication des embryons somatiques. À ce stade, il est possible de congeler à long terme ce tissu dans l'azote liquide (-196°C), un procédé qui est nommé cryoconservation ;
3. la **maturation** vise le développement ultérieur des embryons somatiques à un stade plus avancé similaire à celui retrouvé dans une semence mature ;
4. la **germination** des embryons somatiques en plantules est ensuite réalisée. Cette étape est comparable à la germination de la semence (croissance du système racinaire et caulinaire fonctionnel) ;
5. l'**acclimatation** des plantules obtenues indispensable à leur survie et à leur croissance.
6. le **transfert en sol** est par la suite réalisé pour une croissance des plants en serre

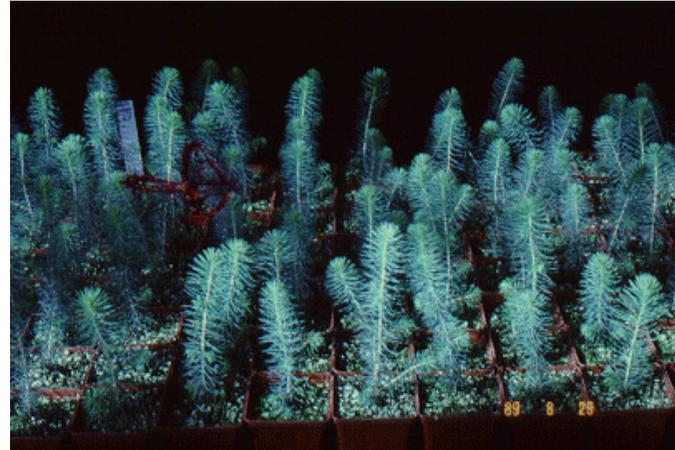
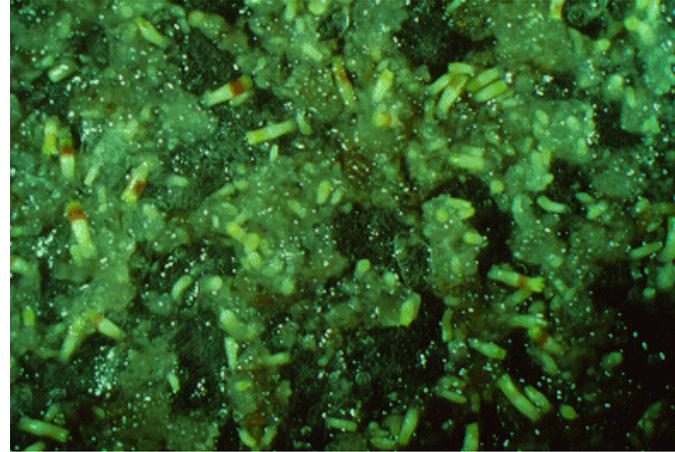
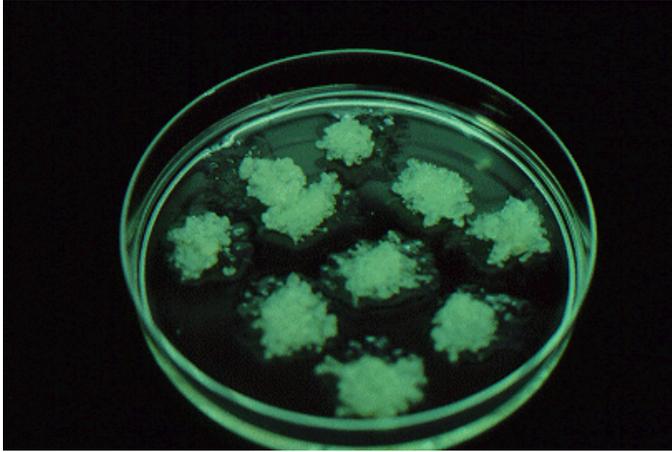
Exemple : la luzerne

Développement des embryons : 5-7 jours



<http://www.plant.uoguelph.ca/research/embryo/synseeds.htm>

Application aux ligneux



<http://www.botanic-garden.ku.dk/eng/forskning/vaev2.htm>

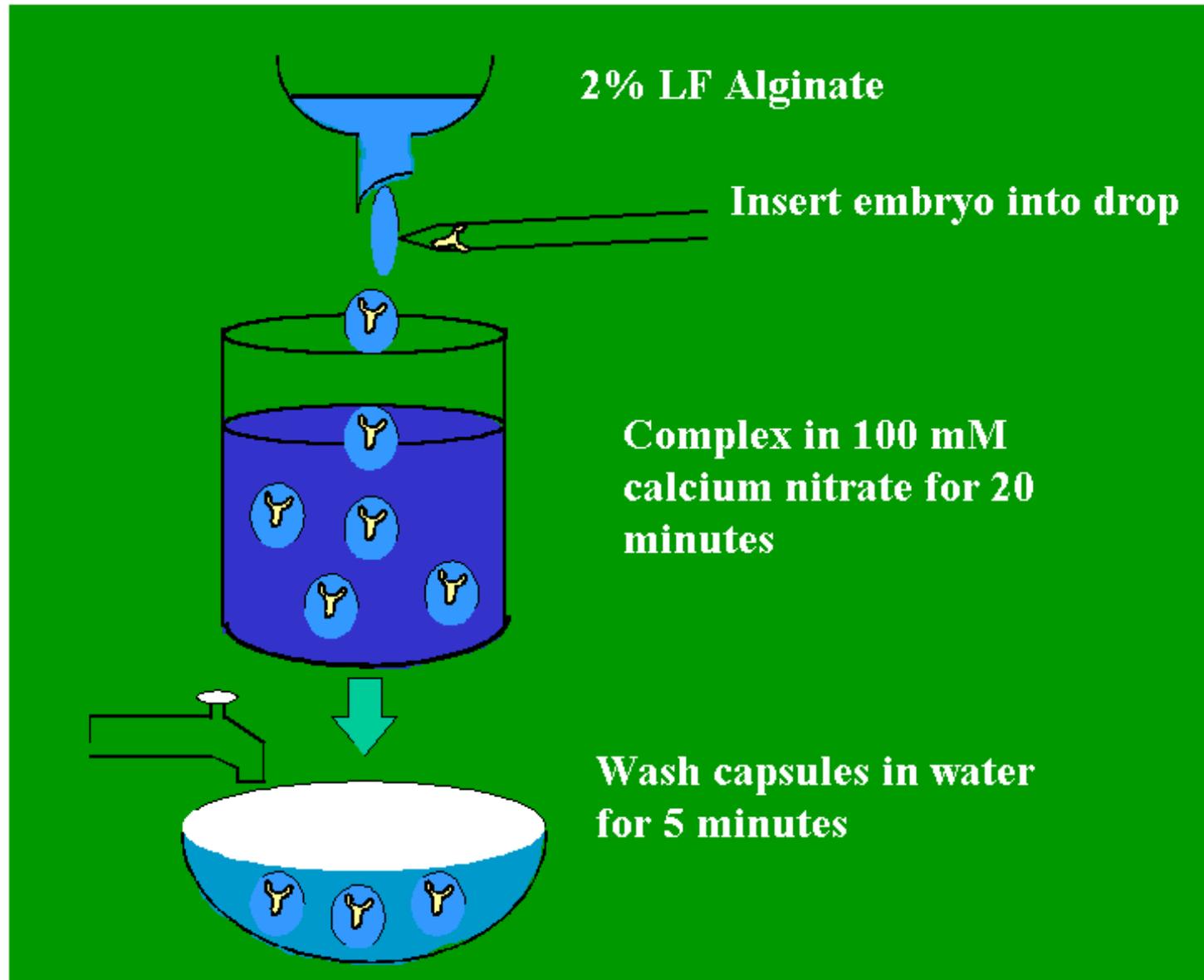


Embryons somatiques
cotylédonaire de mélèze



Plants acclimatés de mélèze hybride
obtenus par embryogenèse somatique

Semences artificielles (synseeds)





Feijoa sellowiana

M. BENMAHIOUL B. Université de Tlemcen

Cryoconservation

Définitions

- Conservation de matériel vivant à très basse température
 - Azote liquide (-196°C)
 - Vapeurs d'azote (-150°C)
- Etat de vie suspendue, réversible

Cultures *in vitro* en conditions de croissance réduite :

Exemple : Conservation de cultures de bananes

Avantage :

faible surface / jardin botanique

Inconvénients :

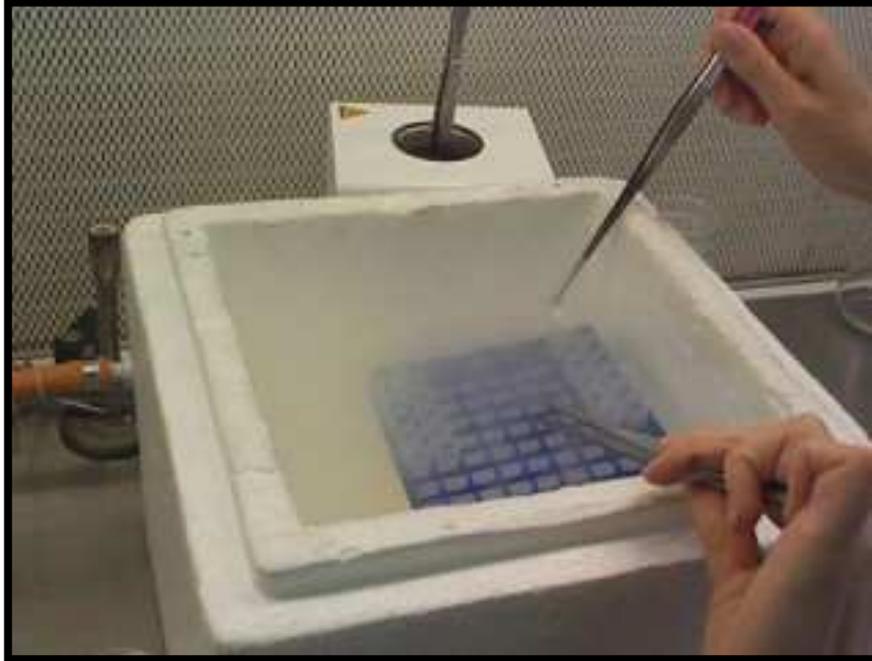
importantes charges de travail

risque de pertes : contaminations, erreur humaine,...



Meilleure solution : la cryopreservation

stockage à -196°C



cryopreservation de cultures de tissus (100 espèces)

cyopreservation de graines récalcitrantes (40 espèces)

conservation de souches de cellules fortement productrices de métabolites secondaires

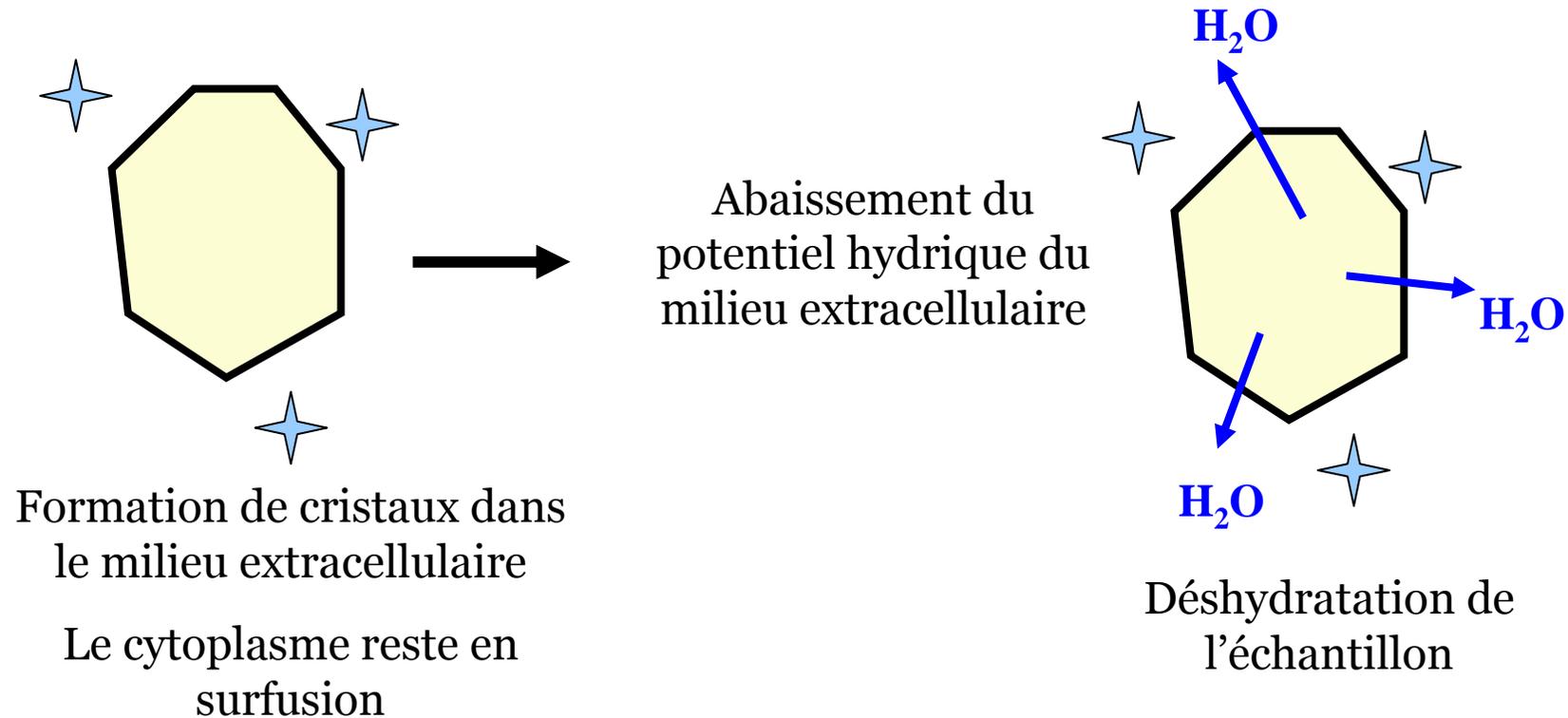
conservation de tissus génétiquement modifiés

Principes

- Éviter la formation de cristaux dans le cytoplasme
 - Congélation rapide
 - Déshydratation des échantillons
 - Séchage à l'air
 - Déshydratation par congélation lente

Déshydratation par congélation

- Prérefroidissement (-40°C)



Substances cryoprotectrices

- DMSO, glycérol, proline
- Adaptation métabolique:

- Froid
- Réduction photopériode
- ABA

[solutés]

Sucres, proline, glycine
bétaine

