

Banques de gènes : leur organisation au niveau national et européen

André CHARRIER *

Résumé : La situation des ressources phylogénétiques d'intérêt agricole en France se caractérise par un grand nombre de collections de taille limitée, spécialisées par groupes d'espèces, détenues par la recherche publique et privée aux fins de sélection. Il n'existe pas de structure nationale chargée des banques de gènes comme aux USA, au Japon, au Canada et dans certains pays européens. Le Bureau des ressources génétiques créé en 1983 sous la tutelle du Ministère de la recherche et de la technologie assure une fonction d'animation et de coordination au plan national et international.

La CEE n'est guère intervenue dans ce domaine, en dehors du soutien des DG VI et XII à des programmes de recherche intégrant des aspects ressources génétiques. Seuls, les réseaux par plante du programme coopératif européen (IBPGR) mis en place au cours des années 80 ont jeté les bases d'une organisation concertée de la conservation.

Au niveau international, quinze années d'intervention de l'IBPGR ont conduit à l'élaboration de stratégies de préservation des ressources génétiques et à la création des grandes banques de gènes, en collaboration avec les centres internationaux de la recherche agronomique et les grands centres nationaux. La participation à cette entreprise d'organismes français, tels le CIRAD et l'ORSTOM n'est pas négligeable.

Mots-clés : ressources génétiques, conservation, France, CEE, IBPGR.

Abstract : In France the state of plant genetic resources of agricultural interest is characterised by a large number of collections of limited size, dedicated to particular species. These are held by public or private research organisations for the purposes of selection. Unlike the USA, Canada, Japan and certain other European countries there does not exist a national structure to manage gene banks. The Office of genetic resources created in 1983 by the Ministry of research and technology provides a coordinating framework on a national and international level. The EEC has provided little support in this area apart from indirectly through its support of DG VI and DG XII which include in some of their research programmes aspects of genetic resources. Only the plant networks of the European cooperative programme (IBPGR) set up during the 1980's have created the basis of an organisation dedicated to conservation.

* ENSAM, Chaire de Phytotechnie et Amélioration des Plantes, Place Viala, BP 5045, 34060 Montpellier cedex 1, France.

At an international level, fifteen years of **IBPGR** initiatives have led to the development of strategies for the conservation of genetic resources and the creation of large gene banks in collaboration with international and national centres of agricultural research. The French contribution to this enterprise, via such organisations as **CIRAD** and **ORSTOM**, is not insignificant.

Key words : genetic resources, conservation, France, EEC, **IBPGR**.

Introduction

L'évolution de l'agriculture a grandement influencé la diversité génétique disponible des principales espèces cultivées. Ainsi, au sortir de la 2^e guerre mondiale, il existait encore en France de nombreux cultivars locaux entretenus par une agriculture paysanne très morcelée et très diversifiée. A la même époque, dans les pays anglo-saxons (USA, Angleterre) qui pratiquaient déjà une agriculture industrielle depuis la fin du **XIX^e**, la disparition des cultivars anciens était largement amorcée. Selon L. Busch, cette différence expliquerait le rôle précurseur international joué par les pays anglo-saxons en faveur des ressources **phytogénétiques** dans les années 60-70 grâce aux centres internationaux de la recherche agronomique nouvellement créés.

On observe depuis 1945 dans l'approche française de l'amélioration des plantes par l'**INRA** et les entreprises privées une accumulation importante et diversifiée de matériel végétal. Elle est due à l'activité de sélectionneurs passionnés par leurs collections de travail ; elles ont assuré le progrès génétique constant des 40 dernières années. Aujourd'hui, de telles collections apparaissent obsolètes et déficientes à bien des égards :

- manque de diversité,
- information inexploitable et échanges limités,
- absence d'infrastructures de conservation à long terme,
- pérennisation non assurée (départs et mutations des chercheurs).

Le rôle joué par ces chercheurs n'a pas toujours été compris ; l'intérêt porté aux ressources génétiques en tant que telles est très récent en France. Ce sont d'abord les chercheurs du **CIRAD** et de l'**ORSTOM** travaillant dans les pays tropicaux qui ont pris en compte cette approche à partir des années 70, du fait de leurs contacts avec les agricultures paysannes des zones de diversification des plantes cultivées et avec les centres internationaux de la recherche agronomique. Ce mouvement s'est concrétisé en France par la création du Bureau des ressources génétiques en 1983 suite au rapport **Vissac** et **Cassini** (1980) et aux démarches de **A. Cauderon** (1983).

Aujourd'hui dans les pays industrialisés, les agriculteurs ne sont plus très motivés pour entretenir leurs propres variétés ; ils suivent le progrès génétique et le renouvellement rapide des semences sélectionnées qui induisent directement la réduction de la diversité génétique. La nécessaire conservation des ressources génétiques est une des conséquences du succès de l'amélioration **variétale**. Un pays comme la France, 1^{er} **semencier** au niveau européen et 2^e **semencier** au niveau mondial, se doit de conduire une politique ambitieuse et originale sur ce thème pour assurer son avenir.



D'une façon plus générale, la conservation des ressources **phytogénétiques** est indissociable de la pression croissante des activités humaines sur la biosphère et de l'évolution technique en agriculture. La prise de conscience récente de la gravité de la situation existant dans les pays d'Europe de l'Est, dans les pays tropicaux et de façon générale dans les PVD, favorise l'émergence du mouvement actuel en faveur de la **biodiversité** et des ressources génétiques.

Les ressources **phytogénétiques** conservées en France

Les activités ressources génétiques en zone européenne

La situation des ressources génétiques végétales en France frappe par la diversité des institutions, des organisations et du matériel végétal conservé.

L'INRA s'intéresse surtout aux plantes cultivées en région tempérée et méditerranéenne ayant un rapport avec l'agriculture, l'horticulture, l'élevage, les forêts et l'industrie. Les ressources **phytogénétiques** sont étudiées et conservées par les départements « Amélioration des plantes » et « Forêts ». A titre indicatif de l'effort consenti, le 1er nommé y consacre 26 % de son budget. Une vingtaine de stations INRA spécialisées par groupes d'espèces détiennent chacune des collections de plusieurs milliers de souches (Tableau 1). La nature et l'origine des collections INRA sont les populations de pays, les variétés anciennes et les espèces proches parentes des espèces cultivées. Ce matériel végétal a été étudié et croisé ; des lignées sélectionnées ont été tirées de ces témoins qui ont été la source des progrès réalisés en sélection depuis les années 50. L'exemple des lignées de maïs F2 et F7 utilisées dans la création des premiers hybrides précoces est bien connu. De même les croisements **interspécifiques** avec des espèces sauvages ont permis d'introduire la résistance au piétin chez le blé *cv. Roazon* ou aux virus de la tomate...

Nombre d'organismes, d'entreprises et de groupements du secteur privé s'intéressent aux mêmes ressources **phytogénétiques** que l'INRA. Ils sont souvent associés à la recherche publique dans le cadre de GIE ou GIS permettant de réaliser des programmes coopératifs rassemblant privé et public (GIE **Cartissol** pour le tournesol ; GIE **Clause Limagrain** pour la tomate ; **Promais** pour le maïs, etc). Ces différents programmes ont été conçus pour développer l'approche moléculaire du génome, évaluer les ressources génétiques mises en commun, étudier des stratégies de conservation dynamique, créer des populations-sources pour les sélectionneurs associés. Dans le cas de **Promais**, 6 stations d'amélioration des plantes de l'INRA et 14 établissements français ont évalué 1200 populations de maïs des zones tempérées et 200 introductions exotiques.

Le Groupement d'Etude des Variétés et Semences (**GIP-GEVES**) qui associe le **MAF**, l'INRA et les sélectionneurs privés (**GNIS**) détient et gère les collections de semences de variétés anciennes et modernes des espèces cultivées inscrites au catalogue national des variétés (plus de 80 espèces représentées par 10 000 variétés).

Tableau 1 : Ressources phylogénétiques INRA en France (quelques exemples)

Espèces forestières	Conifères Feuillus	Nancy, Avignon Orléans, Bordeaux	18 000 6 000
Arbres fruitiers	<i>Pyrus</i> , <i>Malus</i> <i>Prunus</i> , Cerisier, Pêcher... Abricotier, Amandier <i>Citrus</i>	Angers Bordeaux Mandel Corse	3 200 1 400 1 000 1 000
Vigne		Montpellier, Bordeaux, Colmar	6 000
Arbustes ornementaux	(10 genres)	Angers	400
Céréales	Blés et orges Maïs	Clermont-Ferrand, Dijon, Montpellier, Rennes, Versailles Mons, Moulon, Clermont-Fer- rand, Montpellier, Toulouse	10 000 1 500 40 pools
Oléagineuses	Soja Tournesol Colza	Montpellier Montpellier Rennes	2 000 2 000 100
Protéagineuses	Pois	Versailles	1 000
Tubercules	Pomme de terre Igname	Ploudaniel Antilles	500
Plantes maraîchères	Oignon Fraisier, melon Tomate Capsicum Crucifères Haricot	Versailles Montfavet Montfavet Montfavet Rennes Versailles	150 - 1 800 - 600 -
Plantes fourragères	Graminées (20 sp.) Légumineuses (12 sp.) Crucifères	Clermont-Ferrand, Le Pin. Versailles, Lusignan Montpellier, GEVES (Minière, Magneraud) Rennes	1 000 500
Plantes ornementales	Bulbes	Ploudaniel, Fréjus	1 600
Plantes aromatiques	Menthe	Antibes	200
Houblon		Alsace	

Il faut mentionner d'autres organisations très impliquées dans des domaines spécifiques comme :

— les cultivars anciens d'espèces fruitières et maraîchères pris en charge par les Conservatoires et diverses associations à l'échelon national (AFCEV) ou régional (GRP Aquitaine ; CPBR Midi Pyrénées ; ENR Nord-Pas de Calais ; AICPC Pays de Loire ; PAGE PACA...)

— les plantes spontanées mises en réserve par les parcs nationaux et régionaux, ou pour les espèces forestières, la conservation *in situ* en forêt soumise par l'ONF.

Les forestiers ont proposé une stratégie de conservation *in situ* des principales espèces forestières autochtones et naturalisées. La Direction de l'espace rural et de la forêt (MAF) a défini une politique nationale des ressources génétiques forestières en 1991 fondée sur les initiatives du CEMAGREF, de l'INRA et de l'ONF. Lors de la conférence européenne de Strasbourg (1991) des réseaux de conservation *in situ* ont été décidés pour une dizaine d'espèces de feuillus (hêtre) et de résineux (sapin pectiné). En France, la coordination est assurée par le CEMAGREF et la gestion des unités de conservation dans les forêts soumises par l'ONF.

Les activités ressources génétiques dans le domaine tropical

Depuis 1960, des prospections des cultivars locaux des plantes cultivées et de leurs apparentés sauvages ont été réalisées principalement en Afrique. Nous devons cette orientation à quelques responsables clairvoyants et à un chercheur en particulier, J. Pernès, qui s'était forgé une vision originale de l'amélioration des plantes en milieu tropical. Les Instituts français se sont intéressés aux principales plantes alimentaires (céréales, plantes potagères et fruitières, plantes à racines et tubercules), comme les CIRA. Ils ont aussi reçu le soutien international de l'IBPGR et déposé le matériel végétal récolté pour conservation dans les collections de base désignées au niveau international. La duplication de ces collections de plantes vivrières en France assure une conservation *ex situ* en chambre froide (riz, maïs, sorgho, mil, Panicum, gombo) et *in vitro* (ananas, bananier, igname, manioc). Les banques de gènes du CIRAD et de l'ORSTOM en France (Montpellier, Nogent) contiennent de l'ordre de 15 000 échantillons chacune (Tableau 2).

Tableau 2 : Banques de gènes du domaine tropical

Banques de gènes ORSTOM en France (Montpellier)

Nature	Espèces	Matériel végétal
Chambre froide*	Riz Mil Sorgho Panicum Gombo	4 000 cvs + spp 3 500 cvs 3 500 cvs 2 500 souches 2 500 cvs
Culture <i>in vitro</i>	Manioc Igne Palmiers Caféiers	70 cultivars 200 cultivars 20 souches 15 espèces

* En cours de transfert de Bondy.

Banques de gènes **CIRAD** en France (Montpellier, Nogent, San Juliano)

Département	Nature	Espèces	Matériel Végétal
IRAT	Chambre froide	Riz Maïs Sorgho Soja Tomate Haricot	6 500 lignées 900 lignées 1 500 lignées 43 lignées 54 lignées 125 lignées
IRCC	Serre	Caféier Cacaoyer	quarantaine
IRCT	Chambre froide	Cotonnier	1 500 lignées + espèces
IRFA	Culture <i>in vitro</i>	Ananas Banancier	120 cultivars 260 cultivars
IRFA/INRA	Champ	Agrumes	1 000 souches
CTFT	Chambre froide	Arbres forestiers	8 500 lots
IRAT	Culture <i>in vitro</i>	Canne à sucre	550 souches

La position originale des Instituts français est surtout associée à leur implication dans les cultures industrielles dites « de rente », non prises en compte par les CIRA. En dehors du cotonnier, il s'agit essentiellement de plantes arbustives pérennes comme le palmier à huile et le cocotier, les caféiers et le cacaoyer, l'hévéa, les espèces forestières... Des prospections ont été organisées en partenariat pour l'hévéa, les palmiers et le cacaoyer en Amérique du Sud, pour les caféiers, et le palmier à huile en Afrique ; le cocotier en Asie.

La conservation de ces différentes espèces est réalisée dans des collections en champ de plusieurs milliers d'arbres, accueillies par les stations agronomiques des pays partenaires d'Afrique (Côte d'Ivoire, Cameroun, Bénin, Gabon, Congo, Madagascar), et du Brésil... En dehors des quelques espèces forestières dont les graines sont stockées par le CTFT (Nogent sur Marne) et des espèces annuelles vues précédemment, la duplication de ces collections d'importance mondiale et parfois uniques n'est pas possible en France, car elles produisent des graines récalcitrantes à la dessiccation préalable au stockage en chambre froide. Des recherches conduites au CNRS et à l'ORSTOM ont permis de développer des technologies de conservation adaptées : culture *in vitro* ; cryoconservation... Des duplicata réduits de quelques dizaines de souches voire quelques centaines sont ainsi conservés en France à titre expérimental.

Il faut enfin souligner le rôle particulier joué par les départements et territoires français en régions tropicales, car ils permettent le maintien des collections en champ dans de bonnes conditions comme :

- les bananiers, la canne à sucre, le caféier arabica en Guadeloupe,
- les ananas en Martinique,
- l'hévéa, le cacaoyer en Guyane.

Conclusion

On a tendance à sous-estimer l'effort de conservation des ressources **phytogénétiques** réalisé en France : la quantité d'échantillons stockés *ex situ* pour leur intérêt agricole est de l'ordre de 60 000 pour les espèces cultivées sur le territoire et de 30 000 pour les espèces cultivées dans les pays tropicaux. Par rapport aux banques de gènes centrales des autres pays d'Europe (Allemagne, Hollande, Espagne, Pays nordiques, Europe de l'Est), les USA et le Japon, le patrimoine est très dispersé en France dans des instituts variés n'en assurant pas toujours la conservation. La position française n'est pas négligeable, mais le manque d'organisation au niveau national ne favorise pas l'**affichage** de son action. Ainsi, le statut de collection de base n'a été accordé qu'aux banques de gènes Agrumes (**CIRAD-INRA** Corse), cotonnier (**CIRAD**, Montpellier) et Vigne (**INRA-ENSAM** Montpellier).

Organisation au niveau national Le Bureau des Ressources Génétiques (BRG)

Le BRG a été créé en 1983 par le Ministre de la Recherche sur proposition de M. André **Cauderon** qui en a été le premier Directeur.

Par arrêté ministériel du 7 avril 1988, publié au J.O. du 8 mai 1988, le BRG a été confirmé dans ses fonctions et rattaché à la Direction Générale de la Recherche et de la Technologie. Ce bureau est placé sous la tutelle du Département « Production Animale et Végétale, Alimentation » (M. **Demarne**) et sa gestion est temporairement assurée par les services centraux de l'**INRA**.

Le BRG a pour mission :

- a) d'animer et de coordonner au plan scientifique les actions menées en France dans le domaine des ressources génétiques, en prenant particulièrement en compte les perspectives de leur mise en oeuvre ;
- b) de mettre en place un système d'information réunissant, à partir de l'ensemble des actions menées en France dans ce domaine, toutes données se rapportant directement ou indirectement au matériel génétique ;
- c) de conseiller les pouvoirs publics et d'en assurer la représentation au niveau international dans les domaines de sa compétence.

Les domaines d'intervention du BRG portent aussi bien sur les plantes d'intérêt agricole et les animaux domestiques que sur la flore et la faune sauvages et les micro-organismes.

Le BRG est assisté d'un Conseil d'Orientation (représentants des Ministères et des Instituts de recherche) et d'un Comité Scientifique (chercheurs des différents secteurs).

Le BRG participe à l'organisation de colloques nationaux sur des thèmes sensibles comme : les variétés locales d'espèces fruitières (1984), les plantes légumières (1985), les plantes sauvages menacées (1987), les jardins botaniques et arboretums (1988), les animaux domestiques (1989), les plantes

industrielles, médicinales et aromatiques (1990), le présent colloque en hommage à Jean **Pernès**. La confrontation des points de vue permet d'élaborer des propositions réalistes pour gérer la diversité.

Les actions d'étude et de conservation des ressources génétiques sont souvent très dispersées et mal connues. La publication de bons inventaires permet de mieux valoriser ce qui est fait en France, et de faciliter l'élaboration d'une politique nationale. Les premiers ouvrages parus concernent les arbres forestiers, les moutons et les chèvres, les collections de jardins botaniques et d'arboretums, et les variétés anciennes de pruniers.

Les activités de prospection, d'étude et de conservation des ressources **phytogénétiques** sont confiées aux équipes et groupes qui présentent des projets choisis après évaluation d'un comité scientifique et soutenus financièrement (FRT et BRG). Les thèmes retenus vont de l'étude de la diversité génétique grâce aux marqueurs moléculaires, à la réalisation d'inventaires et l'aide à la création de réseaux, en passant par des recherches méthodologiques sur la conservation et l'utilisation des ressources génétiques.

La gestion et l'utilisation des informations sur les collections ont rapidement évolué avec les équipements informatiques et les logiciels disponibles. Une enquête réalisée en 1990 par E. Nguyen Van (BRG) auprès des organismes publics de recherche (**CIRAD**, **INRA**, **ORSTOM**) permet d'établir une typologie des bases de données sur les ressources **phytogénétiques** en France :

- les bases de données relationnelles,
- les développements internes répondant aux besoins d'un laboratoire ou d'une station,
- les systèmes en cours d'étude,
- aucune informatisation.

L'informatisation des données des banques de gènes en France manque donc d'homogénéité, avec une multiplicité des modèles et des développements internes. Il est nécessaire d'en faire une priorité permanente pour l'administrateur de la banque de gènes.

Au niveau des relations internationales, le BRG assure directement ou par l'intermédiaire d'experts, la représentation française auprès de la CEE (DG VI et XII), du Conseil de l'Europe (Division Environnement), de l'**IBPGR** (réseaux européens, recherche) et de la FAO (Commission des ressources **phytogénétiques**).

Activités au niveau européen

Le Programme Coopératif Européen pour la Conservation et l'**Echange** des Ressources Génétiques (**PCE/RG**) a débuté en 1980 à l'initiative du **PNUD** et sa gestion a été confiée à l'**IBPGR**. Tous les pays d'Europe de l'Ouest et de l'Est participent au programme, à quelques exceptions près.

Le programme s'articule autour de groupes de travail spécialisés par plante : **Allium**, Avoine, Orge, graminées et légumineuses fourragères, Pruniers, Tournesol, **Brassica**, Pois, Vigne. Ces groupes se composent d'un

spécialiste par pays, nommé par les coordinateurs nationaux. Ils se réunissent au moins une fois tous les trois ans, et établissent des priorités d'actions, qui portent entre autres sur la constitution de bases de données européennes sur les collections, la réalisation de missions de prospection, la diffusion de synthèses taxinomiques, bibliographiques ou cartographiques, la rationalisation des réseaux de collections et la constitution d'un échantillon représentatif (core collection) de taille raisonnable, susceptible de faire l'objet de programmes concertés de description et d'évaluation en relation avec l'utilisation de ces ressources par les sélectionneurs.

L'objectif global est de rationaliser le réseau des collections européennes et d'arriver à l'autonomie financière et fonctionnelle des groupes de travail dans le cadre de la Grande Europe à compter de 1993.

Depuis la conférence de Dublin en 1987, la Commission des Communautés Européennes (CCE) a été sollicitée pour développer une politique des ressources génétiques. Des programmes européens ont été mis en place concernant les micro-organismes (MINE : Microbial Information Network in Europe), les espèces végétales (CORINE : Information System on natural habitat and plant resources in Europe) et les biotechnologies (BRIDGE). Le nouveau programme biotechnologies (DG XII) prévoit une ligne Ressources génétiques centrée sur l'évaluation de la diversité génétique et les méthodologies de conservation des ressources génétiques animales par les technologies récentes. Le programme spécifique Agriculture et Agro-industrie AIR (DG VI) prend aussi en compte l'évaluation, la conservation et l'exploitation des ressources génétiques végétales. Ces différents soutiens sont limités à la recherche et ne concernent pas la conservation proprement dite en banques de gènes.

Fin 1991, le parlement européen, sur l'instigation de son comité Agriculture, a proposé le lancement d'un programme européen de conservation des ressources phytogénétiques pour 4 années, démarrant en 1992 avec un financement de 2 millions d'Ecus. L'intérêt de la commission Environnement du Parlement pour la flore sauvage l'a amenée à se préoccuper aussi des espèces sauvages apparentées aux plantes cultivées.

Conclusion

Il y a une approche originale des ressources phytogénétiques en France fondée sur :

- la décentralisation des banques de gènes auprès des utilisateurs ;
- l'implication de l'ensemble des acteurs relevant des secteurs privé, public et associatif ;
- une problématique globale de la biodiversité prenant en compte sa dimension économique et sociale ;
- une coordination des actions menées aux niveaux européen et international.

La politique générale en matière de ressources génétiques comporte trois volets : le développement des recherches, l'organisation de la conservation et la formation.

Le premier point est largement réalisé par les organismes de recherche sur les thèmes de la biologie et de l'écologie des populations, l'analyse de la diversité génétique, les méthodologies de conservation et de gestion des collections... Ils bénéficient de financements incitatifs au niveau national (FRT, Prodigé) et européen (programmes Biotechnologie et AIR).

De réelles capacités de formation supérieure en rapport avec ces thèmes existent dans les Universités et les écoles agronomiques. On doit surtout à J. Pernès d'avoir développé une approche nouvelle des ressources génétiques et une école de pensée francophone originale dans le cadre de l'enseignement du DEA qu'il a dispensé à l'Université de Paris XI-Orsay.

La conservation des ressources **phytogénétiques** est décentralisée auprès des utilisateurs et organisée en réseaux par groupes d'espèces végétales. Après un inventaire des acteurs des différents secteurs, de leurs activités et de leurs collections, une action coopérative peut être organisée si les partenaires acceptent de mettre en commun des ressources génétiques et de participer à l'entretien, la conservation et l'évaluation de ces ressources à frais partagés. En retour, ils bénéficient d'un accès rapide aux échantillons et d'une banque d'informations utiles à leurs propres programmes de création **variétale** et de recherche. Pour être fonctionnels, ces réseaux doivent être gérés et animés de façon pérenne par le responsable de la coordination. De tels réseaux ont été mis en place ces dernières années (plantes forestières, céréales à paille, tomate) ou sont en cours d'organisation (plantes fourragères, arbres fruitiers, maïs, tournesol, conifères...).

La conservation des ressources génétiques des plantes cultivées est aussi organisée en réseaux, au niveau européen (**PCE/RG**) et mondial (**IBPGR**). La France participe au programme coopératif européen avec la responsabilité des bases de données *Medicago* (**GEVES**), *Prunus* (INRA), *Lathyrus* (Université de Pau). Le **CIRAD** (Montpellier) accueille aussi le centre de transfert de bananiers indexés pour le réseau mondial **INIBAP** et récemment la base de données sur les collections mondiales du cocotier. La France doit s'engager plus avant sur d'autres espèces cultivées jugées importantes pour notre économie et nos relations internationales.

Document à consulter

MARROU J. et CHARRIER A. 1992 — Conservation et gestion des ressources génétiques végétales en France. Edité par **BRG/MRT** et **CTPS (MAF)**, Paris, 243 p.

Les nouvelles méthodes de conservation *ex situ*

Florent ENGELMANN *

Résumé: La culture *in vitro* est largement utilisée pour la conservation *ex situ* des espèces végétales. Pour la conservation à moyen terme, une réduction de la température de culture est employée en routine. De nouvelles techniques (atmosphères contrôlées, encapsulation, dessiccation) sont expérimentées. La conservation à long terme est assurée par la cryoconservation (azote liquide, -196 °C). Si elle a été expérimentée sur plus de 70 espèces végétales, son application est encore exceptionnelle. De nouvelles méthodes (encapsulation/déshydratation, vitrification, dessiccation, emploi d'un congélateur programmable) devraient permettre de faciliter son développement futur.

Mots-clés: conservation, culture *in vitro*, atmosphères contrôlées, encapsulation, dessiccation, vitrification, congélateur ménager.

Abstract: *In vitro* culture is largely employed for *ex situ* conservation of plant species. For medium-term preservation, temperature reduction is routinely used. New techniques (controlled atmospheres, encapsulation, desiccation) are experimented. Long-term conservation is ensured by cryopreservation (liquid nitrogen, -196 °C). Cryopreservation has been experimented with more than 70 plant species. However, its application still remains exceptional. New methods (encapsulation/dehydration, vitrification, desiccation, use of domestic freezer) should facilitate its future development.

Key words: conservation, *in vitro* culture, controlled atmospheres, encapsulation, desiccation, vitrification, domestic freezer.

Introduction

Les espèces végétales ont été divisées en deux catégories, en relation avec les possibilités de leur conservation (Roberts, 1973) :

— les espèces à graines orthodoxes, qui peuvent supporter une déshydratation jusqu'à 5 % ou moins par rapport à leur poids sec. Leur viabilité

* ORSTOM, Laboratoire de Ressources Génétiques et Amélioration des Plantes Tropicales, 911 av. Agropolis, 34032 Montpellier cedex 01, France.

est importante et peut être prolongée en les conservant à basse température (-18°C).

— les espèces à graines récalcitrantes qui sont généralement très riches en eau et ne supportent pas la dessiccation. Ce sont principalement des espèces d'origine tropicale ou sub-tropicale. Elles ne peuvent être conservées qu'à une humidité et une température élevées, car elles sont généralement sensibles au froid. Leur viabilité est réduite (quelques semaines à quelques mois), même dans les conditions optimales de conservation. Ce groupe de plantes comprend de nombreuses espèces d'importance économique, comme le palmier à huile, le cocotier, le caféier, ainsi que de nombreuses espèces ligneuses.

De plus, la conservation des espèces à multiplication végétative, telles que le manioc, la pomme de terre ou l'igname pose également des problèmes importants.

La conservation *in situ* est devenue pratiquement impossible, du fait de la disparition des étendues non exploitées. La conservation *ex situ* est difficile à réaliser, à cause de la taille des échantillons à conserver, pour avoir une bonne représentation de la diversité génétique des espèces. De plus, les coûts d'entretien de telles collections sont élevés. Enfin, le matériel végétal reste exposé aux pathogènes et aux accidents climatiques.

Au cours des dernières années, les techniques de culture *in vitro* ont été considérablement développées, puisqu'elles ont été appliquées à plus de 1 000 espèces végétales différentes. Elles sont d'un grand intérêt pour la conservation du matériel génétique, grâce aux avantages qu'elles présentent : les taux de multiplication sont élevés, les plantes sont maintenues dans un système aseptique exempt de bactéries, champignons ou virus, dans un espace de stockage réduit. L'érosion génétique est donc théoriquement réduite à zéro. Enfin, les coûts d'entretien des collections *in vitro* sont considérablement diminués.

Les méthodes utilisées diffèrent selon la durée de stockage recherchée. Pour une conservation à moyen terme (quelques mois à 1-2 ans), l'objectif est de ralentir la croissance en modifiant les conditions de culture, principalement la température. Pour une conservation à long terme (plusieurs dizaines d'années), la cryoconservation (azote liquide, -196°C) est aujourd'hui la seule méthode utilisable. A cette température, toutes les divisions cellulaires sont arrêtées et les événements métaboliques bloqués. Les cultures peuvent donc être conservées sans modification ni altération pendant une durée théoriquement illimitée. Sur un plan pratique, le matériel est conservé dans un faible volume, à l'abri des contaminations et avec un entretien réduit.

De nombreuses synthèses ont été publiées sur les techniques classiques de conservation utilisant la culture *in vitro* (Kantha, 1985 ; Withers, 1985a ; Aitken-Christie et Singh, 1987 ; Wilkins *et al.*, 1989 ; Engelmann, 1991a, 1992a). Dans cet article, nous présenterons rapidement ces techniques ainsi que leur développement actuel. Nous insisterons sur les nouvelles méthodes expérimentées pour la conservation à moyen et à long terme des ressources génétiques végétales.

Conservation à moyen terme

Les méthodes de conservation à moyen terme s'appliquent principalement à des **microboutures** qui représentent le type d'expiants généralement employé pour la multiplication à grande échelle. Nous présenterons d'abord les techniques mises au point pour ce type de matériel, puis les nouvelles méthodes expérimentées non seulement avec des **microboutures** mais également avec des embryons somatiques.

Techniques classiques de conservation *in vitro*

La réduction de la croissance est généralement obtenue en diminuant la température de culture. Elle est abaissée jusqu'à 0-4 °C pour de nombreuses espèces tempérées. Cependant, dans le cas des espèces tropicales qui sont sensibles au froid, des températures de l'ordre de 18 à 22 °C sont utilisées. Une diminution ou une suppression de l'éclairement peuvent être réalisées conjointement, selon les espèces.

Le milieu de culture peut être modifié de plusieurs manières. La concentration en éléments minéraux **et/ou** en sucre peut être diminuée. La croissance peut être ralentie en additionnant au milieu des substances ayant des propriétés osmotiques telles que le mannitol ou le saccharose. Des agents retardateurs de la croissance comme l'acide **abscissique** sont également employés. Enfin, d'autres substances comme le charbon actif ont parfois des effets positifs sur le ralentissement de la croissance.

L'état physiologique des expiants a des conséquences importantes sur les possibilités de conservation du matériel. Ainsi, la présence d'un système **racinaire** améliore généralement les résultats. Suivant les espèces, les plantes doivent être placées en conservation immédiatement après le dernier repiquage, ou seulement après un certain délai.

Nouvelles techniques de conservation à moyen terme

Trois nouvelles techniques sont principalement utilisées pour la conservation à moyen terme : les modifications de l'environnement gazeux, l'encapsulation, la dessiccation.

Modifications de l'environnement gazeux

Le ralentissement de la croissance peut être atteint en modifiant la quantité d'oxygène disponible pour les cultures. Plusieurs méthodes ont été mises au point dans cet objectif. La plus simple consiste à recouvrir les tissus sous une couche d'huile minérale. Cette technique a été employée pour la première fois par **Caplin** (1959) avec des cals de carotte, puis réutilisée récemment par **Augereau et al.** (1986) avec des cals de **Catharanthus** et par **Moriguchi et al.** (1988) avec des cals de vigne. Quelques essais ont également été réalisés avec des structures organisées comme des **microboutures** (**Chattidridi**, 1988 ; **Jouve et al.**, 1991). Cependant, si la réduction de croissance

est effective, des problèmes de vitrification des explants pendant la conservation ont été notés. De plus, lors du retour aux conditions standard de culture, la reprise de croissance est souvent très lente et des nécroses partielles ou totales des explants sont observées. Cette technique semble donc convenir uniquement pour la conservation de structures indifférenciées.

Une autre solution consiste à stocker les explants dans des atmosphères dont la teneur en oxygène est précisément déterminée, en utilisant des atmosphères contrôlées. Les premiers essais ont été réalisés par Bridgen et Staby (1981) sur des plantules de tabac et de chrysanthème. Elles ont pu être conservées pendant 6 semaines dans une atmosphère contenant 1,3 % d'oxygène, sans que l'on observe de modifications de leur croissance ultérieure. Cette technique a été réemployée récemment par Engelmann (1990) dans le cas d'embryons somatiques de palmier à huile. Après 4 mois de conservation sous 1 % d'oxygène, une reprise rapide des cultures ainsi conservées a été obtenue, alors que les témoins stockés dans les conditions standard avaient subi des nécroses très importantes. Cette méthode semble particulièrement intéressante dans le cas des espèces tropicales qui sont très sensibles au froid. En effet, le ralentissement de la croissance est obtenu sans avoir à diminuer la température de culture.

Encapsulation

Cette technique est employée aujourd'hui pour la production des « semences artificielles », en enrobant des embryons somatiques dans des billes d'alginate. Quelques essais préliminaires ont été réalisés récemment en utilisant cette technologie pour la conservation à moyen terme. Ainsi, des apex de mûrier et des embryons somatiques de santalier encapsulés ont pu être stockés pendant 45 jours et reprendre une croissance normale (Bapat *et al.*, 1987 ; Bapat et Rao, 1988). La durée de conservation a été étendue à 4 mois avec des embryons somatiques de *Podophyllum hexandrum* (Arumugam et Bhojwani, 1990). Cette technique pourrait être intéressante dans une optique de conservation à moyen terme. En effet, la protection conférée aux explants par l'encapsulation devrait permettre d'augmenter leur résistance à la déshydratation et aux basses températures et d'accroître ainsi leurs potentialités de conservation. De plus, sur un plan pratique, des embryons ou des apex encapsulés devraient être des structures faciles à stocker.

Dessiccation

Un nombre limité d'essais a été effectué en stockant du matériel végétal partiellement déshydraté. Nitzsche (1980) a pu conserver pendant un an des cals de carotte et obtenir leur reprise de croissance. Plus récemment, McKersie *et al.* (1990) ont déshydraté des embryons somatiques de *Medicago sativa* jusqu'à 15 % de teneur en eau et les ont conservés pendant 8 mois à température ambiante. Ces auteurs indiquent qu'un prétraitement à l'acide abscissique semblait améliorer la tolérance à la dessiccation des embryons, ce qui pourrait permettre d'augmenter la durée de leur conservation.

Utilisation des techniques de conservation à moyen terme

Les nouvelles techniques décrites précédemment n'en sont encore qu'au stade de l'expérimentation. Par contre, les méthodes traditionnelles de conservation à moyen terme sont aujourd'hui employées en routine dans de

nombreux laboratoires industriels et dans des centres régionaux ou internationaux de conservation des ressources génétiques. Cependant, l'entretien de collections de taille importante, même si les intervalles entre les repiquages peuvent être considérablement augmentés, pose des problèmes considérables. Il est donc nécessaire de développer des méthodes qui réduisent au minimum l'entretien du matériel conservé. La cryoconservation est une solution de choix.

La cryoconservation

Protocole classique de cryoconservation

Un protocole classique de cryoconservation comprend une série d'étapes successives qui doivent être définies pour chaque espèce : choix du matériel de départ, **prétraitement**, congélation, conservation, réchauffement, post-traitement. Ces différentes étapes sont analysées en détail dans plusieurs articles de synthèse (Kartha, 1985 ; Dereuddre et Engelmann, 1987). Nous les présenterons rapidement et insisterons sur les nouvelles méthodes expérimentées.

Choix du matériel de départ

En règle générale, le matériel doit être le plus jeune et le plus **méristématique** possible. En effet, les cellules sont alors les plus aptes à résister à la congélation. Elles sont de petite taille, peu différenciées, ne contiennent que peu de vacuoles, donc une faible quantité d'eau, leur cytoplasme est dense et leur rapport **nucléo-cytoplasmique** élevé.

L'état physiologique du matériel est très important. Dans le cas de suspensions cellulaires, le matériel en phase exponentielle de croissance est plus susceptible de résister à la congélation (Withers, 1985b). Harding *et al.* (1991) indiquent qu'une durée de culture prolongée en conditions *in vitro* peut réduire la résistance des **explants** à la congélation dans l'azote liquide.

Prétraitement

Le **prétraitement** correspond à une culture dans des conditions qui préparent le matériel végétal à la congélation. Il est effectué en présence de substances **cryoprotectrices** telles que le saccharose, le sorbitol, le mannitol, le **diméthylsulfoxyde** ou le **polyéthylène glycol**, qui diffèrent entre elles par leur structure et leur poids moléculaire. Leur mode d'action est encore mal connu : elles ont un effet osmotique et déshydratent les cellules, mais agissent également en protégeant la structure des membranes et certains sites enzymatiques. Pour chaque espèce, il faut déterminer la nature des **cryoprotecteurs**, leur concentration ainsi que la durée du **prétraitement**.

Congélation

Deux types de congélation peuvent être réalisés : la congélation rapide, en une seule étape, ou la congélation lente, en deux étapes. Cette dernière doit être effectuée à l'aide d'un congélateur programmable.

Lors d'une congélation rapide, les explants sont immergés directement dans l'azote liquide. L'eau cristallise en microcristaux d'une taille non dommageable pour l'intégrité cellulaire. Au cours d'une congélation programmée, le milieu **extracellulaire** cristallise en premier et les cellules se déshydratent progressivement pendant le refroidissement lent. Les cellules doivent être suffisamment déshydratées pour que l'eau résiduelle ne cause pas de dégâts, mais pas trop pour éviter la toxicité due à l'élévation de la concentration des solutés internes.

Deux critères doivent être déterminés plus ou moins précisément selon les espèces : la vitesse de congélation et la température de fin de congélation programmée, ou température de **prérefroidissement**.

Conservation

La durée de conservation est théoriquement illimitée, à condition que les explants restent à la température de l'azote liquide. Les dégâts causés par les radiations naturelles, auxquelles le matériel reste exposé, ne deviendraient irréparables qu'après des durées de stockage de plusieurs centaines d'années (Ashwood-Smith et Friedmann, 1979).

Réchauffement

Le réchauffement est généralement réalisé rapidement, afin d'éviter la recristallisation des microcristaux en cristaux d'une taille dommageable pour les cellules, si la remontée en température est trop lente.

Post-traitement

Le post-traitement consiste en une culture du matériel dans des conditions qui permettent la reprise dans des conditions optimales. Les substances **cryoprotectrices** qui peuvent devenir toxiques si elles restent trop longtemps en contact avec les explants, sont progressivement éliminées. Les cultures sont parfois repiquées sur des milieux progressivement moins concentrés en saccharose, afin d'atténuer le choc osmotique. La composition du milieu de culture est parfois **transitoirement** modifiée, par adjonction de substances de croissance ou suppression de certains éléments minéraux.

Applications actuelles de la cryoconservation

Aujourd'hui, la résistance à la congélation dans l'azote liquide a été prouvée chez plus de 70 espèces végétales sous la forme de cellules, cals, méristèmes, embryons somatiques et **zygotiques** (Kartha, 1985 ; Dereuddre

et Engelmann, 1987 ; Engelmann, 1992a). Si la cryoconservation peut être considérée comme une technique de routine, ou du moins facile à mettre en oeuvre dans le cas de suspensions cellulaires (Withers, 1985b), il n'en est pas de même pour des structures de taille plus importante et plus différenciées, comme les méristèmes ou les embryons.

L'application à grande échelle de la cryoconservation reste à l'heure actuelle extrêmement limitée. Son premier développement concerne les embryons somatiques de palmier à huile, pour lesquels plus de 150 clones ont aujourd'hui été **cryoconservés** dans cinq laboratoires différents, en Afrique, en Asie et en France (Engelmann, 1991b). Encore s'agit-il dans cet exemple d'essais à grande échelle plutôt que d'une utilisation en routine. Un programme de même ampleur est actuellement en cours de réalisation sur le manioc au **CIAT** en Colombie (IBPGR, 1990).

Nouvelles techniques de cryoconservation

L'un des objectifs de ces nouvelles techniques est de chercher à simplifier les protocoles classiques de cryoconservation. On peut distinguer 4 types de nouveaux procédés : **l'encapsulation/déshydratation**, la vitrification, la dessiccation et l'utilisation de congélateurs domestiques.

L'encapsulation/déshydratation

Cette technique dérive de la technologie des semences artificielles. Elle a été appliquée à plusieurs espèces telles que la pomme de terre (Fabre *et al.*, 1990), la vigne (Plessis *et al.*, 1991), le poirier (Scottet *et al.*, 1991), la carotte (Dereudde *et al.*, 1991). Il semble que **l'encapsulation** protège les structures et permette ainsi de les soumettre à des traitements qui seraient létaux avec des structures non **encapsulées**. Les explants **encapsulés** sont cultivés pendant plusieurs jours dans des milieux liquides contenant des quantités élevées en saccharose, **déshydratés** partiellement sous la hotte à flux laminaire avant leur congélation. Des taux de reprise élevés peuvent être obtenus après le réchauffement.

Vitrification

Cette technique a été développée récemment par plusieurs équipes (Uragami *et al.*, 1989 ; Langis *et al.*, 1989 ; Langis et Steponkus, 1990 ; Sakai *et al.*, 1990 ; Towill, 1990) avec des suspensions cellulaires, des **protoplastes**, des embryons somatiques et des méristèmes de plusieurs espèces. Au cours de la vitrification, les explants sont congelés très rapidement, de sorte que l'eau vitrifie, c'est à dire forme une structure vitreuse amorphe. Il n'y a donc pas formation de glace, généralement dommageable pour les cellules. La réussite d'un procédé de vitrification nécessite l'emploi de concentrations très élevées en substances **cryoprotectrices** qui sont très toxiques. La durée de contact des explants avec la solution **cryoprotectrice** doit donc être déterminée très précisément. De même, la dilution du mélange **cryoprotecteur**, après le réchauffement, est une opération délicate. Il semble donc qu'à

l'heure actuelle, la complexité du **prétraitement** et du post-traitement rend **difficilement** envisageable l'utilisation en routine d'une telle technique dans un avenir proche.

La dessiccation

La dessiccation a été expérimentée récemment par **Uragami et al.** (1990) sur des fragments de tige d'asperge et par **Shiminoshi et al.** (1991) sur des embryons somatiques de concombre. Les explants sont d'abord cultivés pendant des durées variables sur des milieux enrichis en saccharose, puis déshydratés sous la hotte à flux laminaire ou au moyen de **silicagel**. Ils sont ensuite congelés rapidement dans l'azote liquide puis remis en culture sur le milieu standard après leur réchauffement. Cette technique se rapproche de celle utilisée pour la majorité des embryons **zygotiques** (Engelmann, 1992b). Elle se caractérise par sa simplicité et mériterait d'être expérimentée sur un grand nombre d'espèces.

L'utilisation d'un congélateur ménager

Dans cette technique, les étapes successives d'un protocole classique sont effectuées. Toutefois, la congélation est réalisée non plus en utilisant un congélateur programmable mais en plaçant les explants à -20 ou -30 °C, dans l'enceinte d'un congélateur ménager. Ce procédé a été expérimenté avec succès sur des suspensions **embryogènes** de caféier et de carotte (**Tessereau et al.**, 1990). Des résultats prometteurs ont été obtenus avec les matériels testés. Cependant, elle n'est peut être pas généralisable, du fait des conditions de refroidissement extrêmement précises requises par de nombreuses espèces végétales.

Utilisation potentielle des nouvelles techniques

Les techniques décrites précédemment présentent toutes des avantages potentiels mais ne pourront en aucun cas se substituer aux techniques standard de cryoconservation. Elles devraient cependant permettre d'offrir des possibilités supplémentaires pour des matériels récalcitrants à la congélation classique et, dans certains cas, de faciliter le développement de la cryoconservation dans des situations où l'emploi d'équipements sophistiqués n'est pas réalisable.

Conclusion

En conclusion, des travaux importants ont été réalisés concernant la conservation à moyen et long terme des ressources génétiques végétales. Cependant, de nombreux problèmes doivent encore être résolus avant de pouvoir envisager l'utilisation en routine des techniques expérimentées. Il

est nécessaire d'évaluer le matériel génétique afin de conserver un échantillon représentatif de la diversité des espèces concernées. De plus, les techniques de culture *in vitro* doivent être optimisées dans de nombreux cas, avant que l'on puisse aborder les aspects de conservation. Enfin, il convient d'examiner, dans chaque situation, la où les techniques les plus pertinentes à rechercher pour assurer dans des conditions optimales la conservation du matériel génétique d'une espèce donnée. Ainsi, dans les pays en développement qui détiennent une part importante de la diversité génétique, les techniques à développer doivent être mises en adéquation avec les moyens existant localement.

Si la conservation à moyen terme est utilisable en routine dans de nombreux cas, il n'en est pas de même pour la cryoconservation. La résistance à la congélation dans l'azote liquide a été prouvée pour de nombreuses espèces végétales. Cependant, son application reste aujourd'hui limitée à de petites collections de laboratoire et son développement à grande échelle exceptionnel. La mise au point de méthodes de cryoconservation requiert généralement de longues recherches ainsi qu'un équipement sophistiqué. Dans ce contexte, l'émergence de nouvelles techniques telles que l'encapsulation/déshydratation, la dessiccation, la vitrification ou l'utilisation de congélateurs ménagers permet d'augmenter les possibilités et d'accélérer l'obtention de résultats.

L'intérêt montré à la fois par les instituts de recherche nationaux et internationaux et les compagnies privées de biotechnologie pour les problèmes de conservation entraînent une augmentation significative des activités dans ce domaine. Des techniques performantes et éprouvées devraient donc pouvoir être proposées à moyen terme pour assurer la conservation des ressources génétiques d'un nombre important d'espèces végétales.

Bibliographie

- AITKEN-CHRISTIE J. et SINGH A.P., 1987 — Cold storage of tissue cultures. In *Cell and Tissue Culture in Forestry*, vol. 2, Bonga J.M. et Durzan D.J. (eds), Martinus Nijhoff, Dordrecht : 285-303.
- ARUMUGAM N. et BHOJWANI S.S., 1990 — In vitro propagation of *Podophyllum hexandrum* Boyle via somatic embryogenesis. In *Abstr. VIIth Int. Cong. Plant Tissue and Cell Culture*, Amsterdam : 243.
- ASHWOOD-SMITH M.J. et FRIEDMANN G.B., 1979 — Lethal and chromosomal effects of freezing, thawing, storage time and X-irradiation on mammalian cells preserved at — 196 °C in dimethylsulfoxide. *Cryobiology*, 16 : 132-140.
- AUGEREAU J.M., COURTOIS D. et PETIARD V., 1986 — Long term storage of callus cultures at low temperatures or under mineral oil layer. *Plant Cell Rep.*, 5 : 372-376.
- BAPAT V.A. et RAO P.S., 1988 — Sandalwood plantlets from « synthetic seeds ». *Plant Cell Rep.*, 7 : 434-436.
- BAPAT V.A., MATHRE M. et RAO P.S., 1987 — Propagation of *Morus indica* L. (mulberry) by encapsulated shoot buds. *Plant Cell Rep.*, 6 : 393-395.

- BRIDGEN M.P. et STABY G.L., 1981 — Low pressure and low oxygen storage of *Nicotiana tabacum* and *Chrysanthemum morifolium* tissue cultures. *Plant Sci Lett.*, 22: 177-186.
- CAPLIN S.M., 1959 — Mineral oil overlay for conservation of plant tissue cultures. *Am. J. Bot.*, 46 : 324-329.
- CHATTI-DRIDI B., 1988 — *Expériences préliminaires sur la conservation à court terme et l'amélioration de la micropropagation in vitro dans le cas du pêcher (Prunus persica)*. Mémoire de fin d'études, ENSH Versailles, 87 p.
- DEREUDDRE J. et ENGELMANN F., 1987 — The use of cryopreservation for setting up banks of plant germplasm. In *Actes Coll. Franco-Britannique IAPTC*, Angers 8-9 oct. 1987 : 48-78.
- DEREUDDRE J., BLANDIN S. et HASSEN N., 1991 — Resistance of alginate-coated somatic embryos of carrot (*Daucus carota* L.) to desiccation and freezing in liquid nitrogen : 1. Effects of preculture. *Cryo Lett.*, 12 : 125-134.
- ENGELMANN F., 1990 — Utilisation d'atmosphères à teneur en oxygène réduite pour la conservation de cultures d'embryons somatiques de palmier à huile (*Elaeis guineensis* Jacq.). *C.R. Acad. Sci. Paris*, 310, Sér. III : 679-684.
- ENGELMANN F., 1991a — *In vitro* conservation of horticultural species. *Acta Hort.*, sous presse.
- ENGELMANN F., 1991 — Le développement actuel de la cryoconservation des embryons somatiques de palmier à huile. In *Proc. XVIII Cong. Int. du Froid*, Montréal, 10-17 août 1991 : 305
- ENGELMANN F., 1992a — *In vitro* conservation of tropical plant germplasm — a review. *Euphytica*, sous presse.
- ENGELMANN F., 1992b — Cryopreservation of embryos. In *Proc. XIIIth EU-CARPIA Cong., Reproductive Biology and Plant Breeding*, Angers, 6-10 juillet 1992, sous presse.
- FABRE J. et DEREUDDRE J., 1990 — Encapsulation-dehydration : a new approach to cryopreservation of *Solanum* shoot-tips. *Cryo-Lett.*, 11 : 413-426.
- HARDING K., BENSON E.E. et SMITH H., 1991 — The effects of in vitro culture period on the recovery of cryopreserved shoot-tips of *Solanum tuberosum*. *Cryo-Lett.*, 12: 17-22.
- IBPGR, 1990. *Annual Report*, Rome : 34.
- JOUVE L., ENGELMANN F. et CHARRIER A., 1991 — Effets de l'hypoxie et de la température sur la conservation *in vitro* de pousses feuillées de *Coffea arabica* L. *Café Cacao Thé*, XXXV : 205-210.
- KARTHA K.K., 1985 — *Cryopreservation of Plant Cells and Organs*. CRC Press, Boca Raton, Florida.
- LANGIS R., SCHNABEL B., EARLE, E.D. et STEPONKUS P.L., 1989 — Cryopreservation of *Brassica napus* suspensions by vitrification. *Cryo-Lett.*, 10: 421-428.
- LANGIS R. et STEPONKUS P.L., 1990 — Cryopreservation of rye protoplasts by vitrification. *Plant Physiol.*, 92 : 666-671.
- Mc KERSIE B.D., SENARATNA T., BOWLEY S.R., BROWN D.C., KIELLY A., KROCHKO J.E. et BEWLEY J.D., 1990 Artificial seeds application in the production of hybrid alfalfa (*Medicago sativa* L.). In *Abstr. VIIth Int. Cong. Plant Tissue and Cell Culture*, Amsterdam : 259.
- MORIGUCHI T., KOZAKI I., MATSUTA N. et YAMAKI S., 1988 — Plant regeneration from grape callus stored under a combination of low temperature and silicone treatment. *Plant Cell Tissue Organ Culture*, 15 : 67-71.

- NITZSCHE E.H., 1980 — One year storage of dried carrot callus. *Z. Pflanzenphysiol.*, 100: 269-271.
- PLESSIS P., LEDDET C. et DEREUDDRE J., 1991 — Résistance à la déshydratation et à la congélation dans l'azote liquide d'apex enrobés de vigne (*Vitis vinifera* L. cv Chardonnay). *C.R. Acad. Sci.*, 313, Sér. III : 373-380.
- ROBERTS E.H., 1973 — Predicting the viability of seeds. *Seed Sci. Technol.*, 1, 499-514.
- SAKAI A., KOBAYASHI S. et OYIAMA I., 1990 — Cryopreservation of nucellar cells of navel orange (*Citrus sinensis* Osb. var. *brasiliensis* Tanaka) by vitrification. *Plant Cell Rep.*, 9: 30-33.
- SCOTTEZ C., GAUDIN N., JOULIE C., ARNAUD Y. et DEREUDDRE J., 1991 — Cryopreservation of pear shoot-tips after encapsulation-dehydration. *In Proc. 28th Ann. Meeting of the Society for Cryobiology*, Leuven, Belgium, 7-12 July : 59.
- SHIMINOSHI K., ISHIKAWA M., SUZUKI S. et OOSAWA K., 1991 — Cryopreservation of melon somatic embryos by desiccation method. *Japan J. Breeding*, 41 : 347-352.
- TESSERAU H., LECOUTEUX C., FLORIN B., SCHLIENGER C. et PETIARD V., 1990 — Use of a simplified freezing process and dehydration for the storage of embryogenic cell lines and somatic embryos. *In Seeds : Genesis of Natural and Artificial Forms*, Amiens, France, Nov. 12-13, 1990, Le Biopole Végétal, Ed.: 123-133.
- TOWILL L.E., 1990 — Cryopreservation of shoot tips by vitrification. *In Abstr. VIIth Int. Cong. Plant Tissue and Cell Culture*, Amsterdam : 379.
- URAGAMI A., SAKAI A., NAGAI M. et TAKAHASHI T., 1989 — Survival of cultured cells and somatic embryos of *Asparagus officinalis* cryopreserved by vitrification. *Plant Cell Rep.*, 8: 418-421.
- URAGAMI A., SAKAI A. et NAGAI M., 1990 — Cryopreservation of dried axillary buds from plantlets of *Asparagus officinalis* L. grown *in vitro*. *Plant Cell Rep.*, 9 : 328-331.
- WILKINS C.P., NEWBURY H.J. et DODDS J.H., 1989 — Tissue culture conservation of fruit trees. *FAO/IBPGR Plant Genet. Newslett.*, 73/74: 9-20.
- WITHERS L.A., 1985a — Long term storage of *in vitro* cultures. *In In vitro Techniques, Propagation and Long Term Storage*. Schäfer-Menuhr(ed), Martinus Nijhoff : 137-148.
- WITHERS L.A., 1985b — Cryopreservation of cultured plant cells and protoplasts. *In Cryopreservation of Plant Cells and Organs*, Kartha K.K.(ed), Boca Raton, CRC Press : 243-267.

Ethnobotanique et ressources génétiques : approches complémentaires du monde végétal

Georges MÉTAILIÉ *

Résumé : Après un rappel de l'histoire et des définitions de l'**ethnobotanique**, l'auteur constate que l'enquête **ethnobotanique** est un élément important du travail de terrain dans le domaine des ressources génétiques. A l'inverse les techniques d'analyse en laboratoire comme les concepts utilisés par les généticiens des plantes sont de nouveaux outils indispensables pour certaines recherches **ethnobotaniques**.

Abstract : Beginning with a short history of ethnobotany and its definitions, the author notices that **ethnobotanical** inquiry is an important part of the field work within genetic resources field. In the same way, laboratory analysis technics and new concepts used by plant geneticist make indispensable new tools for some kind of researches in ethnobotany.

Mots-clés : **ethnobotanique**, millet, Chine.

En commençant cet exposé, je voudrais rappeler ce qu'on entend par **ethnobotanique**. C'est aux Etats-Unis que la notion est apparue : en 1875, Stephen Powers définissait dans un article, une « botanique aborigène » (aboriginal botany) qui embrassait « toutes les formes du monde végétal que les aborigènes utilisaient pour la médecine, l'alimentation, les tissus, les ornements, etc. » (Castetter, 1944). Le terme « **Ethno-Botany** » apparaît pour la première fois le 5 décembre 1895, dans un article anonyme du *Philadelphia Evening Telegram* à propos d'une conférence de l'archéologue J.W. Harshberger (Barrau, 1988). L'année suivante est publié le texte de cette conférence (Harshberger, 1896) qui présentait « l'objet de l'**ethnobotanique** » (The purposes of ethnobotany), à savoir :

- « élucider la situation culturelle des tribus qui utilisaient les plantes pour leur alimentation, abri et vêtement,
- informer sur la distribution des plantes jadis,
- nous aider à définir les anciennes routes commerciales,
- être utile pour suggérer de nouvelles gammes de produits, surtout textiles ».

* URA 882 du CNRS, Laboratoire d'Ethnobiologie-Biogéographie, Muséum National d'Histoire Naturelle, 57 rue Cuvier, 75231 Paris cedex 05, France

L'auteur achevait en suggérant la formation de collection de coupes microscopiques de sections de tous les arbres indigènes pour comparaison ainsi que la nécessité d'un jardin *ethnobotanique* autour des bâtiments d'un musée pour fournir des plantes vivantes pour les études en rapport avec les objets d'origine végétale exposés dans les salles. Nous constatons qu'à son origine l'*ethnobotanique* est une discipline annexe de l'archéologie et de la muséologie. En 1944, toujours aux Etats-Unis le terme « *Ethnobiology* » était proposé par E.F. Castetter pour une science réunissant *ethnobotanique* et *ethnozoologie* tandis qu'en 1950, dans une publication d'ethnologues sous la direction de G.P. Murdock (Barrau, 1988), c'est comme une branche de l'« *ethnoscience* » que figure l'*ethnobotanique* et dès lors, les principaux travaux dans ce domaine concerneront aux Etats-Unis l'étude des nomenclatures et des classifications populaires dans des sociétés contemporaines. Au sujet du terme « *ethnoscience* », Richard I. Ford (1978) précise que malgré les efforts pour réduire le sens à « système de savoir et de connaissance d'une culture donnée » (Sturtevant, 1964), la définition contemporaine du terme est l'utilisation, l'importance et la perception de l'environnement dans son sens le plus général par les habitants originels du continent nord-américain ou des populations aborigènes ailleurs. La monographie consacrée à la perception et au classement du monde végétal chez les *Bunaq* de Timor (Friedberg, 1990) qui, de surcroît, fait le point sur les travaux de l'école américaine, est bien représentative de cette approche. Cette tendance est connue sous le nom de « *New Anthropology* » (Ethnologie nouvelle).

Le terme français « *ethnobotanique* » est né en 1942 à Haïti, dans un article de Jacques Roumain, directeur du Bureau d'Ethnologie de la République d'Haïti, en référence à des études archéologiques, et l'année suivante dans *L'homme et les plantes cultivées*, André Georges Haudricourt et Louis Hédin, écrivaient dans leur conclusion :

« Au terme de ce livre, il convient que nous fassions le point de nos connaissances actuelles sur cette catégorie de végétaux qui, par leur liens étroits avec notre vie même, comme par leur dépendance humaine, méritent à juste titre le nom de " plantes humanisées ". (...) Le point de vue humain et l'aspect botanique des questions soulevées dans ces recherches sont indissolublement liés. C'est sans doute la raison pour laquelle de telles études, à cheval sur deux disciplines scientifiques, n'ont rencontré jusqu'à présent que peu de chercheurs et avancent si lentement.

Géographes, historiens, ethnologues, archéologues, ou même les curieux et amateurs que sont les " honnêtes gens ", peuvent contribuer à éclairer, chacun à leur façon, par des observations intéressantes ou par des faits peu connus, les problèmes qui ont fait l'objet de cet ouvrage. Mais il appartiendra à des " *ethno-botanistes* ", dont nous espérons avoir suscité la vocation, de réunir les travaux épars de cette oeuvre collective en vue de leur critique et de leur synthèse, et surtout de procéder à des enquêtes sur le terrain, en s'intéressant au double aspect botanique et ethnologique des plantes utiles ».

Les auteurs continuaient en indiquant brièvement quelles étaient les sources et les moyens de l'*ethno-botanique* : sources bibliographiques, documents archéologiques et constitution de collections de plantes vivantes « dans des jardins d'études où il soit possible d'examiner leur écologie et leur génétique ».

On le constate dans ce texte fondateur de l'*ethnobotanique* en France, l'intérêt pour les ressources génétiques était manifeste, les auteurs regrettant

même qu'on ignore l'origine de beaucoup de variétés parce que dans les collections de plantes cultivées existantes, on se limitait « à celles qui présentaient un intérêt utilitaire plus ou moins immédiat ». Pour eux la recherche génétique était un outil supplémentaire au service de l'**ethnobotanique**, domaine **transdisciplinaire** dont le but principal apparaissait comme l'étude de l'origine et de la répartition géographique des plantes en rapport avec les hommes.

En 1954, à Paris, à l'initiative de Jacques Rousseau, directeur du Jardin Botanique de Montréal, une section d'« **ethno-botanique** » est créée pour la première fois dans un Congrès International de Botanique.

En 1956, André Georges **Haudricourt**, précise qu'il y a deux formes de l'**ethno-botanique**, l'une « statique et descriptive » analysant les rapports d'un groupe humain avec son milieu végétal comme la pratiquaient des ethnographes américains — et l'autre « dynamique, historique » avec l'étude botanique et génétique des plantes cultivées ; dans ce dernier cas, **Haudricourt** faisait référence aux travaux de l'école de **Vavilov** qu'il connaissait bien pour avoir effectué une mission auprès de ce dernier en 1934-1935 (**Haudricourt, Dibia**, 1987) et d'ailleurs ces travaux avaient déjà fourni les matériaux pour son livre *L'homme et les plantes cultivées*.

Roland **Portères** (**Portères**, 1961), Professeur au Muséum National d'Histoire Naturelle et Directeur du Laboratoire d'Agronomie Tropicale, définit ainsi l'**ethnobotanique** :

« Discipline interprétative et associative qui recherche, utilise, lie et interprète les faits d'interrelations entre les sociétés humaines et les plantes en vue de comprendre et d'expliquer la naissance et le progrès des civilisations, depuis leurs débuts **végétaliens** jusqu'à l'utilisation et la transformation des végétaux eux-mêmes dans les sociétés primitives ou évoluées (...). » Plus loin l'auteur précise que « l'**ethnobotanique** est à l'intersection des domaines de l'ethnologie, de la botanique, de l'agronomie et de la génétique » et que son « rôle est de déceler, dégager et interpréter des faits humains de caractère social profitant, en apparence, plus particulièrement à l'ethnologie et à l'étude de toutes les sociétés humaines et, par voie de conséquence, son rôle est d'apporter au profit du monde moderne la connaissance qu'ont eue celles-ci du monde végétal ». Quant aux sources et moyens de travail, à ceux indiqués par **Haudricourt** et **Hédin**, Roland **Portères** ajoutait, « enquêtes **ethnobotaniques** proprement dites, au sein des ethnies en place (...), relèvement de documents palynologiques, inventaire des jardins, enclos, champs, terroirs, plantations et cimetières (espèces et formes cultivées, commensales, adventives et adventices, compagnes mimantes ou non, **messicoles**, entretenues dans les cultures, friches, jachères endroits protégés, sacrés, etc...), enquêtes sur la cueillette, le ramassage, la préhension, la **proto-culture**, les jeux d'enfants, utilisant ou consommant des fragments végétaux, ou des plantes entières, effets de l'homme sur l'environnement végétal (...), documents chronologiques (...) ».

Dans la même publication, Jacques Rousseau (1961) présente divers exemples entrant dans le « champ de l'**ethnobotanique** ». En 1971, Jacques Barrau rappelle le rôle charnière que l'**ethnobotanique** joue entre les sciences humaines et les sciences naturelles.

La définition la plus récente aux Etats-Unis « étude des interrelations directes entre les humains et les plantes » (Ford, 1978) n'indique pas

expressément la finalité historique, comme le précisait **Portères** ou **Haudricourt** et **Hédin**, et peut donc privilégier l'analyse synchronique.

De fait, les recherches sur l'histoire de la domestication des plantes cultivées semblent aujourd'hui avoir été logiquement intégrées aux études concernant les ressources génétiques. Ce problème n'est pas étranger aux préoccupations des spécialistes de ces études et de plus, leurs travaux peuvent apporter une contribution irremplaçable à cette histoire : je pense par exemple, à l'hypothèse de Gérard Second sur la triple origine des riz cultivés (Second, 1982). Songeons également à la finesse d'analyse qu'offre un concept tel que le « syndrome de domestication » que créa Jack Harlan et vous connaissez tous les travaux sur le contrôle génétique des caractères utiles à l'agriculteur chez le mil, effectués dans le laboratoire de Génétique et de Physiologie du Développement des Plantes à la fin des années 70 ou bien, quelques années plus tôt, aux Etats-Unis, ceux de Harlan, de Wet et **Galinat** sur le maïs (Pernès, 1983).

Nombre de généticiens marquent un grand intérêt pour l'étude des savoirs traditionnels relatifs aux plantes : les techniques culturales comme les mythes (**Sandmeier et al.**, 1986). Parfois des prospections sont organisées par des équipes incluant généticiens, agronomes et ethnologues (**Sakamoto**, 1987b). Aujourd'hui, l'**ethnobotanique** dans le sens de l'étude des rapports que les hommes entretiennent avec leur environnement végétal, sauvage et cultivé — est donc souvent perçue comme une discipline connexe aux ressources génétiques. L'étude consacrée aux cultivars de *Piper methysticum* Forst., le **kava**, dans l'archipel de Vanuatu (**Lebot, Cabalion**, 1986) est un exemple d'intégration de diverses disciplines des sciences de l'homme et des sciences biologiques pour l'analyse « d'une plante océanienne aux dimensions culturelles » (Je remercie Michel **Chauvet** de m'avoir fait connaître cet ouvrage). Afin de répondre à un problème de développement économique, les auteurs prennent aussi en compte les savoirs traditionnels relatifs tant à l'usage qu'à la culture de la plante.

L'histoire récente du maïs en France avec la diffusion des cultures vers le Nord offre un bel exemple d'utilisation de données de nature **ethnobotanique** au service de l'amélioration des plantes. André **Cauderon** rapporte (**Cauderon**, 1982) comment il obtint d'un collègue, le matériel végétal à la base des lignées de maïs F7 et F2. Ce dernier, Roger de **Lambergue**, lui fournit un sachet de semences issues de maïs cultivés pour le fourrage dans une exploitation de moyenne altitude, nommée La Capte, sur la commune d'**Anglès** près de Lacaune, dans le Tarn et en rapporta l'histoire :

« Vers 1940, l'agriculteur qui exploitait La Capte avait récolté dans sa micro-culture un ou deux épis qui avaient atteint une maturité correcte : il avait ressemé les grains, et ce pendant plusieurs années, obtenant ainsi une population précoce. Il en avait distribué des semences à ses voisins, dont le jardinier de mon père : j'avais remarqué dans le potager ces maïs qui arrivaient à mûrir fin septembre ».

Nous trouvons déjà dans cet exemple la chaîne reliant savoir et habileté du paysan-sélectionneur, observation et récolte du matériel végétal et recherche de génétique appliquée en vue d'une obtention. Sans minimiser en rien l'importance de cette dernière phase, dont nous connaissons tous les **difficultés** et les aléas, il est amusant de constater que l'enquête de terrain, déterminante dans ce cas pour la suite, fut fortuite et spontanée. A mes

yeux, l'aspect exemplaire — et prémonitoire — de cette découverte, est de montrer le rôle clé que peut jouer le recueil de données et de matériel **ethnobotaniques** dans un programme de recherche sur les ressources génétiques et à fortiori, d'amélioration des plantes.

A ce point je crois que nous pouvons reconnaître que l'enquête **ethnobotanique** — quand elle est possible — est une étape utile et souvent nécessaire dans le domaine de recherche des ressources génétiques. A l'inverse un **ethnobotaniste** travaillant sur l'histoire des plantes cultivées par exemple, ne peut que s'appuyer aussi sur les résultats des recherches des généticiens. **Ethnobotanique** et ressources génétiques sont étroitement liées et un ouvrage comme *Crops and Man* (Les plantes cultivées et l'homme) de Jack Harlan (1975) est l'exemple même de l'intégration heureuse des deux disciplines ou plutôt des deux « pluridisciplines » de même que 35 ans plus tôt *L'homme et les plantes cultivées* d'A.G. Haudricourt et L. Hédin, introduisant l'**ethnobotanique** en France, faisait déjà la part belle à la génétique. Au spécialiste des ressources génétiques qui se demanderait quelle est finalement la démarche de l'**ethnobotaniste** par rapport au « terrain », outre l'ouvrage déjà cité (Friedberg, 1990), je conseillerais la lecture de l'article qu'André Georges Haudricourt a consacré aux rapports que les néo-calédoniens entretiennent avec une culture vivrière, l'igname (Haudricourt, 1964). Sans doute dans les deux domaines reconnaît-on comme texte fondateur *Origine des plantes cultivées* de celui qui serait donc l'ancêtre commun, Alphonse de Candolle (1883).

Je voudrais maintenant illustrer le sujet par des faits liés à une mission que j'effectuai en Chine en juillet-août 1979 avec Jean Pernès et Jacques Belliard. Jean avait tenu à ma participation à cette mission de ressources génétiques, en tant que sinologue et **ethnobotaniste** intéressé à l'histoire de la connaissance traditionnelle des plantes en Chine. La mission eut pour but principal de voir comment le problème des ressources génétiques était abordé pour deux plantes dans leur centre d'origine, le millet (*Setaria italica* (L.) Beauv.) et le riz (*Oryza sativa* L.). Lors de nombreuses visites dans des centres de recherche, Jean étonna beaucoup ses interlocuteurs agronomes et généticiens en insistant pour qu'on convie des vieux agriculteurs ayant une longue expérience, supérieure aux trente dernières années, c'est à dire, ayant travaillé déjà « avant la Libération ». Ses questions portaient systématiquement sur les pratiques culturales, les techniques de sélection des semences, les noms et caractéristiques des variétés cultivées, leurs avantages ou inconvénients et ceci à diverses périodes. Dans un cas, à Shanghai, pour justifier la politique de trois récoltes par an, héritée de la Révolution Culturelle, les spécialistes vantèrent les hybrides de riz précoces qui étaient réalisés grâce à l'utilisation de variétés de riz de forme *indica*. Les vieux paysans présents maintenaient une position différente. Ils faisaient remarquer que la situation actuelle entraînait un épuisement des sols et un surcroît de travail pour obtenir finalement un aliment dont le goût ne plaisait pas plus aux producteurs qu'aux citadins. Ils préconisaient un retour à deux récoltes associant des variétés meilleures de blé à des riz tardifs de forme *japonica*. Cette dernière solution semblait plus intéressante à Jean qui pensait qu'après l'oubli dont elles étaient l'objet, les variétés traditionnelles locales reprendraient toute leur valeur et tout leur poids pour permettre la création de nouvelles variétés améliorées dont la productivité associée à un cycle plus long diminuerait la charge de travail des paysans et limiterait l'épuisement

excessif des sols (Pernès *et al.*, 1979). Six années plus tard, j'ai appris que la politique des trois récoltes avait été abandonnée dans cette région.

L'importance identitaire et économique des millets est bien connue pour la Chine ancienne (Chang Te-Tze, 1983). Cependant la culture du millet (*Setaria italica* (L.) Beauv.) avait subi une nette diminution du fait de la concurrence du maïs dès que l'amélioration des conditions d'irrigation l'avait permis et il nous fut même quasiment impossible d'en voir un seul champ au début du séjour à cause de la réticence de nos hôtes. Nous apprîmes par la suite que la culture en avait même été interdite dans certaines zones où elle était traditionnellement dominante, comme à Feicheng dans la province du Shandong. Là aussi nous constatons une attitude radicalement opposée de la part des « cadres » justifiant l'abandon d'une culture archaïque et les paysans ne tarissant pas d'éloges sur les qualités gustatives et la valeur diététique — c'est l'aliment essentiel des convalescents et des jeunes mères — des variétés non gluantes et l'importance festive des variétés gluantes, base de bières artisanales et de galettes sucrées pour les célébrations du Nouvel An. Il était frappant de constater que l'assouplissement politique allait de pair avec la réapparition de millet sur les marchés provenant d'ailleurs souvent des « lopins privés ». Aussi, suis-je heureusement étonné d'apprendre qu'un centre a été créé spécifiquement pour l'étude et l'amélioration d'une céréale qui, outre ses qualités agronomiques, est d'un grand intérêt culturel. Les sources chinoises à son sujet sont riches de quelques 250 documents au moins (Hu, 1959), écrits du cinquième siècle avant notre ère à la fin du XIX^e siècle ainsi que de restes archéologiques. Nous avons constaté aussi l'intérêt qu'une approche de terrain pouvait avoir par rapport à ces matériaux. Lors de visites d'exploitations agricoles dans le Nord-Est et le Nord-Ouest, nous avons remarqué la présence fréquente dans les champs de millets de pieds d'une « mauvaise herbe » appelée *guyouzi* ou *youzi*, termes que les dictionnaires chinois modernes ainsi qu'une flore des graminées de Chine (Keng, 1965) identifient à *Setaria viridis* L. Ces plantes nous semblaient différentes de cette espèce sauvage que d'ailleurs les paysans que nous interroignons nommaient systématiquement d'un autre nom, *gouweicao* « queue de chien ». Vraisemblablement il s'agissait de formes intermédiaires ou d'hybrides entre *Setaria viridis* L. très abondant au bord des chemins et *Setaria italica* (L.) Beauv. Une enquête systématique nous conduisit à constater que les termes pour la forme intermédiaire sont partout connus des paysans interrogés et récemment une histoire des plantes cultivées en Chine (Li Fan, 1984) reconnaît aussi ce sens pour *guyouzi*. *Youzi* a un sens figuré péjoratif en chinois tout à fait analogue à celui de « ivraie » en français. Partant de ces constatations j'ai abordé les sources écrites d'un oeil nouveau. *Youzi* figure déjà dans quelques poèmes du *Shijing* (IX^e-V^e siècle av. J.C.) et par bonheur ce terme est une entrée du premier dictionnaire de caractères chinois composé vers le I^{er} siècle de notre ère, le *Shuo wen jie zi* ; voici la définition qu'en donne l'auteur Xu Shen (Ding Baofu, 1927) : « pousse sous les millets » ! Partant du sens moderne du terme relevé chez les agriculteurs, on est tenté d'interpréter cette définition comme correspondant bien à une des formes intermédiaires d'autant que certains des nombreux commentaires que ce dictionnaire a eu au cours de l'histoire chinoise, notent la quasi impossibilité à le différencier du millet à cause de ses propriétés mimantes. Mais d'autres commentaires tardifs l'assimilant aussi à *gouweicao*, je suppose que cela provient sans doute d'une interprétation de lettré travaillant essentiellement sur des textes. C'est, en effet, à la fin du

XVI^e siècle que le pharmacologue le plus célèbre de Chine, Li Shizhen, introduisit le nom de *gouweicao* dans sa pharmacopée, le *Bencao gangmu* et indiqua en synonymie le terme archaïque *youzi*. Si aujourd'hui *gouweicao* désigne pour les botanistes *Setaria viridis* L. stricto sensu, ce terme à l'époque de Li Shizhen avait certainement une valeur générique, englobant les diverses espèces sauvages de *Setaria* qui poussent en Chine ; si nous l'interprétons comme « mauvaise herbe ressemblant au millet », son champ sémantique pourrait recouvrir ainsi selon les cas, intermédiaires, hybrides ou espèces sauvages de *Setaria* et la synonymie *youzi* = *gouweicao* pourrait ainsi s'expliquer mais ce n'est plus le cas à l'époque moderne où il faut réserver *youzi* pour désigner les intermédiaires ou les hybrides.

Des travaux récents comme ceux présentés lors de ce colloque par Roger Zangré *et al.*, ou publiés par Sakamoto Sadao (1987a, 1987b) ou encore de Wet, Oestry-Stridd et Cubero (1979), confirment l'existence de différentes régions de domestication du millet. Cependant à propos des régions de mise en culture en Chine, une enquête *ethnobotanique* auprès de populations montagnardes et insulaires de Taiwan amène un autre auteur (Fogg, 1978) à considérer que c'est dans une zone humide que la domestication a dû s'effectuer. Cette hypothèse vaudrait sans doute une recherche en laboratoire et en tout cas, l'analyse du point de vue de la génétique du problème de la domestication du millet en Chine mériterait certainement en parallèle une exploitation systématique des sources historiques disponibles en chinois.

Bibliographie

- BARRAU J., 1971 — L'*Ethnobotanique* au carrefour des sciences naturelles et des sciences humaines. *Bull. Soc. Bot. Fr.*, 118 : 237-248.
- BARRAU J., 1988 — *Quelques références bibliographiques pour aborder le champ de l'ethnobotanique*, p. 1, in : Allain P., Barrau J. (ed.), Guide de recherche documentaire N° 1. *Ethnobotanique*. Paris, Laboratoire d'Ethnobiologie-Biogéographie, 11 p.
- De CANDOLLE A., 1883 — *Origine des plantes cultivées*. Paris, Germer Baillère, 377 p. (reproduction : Marseille, Jeanne Laffitte, 1984).
- CASTETTER E.F., 1944 — The domain of *ethnobiology*. — *Amer. Naturalist*, 78, 158-170.
- CAUDERON A., 1982 — Origine des lignées INRA F7 et F2. INRA *Agromais*, 13 : 28. (Repris in : INRA, 1986. *40 ans de recherche agronomique*: 76-77).
- CHANG Te-Tzu, 1983 — *The Origins and early Cultures of the Cereal Grains and Food Legumes*, in : Keightley D. (ed) *The Origins of Chinese Civilization*. Berkeley, Los Angeles, London : University of California Press : 65-94.
- DING Fubao, 1928 — *Shuo wen jiezi gu lin*. Shanghai, Yixue shuju, 66 vol.
- FOGG W.H., 1978 — The domestication of *Setaria italica* (L.) Beauv.: a study of the process and origin of cereal agriculture in China. *Conference on the Origins of Chinese Civilization*, University of California, Berkeley, 49 p.
- FORD R.I., 1978 — *Ethnobotany : Historical Diversity and Synthesis*, pp. 33-49, in : Ford R.I. (ed), *The Nature and Status of Ethnobotany*. Ann Arbor, Michigan : Museum of Anthropology, University of Michigan, 428 p.
- FRIEDBERG C., 1990 — Le savoir botanique des *Bunaq*. Mémoires du Muséum National d'Histoire Naturelle, *Botanique*, 32, 303 p.

- HARLAN J.R., 1975 — *Crops and Man*. Madison, Wisconsin : American Society of Agronomy — Crop Science Society of America, 295 p.
- HARSHBERGER J.W., 1896 — The purposes of **ethno-botany**. *Bot. Gazette* : 146-154.
- HAUDRICOURT A.G., 1956 — Une discipline nouvelle : l'**ethno-botanique**. *Cahiers rationalistes*, 158: 293-294.
- HAUDRICOURT A.G., 1964 — Nature et culture dans la civilisation de l'igname : l'origine des clones et des clans. *L'Homme*, 4 (1) : 93 — 104.
- HAUDRICOURT A.G. et DIBIE P., 1987 — *Les pieds sur terre*. Paris: A.M.M. Métailié, 196 p.
- HAUDRICOURT A.G. et HEDIN L., 1943 — *L'homme et les plantes cultivées*, Paris, Gallimard, 233 p. (Nile édition : 1987, Paris, Métailié, 281 p.)
- HU Xiwen (ed.), 1959 — *Zhongguo nongxue yichan xuanji : Liangshi zuowu (tao mai lin bian)*. Beijing, Nongye chubanshe, 656 p. [Recueil de textes sur l'héritage agronomique de la Chine : Cultures vivrières (autres que riz, blé et orge)].
- KENG Yi-Li (ed), 1965 — *Flora Illustrata Plantarum Primarum Sinicarum Graminae*. Pékin : Kexue chubanshe, 1178 p.
- LEBOT V., CABALION P., 1986 — *Les Kavas de Vanuatu. Cultivars de Piper methysticum Forst.* Paris, ORSTOM, 234 p.
- LI Fan, 1984 — *Zhongguo zaipai zhiwu fazhan shi*. Beijing, Kexue chubanshe, 301 p. (Histoire du développement des plantes cultivées en Chine).
- LI Shizhen, 1977-1981, (1^{er} éd. 1596) — *Bencao gangmu*. Pékin, Renmin weisheng chubanshe, 4 vol., 2978 p.
- PERNÈS J., 1983 — La génétique de la domestication des céréales. *La Recherche*, 14 (146) : 910-919.
- PERNÈS J., BELLIARD J., METAILIE G., 1979 — *Mission agronomique en Chine. Ressources génétiques*. 60 p. + 7 planches.
- PORTERES R., 1961 — L'**ethnobotanique** : Place — Objet — Méthode — Philosophie. *J. Agric. Trad. Bot. Appl.*, 8 (4-5) : 102-109.
- ROUSSEAU J., 1961 — Le champ de l'**ethnobotanique**. *J. Agric. Traci. Bot. Appl.*, 8 (4-5) : 93-101.
- SAKAMOTO S., 1987a — Origin and Dispersal of Common Millet and Foxtail Millet. *JARQ.*, 21 (2) : 84-89.
- SAKAMOTO S., 1987b — Origin and Phylogenetic Differentiation of Cereals in Southwest Eurasia. *In*: Tani Y. et Sakamoto S. (ed), *Domesticated Plants and Animals of the Southwest Eurasian Agro-pastoral Culture Complex*, 1: 1-45.
- SANDMEIER M., PILATE-ANDRE S., PERNÈS J., 1986 — Relations génétiques entre les populations de mils sauvages et cultivés : résultats d'une enquête au Mali. *J. Agric. Trad. Bot. Appl.*, 33: 69-89.
- SECOND G., 1982 — Origin of the genic diversity of cultivated rice (*Oryza spp.*) : study of the polymorphism scored at 40 isozyme loci. *Jpn J. of Genet.*, 57 : 25-57.
- STURTEVANT W.C., 1964 — Studies in Ethnoscience. *American Anthropologist*, 66 (2): 99-131.
- De WET J.M.J., OESTRY-STRIDD L.L., CUBERO J.L., 1979 — Origins and evolution of foxtail millets. *Journ. d'Agric. Trad. et de Boïn. Appl.*, 26 (1) : 53-64.22
- ZANGRÉ R., NGUYEN-VAN E., RHERISSI B., TILL-BOTTRAUD I., 1992 — Organisation du pool génétique de *Setaria italica* (L.) P.B. et exploitation des ressources génétiques d'espèces spontanées, p. 14. *In* : *Complexes d'espèces, flux de gènes et ressources génétiques — Programme et résumés*. Colloque international en hommage à Jean Pernès, BRG, Paris.

La conservation *in situ* de la diversité des espèces végétales

Louis OLIVIER * et Michel CHAUVET **

Résumé: Les auteurs rappellent l'intérêt de la conservation *in situ* en tant qu'outil pour conserver la diversité du monde végétal. Il évoquent les problèmes de la programmation *a priori* de cette conservation, qui fait appel pour une grande part à des données fragmentaires, notamment dans la perspective de réduction et de modification des espaces naturels liée aux changements globaux.

Abordant plus concrètement les modalités de la conservation *in situ*, ils différencient le cas des espèces à large répartition de celles qui sont plus localisées. Ils illustrent ces propos par les exemples des populations de *Beta* et de *Brassica* d'Europe occidentale, examinant dans chaque cas les moyens de gérer au mieux la diversité réunie dans les populations présentes, à la lumière des connaissances actuelles sur leur biologie et leur écologie et des objectifs que l'on peut assigner à leur conservation. Ils soulignent la nécessité d'une approche intégrée de **recherche/action**, permettant seule un bon transfert des résultats de la recherche, ainsi que la formulation de thématiques de recherche appliquées à la conservation.

Mots-clés: conservation, stratégie conservatoire, *Beta*, *Brassica*.

Abstract : The authors stress the interest of *in situ* conservation as a tool to preserve the diversity of plant world. They mention the problems arising from an *a priori* planning of this conservation, which is mainly based on fragmentary data, especially in the perspective of reduction and modification of natural areas linked with global changes.

Dealing more concretely with the ways of *in situ* conservation, they distinguish the case of species with a large distribution and more restricted ones. As illustrations, they take the examples of *Beta* and *Brassica* populations in Western Europe, examining in each case how to manage best the diversity contained in present populations, in the light of present knowledge on their biology and ecology and the objectives assigned to their conservation. They stress the necessity of an integrated approach of **research/action**, allowing a good transfer of research results, and the formulation of research topics oriented towards conservation.

Key-words: conservation, conservation strategy, *Beta*, *Brassica*.

* **Conservatoire** Botanique National de Porquerolles, Le Castel Ste-Claire, rue Ste-Claire, 83400 Hyères, France.

** Bureau des Ressources Génétiques, 57, rue Cuvier, 75231 Paris cedex 05, France.

Génétiens et protecteurs de la nature s'accordent désormais à penser que la conservation *in situ* constitue un moyen privilégié de conserver les espèces sauvages et les ressources génétiques des espèces cultivées. Cette convergence des points de vue est un phénomène récent. L'IBPGR et l'UICN ont été parmi les principaux acteurs de l'évolution des mentalités.

Il s'agit dans la majorité des cas du moyen le plus sûr et pour l'instant encore, le moins cher, pour maintenir le maximum de diversité chez une ou plusieurs espèces et leur permettre, au travers de mesures de conservation dynamique, de maintenir leur capacité évolutive, en laissant agir les pressions de sélection naturelles, et en limitant au minimum les pressions de sélection anthropiques.

Cette affirmation doit être nuancée dans la mesure où la demande sociale en espace et les conflits d'usage et de voisinage qu'elle génère ne peuvent qu'augmenter. Du fait d'un accroissement démographique continu, la préservation des espaces naturels constituera une charge de plus en plus lourde pour la collectivité.

Ces phénomènes risquent d'être amplifiés par les changements globaux, dont les conséquences seraient considérables d'après les prédictions les plus pessimistes. Dans ces conditions, beaucoup d'experts pensent que la conservation *ex situ* sous toutes ses formes, y compris celle de collections vivantes reconstituées dans des réserves particulières, aura un rôle de plus en plus important dans l'avenir.

Il est vrai que l'Europe occidentale connaît un phénomène d'exode rural et de déprise des terres qui pourrait donner l'illusion d'une dynamique inversée allant vers une « remontée biologique ». Mais un tel phénomène n'est constaté que dans les zones de montagne. Par contre, le long du littoral, des vallées alluviales, ou dans la grande périphérie des métropoles, il est de plus en plus difficile d'imposer le gel du foncier à des fins de protection ou d'en obtenir la maîtrise d'usage qui serait indispensable au maintien de certaines espèces ou écosystèmes. Rien non plus ne nous autorise à penser que le phénomène de désertification des zones de montagne ou de moyenne montagne persistera au delà d'une ou deux générations et que d'autres catégories de populations, citadins-résidents secondaires et **néo-ruraux** non ressortissants de la CEE ne viendront à terme remplir les vides actuels.

Il est encore temps d'engager « à froid » la mise en protection d'un échantillonnage d'espaces naturels représentatifs de la diversité que l'on souhaite conserver. Sinon, nous pourrions avoir à faire face dans dix ou vingt ans à des situations conflictuelles, où la passion l'emporterait sur la rigueur scientifique. Les espaces naturels actuels, qui ont perdu leurs usages traditionnels par suite de l'évolution de la société, doivent trouver une nouvelle fonction sociale de réservoirs de diversité, en plus de celle de beaux paysages cadre des loisirs des citadins.

La stratégie conservatoire

Nous pressentons, sur la base de ce que nous connaissons des coûts de la conservation, qu'il ne sera certainement pas possible de tout protéger de la même manière et avec le même souci **d'exhaustivité**. Des compromis

seront nécessaires. Il est cependant encore possible, en combinant astucieusement conservation *in situ* et conservation *ex situ*, de préserver l'essentiel. Il est aussi probable que la demande sociale en espace ne nous laissera guère le temps de réaliser les longues études qui permettraient d'étayer nos choix de protection.

La conservation *in situ* exige beaucoup plus que la simple création d'espaces protégés là où les milieux paraissent les mieux préservés ou encore là où il est socialement le plus facile de les réaliser. Nous avons préalablement proposé (Chauvet et al., 1990) de diversifier les mesures conservatoires à promouvoir *in situ* en distinguant deux niveaux :

— des « réserves de diversité » où le gestionnaire visera globalement à maintenir la diversité des écosystèmes et les effectifs présents de quelques espèces-clés, en évitant toute pression humaine indésirable et souvent en perpétuant les activités de gestion traditionnelles (ou des activités ayant des effets similaires) garantes du maintien de ces écosystèmes, qui sont souvent secondaires. Dans de telles réserves de diversité, les seules études réalisées consisteraient en une surveillance continue, régulière mais peu contraignante, destinée à s'assurer que les effectifs des espèces-clés se maintiennent globalement et que le milieu ne fait pas l'objet de perturbations trop importantes. De telles réserves pourraient correspondre à tout ou partie du dispositif actuel des espaces naturels gérés. Il reviendra au gestionnaire de trouver un compromis entre les objectifs de conservation et les objectifs d'accueil et de développement local ;

— des « réserves **phytogénétiques** », spécialement créées ou adaptées pour conserver des populations d'espèces considérées comme prioritaires, au premier rang desquelles les espèces apparentées aux plantes cultivées. Ces populations feraient l'objet d'études continues et approfondies ayant un effet en retour sur les pratiques de gestion. Des essais de divers modes de gestion pourraient y être conduits et expertisés. La gestion de telles réserves ainsi que leur suivi scientifique nécessiterait, bien évidemment, des crédits beaucoup plus importants que dans le cas précédent. Le passage du statut de « réserve de diversité » à « réserve **phytogénétique** » pourrait se réaliser progressivement en fonction des résultats des études scientifiques et des moyens financiers.

Les données nécessaires existent pour la mise en oeuvre d'une première phase de cette stratégie de conservation, la constitution d'un réseau de « réserves de diversité ». Elles peuvent être extrapolées de la somme des connaissances actuelles en génétique des populations, pour peu que l'on ait réalisé quelques études préalables sur la biologie des plantes concernées.

Ainsi, par exemple, les données récentes sur la répartition de la variabilité **intra** et **inter-populations** suggèrent que pour des espèces **allogames** et largement étendues, l'échantillonnage d'un petit nombre de populations dans chaque zone géographique distincte est suffisant pour atteindre une fraction hautement significative de la diversité de l'espèce. Par contre, pour des espèces **autogames** ou localisées, ou dont n'existe qu'un petit nombre de populations souvent isolées, il sera nécessaire de retenir un nombre beaucoup plus important de populations pour arriver au même résultat.

Plus concrètement, lorsque le **taxon** considéré sera rare et ses effectifs d'ensemble réduits, on envisagera de préconiser la conservation *in situ* de l'ensemble des populations connues. Par contre, quand un **taxon** apparaîtra

plus abondant, il sera possible d'échantillonner les lieux de conservation dans le souci de conserver l'ensemble des « unités adaptatives » (Tigersted, 1989) possibles sur la base d'inventaires chorologiques et d'études sur l'amplitude écologique de l'espèce réalisés au préalable. Au passage, on intégrera les populations au sein desquelles des caractères originaux (stérilité mâle, etc.) auraient été détectés.

Deux exemples nous serviront à étayer notre proposition. L'un concerne un groupe d'espèces largement répandu (*Beta maritima*) et l'autre un groupe plus rare présentant des populations disjointes (*Brassica oleracea*). L'intérêt de l'exercice réside dans le fait que ces plantes ont déjà fait l'objet de recherches sur leur variabilité, et qu'il est possible de confronter un modèle théorique d'échantillonnage à cette réalité biologique. Nous sommes donc en mesure de mettre en oeuvre une stratégie de conservation *in situ* de la diversité de ces deux groupes. Pour espérer préserver le maximum de variabilité, quels devraient être les espaces à mettre en protection ? Selon quel protocole d'échantillonnage devraient-ils être choisis ? C'est à ces questions qu'il faut répondre.

Les *Beta*

Les espèces appartenant au genre *Beta* ont une très vaste aire de répartition. Celles qui nous intéressent appartiennent à la section *Beta* dont on rencontre des représentants depuis la Norvège au Nord jusqu'aux Iles du Cap-Vert au Sud, et du Bengale à l'Est aux Iles Canaries à l'Ouest. Les espèces de cette section se rencontrent essentiellement sur le littoral. Elles sont réputées présenter toute une gamme d'adaptations à des environnements très divers, depuis des ambiances semi-désertiques aux ambiances froides et humides de l'Irlande et de la Mer du Nord ou de la Baltique (Freese, 1991).

L'ampleur de l'aire de répartition, sa linéarité, les barrières géographiques qui favorisent les isolats, tous obstacles au brassage des gènes, ont entraîné la différenciation d'écotypes aux comportements extrêmement divers. Il y a donc intérêt à pouvoir disposer d'une vaste gamme de populations naturelles pour pouvoir y puiser toute la diversité nécessaire à la réalisation des programmes de sélection.

L'espèce est aujourd'hui loin d'être menacée de disparition sur l'ensemble de son aire. Cependant, dans certaines zones côtières, des régressions rapides ont été constatées suite aux aménagements du littoral (digues, ponts, équipements de loisir) qui altèrent préférentiellement ces habitats littoraux. Ceux-ci présentent un aspect plus ou moins rudéralisé qui n'incite pas spontanément à leur protection, au contraire des dunes. Le surpâturage constaté un peu partout sur le littoral constitue une autre menace. Ainsi des régressions importantes ont été rapportées dans les Iles Britanniques (Doney *et al.*, 1990) et en Méditerranée (Olivier, 1991).

En l'absence de toute donnée sur la variabilité des espèces et sur sa répartition, la première démarche consisterait à réaliser un premier échantillonnage triplement stratifié sur la base :

- des données écologiques au sens large (représentativité des types, des altitudes, des types d'habitats) ;
- des données chorologiques ;
- des données taxinomiques, notamment les différents taxons décrits au niveau infra-spécifique.

Une telle approche est justifiée dans la mesure où les espèces présentent des aptitudes à différencier des écotypes très adaptés. S'intéresser aux divisions issues de la taxinomie classique apporte aussi des informations intéressantes. Même si l'on peut discuter de la validité des rangs taxinomiques retenus par les auteurs, *Beta vulgaris* L. subsp. *maritima* (L.) Thell. et *Beta macrocarpa* Guss. correspondent bien à deux ensembles distincts par leur morphologie, leur écologie mais aussi les barrières d'isolement qui existent entre elles comme on peut s'en rendre compte dans des lieux où elles poussent en *sympatrie* (Freese, 1991).

En complément, il sera utile d'interroger les sélectionneurs sur leurs besoins immédiats et futurs. Il est vraisemblable que les besoins exprimés concerneront en priorité des caractères de résistance aux maladies majeures. Dans ce cas, connaissant les conditions climatologiques qui favorisent le développement de ces maladies, ou bien les régions où les formes cultivées sont régulièrement soumises à des épidémies, on pourra intégrer dans l'échantillonnage des territoires où ces conditions sont remplies. Un raisonnement, basé sur une hypothèse de *coévolution* hôte-parasite, s'apparente en fait aux démarches réalisées couramment par le sélectionneur dans sa recherche de matériel. Dans le cas des *Beta*, pour rechercher des formes résistantes au mildiou, les sélectionneurs ont prospecté des régions de la côte du Portugal dotées d'un climat humide et chaud, où l'humidité persiste longtemps même en plein été. Pour rechercher des formes résistantes au *Cercospora*, le sélectionneur commencera par demander du matériel recueilli dans la vallée du Pô ou sur la côte Nord-Ouest de la Turquie où les conditions climatiques sont censées favoriser les épidémies de *Cercospora*.

Dans l'ensemble, moyennant un minimum d'investigations préalables et une consultation des généticiens et des *améliorateurs*, il nous serait possible de réaliser un échantillonnage dont la pertinence pourrait être confirmée par les évaluations de variabilité réalisées. De ce fait, notre capacité de « prédiction » aurait pu être considérée comme acceptable. *Etait-elle* pour autant bonne ? Pas obligatoirement. Ainsi, il aurait été impossible de prédire où pourraient se rencontrer des populations avec un fort taux de mâle-stériles, qui semblent distribuées au hasard.

Les Brassica

Notre second exemple concernera les populations de *Brassica* présentes dans le sud de la France.

Le genre *Brassica* L. est représenté en Méditerranée par de nombreuses espèces (Chauvet *et al.*, 1989). La Méditerranée *centro-occidentale* constitue le centre d'origine de ces espèces, à nombre chromosomique de $2n = 18$ que les généticiens considèrent comme faisant partie intégrante du pool génétique primaire du chou cultivé. Deux de ces espèces sont spontanées dans le sud de la France et en Corse où de nombreuses sous-espèces et variétés ont été décrites. Elles se rencontrent dans la nature essentiellement en situation rupestre ou dans des pierriers, mais aussi en bord de chemin.

Suite à deux missions de l'IBPGR et à des prospections complémentaires réalisées à l'initiative du Bureau des ressources génétiques, la situation en Méditerranée française de ces deux espèces est bien connue. Les populations

du sud de la France ont été particulièrement bien étudiées et vont servir de support à notre réflexion.

Le matériel recueilli dans l'ensemble des localités connues a fait l'objet d'une évaluation par différents organismes, dont les résultats figureront dans un rapport synthétique à paraître au cours du premier semestre 1992 (Cauwet *et al.*), et dont sont extraits les résultats présentés ci-après.

Notamment, les études de polymorphisme enzymatique réalisées sur trois systèmes (leucine-amino-peptidases, phosphatases acides et estérases) ont montré l'existence d'une grande diversité génétique globale et une répartition de la variabilité pour 17 % au niveau intra-population et pour 83 % au niveau inter-population. Cette situation s'explique par des effets de voisinage importants affectant des populations de taille réduite. Par ailleurs, des effets de fondation avec dérive génétique apparaissent dans certaines situations marginales. On constate notamment que deux grands ensembles de populations semblent se dégager. En l'état actuel des connaissances, rien ne permet d'exclure qu'une différenciation génétique de nature écologique ne se superpose à la différenciation géographique.

Si l'on revient à la définition d'une stratégie conservatoire, les données présentées ci-dessus suggèrent de faire porter les efforts de conservation sur un échantillonnage de populations représentatives des deux grands ensembles précités et sur les trois populations littorales qui présentent des caractères originaux (à noter que seule l'une d'entre elles, la population de Giens, fait l'objet présentement de mesures de protection foncière). Par précaution, compte tenu d'une part de la faiblesse des effectifs globaux et, d'autre part, de la relative insuffisance des investigations réalisées, nous inclinierions à faire porter l'effort de protection sur l'ensemble des populations recensées.

Il est particulièrement intéressant de noter que sur cet exemple, un échantillonnage uniquement stratifié sur des critères chorologiques, écologiques et taxinomiques (trois sous-espèces différentes avaient été distinguées par les anciens botanistes) aurait abouti à des conclusions similaires.

Les mesures conservatoires

En la matière, la FAO (1984) recommande le maintien de l'essentiel des phases de développement d'une espèce à protéger dans ses habitats d'origine, la limitation des usages aux activités ne perturbant pas notablement ces habitats et la limitation des interventions de gestion à des mesures temporaires destinées à restaurer des habitats ou restaurer les effectifs jusqu'à un seuil jugé satisfaisant.

La taille minimale de la population

Le problème de la taille minimale de la population à atteindre ou à maintenir constitue un des soucis permanents du gestionnaire. Il s'agit pour les végétaux d'un concept controversé, mais qui présente à nos yeux l'intérêt de contraindre le gestionnaire à s'interroger sur la validité des pratiques de gestion qu'il met en oeuvre.

Divers auteurs se sont penchés sur ce problème et ont proposé des méthodes d'évaluation sur la base de critères génétiques.

La première approche vise à estimer l'effectif minimal que doit atteindre la population pour supporter sans dommages la perte de viabilité liée aux petites populations. Ainsi par exemple pour les populations animales, divers auteurs (Franklin, 1980 ; Soulé, 1980 ; Franke et Soulé, 1981) ont calculé que des effectifs de 25 à 50 individus aptes à assurer une descendance peuvent s'avérer suffisants, pour peu que le niveau d'autofécondation par génération soit maintenu à un taux inférieur à 2 %.

La seconde approche vise à estimer la taille de la population sur la base de l'effectif minimal nécessaire pour maintenir son potentiel évolutif. Pour une population panmictique d'une espèce allogame et dioïque, Franklin (1980), pense qu'un effectif de 500 individus reproducteurs est de nature à éviter toute perte de variabilité et permettre à la population de répondre à toute modification des pressions de sélection.

La troisième approche vise à définir l'effectif de la population susceptible de minimiser la perte d'allèles peu fréquents. Ainsi il a pu être montré (Namkoong, 1984) qu'avec un effectif de 1 000 individus, la perte d'un allèle recensé à une fréquence de 0,01 était maintenue à un taux inférieur à 0,01.

La majorité des auteurs considèrent cependant que de tels effectifs ne peuvent être jugés satisfaisants que pour de courtes périodes, ces approches mathématiques simplifiant à l'extrême une réalité biologique plus complexe (Ewens *et al.*, 1987). Les indications ci-dessus sont bien entendu susceptibles de varier selon les espèces et leurs habitats. Par ailleurs, on devrait intégrer dans l'évaluation de la population minimale viable des données concernant le nombre d'individus femelles si les sexes sont séparés, ou les effectifs de chaque classe d'âge pour les espèces ligneuses, etc., sans négliger pour les espèces à semences orthodoxes l'importance de la réserve en semences du sol.

La gestion de la population par la gestion de son habitat

L'élément essentiel pour gérer une population est de connaître le fonctionnement des écosystèmes qui l'hébergent afin d'y appliquer des mesures de gestion en conséquence. Ces écosystèmes peuvent être différents selon le stade de développement des plantes concernées. Ainsi, par exemple, beaucoup d'espèces arborescentes tempérées sont incapables de se reproduire dans le milieu qu'elles ont elles-mêmes contribué à créer. Il convient cependant de ne pas commettre l'erreur de croire que préserver les écosystèmes pour eux-mêmes suffit à préserver la diversité des espèces qu'ils hébergent. Privilégier la conservation d'une espèce en un lieu déterminé, c'est rompre avec le principe d'équitabilité avancé par les écologues, ce qui est d'ailleurs communément admis par les zoologistes, notamment pour la protection des grands mammifères. Il est par ailleurs admis que si la pertinence de ce principe est forte dans les milieux primaires, elle devient plus sujette à caution dans les écosystèmes secondaires et *a fortiori* anthropisés. Ceci veut dire « qu'il n'existe pas de méthode optimale de gestion de la diversité mais que, selon le type de gestion utilisée, ce n'est pas le même type de diversité qui sera généré ou conservé » (Gouyon, 1989).

Le gestionnaire aura tout d'abord à étudier puis à comprendre les traits essentiels du fonctionnement de l'écosystème. Dans nos pays de climat tempéré ou sub-tropical, il déterminera les séquences de milieux qui se succèdent dans le temps et dans l'espace en situant exactement celui ou ceux qui interviennent à une phase ou à une autre de la croissance de l'espèce considérée. Dans la plupart des cas, moyennant quelques investigations simples concernant la granulométrie du substrat, le taux de matière organique, la nature des humus, le taux de bases échangeables, le taux d'humidité du sol à certaines périodes clés de l'année, etc., il déterminera le ou les facteurs discriminant la présence possible ou l'absence de l'espèce aux différentes phases de son développement.

En fonction des résultats obtenus, le gestionnaire décidera des mesures de gestion dynamique des milieux à mettre en oeuvre, en introduisant des perturbations provoquées souvent destinées à conserver les divers stades d'une même succession **climacique** (Blondel, 1979). En pratique, ses interventions sur les habitats feront appel à une palette de mesures suffisamment connue pour qu'une simple évocation **suffise** : suppression ou régulation des activités humaines jugées inopportunes, développement d'activités nouvelles destinées à maintenir un ou des écosystèmes secondaires, restauration d'habitats **climaciques** dégradés, restauration d'habitats non **climaciques** par le feu contrôlé, le **débroussaillage**, le pâturage, etc., introduction d'animaux agents **pollinisateurs** ou **disperseurs** de semences, lutte biologique ou physique contre un prédateur, etc. Dans certains cas le gestionnaire, compte tenu de la complexité des interactions régissant le fonctionnement des écosystèmes, devra porter une attention particulière aux agents **pollinisateurs** et **disperseurs** de **propagules** dont la survie pourrait dépendre d'autres milieux et d'autres espèces (Pimm, 1986), mais aussi se préoccuper du maintien de **superprédateurs** contrôlant l'activité de parasites des semences, par exemple (Terborgh, 1988). L'ensemble de ces mesures n'est pas bien entendu à considérer comme de simples recettes mais comme des mesures qu'il convient d'intégrer dans le cadre d'opérations placées sous contrôle scientifique strict.

Par ailleurs, nombreux sont les défenseurs du maintien de **l'hétérozygotie** maximale, les effets délétères de la reproduction entre individus à fort taux de parenté étant très connus. Ceci incite un certain nombre de généticiens à recommander « l'induction de migration » (Julliot et Périnet, 1988) comme mesure de restauration ou de maintien de la variabilité et de **l'hétérozygotie** la plus efficace. Tout en précisant qu'une telle démarche ne saurait être mise en oeuvre sans étude scientifique préalable, il nous semble important que le gestionnaire puisse s'interroger aussi sur ce point.

Conclusion

Quelle que soit la place effective qui sera dévolue à la conservation *in situ* dans une politique de gestion de la **biodiversité**, sa mise en oeuvre passera par la mise en protection d'un échantillon d'espaces jugés représentatifs. Cette représentativité devrait, à notre sens, être basée sur la faculté de l'échantillon retenu à apporter des réponses :

— aux besoins immédiats et identifiés des utilisateurs ;

- au maintien de la diversité mise en évidence au travers des études déjà réalisées ;
- à la nécessité de laisser une place à l'inconnu.

La pertinence de l'échantillonnage sera directement corrélée au volume des informations utilisées pour sa réalisation. D'où l'importance de la compilation sur ce qui est déjà connu mais dispersé, et de la réalisation de nouvelles recherches, depuis les investigations de terrain jusqu'aux travaux de laboratoire.

Ne nous leurrions pas cependant sur les moyens qui pourront être dégagés pour accélérer ces investigations. Il en résultera très certainement la mise en place d'une stratégie à deux vitesses concernant successivement :

- un lot réduit d'espèces pour lesquelles il sera possible en temps et en moyens, de réaliser une part conséquente des études préalables souhaitables, avant toute programmation d'action de protection ;
- les autres espèces pour lesquelles il faudra se contenter de réaliser un échantillonnage approximatif essentiellement basé sur l'exploitation de données bibliographiques, dans le but de s'assurer que le réseau des espaces naturels existants est **suffisant** pour préserver leur diversité.

Il est contre-productif de dire « on ne pourra pas tout conserver ». Il vaut mieux dire « définissons ensemble les priorités de conservation » en pensant « réseaux », c'est-à-dire en veillant à coordonner les actions de manière à éviter redondances et lacunes graves (**Chauvet**, 1991).

La protection de la nature n'est plus, si elle l'a jamais été, un domaine réservé. Avec l'approche de la **biodiversité**, elle est devenue un enjeu de société qui intègre le souci d'une conservation en vue d'une utilisation durable.

Baucoup de recherches restent à entreprendre mais d'ores et déjà, les connaissances accumulées sont loin d'être négligeables. Leur synthèse et leur valorisation constitueraient des outils précieux pour les gestionnaires d'espaces naturels et pour la mise en oeuvre des stratégies conservatoires.

Les chercheurs doivent aussi s'intéresser aux espaces qui font déjà l'objet d'une protection à quelque titre que ce soit. Bien que dans leur grande majorité, ils aient été créés dans le but de conserver des paysages remarquables ou les biotopes de grands mammifères, ils rassemblent une certaine diversité de milieux susceptible d'héberger des taxons intéressant le chercheur, et notamment des parents sauvages d'espèces cultivées ou potentiellement utilisables par l'homme.

Il convient aussi de ne pas perdre de vue que la mise en protection d'un espace naturel est une opération compliquée ayant nécessité la mobilisation d'une quantité d'énergie considérable pour vaincre les obstacles administratifs et politiques, transformer l'hostilité d'une certaine fraction des populations locales en neutralité bienveillante, et mobiliser les crédits nécessaires à la gestion et au gardiennage.

Il faut au moins dix ans pour qu'un projet d'espace protégé aboutisse et se traduise sur le terrain par des mesures concrètes de gestion. Enfin, un espace naturel existant puise ses ressources financières à une ou plusieurs sources dont les potentialités sont forcément limitées. A l'évidence, ces espaces sont le fruit d'importants investissements de la part des collectivités publiques qui les soutiennent. Ces investissements se doivent d'être optimisés

au maximum de leurs possibilités et en particulier en tant qu'espaces de conservation de la **biodiversité** en général et plus particulièrement des espèces potentiellement utiles à l'homme qui y sont présentes.

Afin de mettre en oeuvre cette politique, il nous faudra mieux organiser les relations entre structures de recherche et structures de conservation autour de la biologie de la conservation. Les chercheurs ont su prendre les moyens de répondre à la demande sociale dans les secteurs de l'agriculture, de la santé et de l'industrie. Il leur reste à répondre au nouveau défi de l'écologie.

Bibliographie

- BLONDEL J., 1979 — *Biogéographie et écologie*. Paris, Masson, 173 p. (Collection d'écologie, 15).
- CAUWET A.M., DI GIUSTO F., GUISSSET C., R. LUMARET, OLIVIER L., THOMAS G., TRICAULT S., 1992 — *Ressources génétiques du chou cultivé en Méditerranée continentale française : Analyse de la diversité présente dans les populations sauvages et mesures de conservation préconisées* (rapport à usage administratif en cours de tirage).
- CHAUVET M. et OLIVIER L., 1990 — *In situ conservation at the interface between crop genetic resources and nature conservation*. EUCARPIA Wageningen Colloquy. 3-7 December 1990. Rome, IBPGR.
- CHAUVET M., 1991 — Conclusions du rapporteur général. *In* Conseil de l'Europe, *La conservation des espèces sauvages progénitrices des plantes cultivées*. Actes du colloque de Strasbourg, 27-29 novembre 1989. pp. 127-130.
- CHAUVET M., THOMAS G., OLIVIER L. et GEHU J.M., 1989 — Etude et sauvegarde des plantes sauvages apparentées à des plantes cultivées : le cas des *Brassica*. *Plantes sauvages menacées de France. Bilan et protection*. Actes du colloque de Brest 8-10 octobre 1987: 195-212. Paris, BRG.
- DONEY D.L., WHITNEY E.D., TERRY J., FRESE L. and FITZGERALD P., 1990 — The distribution and dispersal of *Beta vulgaris* L. subsp. *maritima* germplasm in England, Wales and Ireland. *J. Sugar Beet Research*, 27 (1-2) : 29-37.
- EWENS W.J., BROCKWELL P.J., GANI J.M. and RESNICK Si, 1987 — Minimum viable population size in the presence of catastrophes. pp. 59-68 in *Viable Populations for Conservation*, M. Soulé (ed.). New-York, Cambridge Univ. Press.
- F.A.O., 1984 — *In situ Conservation of Genetic Resources of Plants : The Scientific and Technical Base*. FORGEN/MISC/84/J. Rome, FAO.
- FRANKEL O. H. and SOULE M.E., 1981 — *Conservation and Evolution*. New York, Cambridge Univ. Press.
- FRANKLIN I.R., 1980 — Evolutionary change in small populations. pp. 135-149 in *Conservation Biology : An Evolutionary-Ecological Perspective*, M.E. Soulé and B.A. Wilcox (eds). Sunderland, Mass., Sinauer.
- FRESE L., 1991 — Etudes géographiques comme base de la conservation des ressources génétiques. *in* Conseil de l'Europe, *La conservation des espèces sauvages progénitrices des plantes cultivées*. Actes du colloque de Strasbourg, 27-29 novembre 1989. pp. 40-50.

- GOUYON P.H.**, 1992 — *La diversité génétique des espèces végétales. Aspects évolutifs et appliqués.* In F. GROS et G. HUBER, *Vers un anti-destin. Patrimoine génétique et droits de l'humanité.* Paris, Odile Jacob.
- JULLIOT C. et PERIQUET G.**, 1988 — *Détermination des seuils critiques de population efficace pour de petites populations isolées de vertébrés.* Rapport pour le ministère de l'Environnement (D.P.N.), 36 p.
- NAMKOONG G.**, 1984 Genetic structure of forest tree populations. pp. 351-360 in *Genetics : New Frontiers*, V.L. Chopra, B.C. Joshi, R.P. Sharma and H.C. Bansal (eds). Vol. 4, Applied Genetics. Proceedings of the 15th Congress of Genetics. New Delhi, Mohan Pramlani, Oxford & IBH Publishers.
- OLIVIER L.**, 1989 — Le rôle des conservatoires botaniques nationaux et des espaces naturels protégés. in Conseil de l'Europe, *La conservation des espèces sauvages progénitrices des plantes cultivées.* Actes du colloque de Strasbourg, 27-29 novembre 1989. pp. 32-37.
- PIMMS S.L.**, 1986 — Community stability and structure. pp. 309-332 in *Conservation Biology : The Science of Scarcity and Diversity*, M.E. Soulé (ed.). Sunderland, Mass., Sinauer.
- SOULÉ M.E.**, 1980 — Thresholds for survival : Managing fitness and evolutionary potential. pp. 153-169 in *Conservation Biology : An Evolutionary-Ecological Perspective*, M.E. SOULÉ and B.A. WILCOX (eds). Sunderland, Mass., Sinauer.
- TERBORGH J.**, 1988 — The big things that run the world — A sequel to E. O. Wilson. *Conserv. Biol.*, 2: 402-403.
- TIGERSTED P.** 1989 — Population genetic considerations on *in situ* conservation. In *in situ conservation of phytogenetic resources.* EUCARPIA Lund Colloquy. 22-24 august 1989.

Les biotechnologies : dangers nouveaux pour notre environnement végétal, ou outils supplémentaires pour l'amélioration des plantes cultivées ?

Bruno **DESPREZ** et Michel CABOCHE *

Introduction

Depuis des temps immémoriaux l'homme a utilisé les caractéristiques biologiques spécifiques du monde végétal dans son travail de domestication. L'invention des techniques de greffe et de bouturage représente par exemple une étape importante dans cette domestication, permettant par un procédé artificiel de multiplier un génotype intéressant. Dans les années 50, les travaux de Morel et ses collaborateurs ont montré que le méristème constituait la structure de base qui rend possible ces procédés de multiplication. Si la culture de méristèmes a été lentement adoptée par les professionnels de l'horticulture, c'est, semble-t-il, du fait d'une défiance solidement installée à l'égard d'un procédé artificiel (les cultures de méristèmes se font en milieu de culture stérile, sans connexion avec la plante hôte) qui faisait courir le risque de multiplication « non conforme ». Le développement actuel de la culture de méristèmes montre que cette technique, avec quelques précautions, n'est pas dangereuse parce qu'elle générerait une variabilité génétique indésirable, mais au contraire parce que pour l'essentiel elle n'en génère pas. L'exigence de production homogène, **industrialisable** a fait le succès de la culture de méristèmes, et simultanément entraîne le risque de perte de diversité génétique. L'existence de ces méthodes a cependant facilité l'accès à certaines ressources génétiques comme les orchidées tropicales (1), et a permis le sauvetage de certaines variétés vouées à la disparition du fait de viroses comme la pomme de terre Belle de Fontenay (2).

Les biotechnologies végétales sont un vaste domaine dans lequel la culture de méristèmes a bonne place. Nous nous bornerons ici à discuter un aspect particulier de ces biotechnologies, le génie génétique. La théorie cellulaire a été la base rationnelle qui a permis d'envisager puis d'obtenir des plantes transgéniques, en associant les techniques de transfert de gènes aux techniques de régénération. Nous analyserons tout d'abord la raison du succès de cette approche avant d'en discuter les limites et les dangers.

* Laboratoire de Biologie Cellulaire, INRA, 78026 Versailles cedex, **France**

Le génie génétique permet d'élargir les ressources de gènes utilisables pour l'amélioration des espèces cultivées

Les compatibilités sexuelles ont longtemps représenté la barrière ultime à l'introduction de matériel génétique nouveau dans le génome d'une espèce à améliorer. Le génie génétique, qui dérive des progrès déterminants effectués dans le domaine de la génétique moléculaire au cours des dernières décennies, offre une alternative nouvelle dont les applications agronomiques pertinentes commencent à émerger après une période de mise au point. L'existence de règles quasi universelles d'utilisation du code génétique permet de faire synthétiser dans un hôte hétérologue, la plante à améliorer, une protéine produite par un autre organisme dès lors que l'on a été capable d'identifier et de cloner le gène support de son expression. Ainsi, pour une espèce végétale, il devient possible d'utiliser un gène grâce à la transformation génétique, après l'avoir modifié de façon adéquate, qu'il provienne d'une bactérie, d'un champignon ou d'un mammifère. Divers exemples de cette possibilité sont fournis dans le tableau 1.

Tableau 1 : Le génie génétique permet d'élargir les ressources de gènes utilisables pour l'amélioration d'une espèce cultivée

OBJECTIF	CIBLE	ORIGINE DU GENE (GENE)
Résistance à un herbicide (25)	Glyphosate Sulfonylurée Bromoxynile Phosphinothricine	Nucléaire végétal (EPSP synthase) Nucléaire végétal (Acétolactate synthase) Bactérien (Nitrilase) Bactérien (Glutamine synthétase)
Stérilité mâle	Production du pollen Viabilité du pollen Viabilité du pollen	Bactérien (Barnase) (26) Mitochondrial (Urf 13) (6) Mitochondrial (ATP9) (27)
Qualité du fruit	Ethylène Ethylène Ethylène Pectine	Végétal (EFE) (28) Végétal (ACC synthase) (29) Bactérien (Dégradation de l'ACC) (30) Nucléaire végétal (Polygalacturonase) (31)
Application pharmaceutique	Neuropeptide	Animal (Leu-enkephaline) (32)

Grâce au génie génétique, l'ensemble du règne vivant peut donc être désormais considéré comme une ressource pour une espèce végétale à améliorer. Cette possibilité reste cependant théorique tant que l'existence du gène d'intérêt et son clonage n'ont pas été obtenus. Il faut noter au passage que l'usage du génie génétique nécessite une information précise sur les mécanismes en question, beaucoup plus élaborée que ne le nécessite un

travail d'amélioration classique, cette connaissance étant essentielle au travail d'identification et d'études des risques possibles. Puisque l'existence de ressources génétiques originales reste le matériau de base nécessaire à ce travail de génie génétique, cette approche n'abolit en aucune manière le besoin de ressources génétiques, même si dans certains cas il pourrait le circonvenir (p. ex., connaissance de la séquence d'un gène d'intérêt porté par une espèce disparue, situation qui pourrait se rencontrer dans le cas d'espèces fossilisées dans des conditions permettant la collecte de fragments **génomiques** non dégradés !).

Le génie génétique permet de modifier les caractéristiques d'expression d'un gène introduit

L'amélioration des plantes peut être confrontée à des problèmes de niveau d'expression du caractère **introgressé**. Ainsi une résistance, une stérilité, peuvent se révéler incomplètes et compromettre leur usage pratique. Le génie génétique offre un éventail impressionnant de possibilités de modifier l'expression d'un gène. Ces possibilités illustrées par le tableau 2 sont de deux types : quantitatif (niveau d'expression) et qualitatif (spécificité d'action et d'expression).

Tableau 2: Quelques possibilités de modification des caractéristiques d'expression d'un gène introduit par génie génétique dans une espèce cultivée

OBJECTIF	TECHNIQUE	EXEMPLE
SUREXPRESSION	Promoteur fort Elimination de stops de transcription Optimisation de la traduction	35S du CaMV Facteur d'élongation Sites ATTTA de Cry III Séquence Oméga du TMV Augmentation teneur en G:C
INHIBITION D'EXPRESSION	Antisens Complexe inactif Co-suppression Ribozyme Mécanisme inattendu	Polygalacturonase Barnase/Barstar Synthèse d' anthocyanes Cycle viral Protéine de capsid
OPTIMISATION DE FONCTION	Mutagenèse <i>in vivo</i> (bactérie) ou <i>in vitro</i>	Optimisation de la cible enzymatique d'un herbicide
SPECIFICITE D'EXPRESSION	Promoteur tissu-spécifique Promoteur inductible Adressage dans les organelles	Tapetum , tubercule... Induction par blessure, lumière, métabolite, hormone ou même gratuite (molécule adjuvante) Peptide signal

En plus de ces possibilités, le génie génétique ouvre la voie à de nouveaux procédés, qui n'ont probablement pas d'équivalent en amélioration des plantes. Par exemple la protection d'une plante contre l'attaque d'un virus par expression de la protéine de capsid de ce virus représente une situation imprévue (3-5). Il est peu vraisemblable qu'un tel mécanisme de protection existe naturellement. Ceci suggère que la palette des possibilités qu'offre le génie génétique n'est certainement pas encore complètement explorée et peut laisser place à de nouvelles applications agronomiquement intéressantes.

Enfin, le génie génétique ne permet pas seulement de modifier les caractéristiques d'expression du seul transgène mais permet en outre de l'utiliser pour modifier l'expression d'autres gènes.

L'utilisation des techniques de génie génétique a abouti à des essais au champ concluants

Le colloque de l'ISPMB organisé à Tucson l'automne dernier a donné lieu à quelques illustrations de ce fait (6). Trois exemples donnés par la firme Monsanto sont présentés au tableau 3. L'utilisation d'herbicides peut donner lieu à une augmentation significative de rendements du fait de l'élimination totale de la compétition d'adventices. L'expression de protéine cristal Cry III A dérivée du génome de *Bacillus thuringiensis* protège efficacement la pomme de terre de l'attaque des doryphores, éliminant la nécessité du recours aux insecticides, par ailleurs généralement peu sélectifs. Enfin la surexpression de l'ADP glucose phosphorylase dans les tubercules de pomme de terre sous le contrôle d'un promoteur dérivé du gène de la patatine permet d'accroître la teneur en amidon de façon très significative. Il existe donc des exemples d'utilisations du génie génétique exploitables pour l'amélioration de plantes cultivées. Néanmoins une évaluation rigoureuse des caractéristiques de rendement de ces cultivars améliorés grâce à l'usage du génie génétique reste à effectuer en parallèle avec les cultivars les plus performants.

Les limites technologiques intrinsèques du génie génétique

Il existe des limites technologiques intrinsèques à l'utilisation du génie génétique. La principale résulte de notre incapacité à garantir *a priori* le niveau d'expression et la stabilité d'un gène introduit. Il existe maintenant de nombreux exemples de transformants végétaux chez lesquels le gène introduit est éteint soit après régénération, soit au cours de la transmission à la descendance (7). De plus, dans certains cas l'extinction du gène s'accompagne de celle du (ou des) gène(s) qui lui sont homologues par un processus appelé co-suppression sans que la base du mécanisme soit établie (8). Il est tout à fait possible que des phénomènes analogues se produisent lors de l'introgression de caractères par hybridation sexuée ou somatique. L'instabilité de la résistance aux nématodes, introduite à la betterave (*Beta*

Tableau 3: Les premiers essais Monsanto au champ montrent que les techniques de génie génétique peuvent être performantes...

Résistance au glyphosate chez le colza	
Condition expérimentale	Rendement
Parcelle non traitée	100 (témoin)
Désherbage par voie traditionnelle	135
Parcelle dés herbée au glyphosate	174 %
Résistance au doryphore chez la pomme de terre	
Condition expérimentale	Défoliation
Sans traitement	80 %
Traitement insecticide	17 %
Protection B.t. Cry III A	<5 %
Augmentation de la teneur en amidon des tubercules de pomme de terre	
Condition expérimentale	Teneur amidon
Cultivar témoin	13 %
Expression dans les tubercules d'une <i>ADPglucosepyrophosphorylase</i>	16

vulgaris) par croisement interspécifique (*B. procumbens*) en est une illustration (9). On peut espérer que la compréhension des mécanismes impliqués représenteront une information importante susceptible de modifier les méthodes d'introggression classiques. Par ailleurs l'expérience montre que ces phénomènes d'extinction, ou d'inactivation, ne sont pas totalement insurmontables, car ils semblent liés au site où s'est effectuée l'insertion du nouveau gène (10). Les difficultés sont généralement contournées en effectuant un tri des transformants dont les caractéristiques d'expression sont les plus stables, au prix d'un travail qui peut se révéler laborieux.

Si le génie génétique est une méthodologie efficace, la caractéristique conférée peut se révéler fragile au contact d'un environnement complexe. Ainsi, il est bien connu que les résistances monofactorielles aux pathogènes et prédateurs peuvent être facilement contournées. La protection de l'attaque des insectes par expression d'un gène Cry pourrait se révéler rapidement inopérante. L'usage d'une combinaison de deux gènes à spécificités complémentaires peut être une parade efficace à ce type de problème mais n'a pas encore été testé expérimentalement. Le génie génétique ne nous laisse pas cependant totalement démunis face à cette situation, et il est possible d'envisager des stratégies en vue d'augmenter la protection due au gène ou d'élargir sa spécificité d'action.

Enfin le génie génétique, bien adapté à l'introduction de caractères simples, nous laisse démunis en ce qui concerne la modification des caractères quantitatifs, réputés multifactoriels. Cependant l'analyse par RFLP de tels caractères a montré qu'il pouvait exister des gènes « effet majeur » dont la modification par génie génétique représente dès lors une piste attrayante pour un travail d'amélioration (11-13). Il faut noter aussi que le succès d'une approche de génie génétique sur une espèce donnée ne garantit en rien son succès sur une espèce différente.

Limites « conjoncturelles » à l'usage du génie génétique

Trois éléments conditionnent la mise sur le marché d'une semence transgénique. Le premier réside dans les moyens financiers nécessaires à la réalisation d'un projet. Lorsqu'il s'agit de développer une approche nouvelle nécessitant l'identification, le clonage, l'expression d'un gène et l'évaluation des conséquences agronomiques de cette expression, il faut disposer d'une équipe autonome (confidentialité oblige) capable de mener à bien son projet. Le noyau minimum est de deux chercheurs et un technicien travaillant dans un contexte porteur pour une durée de 4 à 5 années, lorsque les technologies de transformation de l'espèce à améliorer sont opérationnelles, ce qui représente un investissement de l'ordre de 3 millions de francs. Ces coûts financiers auront pour conséquences de faciliter la mise en place de sociétés de type « prestations de services ». La collaboration public-privé jouera également un rôle essentiel dans le développement de l'usage du génie génétique.

Pour introduire sur le marché une semence transgénique, ce travail de génie génétique doit aussi être compatible avec le savoir faire déjà investi dans l'amélioration de l'espèce cible. Ainsi le génie génétique semble **difficilement** exploitable pour l'amélioration à court terme d'une espèce commercialisée sous forme de population. Il est fréquent aussi que le génie génétique permette la transformation d'une espèce cultivée sans que la maîtrise méthodologique acquise permette pour autant la transformation du cultivar le plus performant. Dans cette situation la transformation du gène d'intérêt dans un génotype adapté à cette approche doit être suivie d'une série de **retrocroisements** dans le cultivar d'intérêt agronomique, ce qui peut occasionner des délais importants et un coût supplémentaire. Une bonne association entre génie génétique et production végétale est donc une nécessité impérative.

Le dernier verrou important à la commercialisation d'une semence transgénique réside dans le respect des législations en vigueur, ou en cours de mise en place. Cette législation va en se compliquant, aussi bien au niveau des autorisations d'essais que des autorisations finales de commercialisation. C'est là le lieu du combat principal que mènent les opposants à l'usage du génie génétique. Dans ce domaine il faut retenir qu'une semence n'est pas un médicament. Du point de vue économique les marges bénéficiaires associées à la commercialisation des semences sont beaucoup plus faibles que celles de médicaments. Si la législation en vigueur conduit à un protocole d'évaluation de l'innocuité d'une plante transgénique aussi onéreux que celui nécessaire à l'autorisation de commercialisation d'un médicament, l'usage du génie génétique sera compromis pour des raisons économiques. Enfin l'impact de ces contraintes se révélera très différent suivant les caractéristiques des échanges génétiques de l'espèce cible avec son environnement (système de reproduction et de multiplication, confinement en serre ou culture au champ, annuelle ou bisannuelle...).

En conclusion, le coût financier du génie génétique semble donc canaliser son usage préférentiel :

1. Pour des espèces présentant une bonne aptitude à la transformation et à forte valeur ajoutée.

2. Sur des marchés solvables (pays développés).
3. Par des entreprises capables de gros investissements et le plus souvent à long terme.

La stratégie d'utilisation du génie génétique est donc à envisager au cas par cas. Ainsi une firme, productrice d'herbicides, peut hésiter à s'engager dans une stratégie faisant appel au génie génétique pour élargir son marché à de nouvelles cultures, ceci aux risques de supprimer un grand marché déjà bien établi.

Quels dangers le génie génétique fait-il peser sur notre environnement ?

Les recherches récentes nous enseignent que le transfert horizontal de gènes existe naturellement, p. ex., **agrobactéries** introduisant des séquences oncogènes d'origine bactérienne dans le génome de plantes (14, 15) ; transfert d'informations génétiques entre génome nucléaire et organelles (16-19) ; transmission horizontale possible d'éléments transposables entre organismes non apparentés (20). Il est vraisemblable également que de ce fait, les végétaux supérieurs, tout comme les bactéries et les champignons filamenteux ont développé au cours de l'évolution des processus originaux d'inactivation des gènes étrangers qui y sont périodiquement insérés. Nous avons, par ailleurs, une expérience des conséquences du transfert de gènes sur les caractéristiques des plantes cultivées, puisque l'**introgression** de matériel génétique a été exploitée depuis les débuts de l'agriculture, il y a 8 000 ans. Cependant l'expérience acquise sur les propriétés de plantes porteuses de **transgènes** est encore limitée, et la **coévolution** de ces **transgènes** avec le génome des plantes hôtes n'a pas encore été analysée, faute de temps.

On estime à 30 000 le nombre des gènes présents dans le génome d'une plante et vraisemblablement nécessaires pour une grande majorité à sa survie dans l'environnement. L'**introgression** d'un 1 **centiMorgan** d'une espèce sauvage dans le génome d'une espèce cultivée représente statistiquement de l'ordre de 30 gènes, si l'on prend pour exemple une espèce dont le génome total a une taille additionnée de 1000 **cM**, soit une dizaine de chromosomes. Il n'y a pas de raison objective de supposer que l'on court plus de risques à introduire par génie génétique un gène particulièrement bien étudié, plutôt qu'une trentaine de gènes dont nous ne connaissons rien, fussent-ils d'origine végétale. Qu'il faille évaluer ces risques est cependant nécessaire. Un exemple de danger potentiel a été donné récemment chez la pomme de terre où l'**introgression** de gènes de résistance à un pathogène présent dans une **solanacée** sauvage, avait été associée avec la production d'alcaloïdes dangereux (21, 22). Cette évaluation des risques est cependant plus facile à réaliser dans le cas du génie génétique où des hypothèses peuvent être formulées sur la base même de la nature du gène introduit.

Le transfert d'un gène peut-il conférer un avantage sélectif tel que la plante obtenue devienne une nouvelle adventice ? La domestication des espèces cultivées par l'homme les rend dépendantes de son intervention pour

être propagées. L'introduction d'un gène surnuméraire ne pourrait à lui seul modifier cet état de fait, résultant de l'accumulation d'un grand nombre de déficiences (syndrome de domestication) qui sont défavorables à la survie de l'espèce améliorée, mais commodes pour l'agriculteur ou le multiplicateur (p. ex., dispersion des graines). Les travaux visant à perturber les systèmes de reproduction de la plante peuvent cependant créer des situations nouvelles favorables à la dissémination (p. ex., utilisation ou modification du gène B qui rend la betterave annuelle, de gènes d'apomixie...) ou au contraire défavorables à cette dissémination (p. ex. stérilité mâle cytoplasmique). Par contre, il est envisageable que les caractéristiques propres des plantes transgéniques perturbent l'écosystème environnant, par échanges génétiques entre la plante modifiée et les espèces sauvages ou adventices apparentées. Ainsi il y aura lieu d'évaluer particulièrement les possibilités de flux génétiques entre les espèces cultivées appartenant à des genres représentées à l'état sauvage dans nos régions (*Brassica*, *Beta*, *Cichorium*, etc...). Les travaux de nos collègues de l'INRA de Rennes ont ainsi montré que des hybrides entre *Brassica napus* et *Brassica adpressa* pourraient représenter jusqu'à 2‰ des descendants en pollinisation libre (23). Il reste à déterminer la viabilité et la fertilité de ces hybrides. A cet égard l'utilisation de gènes marqueurs introduits par génie génétique peut être un excellent moyen de mesurer en conditions contrôlées ces flux de gènes entre espèces proches. Cette possibilité doit être évaluée tout particulièrement dans le cas de gènes de résistance à des herbicides même si l'on peut prédire que la dispersion du gène hors de l'espèce cultivée aboutira à supprimer la pression de sélection exercée par l'herbicide du fait de son efficacité perdue. Les caractéristiques nouvelles d'une plante transgénique doivent être aussi analysées sous l'angle de ses relations avec la biosphère (pathogènes et prédateurs) en particulier lorsque le gène introduit est supposé conférer une immunité sélective à l'égard de certaines maladies ou sensibilités. Par exemple, une attention toute particulière aux répercussions malheureuses qui pourraient résulter de l'usage d'ARN satellites protecteurs susceptibles de devenir **nécrogènes** par mutation ponctuelle est nécessaire. En ce qui concerne les résistances aux insectes l'objectivité nécessite de comparer l'impact écologique de l'usage de protections par génie génétique à celui qui résulte de l'utilisation des insecticides à large spectre pour la protection des cultures.

Le génie génétique compromet-il la préservation de la diversité génétique ? Si l'analyse de cette méthodologie suggère qu'elle n'est pas de nature fondamentalement différente des méthodes plus classiques d'**introgression** de gènes, sauf par le procédé d'introduction du gène étudié, il en résulte que les risques directs que l'usage de ces techniques peut faire courir à notre environnement ne seront pas non plus de nature différente. Le principal danger résultera, comme pour la technique de culture de méristèmes mentionnée en introduction, du caractère encore plus homogène des semences et des cultures qui en résulteront. La concentration de la production **semencière** qu'impose l'usage du génie génétique du fait de son coût de mise en oeuvre, l'usage de plus en plus exclusif de quelques espèces végétales cultivées représentant un grand marché potentiel, auront pour conséquence de réduire un peu plus la diversité des cultivars employés en agriculture intensive.

Dans le secteur de la recherche publique, l'arrivée en force du génie génétique a provoqué une réduction des efforts de recherche dans les

domaines classiques de l'amélioration des plantes. Ainsi de 1982 à 1988, le nombre des généticiens **améliorateurs** de plantes travaillant dans les universités américaines s'est réduit de moitié (24). Cette situation est préoccupante si l'on sait que ce sont ces mêmes personnes qui sont appelées à développer les programmes de préservation de la diversité génétique. La diversité génétique se préserve de façon dynamique en générant des populations ayant un grand potentiel d'adaptation et en les entretenant dans des conditions d'environnement variées. A côté des cultures industrialisées et performantes requises par une population toujours croissante de la planète, il faudra de plus en plus confier à des hommes experts la charge de préserver et maintenir une diversité la plus grande possible au bénéfice des générations futures.

Bibliographie

- (1) MOREL G., 1963 — La culture *in vitro* du méristème apical de certaines orchidées. *C. R. Acad. Sci., Paris*, 256: 4955-4957.
- (2) MOREL G. and C. MARTIN, 1955 — Guérison de pommes de terre atteintes de maladie à virus. *C. R. Acad. Agr. Fr.*, 41 : 472-475.
- (3) POWELL-ABEL P. *et al.*, 1986 — Delay of disease development in **transgenic** plants that express the tobacco mosaic virus coat protein gene. *Science*, 232 : 738-743.
- (4) TUMER N.E. *et al.*, 1987 — Expression of alfalfa mosaic virus coat protein gene confers cross-protection in **transgenic** tobacco and tomato plants. *EMBO J.*, 6: 1181-1188.
- (5) NELSON R.S. *et al.*, 1988 — Virus tolerance, plant growth, and field performance of **transgenic** tomato plants expressing coat protein from tobacco mosaic virus. 6 : 403-409.
- (6) FRALEY R.T., 1991 — Molecular Biology of Plant Growth and Development, 6-11 October 1991. In *Third International Congress of Plant Molecular Biology*, Tucson, Arizona, USA.
- (7) BELLINI C. *et al.*, 1989 — Genetic analysis of **transgenic** tobacco plants obtained by liposome-mediated transformation : **absence** of evidence for the **mutagenic** effect of inserted sequences in sixty characterized transformants. *J. of Heredity*, 80 : 361-367.
- (8) NAPOLI C., C. LEMIEUX and R. JORGENSEN, 1990 — Introduction of a chimeric **chalcone synthase** gene into *Petunia* results in reversible co-suppression of homologous genes in trans. *Plant Cell*, 2 : 279-289.
- (9) SAVITSKY H., 1978 — Nematode (*Heterodera Schachtii*) resistance on meiosis in diploid plants from **interspecific** *B. vulgaris* x *B. procumbens* hybrids. *Can. J. Genet. Cytol.*, 20 : 177-186.
- (10) JORGENSEN R., 1990 — Altered gene expression in plants due to **trans** interactions between homologous genes. *Tibtech*, 8 : 340-344.
- (11) PATERSON A.H. *et al.*, 1988 — Resolution of quantitative traits into Mendelian factors, using a complete linkage map of restriction fragment length **polymorphisms**. *Nature*, 335: 721-726.
- (12) REITER R.S. *et al.*, 1991 — Genetic analysis of tolerance to low-phosphorus stress in maize using restriction fragment length polymorphism. *Theor. Appl. Genet.*, 82 : 561-568.

- (13) OTTAVIANO E., SARI GORLA M.P.E. and C. FROVA, 1991 — Molecular markers (RFLPs and HSPs) for the genetic dissection of **thermotolerance** in maize. *Theor. Appl. Genet.*, **81** : 713-719.
- (14) WHITE F.F. *et al.*, 1983 — Sequences homologous to **Agrobacterium rhizogenes** T-DNA in the **genomes** of uninfected plants. *Nature*, **301**: 348-350.
- (15) FURNER I.J. *et al.*, 1986 — An **Agrobacterium** transformation in the evolution of the genus *Nicotiana*. *Nature*, **319**: 422-427.
- (16) TIMMIS J.N. and N.S. SCOTT, 1983 — Spinach nuclear and **chloroplast** DNAs have homologous sequences. *Nature*, **305**: 65-67.
- (17) GELLISSEN G. and G. MICHAELIS, 1987 — Gene transfer : mitochondria to nucleus. *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, **503**: 391-401.
- (18) NUGENT J.M. and J.D. PALMER, 1988 — Location, identity, amount and serial entry of **chloroplast** DNA sequences in crucifer **mitochondrial** DNAs. *Curr. Genet.*, **14**: 501-509.
- (19) BALDAUF S.L. and J.D. PALMER, 1990 — Evolutionary transfer of the **chloroplast tufA** gene to the nucleus. *Nature*, **344**: 262-265.
- (20) HOUCK M.A. *et al.*, 1991 — Possible horizontal transfer of *Drosophila* genes by the mite *Proctolaelaps regalis*. *Science*, **253**: 1125-1129.
- (21) GREGORY P., 1984 — **Glycoalcaloid** composition of potatoes diversity and biological implication. *Am. Potato. J.*, **61** : 115-122.
- (22) SINDEN S.L., L.L. SANFORD and W. R.E., 1984 — Genetic and environmental control of potato **glycoalcaloids**. *Am. Potato. J.*, **61** : 141-156.
- (23) KAERLAN M.C. *et al.*, 1991 — Risk assessment of gene transfer from **transgenic** rapeseed to wild species in optimal conditions. In *Proceedings of Rapeseed Congress, GCIRC*. Saskatoon, Canada :
- (24) BUSH L. *et al.*, 1991 — *In Plants power and profit : social, economical and ethical consequences of the new biotechnologies*, Bush L. Burkhardt J., Lacy L.(eds). Basil Blackwell : Cambridge, USA, : 192-195.
- (25) CABOCHE M., Y. CHUPEAU and J.P. BOURGIN, 1989 — Impact potentiel des techniques de biologie cellulaire et moléculaire pour l'amélioration des plantes. *Le Sélectionneur français*, (40) : 31 -46.
- (26) MARIANI C. *et al.*, 1990 — Induction of male sterility in plants by a **chimaeric** ribonuclease gene. *Nature*, **347**: 737-741.
- (27) MOURAS A. *et al.*, 1991 — **Transgenic** male-sterile plant production by **transfection** into nucleus of mutata& mitochondria) gene. (59).
- (28) HAMILTON A.J., M. BOUZAYEN and D. GRIEGSON, 1991 — **Identification** of a tomato gene for the ethylene-forming enzyme by expression in yeast. *Plant Biology*, **88** : 7434-7437.
- (29) OELLER P.W. *et al.*, 1991 — Reversible inhibition of tomato fruit senescence by **antisense** RNA. *Science*, **254**: 437-439.
- (30) KLEE H.J. *et al.*, 1991 — Control of ethylene synthesis by expression of a bacterial enzyme in **transgenic** tomato plants. *The Plant Cell*, **3**: 1187-1193.
- (31) SMITH C.J.S. *et al.*, 1988 — **Antisens** RNA inhibition of **polygalacturonase** gene expression in **transgenic** tomatoes. *Nature*, **334**: 724-726.
- (32) VANDEKERCKHOVE J. *et al.*, 1989 — **Enkephalins** produced in **transgenic** plants using modified 2S seed storage proteins. *Bio/Technology*, **7** : 929-932.

Un exemple de gestion des ressources génétiques en vue de la sélection

André GALLAIS, Henri DUVAL **
Pauline GA RNIER *, Alain CHARCOSSET *

Résumé : Une action ressources génétiques maïs précoce, a été menée conjointement par l'INRA et les sélectionneurs privés à travers l'association PROMAIS. 1236 populations ont été rassemblées et étudiées pour leur valeur propre et leur valeur en combinaison avec 2 ou 3 testeurs. Le polymorphisme enzymatique a été étudié sur un nombre restreint de populations (sur 115, 49, 30 et 10 populations avec respectivement 10, 25, 35 et 60 plantes par population). De plus les RFLP ont été étudiés sur un échantillon de 65 lignées. Sur la base des valeurs en combinaison avec les testeurs, des regroupements (pools) de populations ont été réalisés et, après *intercroisement* avec du matériel élite, la valeur pour la sélection de certains d'entre eux a été appréciée. Il apparaît qu'une classification en groupes est possible sur la base des valeurs propres incluant les caractères de l'épi et du grain. Le comportement en combinaison avec les testeurs permet de faire des regroupements ayant une valeur opérationnelle pour le sélectionneur. L'importance du polymorphisme enzymatique *intrapopulation* ne permet pas de faire de classification, par contre les résultats RFLP sur lignées, sont très prometteurs. Le polymorphisme enzymatique semble toutefois permettre de prévoir l'intérêt des populations pour le sélectionneur (moyenne et variance). La démarche suivie pour former des pools conduit à du matériel très prometteur pour la sélection.

Mots-clés: ressources génétiques, maïs, polymorphisme, variabilité, RFLP, groupes *hétérotiques*, sélection.

Abstract: A programme on early maize *germplasm* has been conducted jointly by INRA and private plant breeders through the association PROMAIS. 1236 populations have been collected and studied for their *per se* value and their combining ability with 2 or 3 testers. Enzymatic polymorphism has been studied on 115, 49, 30 and 10 populations with respectively 10, 25, 35 and 60 plants per population. Furthermore, to see the potential of RFLP, it has been studied on 65 lines. According to the *testcross* results, some pools have been developed, *intercrossed* with elite

Institut National Agronomique Paris-Grignon, 16 rue Claude Bernard, 75231 Paris cedex 05, France.

* INRA Université de Paris-Sud, Station de Génétique Végétale, Ferme du Moulon, 91 190 Gif-sur-Yvette, France.

** Station d'Amélioration des Plantes, INRA, 34130 Mauguio, France.

material and evaluated for their potential for selection. Results show that some groupings are possible according to *per se* values including ear and grain characters. Behaviour of populations with the testers allows operational groupings for the breeder. The great **intrapopulation** enzymatic polymorphism does not allow any efficient grouping, unlike results with **RFLP** on lines which appear very promising. Enzymatic polymorphism seems **efficient** to predict the less promising populations for the breeder, with low mean and low variance. Finally the method used to develop breeding populations leads to promising material.

Key words : **germplasm**, maize, polymorphism, variability, **RFLP**, **heterotic** groups, selection.

Introduction

L'histoire récente du développement du maïs en France montre comment par l'utilisation de la variabilité génétique, l'amélioration des plantes peut complètement modifier le paysage agricole d'un pays. En effet, le développement spectaculaire du maïs grain, de 1955 à 1970, puis du maïs ensilage dans le nord de la France, et par suite dans l'Europe du Nord, est dû en partie à la création de variétés précoces bien adaptées aux basses températures, aux fortes densités et à la récolte mécanique (résistance à la verse).

Mais, au niveau des variétés commercialisées, seulement quelques géniteurs ont été utilisés. Les variétés précoces commercialisées étaient, et sont encore, apparentées. Ainsi la lignée cornée F2, tirée de la population française Lacaune vers 1955 par A. **Cauderon**, est encore très utilisée. Elle était présente dans 85 % des semences d'hybrides précoces et demi-précoces vendues en 1990. Cela tient au fait que les « bonnes » lignées (bonnes pour leur aptitude à donner de bons hybrides) sont rares et qu'il est « normal » que, par souci **d'efficacité**, tous les sélectionneurs cherchent à les utiliser. Cette base génétique étroite des variétés effectivement commercialisées n'a cependant pas empêché le progrès génétique de continuer de façon linéaire (**Derieux et al.**, 1987). Il est d'ailleurs remarquable de constater que le progrès a porté beaucoup plus sur la rusticité que sur la productivité en milieux très favorables, même s'il y a eu progrès à tous les niveaux.

Cependant, cette base génétique étroite présentait des risques :

- risque par rapport à la sensibilité des cultures à des accidents du milieu (risque pathologique par exemple) : les sélectionneurs de maïs ont présent à l'esprit la catastrophe aux USA, en 1970, due au développement de l'**helminthosporiose** par suite de la généralisation du cytoplasme de stérilité mâle « Texas », utilisé pour produire les semences hybrides ;
- risque de limite dans le progrès génétique, bien que le maïs précoce, grain ou fourrage, correspondant à un type assez nouveau de plantes, soit encore assez loin de son potentiel.

Pour éviter ces risques et préparer le progrès génétique à long terme, quelle que soit l'évolution de l'agriculture, il fallait enrichir la base génétique du matériel amélioré. En effet, il n'y a pas d'amélioration **variétale** sans ressources génétiques variées ; les ressources génétiques, populations **natu-**

relies ou domestiquées par l'homme, sont le matériau de base de toute sélection. Ce n'est pas le développement des biotechnologies qui changera l'importance stratégique des ressources génétiques. Le génie génétique aide et aidera à transformer la plante plus ou moins ponctuellement, mais il sera d'autant plus efficace qu'il sera appliqué à du matériel de bonne valeur, car il ne peut pas se substituer à l'amélioration par « petits pas » des caractères quantitatifs complexes, contrôlés par de nombreux gènes difficiles à identifier, voire non identifiables.

Enfin, si les banques de gènes sont nécessaires à la conservation des ressources génétiques, la gestion des ressources génétiques en vue de la sélection ne peut pas se ramener à une conservation statique. Les banques de gènes montrent vite leurs limites, d'une part par le trop grand nombre d'échantillons à étudier, à représenter et à maintenir et d'autre part par l'infériorité de ceux-ci sur de nombreux caractères par rapport au matériel utilisé par le sélectionneur. En fait, pour préparer l'utilisation des ressources génétiques par le sélectionneur, il faut concevoir une gestion dynamique avec toute une chaîne allant des ressources génétiques à la création variétale (Gallais, 1989). Sans cette chaîne, tout effort sur la conservation statique sera mal valorisé (Fig. 1).

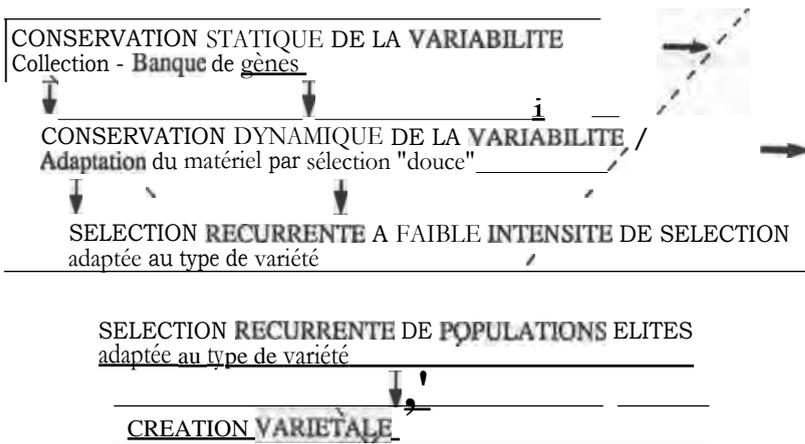


Fig. 1. -- Illustration de la stratégie de passage de la conservation statique de la variabilité génétique à son utilisation en sélection. Les flèches verticales indiquent des flux de gènes entre les grands axes de la stratégie (des flux en sens inverse sont aussi souhaitables). Les pointillés indiquent le rétrécissement de la variabilité génétique en passant d'un axe amont vers un axe aval.

C'est dans cet esprit, avec l'aide du Ministère de la Recherche et de la Technologie, puis du Ministère de l'Agriculture, qu'un programme sur les ressources génétiques du maïs, associant, à travers PROMAIS, 16 établissements privés de sélection et les laboratoires maïs du Département d'Amélioration des Plantes de l'INRA, a été entrepris en 1983 et est encore poursuivi.

Ses objectifs étaient de

- rassembler un grand nombre de populations adaptées aux conditions françaises (essentiellement basses températures), en centrant plus sur le matériel précoce ;

- se donner les moyens d'étude et de conservation de cette variabilité ;
- préciser les méthodologies de gestion et d'utilisation de cette variabilité en sélection.

Matériel et Méthodes

Collecte des sources de variabilité

Toutes les populations françaises actuellement disponibles (273) ont été rassemblées, de même que de nombreuses populations étrangères assez précoces (566). De plus, des prospections ont été réalisées dans les zones où il y avait encore des populations précoces non « polluées » par les hybrides modernes : Argentine, Sud Chili, ce qui a conduit à 80 populations supplémentaires. Enfin, des composites ou synthétiques (317) issues déjà de programmes de sélection ont aussi été incluses dans ce programme.

Au total 1236 populations ont ainsi été rassemblées et étudiées.

Multiplication et stockage

Toute population a été multipliée sur une base assez large (minimum de 400 plantes) pour éviter une trop grande dérive.

Deux conditions de conservation ont été mises en place :

- pour une durée relativement courte (10 ans), avec les gros échantillons en chambre froide à 4 °C et 35 % d'humidité ;
- pour une longue durée, avec un échantillon de 500 g pour toutes les populations, au congélateur (− 18 °C).

Evaluation et regroupement

Toutes les populations ont été étudiées pour leur valeur propre et leur valeur en combinaison par rapport à différents testeurs. La valeur propre a été étudiée dans deux lieux par l'observation de caractères morphologiques (hauteur de plante, longueur et largeur de la feuille de l'épi, dimensions des épis et répartition des grains sur l'épi dans certains essais), physiologiques (précocité) et agronomiques (sensibilité à la verse et pourriture des tiges).

La valeur en combinaison pour la production de grains a également été étudiée sur toutes les populations (Fig. 2), en général avec trois testeurs représentatifs de trois grands groupes d'aptitude à la combinaison et ceci dans deux lieux, avec observation du rendement en grains, de la précocité de floraison, de l'humidité du grain à la récolte et dans certains essais de caractères morphologiques et de la résistance à la verse. Pour les populations les plus précoces, la valeur en combinaison pour des critères fourrage (production de matière sèche, teneur en matière sèche à la récolte) a aussi été évaluée dans deux lieux, en général avec deux testeurs, afin de « récupérer » une variabilité qui aurait pu être perdue par une sélection pour la production de grains.

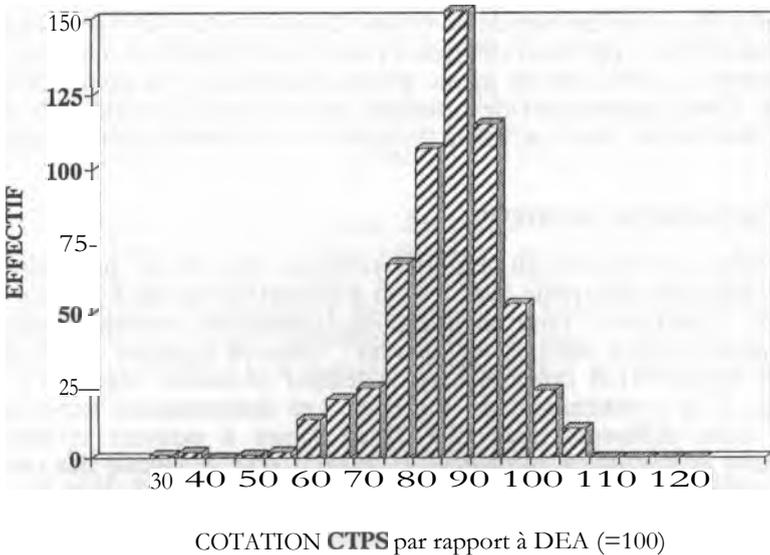


Fig. 2. — Distribution de la valeur en combinaison avec un testeur denté de 600 populations de maïs précoce.

Sur un nombre restreint de populations (115 et 49) le polymorphisme enzymatique a été étudié (Thèses de V. Lavergne, 1988, et de P. Garnier, 1992). Il s'agissait essentiellement de voir :

- les possibilités de classement des populations en groupes,
- l'intérêt du polymorphisme *intrapopulation* pour la prédiction de la variabilité des caractères quantitatifs.

Pour voir les possibilités de classification en groupes d'aptitude à la combinaison connus par l'intermédiaire des distances génétiques calculées à partir de nombreux marqueurs, 65 lignées d'origines très diverses ont été étudiées pour les RFLP avec 44 couples enzyme x sonde (Dufour, 1991). Selon les résultats, une deuxième étape devrait être d'appliquer ce type de marqueurs au niveau des populations.

L'évaluation agronomique et biochimique a fourni des données pour l'étude d'un regroupement raisonné des populations afin d'avoir un nombre limité de populations à multiplier (Thèses de V. Lavergne, 1988, P. Rimieri, 1990, P. Garnier, 1992). Cependant, pour la poursuite des travaux, pour préparer le matériel à la sélection, suite à l'évaluation « agronomique », les populations les moins performantes (en valeur propre et en valeur en combinaison) ont été éliminées de la suite de l'étude (mais toujours conservées en chambre froide) et les populations restantes ont été regroupées selon leur comportement en combinaison avec les testeurs. 32 « pools » ont ainsi été formés et évalués pour leur valeur propre et leur valeur en combinaison.

Croisements améliorateurs

Malgré l'élimination des populations les plus mauvaises (en particulier les plus sensibles à la verse), les pools obtenus sont apparus nettement inférieurs au matériel élite actuel et *difficilement* utilisables en sélection (voir résultats

ci-dessous). Il a donc été décidé de croiser 24 pools avec des hybrides simples entre lignées élites apportant différents caractères d'adaptation, en particulier la résistance à la verse, et du même groupe d'aptitude à la combinaison que les pools. Deux générations de brassage ont eu lieu. Ce matériel a ou sera lui aussi été évalué pour sa valeur propre et sa valeur en combinaison.

Début d'une sélection récurrente

Pour voir le potentiel du matériel résultant de l'étape précédente, une étape de sélection récurrente avec testeur a été entreprise sur 6 pools « grain » et 4 pools « fourrage ». Pour chaque pool, la méthode consiste schématiquement à **autoféconder** environ 400 plantes ; 200 sont retenues sur la base de la valeur propre S 1 et croisées avec le testeur le mieux adapté au groupe d'aptitude à la combinaison du matériel. Les descendance top-cross sont étudiées dans différents lieux (3 à 7) de façon à pouvoir estimer assez précisément la variabilité **intra-pool** et surtout voir le niveau des meilleures descendance par rapport aux hybrides témoins actuels.

Résultats

Les résultats de cette action se situent à différents niveaux :

—du matériel végétal disponible pour tous les participants au programme : 1 236 populations élémentaires, 32 populations à base large, 24 populations croisées à du matériel **améliorateur**,

—la mise en place d'une logistique de gestion (chambre froide et ses annexes à Montpellier),

—une base de données informatisée, très riche et enrichie par un travail important d'homogénéisation et de traitement de l'information (Duval, 1991 ; Desselle, 1991 ; **Miclo** et Desselle, 1991) ;

—des connaissances sur la méthodologie de gestion des ressources génétiques et sur l'organisation de la variabilité **intra** et inter-population avec des conséquences sur les critères et même sur les méthodes de sélection.

Seules ne seront présentées ici et sommairement, que quelques conclusions :
—d'une part au niveau **interpopulation** sur la valeur du matériel et sur la possibilité de classement en groupes (d'aptitude à la combinaison ou non) des populations avec une illustration de l'**efficacité** de la démarche suivie ;

—d'autre part au niveau **intrapopulation** pour montrer l'importance de la variabilité **intrapopulation** et ses relations avec des indices du polymorphisme enzymatique.

Illustration de la valeur du matériel

Valeur propre des populations

La caractéristique essentielle des populations par rapport au matériel actuel est qu'elles sont très sensibles à la verse. Même après croisement par du matériel « **améliorateur** » les pools formés sont encore très sensibles avec

une note moyenne (note visuelle du pourcentage de plantes versées) de 2 à 2,5 sur 5 à comparer aux notes de 4 à 5 pour le matériel de départ et de 1 (ou moins) pour les variétés actuelles. Cela traduit bien l'importance du progrès génétique réalisé sur ce caractère (Derieux *et al.*, 1987). Du point de vue du rendement en grains, les pools formés, avant **intercroisement** avec du matériel « améliorateur », sont de 35 à 45 % inférieurs aux hybrides actuels.

L'infériorité des populations pour des caractères complexes peut s'expliquer par leur base génétique large mais aussi en partie par le fait qu'elles sont plus ou moins consanguines : il existe en effet une corrélation significative entre différents caractères quantitatifs et le taux de polymorphisme **intrapopulation** et le degré d'**hétérozygotie** calculés à partir des systèmes enzymatiques (Tableau 1). Il y a d'ailleurs souvent un déficit en hétérozygotes.

Tableau 1 : Relation entre le polymorphisme enzymatique et la moyenne des caractères quantitatifs (FM = floraison mâle, HUM = humidité du grain, HP (HE) = hauteur de la plante (de l'épi), SF = surface foliaire, RDT = rendement en grains).
Taux de polymorphisme : % de locus polymorphes.

	FM50	HUM	HP	HE	SF	RDT
Nbre d'allèles par locus	0,211	0,293*	0,431***	0,411***	0,431***	0,294*
Taux de polymorphisme	0,213	0,326**	0,569***	0,476***	0,469***	0,265*
Hétérozygotie observée	0,148	0,242	0,477***	0,461***	0,378***	0,209
Hétérozygotie attendue	0,170	0,255*	0,518***	0,461***	0,393***	0,292*

(*) sig. à 0,05 ; (**) sig. à 0,01 ; (***) sig. à 0,001

Valeur en combinaison

Au niveau des valeurs en combinaison avec des testeurs améliorés, l'écart entre les croisements population x testeur et les variétés actuelles est, comme attendu, plus faible que l'écart observé pour les valeurs propres ; avec une infériorité de 20 à 30 %, la moyenne observée est en fait très proche de la moyenne des valeurs des populations et des hybrides actuels (avec un effet très fort du testeur). Quelques croisements population x testeur (moins de 3 %) sont du niveau des témoins (Fig. 2). Les pools formés, croisés avec un testeur assez distant et connu comme à très bonne aptitude à la combinaison, donnent des croisements de très bon niveau (avec une moyenne, pour les pools précoces, de 96 % des témoins, pour une précocité comparable) ce qui prouve le très bon potentiel de ces pools, par ailleurs sans doute très hétérogènes.

Valeur pour la sélection

La valeur d'une population pour la sélection dépend de sa moyenne et de sa variance pour des caractéristiques agronomiques. La variance **intrapopulation** a pu être estimée au niveau des valeurs en combinaison avec peu de précision sur 17 populations et avec beaucoup de précision

(128 descendance) sur deux pools en début de sélection récurrente. Dans ce cas la variabilité au niveau des descendance en autofécondation (S1) a aussi été étudiée. Pour le rendement en grain, il apparaît une très grande variance entre familles S I (Fig. 3a), avec des coefficients de variation génétique de 30 et 50 % (variance plus grande dans le pool denté que dans le pool corné). Au niveau des valeurs en combinaison (Fig. 3b), les variances sont assez

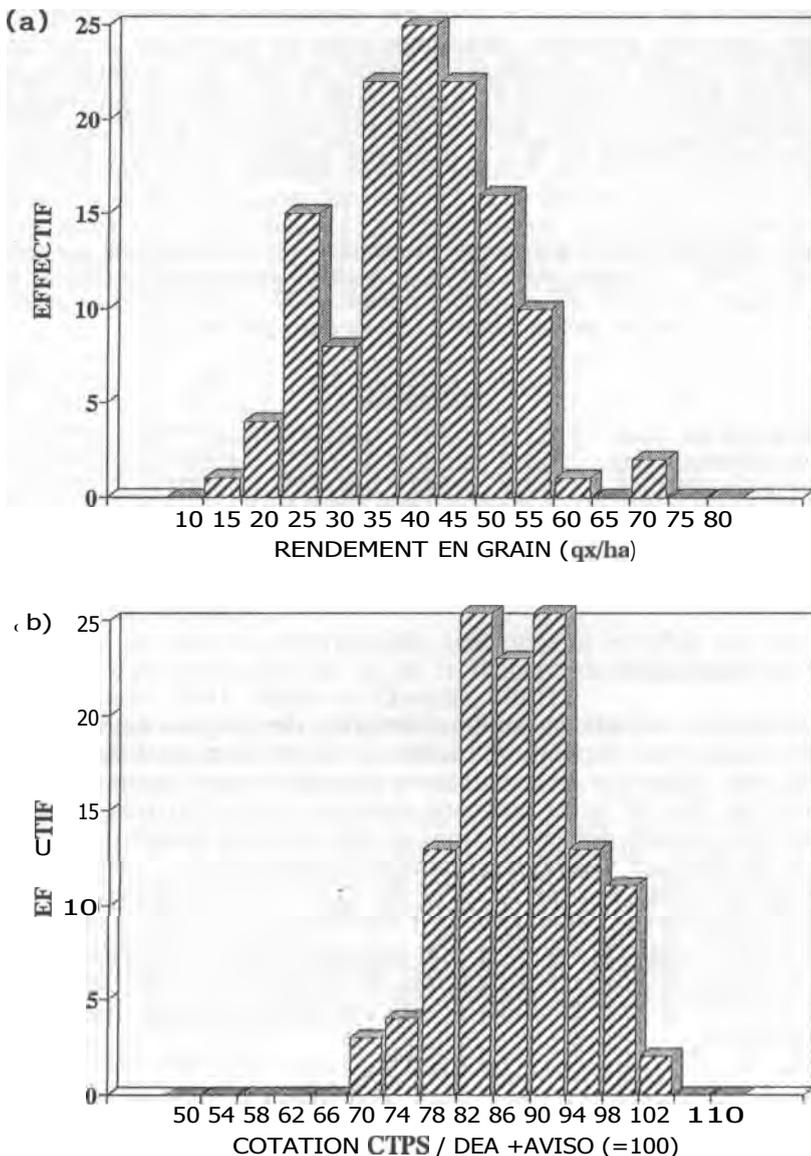


Fig. 3. -- Distribution de 128 descendance du pool denté précoce.
 (a) familles S I, (b) en croisement avec le testeur retenu (la cotation CTPS est un index de valeur agronomique utilisé pour l'inscription des variétés).

comparables pour les deux pools (coefficients de variation génétique de 13,5 et 14,5 %). Quelques descendance (2 à 3 %) dépassent la cotation des témoins. Compte tenu de leur variabilité très importante, ces pools semblent donc présenter un grand intérêt pour la sélection.

Description de la variabilité **interpopulation**

L'étude précise (Thèse de V. Lavergne, 1988) des relations entre la valeur propre et la valeur en combinaison montre en général une assez forte corrélation. De même les corrélations entre les performances testeurs avec deux testeurs différents (l'un corné, l'autre denté) sont très hautement significatives, sauf pour le rendement où elles peuvent être à la limite de la signification (Lavergne *et al.*, 1991 ; Miclo et Desselle, 1991) (Tableau 2). Cela tend à montrer que les différences de morphologie entre populations s'héritent de façon assez additive et qu'une très mauvaise population, quel que soit le système de test (valeur propre, valeur en combinaison avec n'importe quel testeur) ne donnera pas de très **bons** résultats dans un autre système de test. Un tel résultat n'est pas apparu expliqué par les différences de précocité. Il permet de justifier un certain tri sur la valeur propre sans risque de perte de variabilité intéressante pour la valeur en combinaison, au moins sur certaines composantes du rendement.

La classification en groupes distincts à partir de caractères morphologiques ou agronomiques n'est pas évidente. Dans l'étude de Lavergne *et al.* (1991), la méthode des nuées dynamiques n'a pas permis de mettre en évidence des groupes bien définis : la variabilité **intra-groupe** était toujours plus importante que la variabilité inter-groupes. Par contre, sur un plus grand nombre de populations, évaluées pour la valeur en combinaison pour des caractères « fourrage », Rimieri (1990) a montré qu'une certaine structuration était possible par la méthode de classification hiérarchique de Ward (1963) : à l'intérieur d'un groupe, elle minimise les interactions population x testeur. Il faut d'ailleurs remarquer qu'une analyse discriminante sur les caractères de valeur en combinaison des pools formés, avec déclaration *a priori* du groupe de combinaison (corné ou denté), montre que le comportement en combinaison par rapport aux testeurs permet de bien séparer les pools cornés et dentés précoces (Duval, 1991).

Enfin, au niveau des valeurs propres, il apparaît que la prise en considération des caractéristiques de l'épi (longueur, diamètre, nombre de rangs, nombre de grains par rang) et du grain (poids de 100 grains), en plus des autres caractères morphologiques, permet une classification en groupes (Duval, 1991). Que pour les valeurs propres les caractères liés au développement de la plante ne soient pas très efficaces pour réaliser une classification peut s'interpréter par le fait que, pour ces caractères, les variabilités **intra** et inter-population sont organisées de façon très similaire (corrélations de même sens entre caractères).

L'apport des systèmes enzymatiques

Contrairement à ce qui était attendu **sur la** base de l'histoire des populations (effectif reproducteur faible à certains moments), le polymorphisme **intrapopulation** (sur 27 locus polymorphes) est apparu très important et,

Tableau 2 : Corrélations entre différents systèmes de test de la valeur des populations : valeur propre (PS), top-cross avec testeurs T1 et T2 de différents groupes d'aptitude à la combinaison.

Caractère	Année	PS-T1	PS-T2	T1-T2
Précocité	84	0,46**	0,62**	0,39**
	85	0,51**	0,61**	0,61**
	86	0,65**	0,73**	0,54**
Largeur de feuille	84	0,39**	0,45**	0,32**
	85	0,79**	0,74**	0,82**
	86	0,67**	0,63**	0,66**
Longueur de feuille	84	0,44**	0,28**	0,50**
	85	0,62**	0,66**	0,70**
	86	0,69**	0,70**	0,52**
Hauteur totale	84	0,21	0,40**	0,36**
	85	0,42**	0,67**	0,69**
	86	0,47**	0,59**	0,35**
Hauteur épi	84	0,43**	0,59**	0,59
	85	0,67**	0,77**	0,79**
	86	0,59**	0,40**	0,30**
Humidité du grain	84	0,40**	0,47**	0,51**
	85	0,78**	0,64**	0,69**
	86	0,61**	0,66**	0,68**
Rendement en grain	84	0,20	0,33*	0,34*
	85	0,34*	0,41**	0,35*
	86	0,31*	0,55**	0,20

(*) sig. à 0,05 ; (**) sig. à 0,01.

Tableau 3 : Importance de la diversité interpopulation (% diversité totale) dans 4 expériences : (1) avec 115 populations et 10 plantes/population ; (2) avec 30 populations et 35 plantes/population ; (3) avec 49 populations et 25 plantes/population ; (4) avec 10 populations et 60 plantes/population.

Locus	(1)	(2)	(3)	(4)
Acp 1	23,8	31,2	30,6	21,8
Acp 4		14,8	22,4	10,5
Adh 1		29,3	24,7	20,0
βglu		20,5	29,8	7,9
Idh 2	28,5	20,8	29,2	23,9
Mdh 1	28,1	21,8	20,0	5,6
Mdh 2	24,7	26,1	26,5	15,4
mdh 5	24,7	45,6	28,7	5,8
Pgi	23,5	23,4	40,4	34,5
Pgd 1	22,4	25,0	31,1	32,4
Pgd 2		19,7	52,6	1,9

(1) et (2) données de V. Lavergne (1988), Lefort-Buson *et al.* (1991) ; (3) et (4) données de P. Garnier.

cela a empêché toute classification claire. Sur un grand nombre de populations (60 ou 115 selon l'étude), seulement de l'ordre de 20 à 30 % du polymorphisme est **interpopulation** (Tableau 3). De plus, même en retenant deux ensembles de populations ayant des comportements opposés du point de vue de leur valeur en combinaison avec deux testeurs il n'est pas apparu de différence nette de composition **allélique** des deux ensembles.

Le fait qu'une classification soit possible à partir de certains caractères de valeur propre ou de valeur en combinaison alors qu'aucune classification nette n'apparaît possible à partir des systèmes enzymatiques peut traduire une faible (voire l'absence de) correspondance entre variabilité agronomique et le polymorphisme enzymatique, comme cela a déjà été observé dans de nombreuses études chez le maïs. Cela peut être dû à la neutralité des systèmes enzymatiques ; mais, ce grand polymorphisme **intrapopulation** avec assez peu de différenciation **interpopulation** s'expliquerait peut être plus par l'histoire des populations avec des phénomènes de « migration » au cours des générations de multiplication.

L'apport possible des RFLP

Au niveau des lignées étudiées, les analyses **RFLP** ont permis de mettre en évidence un polymorphisme extrêmement important (environ 6 « allèles » par couple sonde x enzyme), supérieur à celui déjà mis en évidence dans des études sur du matériel américain (3,2 allèles dans l'étude de **Godshalk et al.**, 1990).

Les calculs de distance entre lignées et les analyses en cluster montrent l'originalité du matériel corné par rapport aux lignées américaines des groupes Lancaster, 1314 et **B37-B73-B89** (Figure 4). De plus, les classifications

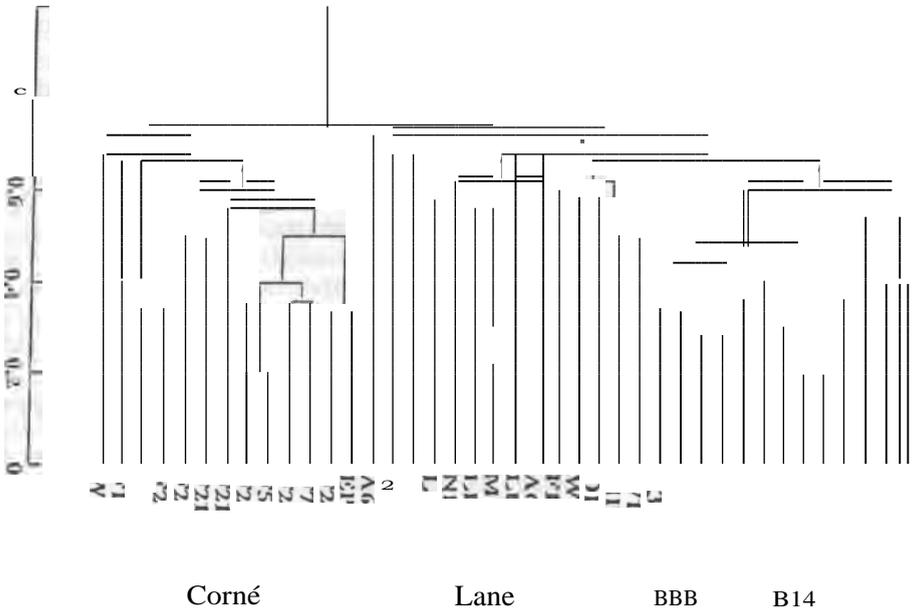


Fig. 4. Structuration de l'ensemble des 65 lignées étudiées pour les **RFLP**.

sont cohérentes avec les généalogies ; toutefois certains groupes sont très hétérogènes. Pour les lignées «hybrides» (du point de vue de leur origine) la méthode permet de voir de quel parent elles sont le plus proche du point de vue de leur comportement en combinaison.

Ces résultats, joints aux résultats de Melchinger *et al.* (1991), Godshalk *et al.* (1990) démontrent que les RFLPs peuvent être utilisés pour affecter une lignée à un groupe de combinaison. Il devrait donc être possible d'utiliser la même méthode pour classer les populations. Un problème nouveau toutefois surgira : quel poids donner aux allèles rares ? Est-il possible de se limiter aux allèles les plus fréquents ?

La relation entre le polymorphisme et la variabilité des caractères quantitatifs au niveau intrapopulation

Au niveau intrapopulation, pour qu'il y ait relation entre le polymorphisme enzymatique et la variabilité des caractères quantitatifs, il faut qu'il y ait déséquilibre de liaison. Dans une étude avec 17 populations et 60 ou 75 plantes par population, sur 366 cas de liaisons possibles, 18 % ont été significatifs au seuil 5 % (10,6 % au seuil 1 %) (Garnier, 1992). Le déséquilibre de liaison semble donc assez fréquent ; il pourrait être renforcé ou même généré par l'homogamie. Il en résulte qu'il peut exister des associations entre locus marqueurs et caractères quantitatifs au niveau population.

Plusieurs associations significatives ont effectivement été trouvées malgré une faible densité de marquage. Ainsi pour la valeur en combinaison avec un testeur (7 caractères mesurés), 8 populations sur 10 manifestent un pourcentage de liaisons significatives supérieur à ce qui est attendu sur la base du hasard. Avec un autre testeur 3 populations sur 6 montrent des associations significatives. Ces marqueurs n'expliquent toutefois qu'une part limitée de la variation des caractères quantitatifs.

Avec un marquage plus dense du génome et une part importante de la variation intra et inter-population expliquée par les marqueurs, la conséquence logique des associations entre les marqueurs et les caractères quantitatifs serait une corrélation significative entre le polymorphisme génétique et la variabilité pour des caractères quantitatifs intrapopulations. Malgré le peu de points (10 populations) et un marquage peu dense du génome, il apparaît pour différents caractères une certaine relation entre un indice du polymorphisme des populations (indice de diversité de Nei) et la variance génétique de leurs descendances en croisement avec un testeur (30 descendances par population) (Garnier, 1992). Sur l'ensemble des caractères, les résultats (Fig. 5) tendent même à montrer que s'il n'y a pas de polymorphisme intrapopulation, alors la variance génétique ne peut être que faible ; par contre un fort taux de polymorphisme ne garantirait pas une forte variance. Si cela était confirmé, il y aurait là un moyen pour éliminer, sans expérimentation, les populations les moins variables.

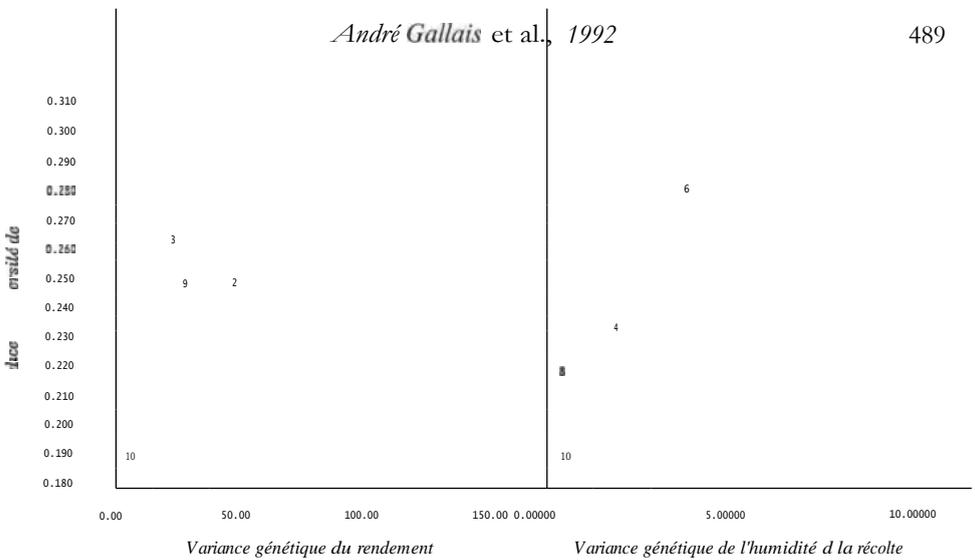


Fig. 5. — Relation **intrapopulation** entre la variabilité génétique des caractères quantitatifs (mesurés sur des **descendances** top-cross) et l'**indice** de diversité de Nei. (a) pour le rendement ($r = 0,50$ sig. à $0,15$), (b) pour l'humidité à la récolte ($r = 0,53$ sig. à $0,11$).

Conclusion

Du point de vue de la méthodologie de l'évaluation et de la gestion des ressources génétiques, dans un but de sélection d'une plante **allogame** déjà hautement sélectionnée comme le maïs, cette action est riche de conclusions. D'abord, il semble bien possible, à partir des valeurs propres incluant les caractères de l'épi et du grain, et à partir des valeurs en combinaison avec différents testeurs, de réaliser des classifications en groupes qui devraient comprendre les groupes d'aptitudes à la combinaison. De plus, l'association d'informations sur l'aptitude à la combinaison avec différents testeurs et d'un grand nombre de marqueurs devraient permettre d'**affiner** les classifications. Les regroupements possibles diminueraient ainsi le nombre de populations à entretenir, même s'il sera prudent de faire plusieurs pools par groupe. Le marquage semble aussi pouvoir apporter des informations sur la moyenne (à travers le taux d'**hétérozygotie**) et la variance. Il semble ainsi possible de prévoir sans expérimentation, non pas les meilleures populations pour la sélection, mais les plus mauvaises, qui peuvent ainsi être écartées. Enfin la démarche choisie, fusion de populations (formation de pools) suivie du croisement des pools avec du matériel apportant des caractères d'adaptation, conduit à des populations avec une très grande variance, pouvant être à la source de bon matériel, d'origine complètement nouvelle par rapport à ce qui existe. Pour utiliser au mieux cette variabilité, il sera judicieux d'appliquer les principes de la sélection récurrente, avec la cumulation de plusieurs cycles de sélection à faible intensité suivie de recombinaison.

Cette étude a été réalisée dans le cadre d'une action associant l'IN RA et **PROMAIS**, soutenue par le MRT, le Ministère de l'Agriculture et le Bureau des Ressources Génétiques, avec la participation d'une part, des Stations INRA de Mons en Chaussée, du **Moulon**, de Lusignan, de Clermont-

Ferrand et de Montpellier et d'autre part, des membres de **PROMAIS**, adhérents au programme : **RAGT, CACBA, SDME, MAISADOUR, GAVADOUR-CARGILL, GIE EUROMAIS, CIBA-GEIGY, PIONEER-FRANCE, NICKERSON, LIMAGRAIN, CAUSSADE SEMENCES, FRANCE CANADA SEMENCES, RUSTICA SEMENCES, NOR-THRUP-KING SEMENCES.**

Bibliographie

- DESSELLE J.L., 1991 — *Rapport sur le Programme Populations sources Maïs*. 2e partie. Etude de la base de données par ACP. Document INRA-PROMAIS.
- DERIEUX M., DARRIGRAND M., GALLAIS A., BARRIÈRE A., BLOC D., MONTALANT Y., 1987 — Estimation du progrès génétique réalisé chez le maïs grain en France entre 1950 et 1985. *Agronomie*, 7 : 1-11.
- DUFOUR P., 1991 — *Utilisation des RFLPs pour l'analyse de la variabilité chez le maïs*. Mémoire DEA « Ressources génétiques et Amélioration des Plantes », INA-PG, Univ. P.et M. Curie. Paris.
- DUVAL H., 1991 — *Programme Populations Sources Maïs*. Rapport de synthèse. Document INRA-PROMAIS.
- GALLAIS A., 1989 — *Théorie de la sélection en Amélioration des Plantes*. Masson Ed., Paris, 588 p.
- GARNIER P., 1992 — Thèse de Doctorat INA P-G : *Organisation de la variabilité génétique dans un ensemble populations de maïs à partir de données agromorphologiques et isozymiques*.
- GOLDSHALK E.B., LEE M., LAMKEY K.R., 1990 — Relationship of RFLPs to single-cross hybrid performance of maize. *Theor. Appl. Genet.*, 80 : 273-280
- LAVERGNE V., 1988 — *Variabilité entre populations de maïs. Approches biométrique et enzymatique*. Thèse de Doctorat INA-PG.
- LAVERGNE V., LEFORT-BUSON M., DAUDIN J.J. CHARCOSSET A., SAMPOUX J.P., GALLAIS A., 1991 — Genetic variability among populations of maize germplasm. 1. Comparative analysis of top-cross values and *per se* values of populations. *Maydica*, 36 : 227-236.
- LEFORT-BUSON M., LAVERGNE V., DAUDIN J.J. CHARCOSSET A., SAMPOUX J.P., GALLAIS A., 1991 — Genetic variability among populations of maize germplasm. 2. Enzymatic polymorphism and its relationship to quantitative trait diversity. *Maydica*, 36: 237-266.
- MELCHINGER H.E., MESSMER M.M., LEE M., WOODMAN W.L., LAMKEY K.R., 1991 Diversity and relationship among US maize inbreds revealed by RFLPs. *Crop Sci.*, 32 : 669-678.
- MICLO P., DESSELLE J.L., 1991 — *Rapport sur le Programme Populations Sources Maïs*. 1^{re} partie. Etude de la base de données par l'analyse de variance.
- RIMIERI P., 1990 — *Organisation de la variabilité de populations de maïs et intérêt pour l'amélioration du maïs fourrage*. Thèse de Doctorat de l'Univ. Paris-Sud.
- WARD J.H., 1963 — Hierarchical grouping to optimize an objective function. *J. Am. Stat. Assoc.*, 58 : 236-244.

Ressources génétiques et création variétale

Jean-Noël PLAGES *

Créer de nouvelles variétés, c'est rassembler dans un génotype ou quelques génotypes proches, des caractères dispersés dans plusieurs. Cette amélioration se fait de manière continue et cumulative. Sa vitesse d'évolution a été relativement lente lorsque le choix des plantes élites se faisait dans des populations sur la base d'une sélection **massale**, mais elle s'est accélérée de plus en plus grâce à la connaissance des lois de l'hérédité et maintenant grâce à la connaissance moléculaire des caractères.

Quelle que soit la technologie employée, la matière première de tout sélectionneur est et sera la diversité génétique. Inutile de dire que la conservation des gènes, donc des caractères, intéressera toujours le créateur de variétés.

En ce qui concerne les espèces potagères et florales, la conservation de génotypes s'est faite pendant de nombreuses années au travers des collections que chaque sélectionneur public ou privé a entretenues. Cet entretien a été facilité par le nombre important de variétés commercialisées. Ainsi, vers 1925, le livre « Les Plantes Potagères » de **Vilmorin** mentionne près de 1 000 variétés et plus de 200 espèces.

Avec la production de masse et ses contraintes, les listes se sont raccourcies. De même, l'évolution des coûts a obligé le sélectionneur à réduire ses collections de façon drastique. De ce fait, la conservation ne porte que sur des génotypes ayant un rapport relativement étroit avec les objectifs de création **variétale** dans un terme moyen à court.

Plusieurs exemples vont nous montrer, s'il en était besoin, la nécessité de conserver du matériel génétique diversifié. Il faut penser qu'en matière de potagères, l'introduction de techniques nouvelles a été lente et ce n'est guère que vers le milieu des années 50-60 qu'un certain nombre de sujets ont été abordés. Je les prendrai par grands thèmes :

1. La résistance aux parasites avec un exemple très largement analysé dans le monde entier. Il s'agit de la tomate. Là, les espèces de *Lycopersicon* et même quelques *Solanum* sauvages ont permis aux sélectionneurs de récupérer un grand nombre de gènes de résistance à des parasites fongiques, viraux, bactériens et même animaux (nématodes, insectes) (Tableau 1).

* Coordinateur de Recherche, Branche potagères et fleurs, Société **Limagrain**, 63720 Chappes, France.

Tableau 1 : Gènes de résistance chez *Lycopersicon* et *Solanum**Lycopersicon pimpinellifolium*

- *Cladosporium fulvum* : genes Cf-2, Cf-5, Cf-6 and Cf-9.
- *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*, pathotype 0 : gene I.
- *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*, pathotype 1 : gene I-2.
- *Phytophthora infestans* : gene Ph-2.
- *Pseudomonas solanacearum*.
- *Pseudomonas tomato*: gene Pt0.
- *Stemphylium* spp.: gene Sm.
- *Verticillium dahliae* : gene Ve.

Lycopersicon hirsutum

- Tobacco Mosaic Virus : gene Tm-1.
- *Cladosporium fulvum* : gene Cf-4.

Lycopersicon peruvianum

- *Cladosporium fulvum* : gene Cf-4.
- *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici* : one dominant gene.
- *Meloidogyne* spp.: gene Mi.
- *Pyrenochaeta lycopersici* : gene pyl.
- Tobacco Mosaic Virus : genes Tm-2 et Tm-22.

Lycopersicon pimpinellifolium

- high soluble solids content of the fruit.
- high fruit vitamin C content.
- resistance to high temperatures (growth, development and fruit setting at high temperatures).

Lycopersicon cheesmanii

- high soluble solids content of the fruit.
- resistance to salinity.

Lycopersicon hirsutum

- high beta-carotene (provitamin A) content of the fruit.
- resistance to low temperatures (germination and satisfactory pollen fertility at low temperatures)

Lycopersicon parviflorum

- sympodia with 2 leaves.

Lycopersicon chmielewskii

- high soluble solids content of the fruit.

Lycopersicon peruvianum

- high vitamin C content of the fruit.
- sympodia with 2 leaves.
- drought resistance (extensive roots).

Lycopersicon pennellii (= *S. pennellii*).

- drought resistance (leaf transpiration monitoring).

Solanum lycopersicoides

- resistance to low temperatures.

Le deuxième exemple est celui de la laitue pour la résistance à un champignon, *Bremia lactucae*. Les premières variétés résistantes ont fait appel aux gènes présents dans les anciennes variétés Gotte, Bourguignonne,

Sucrine, Hilde, etc. Mais, le nombre de races du parasite augmentant, nous avons fait appel aux espèces sauvages *Lactuca serriola*, *Lactuca virosa*, *Lactuca saligna* (Tableau 2).

Tableau 2 : Sources supposées de résistance au *Bremia lactucae* chez différents cultivars de laitue

Postulated R genes	Source	Lettuce type	First reference
1	Blondine	No information of origin, spring butterhead	Tjallingii & Rodenburg (1967)
2	Meikoningin	Winter forcing butterhead (1902)	Schultz & Röder (1938)
3, 4	Gotte à forcer types	French, winter forcing	Ogilvie (1944)
5	<i>L. serriola</i> PI 167150	Wild collection from Turkey	Zink (1973)
6	Grand Rapids	« Oak Leaf »	Verhoeff (1960)
7	Romaine blonde lente à monter	French, « Romaine »	Jagger & Chandler (1933)
8	<i>L. serriola</i> PI 91532	Wild collection from U.S.S.R.	Jagger & Whitaker (1940)
9	Bourguignonne grosse blonde d'hiver	French winter forcing butterhead	Jagger & Whitaker (1940)
10	Sucrine	Cos, 1880	Channon & Smith (1970)

Ces deux exemples montrent que l'on est amené à faire appel à du matériel végétal des centres d'origine des espèces, l'un en zone méso-américaine et andine, l'autre en zone européenne.

De même, en carottes, le développement rapide de variétés hybrides et la production intensive ont fait naître des sensibilités à différents parasites du sol. En étudiant les anciennes populations, on a pu mettre en évidence des tolérances de haut niveau. Ces caractéristiques sont en cours d'introduction dans les hybrides.

2. La recherche de plantes mâles stériles et de plantes **mainteneuses** de stérilité chez la carotte à la fin des années 60 par des laboratoires publics (INRA, Universités américaines) mais aussi par les sélectionneurs privés, est encore un exemple d'utilisation de la diversité génétique. En étudiant d'anciennes populations, on a pu retrouver d'autres origines de stérilité mâle et de mainteneurs. Mais, ce n'est pas seulement le cas pour la carotte, cela concerne beaucoup d'autres espèces comme haricot, chicorée, tomate, piment, oignon, poireau, radis...

3. Les qualités diverses et variées des produits comme la teneur en matière sèche, en vitamines, la coloration des fruits ou des racines, le comportement

aux hautes températures ou aux basses températures, la germination en conditions sous-optimales, la résistance à la montée à graines en conditions chaudes, le calibre des grains et des gousses sont autant de caractères provenant d'espèces sauvages ou de cultivars anciens (tomate, carotte, laitue, pois, haricot).

Mais les besoins du marché imposent aux sélectionneurs la création de variétés ayant un ensemble de caractéristiques au niveau le plus élevé. Le progrès génétique ne peut poursuivre son effet que si le brassage de gènes, donc le mélange de génotypes, est accru. D'où la nécessité pour le sélectionneur de créer des populations en constante amélioration, permettant l'introduction lente de génotypes éloignés, voire de type sauvage et en appliquant une sélection récurrente.

Ces méthodes de création de populations tampons, de populations sources, ne peuvent s'appliquer avec efficacité que si les génotypes les constituant sont disponibles et très divers. Il est vital, à une période où le gaspillage de génotypes s'intensifie et où le transfert de gènes ouvre de grandes possibilités d'amélioration, que la conservation du matériel génétique soit assurée dans de bonnes conditions pour répondre aux besoins futurs des sélectionneurs.

Dans les 25 dernières années, les critères de qualité organoleptique des produits n'ont pas eu l'importance qu'ils méritent d'avoir. Il faut que dans les 10 prochaines années, ils reviennent au niveau qui aurait dû être le leur. Nous avons maintenant des moyens d'analyses et de modifications qui permettent de rattraper les erreurs passées.

Mais, pour progresser, l'amélioration variétale a besoin de toujours plus de variabilité. C'est pour cette raison que le GIE Clause-Limagram a inscrit comme prioritaires les actions de conservation de génotypes en matière de tomate et de pèlargonium. D'autres espèces sont envisagées.

Comme une société ne peut seule réaliser ce programme, l'idée a été de construire un réseau avec un partage des tâches. Même si la mise en oeuvre de départ a été lente, nous entendons bien élargir le réseau afin de lui donner une assise européenne.

Bibliographie

- BANNEROT H., FOURY C, 1986 — Utilisation des ressources génétiques et création variétale. *BT!* **407**: 93-106.
- CRUTE I.R., JOHNSON A.G, 1976 — The genetic relationship between races of *Bremia lactucae* and cultivars of *L. sativa*. *Am. appl. Biol.*, **83**: 125-127.
- LATERROT H, 1989 — Intérêt et utilisation des espèces sauvages pour la création variétale. *PHM revue horticole*: 13-17.
- RICK C.M, 1986 — Germplasm resources in the Wild tomato species. *Acta Horticulturae*, **190**: 39-47.

L'importance de la double domestication pour l'amélioration du haricot commun (*Phaseolus vulgaris* L.)

Hubert BANNEROT * et Daniel DEBOUCK **

Résumé : De fortes différences ont depuis longtemps été observées entre haricots cultivés **méséoaméricains** et andins. Elles portent sur de nombreux caractères morphologiques, plusieurs systèmes enzymatiques, les **phaséolines**, les ADN **mitochondriaux**. Il a été montré récemment qu'on retrouvait exactement les mêmes phénotypes chez les formes sauvages de ces régions : la domestication s'est donc faite sur place. La variabilité des formes sauvages est beaucoup plus forte que celle des formes cultivées, des profils originaux sont fréquents, la domestication n'a donc touché qu'une partie du matériel sauvage. Une confirmation est fournie par la découverte de résistances aux deux espèces de **bruches** du haricot chez certaines populations sauvages du Mexique, un centre primaire probable. La différence entre les deux grands groupes (**méséoaméricain** et andin) est également confirmée par leur forte distance génétique, à l'origine d'un fort effet d'**hétérosis** et même de barrières génétiques (stérilité, F1 nécrotiques, absence de recombinaisons). Une plus grande attention doit donc être portée à la collecte et à l'étude des formes sauvages qui ne sont encore que très peu représentées dans les collections.

Mots-clés : *Phaseolus*, variabilité, **phaséoline**, **isoenzymes**, ADN **mitochondrial**, domestication, effet de fondation, résistances, **hétérosis**.

Abstract : This paper reviews different evidence showing that the variability in the cultivated common bean is organized into two major gene pools, probably tracing back to at least two independent domestication events. Recent analyses of **mtDNA** point out the zones of southern Peru and Bolivia, and Guatemala on the other hand, as other places of possible domestication. Analyses with biochemical and molecular markers have demonstrated a significant reduction of diversity upon domestication (founder effect). It seems that just small parts of the total range of wild forms have been affected by domestication ; confirmation of this is shown by the resistance to **bruchids**, where resistance sources have been found only in certain Mexican wild populations. It seems also that the domesticated groups have locally evolved for some time, resulting in genetic

* Institut National de la Recherche Agronomique, **Centre de Recherches de Versailles**,
Route de Saint-Cyr, F 78026 Versailles Cedex, France.

** **International Board for Plant Genetic Resources**, Research Programme, Via delle **Sette Chiese** 142, 00145 Roma, Italie.

isolation (breakdown in **F1**, lack of recombination) and co-evolution with associated **symbionts**. These facts are discussed in view of better management and use of plant genetic resources of that crop, including different breeding strategies.

Key words : *Phaseolus*, genetic variability, phaseolin, isoenzymes, mitochondrial DNA, domestication, founder effect, bruchid resistance, heterosis.

Introduction

Comme pour d'autres plantes cultivées (maïs, pomme de terre, riz), la connaissance que nous avons de l'origine et de la domestication du haricot commun (*Phaseolus vulgaris* L.), sans être encore parfaite, a fortement progressé au cours des dernières décennies. Deux éléments d'information ont été décisifs : la récolte plus systématique de matériel de formes cultivées (en particulier les variétés primitives) et surtout sauvages dans les aires d'origine (régions tropicales et subtropicales des Amériques), et la mise au point et l'utilisation de marqueurs biochimiques et moléculaires. Ces éléments seront brièvement présentés ci-après. Nous discuterons ensuite une série de conséquences de ces observations, pour l'exploration ultérieure et la gestion des ressources génétiques de cette espèce, ainsi que pour l'amélioration génétique. Nous exposerons enfin les questions en suspens et dignes de recherches ultérieures.

Résultats

L'apport des collectes récentes : la distribution des formes sauvages

La forme sauvage du haricot commun a été découverte, semble-t-il en premier lieu, en Argentine (Burkart, 1941) et peu après au Guatemala (McBryde, 1945). D'autres prospections au Mexique (Miranda Colin, 1967 ; Gentry, 1969) et dans les Andes (Berglund-Brücher et Brücher, 1976 ; Brücher, 1988) ont progressivement révélé l'existence d'autres populations. Plus récemment, la forme sauvage a aussi été trouvée au Costa Rica (Debouck *et al.*, 1989a) et en Equateur (Debouck *et al.*, 1989b). Toro *et al.* (1990) ont présenté une synthèse des résultats à propos de cette distribution.

On constate ainsi que la forme sauvage de *P. vulgaris* est distribuée sur quelques 5 000 km, depuis le Chihuahua au Mexique (28° lat. N) jusqu'au San Luis en Argentine (32° lat. S), généralement entre 1 000 et 2 400 m d'altitude, dans les régions montagneuses occidentales du continent. On peut noter quelques ruptures dans cette distribution presque continue, et ainsi identifier sept grandes zones : une zone couvrant le Centre-Ouest mexicain depuis Chihuahua jusqu'au Oaxaca ; une zone englobant le Chiapas, le

Guatémala, des parties du Honduras, du Salvador jusqu'au Nord-Ouest du Nicaragua ; une zone comprenant le centre du Costa Rica et peut-être le Chiriqui au Panama ; une zone s'étendant du Mérida au **Vénézuéla** jusqu'au **Cundinamarca** en Colombie ; une zone incluant le Chimborazo en **Equateur** jusqu'au Cajamarca au Pérou ; une zone s'étendant du Junin au Pérou jusqu'au Catamarca en Argentine en passant par la Bolivie ; enfin une zone comprenant la Sierra de Cordoba en Argentine. Dans les Andes, on retiendra que la distribution commence au Nord sur le versant oriental (**Vénézuéla**, Colombie), puis passe sur la façade occidentale des Andes (**Equateur**, Nord péruvien), et se termine à nouveau sur le versant oriental.

Si l'on observe les extrêmes de cette distribution, les différences morphologiques sont manifestes ; on consultera Delgado Salinas *et al.* (1988) pour la description de la forme mexicaine, et Brücher (1988) pour celle d'Argentine. Pour les populations situées aux latitudes intermédiaires, ces différences sont moins nettes (Debouck et Tohme, 1989). Cette situation, comme l'existence d'un complexe de formes biologiques intermédiaires entre les sauvages vrais et les formes cultivées (Debouck *et al.*, 1989d) sur lequel nous reviendrons plus loin, nous ont amené à ne pas reconnaître de diagnose et nomenclature formelles (Debouck, 1991) comme suggéré par ailleurs (Delgado Salinas *et al.*, 1988). On retiendra cependant que les formes sauvages **mésaméricaines** présentent le plus souvent en moyenne des graines plus petites que celles des Andes du Sud (Delgado Salinas *et al.*, 1988 ; Debouck et Tohme, 1989). Des différences existent encore au plan physiologique, notamment au niveau de la réaction photopériodique (Brücher, 1988 ; Debouck et Tohme, 1989) et au niveau du métabolisme photosynthétique (Lynch *et al.*, 1989).

Ces différences au plan morpho-physiologique, ainsi que la distribution des formes sauvages, nous amènent à poser les questions suivantes :

- Y a-t-il deux grands groupes de formes sauvages, l'un **mésaméricain** et l'autre andin, ou plus de deux ?
- Quelle est la signification du groupe équatorien-nord péruvien ? S'agit-il d'une distribution **relictuelle** ou d'un groupe résultant d'**introgression** au contact des deux autres grands groupes ?
- Où la variabilité des formes sauvages est-elle la plus grande ? Et quelles sont les causes de cette plus grande variabilité ?

Les études récentes au moyen de marqueurs biochimiques et moléculaires sur les formes sauvages répondent en partie à ces questions.

L'apport des études biochimiques et moléculaires sur les formes sauvages

Concluant une étude sur les protéines de réserve chez des variétés américaines de haricot sur laquelle nous reviendrons, Brown *et al.* (1982) notent que « modern cultivars have arisen by domestication of two different wild *P. vulgaris* populations ». Ce faisant, ils ont révélé le polymorphisme que présente en électrophorèse **SDS-PAGE** la fraction **protéinique** majeure encore appelée **phaséoline** (voir aussi les synthèses de Brown *et al.*, 1981 ; Osborn, 1988). Le polymorphisme trouvé chez les formes cultivées se retrouve aussi chez les formes sauvages (Romero-Andreas et Bliss, 1985). La forte variabilité moléculaire de la **phaséoline** aisément identifiable en **SDS-PAGE** (et

deux attributs des formes sauvages, mode de dispersion des semences et présence de facteurs **antinutritionnels**) en fait un excellent marqueur évolutif. L'étude de la variabilité de la **phaséoline** des formes sauvages de haricot commun (Debouck et Tohme, 1989 ; Gepts *et al.*, 1986 ; Gepts et Bliss, 1986 ; Koenig *et al.*, 1990 ; Toro *et al.*, 1990) va effectivement révéler un grand polymorphisme : pas moins de 29 types de **phaséoline** ont été décrits, lié chacun à une zone géographique (voir aussi Tableau 1).

On pouvait se demander si de telles différences se vérifieraient en explorant une fraction plus importante du génome, non liée à la **phaséoline**. L'étude **d'allozymes** non liés génétiquement à la **phaséoline** (Koenig et Gepts, 1989b) a confirmé l'existence de deux grands pools géniques chez les formes sauvages (Koenig et Gepts, 1989a). Ces derniers auteurs ont de plus montré que les formes existant dans le Nord péruvien et en **Equateur** (Debouck, 1990a) présentaient des allèles à la fois communs à la **Mésomérique** et aux Andes du Sud, suggérant une transition entre ces deux zones.

Une étude récente sur le **mtDNA** (Khairallah *et al.*, 1991) apporte des précisions supplémentaires :

- une bonne similitude existe entre toutes les formes sauvages testées, confirmant qu'il n'y a probablement pas lieu de reconnaître des entités au rang **infraspécifique** ;
- les formes sauvages du **Guatemala** seraient distinctes de celles du Centre-Ouest mexicain si bien que le pool génique **mésoméricain** n'est pas homogène ;
- les formes sauvages du Cajamarca présentent une diversité unique, plus élevée que partout ailleurs ;
- les formes sauvages du Cuzco sont très semblables à celles du Cochabamba.

Il faut insister sur le fait que trop peu de populations sauvages ont été étudiées jusqu'à présent. On notera cependant une variabilité plus importante des formes sauvages dans le Centre-Ouest mexicain, le **Guatemala** et surtout le Nord-Ouest péruvien. Sur la base des résultats disponibles, il n'est donc pas sûr qu'il y ait seulement deux grands groupes de formes sauvages. Même si une origine commune à toutes les formes sauvages est probablement indiscutable, on peut envisager une différenciation des populations au fur et à mesure de la colonisation de nouvelles niches écologiques, aboutissant à la variabilité observée aujourd'hui. Comment interpréter cette variabilité ? Dans le Centre-Ouest mexicain et le **Guatemala**, on peut avancer entre autres l'hypothèse d'hybridations passées avec le complexe de *P. coccineus*, comme suite à certaines études sur les protéines de réserve (Lioi et Hammer, 1989) et enzymes (Wall et Wall, 1975). Or le complexe de *P. coccineus* est absent dans le Nord-Ouest péruvien (Debouck, 1986) ; il n'est donc pas certain que la variabilité, là-bas plus élevée, soit le résultat **d'introgression**. La situation en **Equateur** et dans le Nord péruvien mérite encore d'être étudiée plus avant, et il n'est pas sûr, comme cela est souvent avancé, que le centre primaire de l'espèce soit l'Ouest mexicain.

L'apport des études biochimiques et moléculaires sur les formes cultivées

L'étude de Brown *et al.* (1982) avait montré une nette séparation au niveau de la **phaséoline** entre deux groupes de variétés américaines : les 'navy beans' montrant une **phaséoline** S et les 'kidney' et plusieurs 'snap

beans' montrant deux **phaséolines**, C et T. Ces conclusions ont été étendues par une étude comparée de formes sauvages et de variétés traditionnelles d'Amérique latine (Gepts *et al.*, 1986 ; Gepts et Bliss, 1986) : les cultivars à plus petites graines et **phaséoline S** semblent bien être d'origine **mésaméricaine**, alors que les cultivars à plus grosses graines proviendraient des Andes (voir aussi Tableau 1). On observe aussi qu'un certain nombre de types de **phaséoline** se retrouve uniquement chez les formes sauvages et qu'ils sont différents suivant que l'on considère la **Mésamérique** ou les Andes. Ces résultats confirment donc l'hypothèse d'une double domestication indépendante avancée par certains auteurs (Evans, 1976 ; Heiser, 1965) sur la seule base de considérations morphologiques et archéologiques. Confirmation de cette double domestication indépendante a encore été obtenue sur **allozymes** (Sprecher, 1988) et sur le **mtDNA** (Khairallah *et al.*, 1990). C'est cette double domestication qui explique l'organisation de base de la variabilité chez cette espèce en deux grands pools géniques comme révélée par d'autres études (Evans, 1976 ; Martin et Adams, 1987). A ce stade, deux questions méritent d'être posées :

—Y a-t-il eu seulement deux domestications à partir de deux populations sauvages ancestrales différentes, l'une en **Mésamérique**, l'autre dans les Andes ?

—S'agit-il d'événements passés et uniques ? ou bien d'événements plus récents et répétitifs ?

Des différences observées entre certains groupes de variétés cultivées (Singh *et al.*, 1989) au sein de chacun des grands pools géniques suggèrent sinon des domestications multiples, au moins des pressions de sélection diverses appliquées précocement. La distribution des **phaséolines** dans les Andes (Vargas *et al.*, 1990) incite à envisager plus d'une domestication pour cette région.

Tableau 1 : Types de **phaséolines** rapportées à ce jour pour les formes sauvages et cultivées traditionnelles de *P. vulgaris*

Régions	Formes sauvages	Formes cultivées	Source
Mésamérique Mexique Guatemala	S, M (1 à 18), Sd S, M7, M13, M14, Ch	S, Sd, T* S, B	1,2,3 1,2,3
Costa Rica	M1	S, B	3,1,2
Andes du Nord Colombie Equateur Pérou	B, Ch I I	S, T, C, B S, T, C S*, T, C, H	4,3 3,1 1,2,3
Andes du Sud Pérou Bolivie Argentine	T, C, H T, To, Ta T, C, H, J	S*, T, C, H, A S*, T, C T, H	1,3 3,1 1,2

* Probablement introduit en période historique ; se reporter aux publications originales.

Sources : 1 : Gepts *et al.*, 1986 ; 2 : Koenig *et al.*, 1990 ; 3 : Toro *et al.*, 1990 ; 4 : Gepts et Bliss, 1986.

L'analyse du mtDNA (Khairallah *et al.*, 1991), sur un nombre trop réduit de formes cultivées, a montré que la région du Cuzco-Cochabamba était certainement une région de domestication. De plus la présence de **phaséoline Sd** dans des formes sauvages au Durango (Toro *et al.*, 1990), préalablement rapportée pour des variétés anciennes de cette région, relance la possibilité d'une autre domestication au Mexique, à côté de la région de Jalisco-Guanajuato (Gepts, 1984). De même, la bonne correspondance entre le mtDNA de formes sauvages du Guatemala et celui de certain matériel cultivé mésoaméricain (Khairallah *et al.*, 1991) laisse supposer une domestication dans cette dernière région. Il est donc probable au vu des résultats disponibles qu'il y a eu plus de deux domestications.

Les données archéologiques (Kaplan, 1981 ; Kaplan et Kaplan, 1988) font état d'une domestication au moins aussi ancienne dans les Andes qu'en **Mésoamérique** ; la date d'au moins 5 000 ans avant notre ère pourrait être avancée. On pourrait penser à une domestication passée, et de fait comme l'observait Ladizinsky (Ladizinsky, 1985), on conçoit difficilement qu'une fois les premiers résultats de la domestication durement acquis (toxicité des graines !), les agriculteurs soient retournés de façon répétée aux formes sauvages. Toutefois la consommation assez répandue de celles-ci (Debouck, 1990b), encore de nos jours, montre que d'une certaine façon la domestication à partir de formes sauvages a continué de façon sporadique, par exemple sous la forme de collectes lors de disettes, ou de l'incorporation de formes **sauvageoïdes** dans les mélanges de variétés primitives (Debouck *et al.*, 1989c), et continue encore aujourd'hui. Cette incorporation, parce qu'elle permet d'élargir la base génétique et peut-être la diversité cytoplasmique, notamment dans un contexte d'agriculture itinérante, mérite d'être étudiée davantage, comme le reconnaissaient aussi Pernès et Lourd (1984). La bienveillance des agriculteurs vis-à-vis des formes **sauvageoïdes** dans leurs champs a également été observée pour le mil (Pernès *et al.*, 1984), le maïs (Wilkes, 1977), la pomme de terre (Hawkes, 1990).

Discussion

Conséquences pour la conservation, la valorisation des ressources génétiques et l'amélioration des plantes

Deux éléments méritent à notre sens d'être discutés ici : l'effet de fondation et le phénomène de co-évolution.

L'emploi des marqueurs biochimiques et moléculaires a montré de façon indiscutable un très net effet de fondation : la domestication a « réduit » la diversité, laissant supposer que les domestications initiales ont été des événements locaux. Une grande et probablement la plus grande fraction de la distribution des formes sauvages de *P. vulgaris* n'a pas été touchée par la domestication, et pas forcément du fait de la présence de caractères particulièrement défavorables liés à certaines populations sauvages. Cet effet de fondation ne semble pas uniquement le propre de l'espèce *P. vulgaris*, car il a aussi été observé chez trois autres espèces de haricot

(*P. lunatus* : Maquet *et al.*, 1990 ; *P. polyanthus* : Schmit et Debouck, 1991 ; et *P. acutifolius* : Schinkel et Gepts, 1988). Toutefois, la caractérisation biochimique et moléculaire des formes sauvages et cultivées primitives mérite d'être poursuivie. On ne connaît pas encore assez l'ampleur de l'effet de fondation, ni ses variations régionales, car il n'est pas dit que ce phénomène a connu la même ampleur dans les différents centres de domestication. L'effort entrepris pour la collecte des formes sauvages et *sauvageoïdes*, dont le résultat est l'entrée dans la collection mondiale de 838 formes représentant 547 sites différents à travers l'Amérique tropicale (pour 35, 456 lignées de *P. vulgaris* cultivé : Toro *et al.*, 1990), mérite d'être poursuivi.

Un exemple de cet effet de fondation et de ses conséquences nous est fourni par la résistance aux deux *bruches* du haricot des genres *Acanthoscelides* et surtout *Zabrotes*. L'évaluation de plus de 4 000 introductions de *P. vulgaris* cultivé n'a pas permis de trouver de résistance (Schoonhoven et Cardona, 1982), tandis que l'évaluation de 210 formes sauvages provenant d'une cinquantaine de sites du Mexique a permis de trouver une douzaine de formes très résistantes (Schoonhoven *et al.*, 1983). Une étude ultérieure a montré qu'une lectine, baptisée par la suite *arcéline* (Osborn *et al.*, 1986), est responsable d'un phénomène d'antibiose pour la *bruche Zabrotes* (Cardona *et al.*, 1990). Cette protéine se trouve en faible proportion dans certaines populations sauvages de *P. vulgaris* au Mexique, notamment au Guerrero (Osborn *et al.*, 1986). Cette protéine faisant partie de la variation naturelle de l'espèce n'est probablement pas nécessaire à la survie des populations sauvages de *P. vulgaris*, et s'il n'y a pas eu de domestication au Guerrero (voir les résultats sur le *mtDNA* : Khairallah *et al.*, 1991), la résistance aux *bruches* n'avait aucune chance d'avoir été incorporée dans le pool génique cultivé de l'espèce. A la lumière de ces résultats, on devrait sans doute penser différemment l'évaluation des formes sauvages et cultivées de *P. vulgaris*, un peu suivant les orientations suggérées par Toro *et al.* (1990).

Ainsi, il y a tout lieu de penser que la domestication des haricots s'est faite sur place et qu'un long temps s'est écoulé avant que des échanges locaux et régionaux ne s'opèrent en Amérique précolombienne. En compilant les sources archéologiques (voir Kaplan et Kaplan, 1988, pour une revue), on peut même envisager que la première moitié de l'histoire de la culture s'est déroulée avec des échanges très limités. Dans ces conditions, et sous les pressions spécifiques de la part des premiers agriculteurs et des différents milieux, certaines races auraient pu se former (Singh *et al.*, 1989) qu'auraient renforcé les croisements avec les formes sauvages *sympatriques* (Debouck *et al.*, 1989d). Les taux d'*allogamie* étant loin d'être négligeables dans cette espèce (Debouck et Tohme, 1989 ; Ibarra-Perez et Waines, 1991 ; Wells *et al.*, 1988), de tels croisements sont envisageables et auront contribué à la formations de groupes distincts, comme ceux du Durango ou du Chili (Singh *et al.*, 1991b ; Singh *et al.*, 1991a ; Singh *et al.*, 1991). A cet égard, il reste beaucoup à faire, et à inclure plus de variétés traditionnelles dans les études (il convient de se souvenir que les fréquences observées aujourd'hui pour celles-ci ne reflètent pas nécessairement la situation aux origines).

Cette longue évolution sur place des variétés primitives a en outre contribué à les isoler génétiquement (Debouck et Tohme, 1989 ; Gepts et Bliss, 1985 ; Singh et Gutiérrez, 1984). Mais cet isolement ne se traduit pas toujours par des effets négatifs ou par l'absence de recombinaisons dans les

descendances des croisements entre origines différentes. Ce serait une bonne base pour l'exploitation future de la vigueur hybride (Bannerot, 1989). La formation de pools géniques et peut-être de races se reflète aussi au niveau des maladies et symbiontes associés au haricot (Debouck et Tohme, 1989 ; Gepts, 1988 ; Pernès et Lourd, 1984), encore que plusieurs aspects méritent d'être documentés davantage. Si ces premiers résultats se confirment, on réalise tout de suite l'importance de pouvoir déterminer l'origine géographique (d'où l'importance des formes sauvages comme marqueurs géographiques) ou la généalogie d'une variété cultivée, afin de la placer dans un contexte de symbiontes plus favorable. De même, l'évaluation des collections pourrait alors gagner en efficacité. Que ce soit pour une meilleure sélection de variétés adaptées aux terroirs, ou afin de mieux tirer profit des interactions noyau-cytoplasme en croisement, beaucoup de ces aspects de co-évolution et de subdivisions au sein des grands pools géniques doivent être étudiés plus à fond.

Conclusion

Bien que la représentation des variétés primitives et des formes sauvages de *Phaseolus vulgaris* L. dans les collections soit encore loin d'être complète, et que l'analyse de ces deux groupes de matériels au moyen de marqueurs moléculaires ait seulement commencé, on dispose cependant de résultats suffisamment indicatifs pour proposer deux, sinon plusieurs domestications indépendantes pour cette espèce dans les Amériques précolombiennes. Il apparaît aussi que seulement une petite fraction de l'ensemble des populations sauvages a été touchée par la domestication, mais pas de la même façon dans les différentes régions de domestication. Les potentialités des formes sauvages ancestrales et l'isolement géographique de celles-ci au cours de la domestication ont conduit à la formation de pools géniques distincts de variétés primitives, probablement aussi chez leurs symbiontes. Certains pools présentent en croisement des barrières d'incompatibilité ou un net hétérosis. Ces effets doivent être étudiés pour permettre leur exploitation agronomique.

Remerciements

Ce travail a bénéficié de la collaboration efficace des programmes nationaux des pays visités pour les prospections en Amérique latine. Nous remercions vivement l'International Board for Plant Genetic Resources et le Centro Internacional de Agricultura Tropical pour leur appui à l'un de nous (D. Debouck). Nous remercions Asha Mulchan pour son aide à la préparation du manuscrit.

Bibliographie

- BANNEROT H., 1989 The potential of hybrid beans. In *Current topics in breeding of common bean*. Edited by Beebe, S. Centro Internacional de Agricultura Tropical, Bean Program, Working Document No. 47, 438 p., Cali, Colombia, pp. 111-134.

- BERGLUND-BRUCHER O. and BRUCHER H.**, 1976 — The south American wild bean (*Phaseolus aborigineus* Burk.) as ancestor of the common bean. *Econ. Bot.*, 30: 257-272.
- BROWN J.W.S., MA Y., BLISS F.A. and HALL T.C.**, 1981 Genetic variation in the subunits of globulin-1 storage protein of French bean. *Theor. Appl. Genet.*, 59 : 83-88.
- BROWN J.W.S., McFERSON J.R., BLISS F.A. and HALL T.C.**, 1982 — Genetic divergence among commercial classes of *Phaseolus vulgaris* in relation to phaseolin pattern. *Hort. Science*, 17 : 752-754.
- BRUCHER H.**, 1988 — The wild ancestor of *Phaseolus vulgaris* in South America. In *Genetic resources of Phaseolus beans*. Edited by Gepts, P. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, Holland, pp. 185-214.
- BURKART A.**, 1941 — Sobre la existencia de razas silvestres de *Phaseolus vulgaris* y *Phaseolus lunatus*. In *Primera Reunión Argentina de Agronomía*. Edited by Buenos Aires, Argentina, pp. 52.
- CARDONA C., KORNEGAY J., POSSO C.E., MORALES F. and RAMIREZ H.**, 1990 Comparative value of four *arcelin* variants in the development of dry bean lines resistant to the Mexican bean weevil. *Entomol. Exp. Appl.*, 56: 197-206.
- DEBOUCK D.G.**, 1986 Primary diversification of *Phaseolus* in America : three centers ? *FAO/IBPGR Plant Genet. Resources Newsl.*, 67 : 2-8.
- DEBOUCK D.G.**, 1990a *Collecting Phaseolus germplasm in Ecuador*. International Board for Plant Genetic Resources, Rome, Italy, Mimeographed, 90/77, 18p.
- DEBOUCK D.G.**, 1990b Wild beans as a food resource in the Andes. *Annu. Rept. Bean Improvement Coop.*, 33 : 102-103.
- DEBOUCK D.G.**, 1991 — Systematics and morphology. In *Common beans : research for crop improvement*. Edited by van Schoonhoven, A. and Voysesst Voysesst, O. Commonwealth Agricultural Bureaux International, Wallingford, United Kingdom, pp. 55-118.
- DEBOUCK D.G., ARRAYA VILLALOBOS R., OCAMPO SANCHEZ R.A. and GONZALEZ UGALDE W.G.**, 1989a — Collecting *Phaseolus* in Costa Rica. *FAO/IBPGR Plant Genet. Resources Newsl.*, 78/79: 44-46.
- DEBOUCK D.G., CASTILLO R. and TOHME J.**, 1989b Observations on little known *Phaseolus* germplasm of Ecuador. *FAO/IBPGR Plant Genet. Resources Newsl.*, 80 : 15-21.
- DEBOUCK D.G., GAMARRA FLORES M., ORTIZ ARRIOLA V. and TOHME J.**, 1989c — Presence of a wild-weed-crop complex in *Phaseolus vulgaris* L. in Peru ? *Annu. Rept Bean Improvement Coop.*, 32 : 64-65.
- DEBOUCK D.G. and TOHME J.**, 1989 — Implications for bean breeders of studies on the origins of common beans, *Phaseolus vulgaris* L. In *Current topics in breeding of common bean*. Edited by Beebe, S. Bean Program, Centro Internacional de Agricultura Tropical, Cali, Colombia, pp. 3-42.
- DELGADO SALINAS A., BONET A. and GEPTS P.**, 1988 — The wild relative of *Phaseolus vulgaris* in Middle America. In *Genetic resources of Phaseolus beans*. Edited by Gepts, P. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, Holland, pp. 163-184.
- EVANS A.M.**, 1976 — Beans *Phaseolus* spp. (Leguminosae Papilionatae). In *Evolution of crop plants*. Edited by Simmonds, N. W. Longman, London, United Kingdom, pp. 168-172.
- GENTRY H.S.**, 1969 — Origin of the common bean, *Phaseolus vulgaris*. *Econ. Bot.*, 23 : 55-69.

- GEPTS P., 1984 — Nutritional and evolutionary implications of **phaseolin** seed protein variability in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). Madison, Wisconsin, USA, PhD.
- GEPTS P., 1988 — A middle American and an Andean common bean gene pool. *In* Genetic Resources of **Phaseolus** Beans. Edited by Gepts, P. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, Holland, pp. 375-390.
- GEPTS P. and BLISS F.A., 1985 — F1 hybrid weakness in the common bean — Differential geographic origin suggests two gene pools in cultivated bean germplasm. *J. Hered.*, 76 : 447-450.
- GEPTS P. and BLISS F.A., 1986 — **Phaseolin** variability among wild and cultivated common beans (*Phaseolus vulgaris*) from Colombia. *Econ. Bot.*, 40: 469-478.
- GEPTS P., OSBORN T.C., RAKSHA K. and BLISS F.A., 1986 — **Phaseolin** protein variability in wild forms and **landraces** of the common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) : evidence for multiple centers of domestication. *Econ. Bot.*, 40 : 451-468.
- HAWKES J.G., 1990 — *The potato — Evolution, biodiversity and genetic resources*. Belhaven Press, London, United Kingdom, 259p.
- HEISER C.B., 1965 — Cultivated plants and cultural diffusion in nuclear America. *Amer. Anthropol.*, 67 : 930-949.
- IBARRA-PEREZ F. and WAINES G., 1991 — Natural **outcrossing** of bean cultivars. *Annu. Rept. Bean Improvement Coop.*, 34: 125-126.
- KAPLAN L., 1981 — What is the origin of the common bean ? *Econ. Bot.*, 35 : 240-254.
- KAPLAN L. and KAPLAN L.N., 1988 — *Phaseolus* in archaeology. *In* Genetic resources of *Phaseolus* beans. Edited by Gepts P. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, Holland, pp. 125-142.
- KHAIRALLAH M.M., ADAMS M.W. and SEARS B.B., 1990 — **Mitochondrial DNA polymorphisms** of Malawian bean lines : further evidence for two major gene pools. *Theor. Appl. Genet.*, 80 : 753-761.
- KHAIRALLAH M.M., SEARS B.B. and ADAMS M.W., 1991 — **Mitochondrial restriction fragment length polymorphisms** in wild *Phaseolus vulgaris* L. *Annu. Rept. Bean Improvement Coop.*, 34: 139-140.
- KOENIG R. and GEPTS P., 1989a — **Allozyme** diversity in wild *Phaseolus vulgaris* : further evidence for two major centers of genetic diversity. *Theor. Appl. Genet.*, 78 : 809-817.
- KOENIG R. and GEPTS P., 1989b — Segregation and linkage of genes for seed proteins, **isozymes**, and morphological traits in common bean (*Phaseolus vulgaris*). *J. Hered.*, 80 : 455-459.
- KOENIG R.L., SINGH S.P. and GEPTS P., 1990 — Novel **phaseolin** types in wild and cultivated common bean (*Phaseolus vulgaris*, Fabaceae). *Econ. Bot.*, 44: 50-60.
- LADIZINSKY G., 1985 — Founder effect in crop-plant evolution. *Econ. Bot.*, 39: 191-199.
- LIOI L. and HAMMER K., 1989 — A wild race of *Phaseolus vulgaris* L. as a new source of **phaseolin** variation. *Kulturpflanze*, 37: 129-132.
- LYNCH J., GONZALEZ A. and TOHME J., 1989 — Characters related to leaf photosynthesis in wild bean. *Agron. Abstr.*, 81 : 116.
- MAQUET A., GUTIERREZ A. and DEBOUCK D.G., 1990 — Further biochemical evidence for the existence of two gene pools in lima beans. *Annu. Rept. Bean Improvement Coop.*, 33 : 128-129.

- MARTIN G.B. and ADAMS M.W., 1987 — Landraces of *Phaseolus vulgaris* (Fabaceae) in northern Malawi. 1. Regional variation. *Econ. Bot.*, 41 : 190-203.
- McBRYDE F.W., 1945 — Cultural and historical geography of southwest Guatemala. *Smithsonian Inst. Publ.*, 4: 1-184.
- MIRANDA COLIN S., 1967 — Origen de *Phaseolus vulgaris* L. (Frijol común). *Agrociencia*, 1: 99-109.
- OSBORN T.C., 1988 — Genetic control of bean seed protein. *CRC Crit. Rev. Plant Sci.*, 7 : 93-116.
- OSBORN T.C., BLAKE T., GEPTS P. and BLISS F.A., 1986 — Bean arcelin. 2. Genetic variation, inheritance and linkage relationships of a novel seed protein of *Phaseolus vulgaris* L.. *Theor. Appl. Genet.*, 71 : 847-855.
- PERNÈS J., COMBES D. and LEBLANC J.M., 1984 — Le mil. In *Gestion des ressources génétiques des plantes*. Tome 1 : monographies. Edited by Pernès, J. Agence de Coopération Culturelle et Technique, Paris, France, pp. 157-197.
- PERNÈS J. and LOURD M., 1984 — Organisation des complexes d'espèces. In *Gestion des ressources génétiques des plantes*. Tome 2 : Manuel. Edited by Pernès, J. Agence de Coopération Culturelle et Technique, Paris, France, pp. 5-106.
- ROMERO-ANDREAS J. and BLISS F.A., 1985 — Heritable variation in the phaseolin protein of nondomesticated common bean, *Phaseolus vulgaris* L. *Theor. Appl. Genet.*, 71 : 478-480.
- SCHINKEL C. and GEPTS P., 1988 — Phaseolin diversity in the tepary bean, *Phaseolus acutifolius* A. Gray. *Plant Breeding*, 101 : 292-301.
- SCHMIT V. and DEBOUCK D.G., 1991. Observations on the origin of *Phaseolus polyanthus* Greenman. *Econ. Bot.*, 45: 345-364.
- SCHOONHOVEN A.V. and CARDONA C., 1982 — Low levels of resistance to the Mexican bean weevil in dry beans. *J. Econ. Entomol.*, 75 : 567-569.
- SCHOONHOVEN A.V., CARDONA C. and VALOR J. 1983 — Resistance to the bean weevil and the Mexican bean weevil (*Coleoptera* : *Bruchidae*) in non cultivated common bean accessions. *J. Econ. Entomol.*, 76: 1255-1259.
- SINGH S.P., DEBOUCK D.G., and GEPTS P., 1989 — Races of common bean, *Phaseolus vulgaris* L. In *Current topics in breeding of common bean*. Edited by Beebe, S. Centro Internacional de Agricultura Tropical, Bean Program, Working Document No. 47, Cali, Colombia, pp. 75-89.
- SINGH S.P., GEPTS P.L. and DEBOUCK D.G., 1991 — Races of common bean (*Phaseolus vulgaris*, Fabaceae). *Econ. Bot.*, 45 : 379-396.
- SINGH S.P. and GUTIÉRREZ A., 1984 — Geographical distribution of the DL1 and DL2 genes causing hybrid dwarfism in *Phaseolus vulgaris* L., their association with seed size, and their significance to breeding. *Euphytica*, 33 : 337-345.
- SINGH S.P., GUTIERREZ J.A., MOLINA A., URREA C. and GEPTS P., 1991a Genetic diversity in cultivated common bean : II. Marker-based analysis of morphological and agronomic traits. *Crop Sci.*, 31 : 23-29.
- SINGH S.P., NODARI R. and GEPTS P., 1991b — Genetic diversity in cultivated common bean : I. Allozymes. *Crop Sci.*, 31 : 19-23.
- SPRECHER S.L., 1988 — *Allozyme differentiation between gene pools in common bean (Phaseolus vulgaris L.), with special reference to Malawian germplasm*. Michigan State University, East Lansing, Michigan, USA, PhD, 207 p.
- TORO O., TOHME J. and DEBOUCK D.G., 1990 — *Wild bean (Phaseolus vulgaris L.) : description and distribution*. International Board for Plant Genetic Resources and Centro Internacional de Agricultura Tropical, Cali, Colombia, 106 p.

- VARGAS J., TOHME J. and DEBOUCK D.G., 1990 — Common bean domestication in the southern Andes. *Annu. Rept. Bean Improvement Coop.*, 33 : 104-105.
- WALL J.R. and WALL S.W., 1975 — Isozyme polymorphisms in the study of evolution in the *Phaseolus vulgaris* — *P. coccineus* complex in Mexico. In *Isozymes*. Edited by Markert, C. L. Academic Press, New York, pp. 287-305.
- WELLS W.C., ISOM W.H. and WAINES J.G., 1988 — Outcrossing rates of six common bean lines. *Crop Sci.*, 28: 177-178.
- WILKES H.G., 1977 — Hybridization of maize and teosinte, in Mexico and Guatemala and the improvement of maize. *Econ. Bot.*, 31 : 254-293.

Ressources génétiques et biotechnologie dans les pays en voie de développement : exemple de la Tunisie

Mohamed MARRAKCHI, Abbas ABDELKEFI et
Mohamed BOUSSAID *

Résumé : La dégradation des écosystèmes sous la pression continue des activités humaines entraîne une érosion génétique de plus en plus importante. Toute action de développement doit impérativement tenir compte de l'équilibre écologique. L'exemple de la Tunisie pris comme élément de référence prouve que les incitations d'ordre socio-économique dans le monde rural devraient comporter des mesures d'accompagnement pour limiter au mieux la pression exercée sur le milieu. L'extension des monocultures à base génétique étroite engendre une perte de pools géniques traditionnellement entretenus dans des cultivars rustiques. Les biotechnologies présentent une source de nouvelles richesses, mais elles ne peuvent s'appliquer que dans un monde où la diversité génétique est préservée. La protection du patrimoine **phytogénétique** ne peut être envisagée que dans le cadre d'une coopération et d'une solidarité entre pays.

Mots-clés : aridité, diversité génétique, érosion génétique, ressources génétiques.

Abstract : The deterioration of ecosystems under continuous pressure of human activities results in increased genetic loss. Any development action must take account on the ecological equilibrium. The example of Tunisia as reference shows that socio-economic **incitements** in the rural world should include accompanying measures for limitation of pressures on the environment. The expansion of monoculture with limited genetic variation results in a loss of genetic pools usually present in hardy cultivars. When the new technologies open hopeful prospects of new resources, they can only be implemented in a world where genetic diversity is preserved in the context of cooperation and solidarity between countries. Then, we can make an inventory of this ressources to assess, to preserve and to exploit it.

Introduction

La sauvegarde du patrimoine **phytogénétique** est devenue une préoccupation majeure pour l'ensemble de l'humanité. L'augmentation des surfaces cultivables et les percées des biotechnologies ne peuvent actuellement ré-

pondre à elles seules aux problèmes alimentaires posés à travers le monde. A partir d'une réflexion sur l'exemple de la Tunisie, nous aborderons les principaux facteurs qui sont à l'origine de la dégradation de la végétation et de l'érosion génétique ainsi que les approches et les outils de la sauvegarde de la diversité génétique.

Facteurs à l'origine de l'érosion génétique

La Tunisie dont la superficie est de 16 millions d'hectares, compte un peu plus de 1/3 de terres improductives (Sahara et chotts), 5 millions d'ha de surface agricole utile et 4 millions d'ha de parcours et forêts. Cette situation peu florissante est compliquée, par ailleurs, par une forte démographie, une urbanisation anarchique et une industrialisation mal réfléchie dans certains cas (industries chimiques à Ghannouch, golfe de Gabès ; usine du furfural à Mahdia).

Le rétrécissement des terres n'est pas dû seulement à ces facteurs, mais aussi à un climat capricieux, caractérisé par les irrégularités des précipitations souvent à régime torrentiel. Les données actuelles montrent que l'érosion menace les 3/5 des surfaces agricoles utiles dont deux millions d'ha sont affectés par une érosion grave. A ce rythme les pertes annuelles s'élèvent à 10 000 ha (Jallel, 1981).

Pour remédier à ces dégâts, la Tunisie a élaboré un plan directeur d'intervention tendant d'une part à la mobilisation des ressources hydrauliques et d'autre part à la sauvegarde de la fertilité du sol et la protection de la végétation.

Les aménagements hydro-agricoles, définis par le plan directeur des eaux du Nord, sur le bassin versant du lac Ichkeul, risquent, si tous les ouvrages d'art sont réalisés, d'avoir des conséquences néfastes sur l'écosystème « Ichkeul ». Une réduction notable d'apport d'eau douce dans le lac contribuerait inéluctablement à une transformation profonde de l'originalité biologique du lac et de ses marais.

La valorisation de certaines terres en zones écologiquement fragiles peut se transformer en une catastrophe écologique. L'exemple le plus frappant est celui de Menzel Lahbib : sur une steppe à *Rhantherium suaveolens* (Arfej), des nomades ont été fixés pour s'adonner à l'arboriculture. Cette pratique agricole a entraîné un déséquilibre profond du milieu donnant prise à l'érosion éolienne et à la formation de dunes de sable mobiles (Nabli, 1989).

L'utilisation des eaux fossiles a ouvert la voie à la création de nouvelles palmeraies dans l'extrême sud tunisien (Régime Maatoug). Des nomades, peu enclins à être sédentarisés, ont continué leur activité pastorale, ce qui a entraîné la formation d'auréoles de désertification autour de la nouvelle palmeraie (Neffzi, 1989).

Facteurs de la dégradation de la végétation spontanée

Le pastoralisme en Tunisie centrale et méridionale participe pour une large part dans la dégradation continue du couvert végétal. Certaines mesures prises en faveur des éleveurs, telle l'institution de subventions pour l'aliment de bétail, favorisent de manière factice le maintien à un niveau

élevé du nombre de têtes par troupeau quelles que soient les conditions climatiques dans un écosystème fragile à productivité primaire faible et ne pouvant en aucun cas répondre aux besoins de cette surcharge. Par ailleurs, la forte densité du cheptel entraîne un piétinement intense dont la conséquence est un glaçage des horizons superficiels du sol donnant une forte prise à l'érosion éolienne et au ruissellement.

Enfin, le surpâturage a pour conséquence une raréfaction d'espèces vivaces et une élimination sélective des plantes annuelles apêtées avant leur fructification. Certaines espèces (*Cenchrus ciliaris*, *Tricholaena teneriffe*, *Heteropogon contortus*, *Medicago tunetana*) soumises à cette pression se trouvent confinées dans des sites refuges (sites archéologiques, zone de mise en défens...). D'autres espèces fixatrices de sable appartenant aux genres *Andropogon*, *Aristida*, *Salsola*, souffrent de cette pratique pastorale et se trouvent graduellement remplacées par des espèces indicatrices de « désertisation » telles que *Thymelia hirsuta*, *Artemisia campestris*, *Astragalus armatus*, *Peganum harmala* (Nefati et al., 1989 ; Nabli, 1989).

L'autre facette de la dégradation de la végétation est le défrichement. Entamé depuis des millénaires en Tunisie, il s'est accentué durant ce dernier siècle particulièrement dans le centre et le sud du pays.

L'installation d'une céréaliculture itinérante et épisodique ou d'une arboriculture aléatoire dans un système steppique ne supportant nullement une mécanisation (utilisation de la charrue tractée) donne prise à une forte érosion éolienne entraînant une dégradation profonde du sol et un appauvrissement sensible du patrimoine phytogénétique. Entre 1920 et 1961, la surface de la nappe alfatière a régressé des 2/3 (Jallel, 1981).

Le déboisement pour usage domestique pratiqué par les populations rurales touche particulièrement les végétaux ligneux (*Calligonum azel* et *C. arich*, *Acacia raddiana*, *Tamarix sp...*). Bien que les surfaces vouées aux spéculations agricoles s'accroissent, le défrichement et le déboisement font reculer régulièrement les espaces protégés par un couvert végétal naturel (Floret et Pontanier, 1987).

Plantes cultivées et érosion génétique

Une diversité de microclimats favorables à l'émergence de cultivars locaux rustiques existe en Tunisie sous les différentes strates bioclimatiques.

La céréaliculture est une spéculation agricole de vieille tradition en Tunisie. Plusieurs cultivars ont prospéré sous les différentes conditions climatiques du pays, ce qui a permis au début de ce siècle de les utiliser dans des programmes de sélection pour répondre à des besoins sans cesse croissants (Boeuf, 1931 ; Seguela, 1946).

L'utilisation quasi exclusive des nouvelles variétés sélectionnées ainsi que l'introduction de variétés dites à « haut rendement » ont engendré, au détriment des cultivars locaux, un rétrécissement de la base génétique (Kchouk, 1991).

La nécessité d'améliorer les rendements a entraîné une évolution des techniques culturales. L'utilisation accrue d'herbicides crée une pression de

plus en plus forte sur les plantes **messicoles** qui, par ailleurs, interviennent dans la productivité primaire des jachères et dans le maintien de la physiologie des groupements végétaux. Cette pratique est d'autant plus dangereuse dans des zones arides où la régénération de la végétation est déjà naturellement **difficile**. Ainsi, plusieurs espèces appartenant à un certain nombre de familles papilionacées, labiées, composées et de graminées telles que *Phalaris sp. et Hordeum bulbosum* n'ont plus été observées depuis longtemps dans certaines zones de céréaliculture (**Schoenemberger**, in Nabli, 1989).

Les cultures fourragères se heurtent de leur côté aux problèmes de l'introduction de nouvelles variétés. L'exemple remarquable est celui de la luzerne. Le cultivar Gabès ainsi que les isolats de certaines oasis adaptés à ces microclimats ont été contaminés par l'introduction de la variété « Africain » distribuée sous forme d'aide aux paysans.

La mobilisation des ressources en eau, l'extension et l'encouragement de la « **serriculture** », en partie développée pour l'exportation de primeurs, ont conduit l'utilisation de nouvelles variétés aux dépens de cultivars locaux de tomates, piments, melons et concombres. Ces ressources génétiques délaissées constituent un réservoir important de résistance à différents types de parasites (virus, nématodes, champignons...).

A l'exception de l'olivier, du palmier dattier et de quelques rares autres espèces, l'arboriculture fruitière a profité durant ce dernier siècle de larges introductions. Ce phénomène est particulièrement perceptible au niveau des agrumes, des cépages de vigne et des arbres à noyaux. La régression des cultures à caractère familial, particulièrement développées dans un passé récent dans les régions de Sfax et de Djerba, a contribué à la raréfaction sinon à l'abandon de variétés plus ou moins précoces de vigne, de figuier et de citronnier. Leur production échelonnée dans le temps fournissait au consommateur des fruits pendant une période relativement longue.

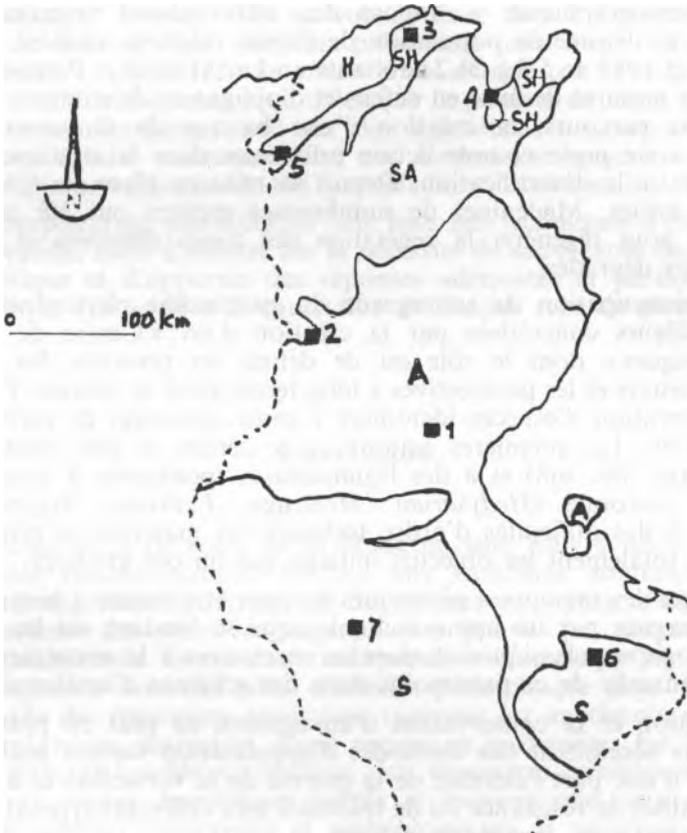
Grâce à sa position dans le bassin méditerranéen et à ses profils bioclimatiques variés, la Tunisie dispose donc d'un potentiel génétique adapté à des conditions climatiques et édaphiques caractéristiques des **bioclimats** arides. Or, les diverses activités humaines soumettent ce potentiel à des pressions de plus en plus accrues entraînant une érosion génétique profonde. Ce constat révèle l'urgence d'interventions à différents niveaux pour la protection de ce patrimoine **phytogénétique**.

Mesures et outils de la sauvegarde du patrimoine **phytogénétique**

La sauvegarde du patrimoine **phytogénétique** est un problème universel dont dépendent tous les progrès agronomiques futurs. L'acuité de ce problème s'est traduite en Tunisie par une série de mesures tendant chacune, à son niveau, à protéger les ressources génétiques.

La Tunisie s'est dotée d'un cadre législatif et institutionnel comprenant un ensemble de textes qui régissent les forêts et la végétation naturelle (code forestier 1959, révisé en 1966 et en 1988).

Pour accompagner ces mesures, des parcs nationaux ont été créés pour être des zones « pilotes » et de rayonnement sur les régions concernées. Le choix des sites a été envisagé en fonction des bioclimats afin de conserver des écosystèmes particuliers appartenant aux étages saharien, aride, semi-aride et sub-humide (voir carte). La création de ces parcs a permis, d'ores et déjà, la protection de 924 taxons sur les 2800 répertoriés en Tunisie (Le Floc'h, 1991). Ces réserves de la biosphère permettent de préserver et d'endiguer le péril de la perte de groupements végétaux. Mais cette approche ne constitue pas à elle seule la réponse à la dégradation des ressources phytogénétiques.



Localisation des parcs nationaux en Tunisie

1. Bouhedma ; 2. Chaambi ; 3. Ichkeul ; 4. Boukornine ; 5. El Feidja ; 6. Sidi Toui ; 7. Jbil.

Bioclimats

H : Humide

SA : Semi-aride

S : Saharien

SH : Subhumide

A : Aride

(Hyperaride)

La création d'offices régionaux (office de développement de la Tunisie centrale, office sylvo-pastoral du Nord-Ouest, institut des zones arides...), dont la mission n'est pas seulement d'être un observatoire rapproché de la zone concernée, vise la définition de programmes intégrés d'amélioration des conditions de vie des populations autochtones en harmonie avec la protection du milieu naturel. Ainsi, la sauvegarde « *in situ* » du patrimoine phytogénétique de la région tend à maintenir la diversité en limitant l'érosion génétique des plantes cultivées et en laissant une place suffisante aux espèces spontanées.

La gravité de la situation en milieu aride, due en particulier à une forte pression démographique, a imposé des interventions urgentes. A titre d'exemple, la densité de population de l'aride inférieur tunisien est passée entre 1881 et 1985 de 5,3 à 24,2 habitants au km² (Floret et Pontanier, 1987). En plus des mesures de mise en défens et d'obligation de rotation du cheptel sur certains parcours, la création d'une banque de semences d'espèces pastorales a été jugée comme action prioritaire dans la stratégie nationale de lutte contre la désertification. Depuis sa mise en place en 1985 (Institut des zones arides, Médenine) de nombreuses espèces ont été récoltées et multipliées pour régénérer la végétation des zones dénudées et réhabiliter des parcours dégradés.

Cette préoccupation de sauvegarde du patrimoine phytogénétique s'est vue par ailleurs concrétisée par la création d'un « Centre de ressources phytogénétiques » dont le rôle est de définir les priorités, les moyens à mettre en oeuvre et les perspectives à long terme pour la collecte, l'évaluation et la conservation d'espèces identifiées comme menacées de raréfaction ou de disparition. Les premières actions de ce centre se sont intéressées aux céréales (orge, blé, mil) et à des légumineuses spontanées à vocation fourragère et pastorale (*Hedysarum*, *Medicago*, *Lathyrus*, *Argyrolobium*...). Confronté à des difficultés d'ordre technique et matériel, ce projet n'a pu concrétiser totalement les objectifs initiaux qui lui ont été fixés.

La gestion des ressources génétiques ne peut être menée à bien que si elle est accompagnée par un appui technologique se fondant sur les approches biotechnologiques classiques et récentes nécessaires à la sauvegarde et l'utilisation éventuelle de ce patrimoine dans des schémas d'amélioration.

L'évaluation et la conservation d'un nombre de plus en plus croissant d'accessions nécessitent des méthodes d'appréciation rapides indispensables pour juger d'une part l'étendue de la gamme de la variabilité et d'autre part les potentialités de résistance ou-de tolérance aux différents types d'agressions du milieu (maladies, sécheresse, salinité...).

L'ensemble des outils biochimiques (polymorphisme électrophorétique des protéines et des acides nucléiques, RFLP et RAPD, chromatographie, hybridation moléculaire, etc...) vient compléter les analyses fondées sur des critères morphologiques et/ou agronomiques. Ces méthodes constituent des approches efficaces et aptes à révéler une variabilité proche du fonctionnement du génome.

Les techniques de biologie moléculaire fournissent à travers différents moyens (kit mono et polyclonaux, sondes moléculaires froides ou radioactives...) des tests rapides de mise en évidence de viroses et autres maladies parasitaires. Ces moyens de détection efficaces sont actuellement peu ou pas utilisés dans les pays du Sud.

L'apport **biotechnologique** ne se limite pas uniquement aux aspects de l'évaluation de la variabilité mais englobe également les méthodes de conservation des ressources **phytogénétiques**.

A côté des méthodes classiques de conservation (stockage de graines, arboretum,...), la culture *in vitro* peut apporter une réponse aux **difficultés** rencontrées chez certaines plantes et offre par ailleurs la possibilité d'assainissement de plantes **virosées**. Cette technique, utilisée depuis une vingtaine d'années en Tunisie, a été initialement adaptée aux *Citrus* pour l'obtention de plantes saines (Bouزيد, Lasram, 1971). Elle a été aussi, mise au point sur le palmier dattier pour une multiplication rapide (Ammar et Benbadis, 1977 ; Ammar et Drira, 1980) en vue de faire face à l'éventualité d'une extension du Bayoud (**fusariose**) aux palmeraies tunisiennes. Cette méthode de multiplication végétative « *in vitro* » a été élargie par la suite à d'autres espèces soit d'intérêt économique telles que la pomme de terre, le fraisier et tout récemment l'artichaut, soit sur des légumineuses spontanées réputées récalcitrantes à cette technique telles que *Hedysarum carnosum*, *H. coronarium*, *H. capitatum* (Boussaid, 1987) et *Medicago sativa* subsp. *tunetana*.

Notre propos n'est pas d'établir une liste des techniques d'évaluation et de conservation, mais d'insister sur la nécessité de sauvegarde du patrimoine **phytogénétique** et d'apporter des réponses adéquates et particulières à la problématique que soulève la protection de chaque type de plante.

Conclusion

L'immensité et la diversité de la tâche ne sont plus à démontrer et ne peuvent être raisonnablement limitées aux frontières administratives des états. Toute approche de sauvegarde des ressources **phytogénétiques** doit au moins concerner des zones **écogéographiques** définies par une communauté de paysages naturels. Il est donc indispensable d'envisager ce problème à l'échelle régionale avec des pôles d'intérêts pour chaque pays. L'utilisation traditionnelle des ressources génétiques végétales est un témoin de l'histoire de l'agriculture en général et d'une région en particulier. En Tunisie par exemple, pays de vieille civilisation, les ressources génétiques devraient bénéficier au moins des mêmes égards et moyens que ceux réservés au patrimoine culturel (historique et archéologique). Il ne s'agit pas ici de collectionner des reliques et de faire une muséographie mais d'entrevoir toutes sortes d'actions indispensables pour la sauvegarde et l'entretien de la diversité génétique. En plus des problèmes spécifiques à chaque région (lutte contre la désertification, maintien de la diversité des types de végétation et de paysages naturels), la nécessité primordiale de préserver la plus large gamme de variabilité des plantes spontanées et de conserver les différents pools géniques des plantes cultivées (cultivars, populations) est un gage pour l'avenir de l'humanité et l'un des meilleurs moyens pour répondre aux demandes, sans cesse croissantes, en produits alimentaires et atteindre, ainsi, une **autosuffisance** pleine et entière des pays du Tiers-Monde. Loin d'être une charge, la sauvegarde des ressources génétiques peut devenir un atout si sa gestion est raisonnablement comprise par toutes les parties. Les « centres

de diversification des plantes» se trouvent essentiellement dans les «pays du Sud» (Vavilov, 1951). Ce potentiel ne devrait, en aucun cas, être considéré comme un simple réservoir au seul profit des pays industrialisés détenteurs du savoir et de la technologie. La mise en place de réseaux, où les échanges de matériel biologique, de connaissances scientifiques et d'applications **biotechnologiques** devraient se faire en parfaite complémentarité et dans un esprit d'équité, est une nécessité.

Bibliographie

- AMMAR S., BENBADIS A., 1977 — Multiplication végétative du palmier dattier (*Phoenix dactylifera* L.) par la culture de tissus de jeune plantes issues de semis *C. R. Acad. Sc.*, Paris, 284, série D.
- AMMAR S., DRIRA M., 1980 — Multiplication végétative du palmier dattier (*Phoenix dactylifera* L.) à l'aide des cultures de tissus. *Phys. Vég.*, **18** (1) : 188-189.
- BOEUF F., 1931 — *Le blé en Tunisie*. Annales du service botanique et agronomique, **VIII** 1.
- BOUSSAID M., 1987 — Morphogenèse et variabilité chez *Hedysarum carnosum* Desf. Comparaison entre plantes néoformées en culture *in vitro* et individus normalement issus de graines. Thèse d'Etat. Université d'Aix Marseille, 178 p.
- BOUZID S., LASRAM M., 1971 — Utilisation de culture *in vitro* pour l'obtention de clones de citrus homogènes et de bon état sanitaire. *VIII Congrès Inter. Agrum. Médit.*, 2: 2-6.
- FLORET C. et PONTANIER R., 1982 — *L'aridité en Tunisie présaharienne — climat, sol, végétation et aménagement*. Thèse d'Etat, Travaux et Documents ORSTOM Paris, n° 150, 580 p.
- JALLEL T., 1981 — *Le reboisement en Tunisie*. Rapport de la direction des Forêts. Ministère de l'Agriculture Tunisie, 94 p.
- KCHOUK M.L., 1991 — *Etude cytogénétique des blés durs tunisiens d'origine locale et étrangère*. Thèse de 3^e cycle *Fac. Sci.* Tunis, 192 p.
- LE FLOC'H E., 1991 — *Les écosystèmes des zones arides du nord de l'Afrique — Orientations pour l'établissement d'un réseau de réserves de biosphère*. III^e réunion sur les réserves de la biosphère de la région méditerranéenne du nord de l'Afrique. Zones arides et hyperarides. Exposé introductif, 21 p.
- LE HOUEROU H.N., 1969 — La végétation de la Tunisie steppique (avec références aux végétations analogues d'Algérie, de Libye et du Maroc). *Inst. Nat. Rech. Agr.* Tunis, **42** (5), 624 p, photo, figures, une carte (2 feuilles) 1/500 000 et 21 tableaux.
- NABLI A., 1989 — *Essai de synthèse sur la végétation et la phytoécologie tunisiennes*. I. *Eléments de botanique et de phytoécologie*. Imp. Off. Rep. Tunisienne, 247 p.
- NEFFATI M., AKRIMI N. et FERCHICHI A., 1989 — *Sauvegarde du patrimoine phytogénétique pastoral et possibilités de son utilisation pour la réhabilitation des parcours dégradés*. Sem. Nat. sur la lutte contre la désertification. Décembre 1989, Djerba, Tunisie.
- PERNÈS J., 1984 — *Gestion des ressources génétiques des plantes*. T 1 : *Monographies*, 211 p. T 2 : *Manuel*, 346 p. Tech. et Doc. Lavoisier, Paris.
- POTTIER-ALAPETTE G., 1979 — *Flore de la Tunisie angiospermes dicotylédones ; apétales et dialypétales*. VI, 654 p.

- POTTIER-ALAPETTE G., 1981 — *Flore de la Tunisie angiospermes dicotylédones : gamopétales*. V2, 538 p.
- SEGUELA J.M., 1946 — Les étapes de l'amélioration du blé dur en Tunisie. *Annales du service botanique et agronomique de Tunisie*, **19**: 1-24.
- SEGUELA J.M., 1958 — *Enseignements techniques à tirer de la campagne de céréales 1956-1957*. Extrait de « la Tunisie agricole ».
- VAVILOV N.I., 1951 — The origin, variation, immunity and breeding of cultivated plants. In « selected writings of N.I. Vavilov ». Transl. by K. Starr Chester. *Chronica Bot.*, **13**: 1-364.

La circulation des ressources génétiques végétales

Marie-Angèle HERMITTE *

Résumé : Les ressources génétiques utilisées dans la sélection végétale proviennent de sources très diverses : organismes sauvages, variétés anciennes, pools génétiques soigneusement protégés, choisis et entretenus. Jusqu'à maintenant, ces ressources étaient très disponibles puisqu'elles se trouvaient en libre accès gratuit. Le développement des biotechnologies a eu pour effet d'améliorer la perception de leur valeur scientifique et économique. En multipliant les objets brevetables (gènes, plantes isolées, populations hétérogènes), le droit a conforté ce mouvement. Dès lors, il était logique que toutes les ressources soient progressivement privatisées et appropriées, ce qui réduit leur disponibilité à un échange de type marchand.

Mots-clés: ressources génétiques, circulation, droit d'obtention végétale, libre accès gratuit aux ressources génétiques, brevet, fin du libre accès, privatisation des ressources génétiques.

Comment organiser au mieux les règles de la circulation des ressources génétiques dans le monde, sachant que l'on doit respecter les droits des titulaires des ressources, qu'il s'agisse de plantes sauvages, de variétés anciennes ou de variétés innovantes ? Répondre à cette question pose un problème classique et jamais très bien résolu, celui de l'articulation entre les incertitudes scientifiques, les contraintes de l'économie industrielle et le droit, celui aussi de l'articulation entre la définition des besoins à court terme par les acteurs directement impliqués et la non-définition des besoins à long terme, par hypothèse mal connus.

Acceptons d'être réducteurs : plus la diversité biologique est préservée, plus les ressources génétiques sont disponibles, plus nos facultés de réponse aux problèmes alimentaires ou aux problèmes de gestion de l'environnement sont importantes. Vraie ou fausse, car elle est en débat, cette affirmation trouve un écho tout particulier depuis que les techniques du génie génétique permettent d'espérer transférer à volonté vers n'importe quel organisme des gènes prélevés sur n'importe quel autre organisme.

Il devient alors évident qu'il faut conserver l'accès à un certain nombre de choses, mais à quoi ? A des ressources physiques certainement, et c'est ce que l'on tente en conservant par exemple des blés sauvages, sans intérêt

* Directeur de recherche, CNRS, 63, rue Hallé, 75014 Paris, France.

agronomique immédiat, mais particulièrement résistants à la sécheresse ; à des modèles génétiques originaux on pourrait imaginer par exemple d'observer si les différents gènes connus de résistance à une maladie ont une structure commune ou pas ; à des zones de diversité biologique parce qu'elles recèlent une grande richesse encore inconnue et que les conditions particulières de l'écosystème semblent avoir la capacité de produire et renouveler les organismes vivants qu'elles contiennent.

Il ne suffit pas de conserver, ce qui oblige à des choix difficiles, encore faut-il organiser l'accès à ces ressources, gratuites ou payantes, accès pour tous ou pour certains, accès pour certains objectifs et pas pour d'autres, etc.

Le droit mis en place entre 1960 et 1989 a eu pour objectif principal d'assurer une circulation maximale des ressources génétiques, puisqu'elles étaient en libre accès gratuit pour tous. Qualifiées de « patrimoine commun de l'humanité » elles étaient à ce titre librement prélevées dans n'importe quelle partie du monde, et utilisées à des milliers de kilomètres de leur lieu d'origine. Inutile de dire qu'il en a toujours été ainsi, malgré des phénomènes récurrents de captation, qui ne dépassent pas l'ineffectivité moyenne des systèmes normatifs. Elles sont d'autre part de plus en plus souvent protégées (avec des succès divers) lorsqu'il s'agit d'une espèce en voie de disparition.

On avait donc l'impression que les choses progressaient : conscience plus claire de l'intérêt des ressources génétiques, meilleure protection assurée contre leur disparition, il est vrai de plus en plus rapide, systèmes juridiques bien adaptés à l'objectif scientifique, relativement bonne cohabitation entre les objectifs économiques et les objectifs écologiques.

Malheureusement, cela ne semblait pas devoir durer : l'expérience que je pouvais avoir de l'évolution des droits de propriété industrielle portant sur les organismes vivants m'avait amenée à penser que la brevetabilité des biotechnologies allait bouleverser cet équilibre relatif (1). En effet, les biotechnologies ont été progressivement amenés à revendiquer une appropriation privative des ressources génétiques captives dans leurs innovations. Cette emprise a déclenché une série de réactions en chaîne, les titulaires de ressources sauvages ou anciennes n'entendant plus laisser en libre accès des ressources qui peuvent avoir une grande valeur marchande alors qu'ils n'auraient pas accès aux ressources captives dans les innovations. Il en résulte un mouvement général de limitation de la liberté de circulation et de la disponibilité générale des ressources génétiques. On ne peut pas dire qu'elles cesseront de circuler, mais elles circuleront sur d'autres modes. C'est cette transformation dont les grands traits seront décrits ici.

Rémunération de l'invention par le droit d'obtention végétale, libre circulation de la ressource par le patrimoine commun de l'humanité : 1960-1989

Dans le domaine du vivant, les concepts scientifiques et technologiques ne correspondent pas bien aux concepts économiques. Les plantes sont en même temps un « produit final », produit de la nature *et/ou* de l'intervention humaine, une « ressource » au sens de « matière première » et un « procédé

de production ». En effet, à partir d'une plante, on peut produire une plante identique à la première qui est alors un procédé de production d'un produit fini identique au procédé ; mais on peut obtenir aussi des plantes qui seront une matière première transformable en huile, ou en amidon. On peut aussi en tirer une autre plante, différente de la première ; dans ce cas la première sera une sorte de matière première donnant naissance à un produit transformé qui n'est qu'un procédé de production pour toutes les plantes identiques à lui-même.

La plante est donc un objet délicat à inclure dans une analyse économique puisqu'une même plante peut occuper plusieurs places normalement distinctes dans le processus de production. La complexité est encore plus grande lorsqu'il faut articuler les multiples positions de cette plante avec toutes les innovations et ressources intermédiaires, gènes, marqueurs, plasmides, systèmes d'expression, etc.

La **difficulté** augmente encore lorsque l'on cherche à traduire tout cela en un système juridique cohérent. Dans un premier temps les ressources génétiques ont circulé dans le cadre des grands empires, des conquêtes, tandis que les créations, qui n'étaient pas rémunérées étaient le fait des agriculteurs eux-mêmes. Cela dépendait donc du droit international public, et du non-droit, régulé par les pratiques familiales (échange des graines lors des mariages par exemple).

L'époque moderne commence avec les grandes découvertes et le projet rationalisé d'acclimatation des ressources génétiques exotiques en Occident. C'est le début d'une fabuleuse concentration des ressources génétiques de la planète dans les collections, jardins botaniques, jardins d'acclimatation, monastères, etc. On est typiquement en présence d'un phénomène colonial : à tel point qu'aujourd'hui encore, un certain nombre de connaissances et de spécimens doivent être recherchés à Londres ou à Paris plutôt qu'à Bombay ou à Dakar, et que les collections de ressources du café, de l'hévéa ou de la banane qui ne peuvent pas, physiquement, être localisées dans l'hémisphère Nord, sont gérées par des scientifiques du Nord à partir de moyens informatisés.

Les premières innovations ont lieu fin **XVIII'**, et pendant un certain temps, elles restent largement philanthropiques. L'idée d'obtenir un « brevet de plante » remonte à la fin du **XIX'** et se réalisera progressivement au **XX^e** siècle.

Dans un deuxième temps les juristes ont essayé de concilier la nécessité de protéger les innovations, c'est-à-dire de les rémunérer sur le fondement d'un droit exclusif de production et de commercialisation d'une variété fixée, avec une contrainte apparemment contradictoire, le libre accès à la ressource génétique contenue dans cette variété. L'idée était de pouvoir utiliser une variété protégée par un droit exclusif dans un schéma de sélection d'une autre variété. C'est pour satisfaire ces exigences paradoxales que le droit d'obtention végétale (**DOV**) fut créé en 1961, le brevet ayant été reconnu incapable d'assurer les deux finalités (2). Le **DOV** présente la particularité de séparer les deux fonctions de la plante. Le même grain de blé fait l'objet d'un droit exclusif d'exploitation (type brevet) en tant qu'innovation ; mais, en tant que ressource génétique destinée à créer une nouvelle variété de blé, il est en libre accès gratuit. Cela signifie que n'importe quel concurrent peut se saisir sans autorisation d'une variété protégée, l'inclure dans son pro-

gramme de sélection, et après un certain travail, en tirer une autre variété, nouvelle, mais qui aura intégré une partie des ressources génétiques contenues dans la première.

Cette captation était tout-à-fait contraire à la philosophie du droit des brevets ; celui-ci permet bien aux concurrents d'utiliser le produit breveté dans leurs programmes de recherche sur le fondement de l'exemption de recherche, mais s'ils en tirent un nouveau produit ayant intégré l'essence de la première invention, le second brevet sera dépendant du premier ; il ne pourra être exploité sans l'autorisation du titulaire du brevet dominant. Dans le monde du vivant, cela signifie que la seconde variété sera désormais dépendante de la première qui n'est plus « libre » en tant que ressource génétique ; c'est **difficilement** admissible, toute variété étant tirée d'autres variétés. Pour l'avis contraire d'un spécialiste du droit des brevets, voir (3).

La biologie moléculaire, qui n'est sans doute pas encore dans sa maturité, en ce sens qu'elle intègre difficilement ses connaissances particulières dans l'organisme de destination, est largement dominée aujourd'hui par les firmes chimiques, pharmaceutiques et pétrolières, habituées à raisonner sur d'autres stratégies d'innovation, normalement et justement protégées par des brevets. Pour elles, l'idée d'un libre accès à une invention est une idée insupportable, un piratage légal. Un lobby **agro-chimique** s'est donc constitué pour obtenir le retour au brevet, et la suppression du libre accès à la ressource génétique captive dans l'invention. Ce lobby s'est constitué selon ses propres termes pour lutter contre le « lobby des ressources génétiques », qu'il qualifie de « fatras » fonctionnant à « l'émotion », regroupant religieux, tiers-mondistes, sélectionneurs, **anti-vivisectionnistes**, Verts, etc. (4).

Les **agro-chimistes**, qui ont d'ores et déjà quasiment gagné la partie soutiennent :

- qu'ils n'organisent la captation de la ressource génétique que durant le temps du brevet (20 ans),
- que de toute façon, l'appropriation des ressources génétiques sera favorable à la diversité génétique en incitant les grandes firmes à se constituer des pools génétiques originaux, très distincts les uns des autres, alors qu'aujourd'hui, on travaillerait sur une base génétique très étroite, commune à tous les sélectionneurs puisqu'elle circule librement entre eux. Cette critique n'aurait pas été tout à fait inexacte il y a quelques années lorsqu'on pratiquait, faute de connaissances **suffisantes**, une sélection linéaire. Elle est devenue beaucoup moins valable aujourd'hui que la sélection récurrente est rentrée dans les moeurs.

Il faut donc essayer d'imaginer quel sera l'impact d'un retour du végétal dans le système du brevet, en ce qu'il permet la captation de la ressource génétique. Il faut ensuite observer le jeu d'autres acteurs, principalement les pays en voie de développement, qui anticipent sur l'appropriation généralisée des ressources génétiques par le brevet, et réagissent par une contestation violente du concept de « patrimoine commun de l'humanité ».

Propriété privée des ressources génétiques et échanges sur mode volontaire et bilatéral par grands portefeuilles : les années 90

Pour le moment, tout le monde prend librement les ressources (sauvages ou cultivées) dont il a besoin. Quels éléments seront concernés par le retour au brevet ?

— Les brevets peuvent porter sur tout ce qui est « inférieur » au concept de variété, gènes, cytoplasmes, cellules végétales..., et tout ce qui est « supérieur » au concept de variété, espèces, famille, genres... ainsi que tout ce qui intègre l'un de ces produits brevetés, y compris les variétés.

— Les brevets portent sur tous les procédés microbiologiques ou chimiques, clonage, stérilisation, ingénierie génétique... ainsi que tous les produits obtenus à partir des procédés brevetés, y compris les variétés.

Toute utilisation de l'un de ces éléments brevetés qui se retrouve dans l'innovation seconde ne peut déboucher que sur un brevet de dépendance. Ce point est particulièrement important si l'on pense aux procédés brevetés car ils permettront de mettre au point de larges pools de ressources génétiques aux contours très flous, ayant une forte teneur en huile ou en amidon. L'utilisation d'un spécimen pris dans ce pool génétique obtenu à partir d'un procédé breveté ne pourra donner lieu qu'à un produit breveté, même si la variété mise au point est très différente du spécimen prélevé dans le pool.

Il en résultera que tous les organismes ou parties d'organismes vivants seront rapidement brevetés ou dépendants de brevets, ce qui revient au même quant au régime juridique des ressources génétiques. Les différents acteurs qui détiennent ces produits, n'ayant plus de libre accès à la ressource génétique captive dans les innovations, seront donc contraints de procéder à des échanges pour pouvoir continuer à travailler, et les ressources génétiques, qui étaient jusque là en libre accès gratuit pour tous, ce qui permettait un très large brassage de gènes, seront désormais l'objet de contrats passés entre entreprises ayant des innovations complémentaires.

Si l'on adhère à ce schéma en cours de réalisation, il reste à tirer les conséquences économiques de ce mouvement :

— rachats des PME semencières par les groupes agro-chimiques avec pour conséquence la multiplication des « semences orphelines » (marchés pédo-climatiques trop étroits pour être commercialement rentables pour une grande entreprise) et multiplication des semences liées à des marchés rentables (frites, conserves, produits industriels).

— flux génétiques entre grandes entreprises ayant des matériels complémentaires.

Le seul élément qui pourrait freiner ce mouvement, et qui reste la grande inconnue de l'avenir, est la capacité du marché à rémunérer un système dans lequel le produit fini, c'est-à-dire la variété, concentrerait un grand nombre de produits intermédiaires brevetés pour lesquels il faut en principe payer des redevances incluses dans le prix du produit final. En règle générale, les profits permis par l'agriculture ne permettent guère de rentabiliser une telle accumulation de technologie. Les progrès actuels faits par les biotechnologies végétales ne permettent pas davantage de penser que les progrès seront si foudroyants par rapport aux technologies classiques que les plus-values du marché changeraient du tout au tout. La faisabilité économique du schéma scientifico-juridique est donc loin d'être démontrée.

Les effets du système à moyen terme sur les ressources de base

Au niveau des entreprises

Les entreprises sont susceptibles de détenir trois types de ressources génétiques :

- celles qui sont liées aux variétés nouvellement créées et qui comprennent tout un fonds étranger à l'innovation proprement dite, la valeur économique de la variété dépendant du bon équilibre entre ce fonds et l'innovation qui vient s'y ajouter,
- celles qui constituent le fonds ancien de l'entreprise (vieilles variétés, quasi-variétés, populations...), que l'entreprise conserve et entretient pour y puiser la matière des variétés nouvelles,
- celles qu'elles peuvent aller chercher dans des patrimoines publics, comme les plantes que l'on trouve dans les centres d'origine des plantes cultivées.

On sait que les ressources contenues dans les variétés nouvelles seront désormais largement appropriées, disponibles au bout de 20 ans seulement. Il y a là un changement fondamental ; à l'inverse, le fonds de l'entreprise a toujours été secret de facto. C'est là que se situe une partie de leur richesse, la réserve de diversité génétique qui ne fait que transparaître quand on observe les variétés effectivement cultivées, puisqu'elles n'utilisent qu'une partie du pool génétique d'une entreprise. Pour ce qui concerne les ressources sauvages, il est aujourd'hui admis qu'un gène qui serait trouvé sur une tomate sauvage des plateaux andins et breveté, ne pourrait plus être utilisé par quelqu'un d'autre que le titulaire du brevet, alors que n'importe qui autrefois pouvait utiliser la même plante sauvage que celle de son concurrent.

L'avènement des biotechnologies aura sans doute des effets techniques positifs sur la réserve globale de diversité génétique en rendant les techniques de conservation plus efficaces, moins coûteuses, plus raisonnées, et surtout en donnant accès à l'énorme réserve génétique des micro-organismes. Mais, juridiquement, le retour au brevet lié aux biotechnologies aura un effet inverse : alors que jusqu'à maintenant la réserve génétique cachée dans les plantes était disponible pour celui qui savait l'y découvrir, cela ne sera plus vrai.

Au niveau collectif

Au niveau national

Les grands Instituts de recherche sont pris de multiples manières dans la privatisation :

- La Grande-Bretagne a carrément vendu l'équivalent de l'INRA à la firme Unilever.
- L'INRA qui, pendant longtemps n'a fait que des matériels demi-finis qui étaient distribués librement et gratuitement aux entreprises de sélection françaises, et aux chercheurs français et étrangers, produit maintenant un grand nombre de produits finis qu'il brevète et commercialise.
- L'INRA passe de nombreux contrats de prestation de services (transferts

de gènes par exemple) avec des entreprises privées. Dès lors, l'Institut est amené à transférer un gène breveté sur du matériel privé, ce qui aboutit à une certaine captation de ce que l'on considérait autrefois comme un bien public. De plus de nouveaux outils de sélection sont créés par coopération entre le public et le privé, telle la carte du génome du maïs, et l'on ne sait pas encore très bien qui va pouvoir utiliser cet instrument, et à quelles conditions, les intérêts des entreprises privées et du secteur public étant partiellement divergents si le secteur public entend assumer un rôle de service public. De la même manière, secteur privé et secteur public investissent de concert sur la constitution de pools génétiques accessibles aux seuls investisseurs.

— Les Universités commencent à vendre des pools génétiques qu'elles ont mis au point alors qu'elles les distribuèrent jusqu'ici gratuitement ; l'Université d'Illinois a ainsi vendu à Du Pont de Nemours les cinq pools génétiques mis au point par un de ses professeurs durant les 30 années de sa vie professionnelle. Cette vente était assortie d'une promesse d'exclusivité d'utilisation ; or le professeur avait durant sa carrière distribué largement le matériel à qui le demandait, et entre autres personnes, à l'entreprise *semencière* Pioneer. Du Pont de Nemours lui a donc fait injonction devant le juge, de rendre le matériel et cesser toute utilisation. Les entreprises ont transigé avant le prononcé du jugement, ce qui signifie qu'elles ont donné un aval à cette forme d'appropriation de la ressource.

Au niveau international

Au moment où l'on a commencé à s'intéresser à la conservation des ressources génétiques, il n'était pas encore question de brevets sur le vivant. On essayait seulement de trouver des mécanismes de protection, et éventuellement de financement, pour les espèces en voie de disparition, puis pour les habitats, puis pour les milieux comprenant une grande diversité biologique.

Dès qu'on voulut négocier sérieusement le régime juridique des ressources génétiques, prises en tant que telles, on commença à se heurter à des difficultés : le Nord désirait les classer patrimoine commun de l'humanité pour continuer de disposer d'un libre accès gratuit aux ressources sauvages et anciennes des pays du Tiers-monde. Le Sud voulait bien de la qualification, à une double condition : que tous les végétaux entrent dans le patrimoine, y compris les variétés protégées par des droits d'obtention végétale, et qu'ils puissent tirer une rémunération de leurs gènes, s'ils étaient utilisés dans des programmes de sélection.

Après une période de conflits, l'arrangement FAO sembla trouver un équilibre en 1989, en faisant admettre que les ressources génétiques du Tiers-monde pourraient être rémunérées au titre du « **droit des agriculteurs** » du Tiers-monde sur des richesses qu'ils avaient créées ou au moins entretenues (farmers' right). Mais au moment même où cet accord semblait acquis, certains pays firent valoir qu'ils ne voulaient plus du concept de patrimoine commun de l'humanité. Les gènes n'étaient pas autre chose que des marchandises qu'il fallait mettre dans les mécanismes de marché. Cette position est représentée principalement par les pays d'Amérique latine et d'Asie du Sud-Est.

Elle conduit à ce qu'il n'y ait plus de libre accès aux ressources génétiques du Tiers-monde ; chaque pays décidera quels prospecteurs il admet, dans quelles limites, etc. C'est ainsi qu'une entreprise anglaise, financée par la CEE a des accords avec un certain nombre de pays du Tiers-monde pour rechercher les gènes intéressants. Choisis, puis clonés et multipliés dans des micro-organismes, ils permettent d'obtenir une vanille naturelle, du pouvoir sucrant, des médicaments, etc. Tous ces pays revendiquent la pleine propriété sur leurs ressources, et rejettent le concept de patrimoine commun. Il faudrait donc pour prospecter et emporter du matériel une autorisation et un contrat précisant quelle sera l'utilisation du matériel emporté. Tout ce qui peut être tiré directement ou indirectement de ce matériel devra payer des redevances au pays d'origine.

C'est ce qui ressort des récentes réunions du PNUE sur la diversité biologique, où **Mostafa Tolba** a annoncé que le patrimoine commun de l'humanité était probablement une notion « inadéquate ». L'idée est d'élire des zones de diversité biologique, et d'appeler les pays riches à y « investir » pour disposer en quelque sorte d'un droit d'accès aux gènes ; par la suite, les redevances sur les gènes issus de ces zones seraient susceptibles de servir de source de financement pour leur entretien.

Conclusion

On a alors bouclé la boucle. Le plus intéressant est probablement de constater que les transformations aboutissant à la privatisation des ressources génétiques du Tiers-monde ou des pays industrialisés ont été préparées en considération les unes des autres, avant même que cela ne soit véritablement nécessaire, et plutôt parce qu'on savait que l'autre allait le faire que parce qu'il l'avait véritablement fait. L'un des exemples les plus étonnants est donné par le chassé-croisé entre les Etats-Unis et l'Europe sur la question de la **brevetabilité** de l'animal. Admise par le Patent Office aux Etats-Unis, le brevet sur la souris transgénique a suscité beaucoup de réactions défavorables, et la reconnaissance par la loi se fait attendre. Mais il ne se passe guère de semaine qu'un éditorial vienne rappeler que si l'on ne se dépêche pas de confirmer cette décision, l'Europe va prendre de l'avance. Pendant ce temps, les autorités européennes pressent le mouvement pour ne pas prendre de retard sur les Etats-Unis. En octobre 91, l'Office Européen des brevets vient de confirmer sa décision d'admettre la **brevetabilité** de l'animal, avec toutefois un supplément d'âme par rapport aux Etats-Unis. En effet, la **brevetabilité** est admise si l'intérêt de l'humanité est supérieur au préjudice causé à l'animal. Dans le cas contraire, le brevet est déclaré contraire aux bonnes moeurs. Ainsi une souris de laboratoire souffre, mais la lutte contre la maladie autorise le brevet. A l'inverse un animal dont la modification conduit seulement à une laine plus avantageuse sur le plan économique ne le permettrait pas. La méthode paraît bien hasardeuse, et l'on ne doute pas qu'elle donnera lieu à une casuistique intéressante, tant sur l'intérêt de l'humanité, que sur ce qui est acceptable pour les animaux.

Bibliographie

- (1) HERMITTE M.A., 1991 — *Biotechnologie et agriculture. La protection de l'innovation*. Rapport pour Daniel Chevallier, Office parlementaire des choix technologiques, annexe II. Disponible au kiosque de l'Assemblée Nationale.
- (2) HEITZ A. — *Histoire de la protection des obtentions végétales*. In : Les 25 premières années de la Convention pour la protection des obtentions végétales, UPOV, Genève.
- (3) STRAUS J., 1987 — Le principe de dépendance dans le droit des brevets et de droit de l'obtenteur. In : *La Propriété Industrielle*, décembre.
- (4) STRAUS J. — AIPPI and the protection of inventions in plants ; past developments, future perspectives. *IIC*, 20, p. 602.