

Essor, décadence et renouveau de l'utilisation de la culture *in vitro* à l'échelle industrielle, dans le domaine de la multiplication des espèces végétales

Rise, decadence and revival of the use of in vitro culture at industrial level for the multiplication of plant species

C. JOSEPH¹, M. SALLE²

1 Université d'Orléans, Faculté des Sciences, Laboratoire de Biologie des végétaux ligneux et des plantes de grande culture, BP 6759, 45067 Orléans Cedex 2
Tél/Fax : 02 38 41 70 94 • Email : claud.joseph@univ-orleans.fr

2 SB Production, Domaine Horticole des Noues, 5 chemin de Saint-Gondon, 45570 Dampierre en Burlu
Tél : 02 38 35 03 92 • Fax : 02 38 35 07 01 • Email : pepiniere.sb.production@wanadoo.fr

Résumé : Dans l'histoire de la production en masse de plantes par culture *in vitro*, il est possible de distinguer trois grandes périodes successives. La technique commence d'abord à être appliquée de manière intensive vers 1980. Cet essor dure jusqu'à la fin de la décennie. A la fin de celle-ci et au cours des dix années suivantes, on assiste alors à un mouvement contraire important. Une telle décadence aboutit à la disparition d'un grand nombre des entreprises qui avaient intégré cet outil dans leurs schémas de production. Enfin, la période contemporaine se caractérise par un nouveau développement, un véritable renouveau, de l'utilisation de la culture *in vitro* mais à des fins beaucoup plus spécifiques que par le passé. Ainsi, l'obtention de plantes à haute valeur ajoutée, ou bien de végétaux difficiles à multiplier par les voies traditionnelles, ou encore la production seulement de têtes de clones, constituent des domaines parfaitement adaptés, du point de vue économique, au recours à la culture *in vitro*.

Mots clés : culture *in vitro*, micropropagation, production

Abstract : *In the history of the use of in vitro culture at industrial level for propagation of plant species, it is possible to distinguish three successive important periods. This technique started to be intensely applied around 1980. Its use continued to rise over the following ten years. Then, from around 1990, and in the course of the ten next years, an important contrary movement took place. Such a decadence led to the disappearance of many companies who had integrated this tool into their production methods. Finally, the contemporary period is characterized by a new development, a veritable revival, of the use of in vitro culture, but with more specific intentions than in the past. Thus, the obtention of plants with high added value or of plants recalcitrant to vegetative propagation, and the production of stock-plants, all make up areas for which in vitro culture appears to be perfectly adapted from an economic point of view.*

Keywords : *in vitro culture, micropropagation, production*

1 Introduction : objet et structure de l'analyse

La culture *in vitro* des végétaux est née vers 1940, de façon quasi simultanée, dans les laboratoires de recherche de Gautheret, de Nobécourt et de White (Beauchesne, 1989). A l'époque, elle semblait être une méthode de multiplication des tissus végétaux, illimitée dans le temps, destinée à montrer que la cellule végétale peut être considérée comme immortelle. En effet, sur un milieu synthétique et en conditions d'asepsie, les cellules se multiplient en un amas indifférencié appelé cal qui, fragmenté et repiqué sur un milieu neuf est capable de poursuivre sa croissance, ce qui aboutit à une nouvelle masse à fractionner et à repiquer. Les cycles ainsi établis peuvent se poursuivre, en principe, indéfiniment. Puis, au cours des années 50 les premières « phytohormones » (auxines, cytokinines et gibbérellines) sont découvertes. Leur utilisation en culture *in vitro* permet alors d'obtenir à volonté ou presque, des racines et des bourgeons, c'est-à-dire finalement des plantes entières (Bouriquet, 1990). Par ailleurs, la mise en évidence de l'absence de virus dans les méristèmes de plantes virosées a amené Morel et Martin (1952) à guérir des dahlias atteints de maladies à virus, en cultivant *in vitro* leurs méristèmes. Jusqu'alors, les travaux étaient donc réalisés dans des laboratoires de recherche. Mais dès le début des années 60 (Bouzigues, 1987), ces manipulations reçoivent des applications dans les entreprises dans une optique de production. A partir de ce moment commence donc l'utilisation de cette technique à l'échelle industrielle.

Ainsi, en 1963 (Bouzigues, 1987), les Etablissements Vacherot et Lecoufle (Boissy-Saint-Léger) d'une part et Barberet Blanc (La Londe-Les-Maures) d'autre part, installent-ils les premières unités (ou laboratoires) de production *in vitro* de pieds-mères sains. Puis progressivement la méthode entre peu à peu dans les entreprises afin de multiplier, cette fois, les plantes assainies. Tel est le cas, par exemple de la CIVA Wasselonne propageant le *Saintpaulia*. Dès lors, au début des années 80, le nombre de ces laboratoires de multiplication végétative *in vitro* ou micropropagation, croît considérablement en France, cadre de notre analyse. Malheureusement, comme bien souvent, en réponse à un tel engouement, le mouvement va s'inverser. A la fin des années 80 et au cours des années 90, bon nombre de ces laboratoires sont contraints de mettre fin à leurs activités. Face à cette situation et compte-tenu de la réussite de laboratoires de même type aux Pays-Bas notamment, quelques professionnels (français) perçoivent que la technique a sans aucun doute un intérêt mais qu'elle a été mal utilisée. Aussi, à la fin des années 90, l'outil culture *in vitro* séduit-il à nouveau mais pour un usage beaucoup plus spécifique et différent de celui des décennies précédentes. Dans cette optique, depuis quelques années le nombre de ces structures connaît un nouvel essor.

En suivant "l'histoire" de la genèse et de la disparition des laboratoires de production de plantes par culture *in vitro*, nous développerons successivement les trois étapes auxquelles il vient d'être fait allusion. Nous analyserons donc tout d'abord l'essor, c'est-à-dire l'ouverture, au début des années 80, d'un grand nombre de laboratoires de micropropagation. Puis nous essayerons de comprendre les raisons de la disparition de la plupart de ces entités à la fin des années 80 et au cours des années 90 en abordant leur décadence. Ensuite, en présentant le renouveau, nous tenterons d'expliquer l'installation de nouvelles structures à la fin des années 90. Enfin, en conclusion, nous réfléchirons sur les perspectives d'avenir de l'utilisation de cet outil en tenant compte de ses limites.

2 L'essor au début des années 80

Après avoir brièvement rappelé les caractéristiques de la culture *in vitro*, nous en présenterons les avantages qui ont constitué la base de la création des laboratoires de micropropagation. Ensuite, nous illustrerons par quelques données chiffrées l'importance de ces réalisations.

2.1 Rappel de quelques caractéristiques de la culture *in vitro*

Rappelons tout d'abord que, d'une façon générale, la culture *in vitro* est un mode de culture concernant un fragment de végétal appelé explant, sur un milieu synthétique, contenu dans un récipient fermé pour que la manipulation puisse se dérouler en conditions d'asepsie. Il convient toutefois de préciser que le système d'obturation du conteneur destiné à éviter la pénétration des micro-organismes, n'est pas imperméable aux gaz. Des échanges gazeux peuvent donc s'établir entre l'intérieur et l'extérieur. Dans ce contexte, il apparaît inopportun d'appliquer un film protecteur externe au niveau du système d'obturation pour préserver l'asepsie à l'intérieur du récipient de culture. Un flacon ensemencé -et refermé- sous une hotte à flux d'air laminaire stérile est en effet rarement le siège d'une contamination d'origine atmosphérique. En revanche, la présence d'un tel film peut gravement nuire aux échanges gazeux.

D'un point de vue méthodologique, soulignons le fait que le milieu de culture doit à chaque fois être adapté à l'espèce, voire à la variété cultivée : les explants de rosier ne se développent pas convenablement sur le milieu qui permet la multiplication de ceux d'œillet par exemple. De plus, selon le but à atteindre, le milieu devra, là encore, présenter une composition particulière. Ainsi, la caulogenèse¹ ne peut pas être obtenue sur le milieu permettant la rhizogenèse². En outre, après la phase de caulogenèse qui aboutit en fait à la multiplication du matériel végétal, l'étape de rhizogenèse effectuée ou non d'ailleurs *in vitro*, génère des vitro-plants, organismes qui devront être capables de passer d'un mode de développement parfaitement contrôlé *in vitro* à des conditions de vie en serre. Cette transition ou acclimatation constitue une étape difficile à franchir.

En dehors des exigences méthodologiques, la culture *in vitro* doit respecter quelques données physiologiques fondamentales. En premier lieu, le matériel végétal, en particulier ligneux, ne se révèle réactif *in vitro* que s'il est suffisamment juvénile, c'est-à-dire capable d'exprimer ses potentialités organogènes. En effet, au cours du développement de la plante, cette aptitude à l'expression d'une partie du génome a tendance à s'estomper progressivement (Hartmann *et al.*, 1998). Pour éviter les effets de cette perte de juvénilité, il faut alors prélever les explants sur du matériel chronologiquement jeune ou bien sur des plants adultes qualifiés de réjuvenilisés. Chez ces derniers, la juvénilité aura été restituée par différents procédés tels que le bouturage ou le greffage effectués en cascades ou encore par une taille plus ou moins sévère pouvant aller d'une simple décapitation à un recépage. L'explant naturellement juvénile ou issu de matériel réjuvenilisé se développera dès que le milieu se révélera convenable. Cette mise au point, totalement empirique, peut parfois être difficile. Le vitro-plant alors obtenu nécessitera des conditions environnementales particulières, notamment une humidité relative proche de la saturation. Ce jeune plant devra donc présenter une anatomie (cuticules, épidermes...) et un fonctionnement adaptés à ces conditions et qui se modifieront lors de l'acclimatation.

A l'aide de ces notions rapidement rappelées, tentons d'analyser les avantages que présente la culture *in vitro*.

2.2 Les avantages de la culture *in vitro*

La culture *in vitro* apparaît d'abord comme un outil polyvalent. En effet, elle permet bien sûr la production de plantes mais elle contribue également à l'amélioration des espèces. Cette amélioration peut concerner l'aspect sanitaire. Ainsi, dans une plante virosée, les méristèmes étant les seuls territoires indemnes de ces agents infectieux, leur culture aboutit à l'obtention de pieds sains conformes par ailleurs au pied-mère. Mais l'amélioration apportée par la culture *in vitro* touche également le plan génétique. La culture, délicate certes mais cependant réalisable, de spores méiotiques permet la formation d'embryons haploïdes qui, une fois traités par la colchicine se

¹ Caulogenèse = formation de bourgeons

² Rhizogenèse = formation de racines

transformeront en individus diploïdes entièrement homozygotes. Des caractères récessifs, non encore exprimés jusqu'alors, pourront ainsi apparaître.

En dehors de sa polyvalence, la culture *in vitro* se présente comme un outil particulièrement puissant. Dans un cycle de multiplication *in vitro*, on augmente la quantité de matériel d'un facteur de l'ordre de 4 à 5 en moyenne mais qui peut atteindre 10, voire davantage avec certaines espèces. Le recours à la culture *in vitro* constitue donc, à cet égard, une démarche tout à fait indiquée en vue d'une production en masse.

Un autre avantage de la culture *in vitro* se situe au niveau du gain de temps qu'elle engendre. Les plants issus de la culture *in vitro* se développant sur leurs propres racines, les opérations de greffage appliquées comme moyen de multiplication végétative, n'ont plus lieu d'être, ce qui représente un bénéfice de temps fort appréciable. A celui-ci s'ajoute bien entendu une diminution de la main d'oeuvre, poste budgétaire primordial en horticulture.

Le dernier intérêt de la culture *in vitro* auquel il sera fait référence ici, concerne le gain de place qu'elle entraîne. En effet, une serre de pieds-mères peut totalement ou en grande partie être remplacée par une chambre de culture. Le volume de cette dernière est considérablement inférieur à celui de la serre. Par conséquent la dépense énergétique, second poste budgétaire important, en sera alors grandement diminuée.

Du fait de ces divers avantages mais surtout de ceux d'ordre économique, notamment à la suite des chocs pétroliers successifs de 1974 à 1979, les professionnels de l'horticulture ont entrepris, au début des années 80, d'intégrer la culture *in vitro* à leurs méthodes de production de plantes.

2.3 Le développement des laboratoires au début des années 80

Dans un article publié en 1987, Bouzigues dresse un bilan de la dynamique de l'évolution du nombre de laboratoires de production de plantes par culture *in vitro* en France de la fin des années 70 à 1985. S'agissant du nombre de ces structures mais aussi et surtout du nombre de plantes produites (cf Tableau n°1), il apparaît que le véritable point de départ de la production de plantes par culture *in vitro* en France se situe vers 1981.

	Avant 1978	Fin 1979	Fin 1980	Fin 1981	Fin 1982	Fin 1983	Fin 1984	Fin 1985
Nombre de laboratoires	2	3	3	8	10	12	13	15
Quantités de plantes produites (en millions)	1.9	2.2	2.7	7.7	11.4	15.7	21.7	30.2

Tableau n°1 : Evolution du nombre de laboratoires de production de plantes par culture *in vitro* et des quantités de plantes produites avant 1978 et jusqu'à fin 1985 en France (modifié d'après Bouzigues, 1987)

Pour les différents groupes de plantes, les proportions des productions obtenues par culture *in vitro* sont stables au cours du temps. En 1985 par exemple, elles sont de 51, 29, 15 et 4% pour respectivement les potées fleuries, la floriculture, les plantes vertes et la pépinière ornementale (Bouzigues, 1987). Mais si 40 espèces sont impliquées dans ce mode de production, le *Saintpaulia* et le *Gerbera* représentent à elles seules plus de 70% du volume. Une telle situation s'observe également à l'époque aux Pays-Bas où le *Nephrolepis* (37%), le *Saintpaulia* (25%) et le *Gerbera* (16%) regroupent 78% de la production (Bouzigues, 1987).

A la fin des années 80 et au cours des années 90, ce mouvement de croissance va s'inverser en France comme nous allons le constater maintenant.

3 La décadence au cours des années 90

Si, comme nous l'avons souligné, l'essor a répondu aux avantages de la culture *in vitro* dans un contexte particulier, la décadence, elle, est une conséquence d'un certain nombre d'inconvénients de la méthode contre lesquels la lutte s'est avérée vaine comme nous allons le montrer. Dans ces conditions, la disparition des installations est apparue inéluctable.

3.1 Les inconvénients de la culture *in vitro*

Ces inconvénients touchent d'abord à la conformité de la plante propagée par rapport à la plante mère. Ensuite, des anomalies de croissance *in vitro* et de développement ultérieur le cas échéant, peuvent freiner l'utilisation du procédé. Mais en fait, c'est surtout le coût qui représente le handicap majeur de l'exploitation de cette technique.

✓ La conformité

La micropropagation étant une méthode de multiplication végétative, elle doit aboutir à des plants conformes aux pieds d'origine. Si tel est le cas le plus fréquent, il n'en demeure pas moins que parfois quelques déviations morphologiques apparaissent. Dans ce registre il ne faut pas inclure les rares différences d'aspects qui s'éliminent tout naturellement et rapidement dès le début de la croissance en serre. En effet, la culture *in vitro*, par les opérations de repiquages successifs qu'elle impose, n'est rien d'autre qu'une méthode de réjuvenilisation. Par conséquent, les vitro-plants demeurant juvéniles n'expriment pas forcément tout leur programme génétique. Ce fonctionnement se rétablira sur la plante entière croissant en conditions de serre.

En ce qui concerne d'éventuelles variations pouvant apparaître et se maintenir, il y a lieu de distinguer deux situations différentes selon que le fragment introduit *in vitro* comporte ou non un bourgeon. Dans le premier cas de figure, le bourgeon fonctionne *in vitro* comme lorsqu'il est en place sur la plante mère : il génère des feuilles présentant à leur base un bourgeon axillaire et met en place des entre-nœuds. Ainsi, la multiplication des bourgeons constitue le point de départ de la multiplication des individus. Dans la seconde situation, comme c'est le cas par exemple avec un pétiole de feuille de *Saintpaulia*, il faut d'abord faire apparaître des bourgeons pour les multiplier ensuite comme dans le cas précédent. Une telle néoformation exige une perte de différenciation ou dédifférenciation de cellules de l'explant. Pour reprendre l'exemple du *Saintpaulia*, des cellules de pétioles, donc différenciées, doivent se dédifférencier pour redevenir méristématiques avant de se réorganiser en bourgeons. Dans ce cas, surtout s'il est accompagné, avant l'apparition des bourgeons, d'une multiplication des cellules aboutissant à la formation d'un cal, il y a un risque de remaniements chromosomiques. Ces derniers se traduisent alors par des différences entre le matériel micropropagé et le matériel d'origine. Mais il s'agit là seulement d'un risque dont la fréquence d'apparition demeure faible. Cet inconvénient en terme de conformité de reproduction peut toutefois être exploité pour la création variétale.

✓ Les anomalies

Certaines anomalies de croissance peuvent apparaître en cours de culture. Elles se traduisent pour certaines d'entre elles, par un aspect hyalin des explants qui semblent gorgés d'eau. Pour cette raison le phénomène est appelé vitrification ou hyperhydrie. En dehors de leur morphologie anormale, ces explants s'enracinent et surtout s'acclimatent très difficilement, voire pas du tout : de ce fait ils sont potentiellement perdus pour la production. Or, l'une des caractéristiques majeures de cette croissance anormale réside dans son apparition aléatoire, donc dans ses répercussions imprévisibles. Cependant, certains facteurs environnementaux de l'explant (Gaspar *et al.*, 1987) tels que des concentrations élevées en ions NH₄⁺ ou en cytokinines ou bien encore en éthylène, favorisent sa mise en place.

Ainsi, dans une certaine mesure, la maîtrise des conditions de culture permet de limiter l'installation de ce processus.

A côté de ces anomalies de croissance décelables lors de la phase de culture *in vitro*, des perturbations affectant seulement le développement ultérieur des plantes issues de micropropagation peuvent se manifester. Ainsi, au début du transfert de l'outil du laboratoire à l'industrie, des faiblesses de floraison des vitro-plants par rapport aux plants provenant de multiplication végétative traditionnelle ont été observées. L'utilisation sans doute exagérée de régulateurs de croissance pour amplifier la multiplication *in vitro* aurait eu des conséquences sur le développement futur des plantes obtenues. L'ajustement des milieux et la maîtrise raisonnée de taux de multiplication ont rapidement permis d'éliminer ces défauts de comportements de plantes micropropagées. En fait, les conséquences les plus dommageables de ces incidents de transfert de technologie ne proviennent pas des réactions des plantes. Elles résultent de la médiatisation du phénomène *via* les opposants à la technique. Cette contre-publicité à l'innovation a entravé incontestablement le développement des entreprises qui venaient de faire le choix de l'exploitation de cet outil de production qui nécessite un investissement important en raison de son coût.

✓ Le coût

L'aménagement d'un laboratoire, son entretien, la gestion de son personnel, les pertes au moment de l'acclimatation sont autant de charges dont il faut tenir compte pour faire le choix de la méthode de production. Le prix de revient d'un vitro-plant acclimaté est forcément supérieur à celui d'un plant multiplié de façon traditionnelle lorsque la méthodologie classique est efficace.

Une étude précise publiée en 1990 par Barbe et Mazière montre que dans un tel prix de revient c'est le poids de l'acclimatation qui est prépondérant. Or, au début de l'utilisation de la culture *in vitro* à l'échelle industrielle, l'acclimatation était fort mal maîtrisée. Elle s'effectuait soit chez le vitro-culteur si celui-ci possédait des installations, soit le plus souvent chez le client auquel le vitro-culteur livrait les végétaux dans leur conteneur de culture. La connaissance de la physiologie du vitro-plant n'était alors pas suffisante et la transition entre la culture aseptique en récipients où l'humidité relative est extrêmement élevée et la culture en serre où elle l'est nettement moins, s'effectuait très difficilement. Il n'était pas rare que la moitié, voire les trois quarts des vitro-plants périssent au cours de cette transition. L'impact sur le coût est, dans ces conditions, considérable.

3.2 La lutte contre les inconvénients

Les inconvénients dont il vient d'être question ont tous donné lieu à des démarches visant à les surmonter. Ainsi, la lutte contre les imperfections ou les anomalies de croissance s'est focalisée sur l'adaptation des milieux. La maîtrise du coût s'est, elle, traduite par des tentatives de délocalisation et des essais d'automatisation.

✓ L'adaptation des milieux

Pour essayer de produire plus, la tentation a été d'apporter dans le milieu de culture plus d'éléments favorables à la multiplication et en particulier plus de cytokinines, hormones du bourgeonnement. Les résultats ont montré que certes il y a de cette façon possibilité de produire plus mais avec une qualité médiocre. Rappelons en effet que les cytokinines sont des facteurs d'induction de la vitrification. L'amplification exagérée de la multiplication n'est jamais judicieuse. Il convient donc de respecter d'un point de vue quantitatif les limites d'une caulogénèse de qualité sans vouloir les forcer. Pour ce faire, des concentrations de cytokinines de l'ordre du milligramme ou de quelques milligrammes par litre de milieu conviennent souvent.

✓ Les tentatives de délocalisation

Les pays d'Europe de l'Est et ceux d'Asie offrent une main d'oeuvre moins onéreuse que celle des pays occidentaux. Des tentatives de délocalisation de la production ont donc eu lieu dans ces directions. Mais très souvent, cette main d'oeuvre non formée à la rigueur et à la minutie exigées par la culture *in vitro* a livré sur le marché des plantes de médiocre qualité, ne correspondant pas toujours aux variétés commandées et très fréquemment sans respect du calendrier prévu. Cette solution, sauf cas exceptionnel, ne s'est pas révélée satisfaisante. Aussi, dans l'optique de la diminution des coûts, d'autres pistes ont été explorées, notamment celle de l'automatisation.

✓ Les tentatives d'automatisation

L'automatisation a tout d'abord été abordée au niveau du travail en conditions d'asepsie. Un robot est effectivement capable de tronçonner un explant perpendiculairement à son axe de développement et de le repiquer. Mais lorsque le travail de fractionnement est plus délicat, comme dans la séparation de touffes par exemple, le recours à un robot est alors beaucoup plus difficile à gérer. Par ailleurs, si les autres phases de la culture aseptique peuvent être plus ou moins aisément effectuées par une machine, la durée nécessaire pour que celle-ci effectue la tâche, n'est pas inférieure à celle requise par l'homme pour réaliser le même travail. En outre, l'investissement représenté par la mise au point et l'utilisation de ladite machine n'est pas non plus inférieur au coût de la main d'oeuvre.

Au niveau de la phase d'acclimatation, la plus coûteuse, rappelons-le, de la production, les tentatives du même type se sont heurtées aux mêmes difficultés. En effet, si en fonction de critères morphologiques, un robot est tout à fait capable de reconnaître des éléments végétaux, de les trier et de les repiquer, sa vitesse d'exécution n'est pas, là non plus, supérieure à celle de l'homme.

Finalement, aujourd'hui encore, aucune véritable automatisation n'a investi les unités de production de plantes par culture *in vitro*. En raison de ces échecs des tentatives de diminution des coûts, la fermeture de sites de micropropagation est devenue inéluctable.

3.3 La fermeture d'entreprises

Le mouvement de création amorcé au début des années 80 atteint son apogée en 1988 avec 22 entreprises commerciales produisant alors environ 40 millions de plantes (Pierik, 1991). Mais dès 1990, Barbe et Mazière écrivent que « de nombreux laboratoires connaissent des difficultés ». En effet, à cette époque le nombre de ces unités françaises de production chute à 16. La comparaison avec les situations européenne et mondiale est difficile en ce qui concerne la dynamique de ces évolutions faute de données rigoureusement établies. Toutefois, il semble qu'aux Pays-Bas par exemple, le nombre des laboratoires ait doublé entre 1985 et 1988 puis ait légèrement diminué ensuite (Baubault, communication personnelle).

Il est cependant intéressant de constater que ce mouvement de recul observé en France ne touche pas les laboratoires installés au sein d'une entreprise horticole préexistante. Les unités indépendantes, créées uniquement pour produire des plantes par culture *in vitro*, sont atteintes en priorité et de plein fouet par les conséquences des inconvénients de la méthode pour lesquels aucune solution d'amélioration n'a pu être trouvée. Cette tendance à la fermeture s'amplifie au cours de la décennie mais, là encore, s'inverse dans une certaine mesure au terme de cette période pour déboucher sur un véritable renouveau.

4 Le renouveau à la fin des années 90

Les raisons de ce renouveau ont principalement trois origines. Il se veut tout d'abord être un moyen de réponse à la demande. C'est ensuite une démarche visant à la production de plantes de qualité. Enfin, cet outil semble adapté à une production raisonnée et raisonnable.

4.1 Produire pour répondre à la demande

La surproduction est, bien entendu, une hérésie du point de vue commercial. La culture *in vitro* ne doit donc pas être utilisée pour produire inconsidérément des plantes multipliées aisément dans tous les établissements horticoles mais pour répondre à une demande ponctuelle pressante. Dans cette optique, elle ne peut constituer qu'un outil supplémentaire dans une entreprise classique. Pour les plantes difficiles à multiplier de manière traditionnelle, la culture *in vitro*, dès qu'elle est mise au point pour l'espèce en question, apparaît comme un atout parfaitement adapté pour contourner lesdites difficultés.

Les professionnels, notamment les pépiniéristes multiplicateurs de jeunes plants, sont constamment à la recherche des espèces non encore propagées mais qui le seront prochainement parce qu'elles correspondront à la mode du moment ou aux goûts futurs du consommateur. Pour faire face à cette demande du lendemain, il convient d'anticiper la production. Là encore, la culture *in vitro* constitue une méthode tout à fait opportune.

4.2 Produire des plantes de qualité

Une des premières applications de la culture *in vitro* réside dans l'assainissement des plantes virosées. Cette propriété est toujours utilisée dans la mesure où elle est la seule qui permette d'améliorer la qualité sanitaire à ce niveau. En ce qui concerne la lutte contre les maladies bactériennes ou fongiques, il convient d'être plus restrictif. En effet dans la majorité des cas, un explant ne développant pas de contamination *in vitro* peut être considéré comme indemne de micro-organismes. Toutefois, tous les micro-organismes ne se développent pas forcément sur les milieux de cultures synthétiques pourtant riches en nitrates et en sucre. Dans certains cas, des contaminations du milieu peuvent se manifester seulement après plusieurs cycles de repiquages ou bien à la suite d'un stress thermique tel que celui résultant d'une imparfaite régulation de la température de la chambre de culture. Une telle observation démontre bien que des micro-organismes, des bactéries en l'occurrence, peuvent résider dans les vitro-plants sans s'y manifester. Ainsi la notion d'explant sain n'existe-t-elle pas en culture *in vitro* des végétaux. Mais il faut bien reconnaître que ces situations sont rares et que par conséquent, le risque de produire, par culture *in vitro*, des plantes contaminées est minime.

De plus, les plants issus de la micropropagation sont plus ramifiés que ceux du même âge obtenus par voie traditionnelle. Ils présentent donc un aspect morphologique plus attrayant, ce qui se traduit par une valeur marchande supérieure.

Enfin, rappelons à ce niveau la contre-publicité fallacieuse orchestrée à propos des anomalies de développement observées sur les plantes micropropagées. Les remèdes ont été rapidement apportés mais la rumeur tenace a eu des effets parfois délétères pour certains laboratoires.

4.3 Utiliser à bon escient la culture *in vitro*

La culture *in vitro* est une méthode onéreuse, par conséquent, cet outil ne doit pas être utilisé sans discernement. Ainsi, il ne devra pas être appliqué à la propagation des espèces dont la multiplication traditionnelle ne présente aucune difficulté mais être réservé à leur assainissement. En revanche, il conviendra parfaitement à la production des plantes délicates à multiplier et surtout à celles ayant une haute valeur ajoutée.

De plus, comme la culture *in vitro* maintient la juvénilité des explants, les plantes produites conservent un temps cette propriété. En particulier ces plantes présenteront ainsi des aptitudes particulièrement élevées pour une multiplication végétative traditionnelle ultérieure. En outre ces plantes étant très ramifiées le nombre de boutures prélevables sera important. Par conséquent, la culture *in vitro* ne doit pas être considérée uniquement comme un moyen de production de plantes immédiatement commercialisables après acclimatation, même si cette possibilité existe. Elle se révèle de plus parfaitement adaptée à la production de pieds-mères de qualité, sources de multiplications traditionnelles ultérieures.

Au terme de cette analyse relative à l'évolution des laboratoires de production de plantes par culture *in vitro*, il peut paraître opportun de se projeter dans l'avenir pour tenter d'imaginer le devenir de ces structures en tentant de dresser le bilan des limites et des perspectives d'utilisation de l'outil.

5 Conclusion : limites et perspectives de l'utilisation de l'outil

En premier lieu, il apparaît clairement que la commercialisation de vitro-plants non acclimatés est une démarche à proscrire en raison des difficultés que représente toujours la phase de transfert en conditions de serre, véritable travail de professionnel.

Par ailleurs, la culture *in vitro* ne doit plus être considérée comme la motivation créatrice d'une entreprise de multiplication de plantes. L'histoire démontre sans ambiguïté que les laboratoires intégrés à une entreprise préexistante n'ont pas ressenti les difficultés des années 80-90 avec la même acuité que ceux qui, indépendants, produisaient souvent en grandes quantités des plantes pour lesquelles ils n'avaient pas les débouchés. Tel fut le cas de nombreuses structures de production de *Gerbera*. Dans ce cadre, la culture *in vitro* n'apparaît plus comme un outil qui doit remplacer les procédés habituels de multiplication végétative mais seulement comme une méthode supplémentaire à associer aux autres.

Mais la culture *in vitro* doit surtout être considérée comme un procédé qui génère un produit particulier. En effet celui-ci n'a pas exactement la même morphologie ni la même physiologie qu'un plant traditionnel. Sa culture nécessite, au début tout au moins, une attention différente. Son élevage chez le client acheteur doit s'accompagner d'une véritable assistance-conseil de la part du producteur. Dès lors, le surcoût dû à la méthode de production et au développement de la plante se conçoit beaucoup mieux. Dans ces conditions, la comparaison entre la plante issue de vitro-culture et celle provenant de multiplication traditionnelle ne se limite pas à une seule différence de prix entre les deux entités mais doit prendre en compte deux produits différents au niveau de leurs qualités et de leur valeur marchande.

En se référant à toutes ces données, des multiplicateurs français développent, ou plus exactement redéveloppent, l'outil culture *in vitro* comme n'ont cessé de le faire leurs collègues hollandais. Il n'y a alors aucune raison objective d'imaginer que les avenir ne seraient pas identiques.

Bibliographie

Barbe J.P., Mazière Y., 1990, Micropropagation industrielle de plantes horticoles, in : Doré C. (Ed.), *Cinquantenaire de la culture in vitro chez les végétaux*, Paris, INRA, 77-86

Beauchesne G., 1989, L'historique et les fondements de la culture *in vitro*, in : Augé R. *et al.* (Eds.), *La culture in vitro et ses applications horticoles*, Paris, Lavoisier Tec et Doc, 1-5

Bouriquet R., 1990, Introduction historique : la culture indéfinie des tissus végétaux a 50 ans, in : Doré C. (Ed.), *Cinquantenaire de la culture in vitro chez les végétaux*, Paris, INRA, 15-19

Bouzigues P., 1987, La production de vitroplants pour l'horticulture ornementale en France, *PHM- Revue Horticole*, 277, 15-23

Gaspar T., Kevers C., Debergh P., Maëne L., Pâques M. and Boxus P., 1987, Vitrification : morphological, physiological and ecological aspects, in : Bonga J.M., Durzan D.J. (Eds.), *Cell and tissue culture in forestry, Vol. 1, General principles and biotechnology*, Dordrecht, Martinus Nijhoff Publ., 152-166

Hartmann C., Joseph C., Millet B., 1998, *Biologie et physiologie de la plante. Age chronologique, âge physiologique et activités rythmiques*, Paris, Nathan, 224 p

Morel G., Martin C., 1952, Guérison de dahlias atteints d'une maladie à virus, *C.R. Acad. Sci. Paris*, 235, 1324-1325

Pierik R.L.M., 1991, Commercial micropropagation in Western Europe and Israel, in : Debergh P.C. and Zimmerman R.H. (Eds), *Micropropagation Technology and Application*, Dordrecht/Boston/London, Kluwer Academic Publishers, 155-165