CD_RP 16207

CONFERENCE INTERNATIONALE SUR LE CAOUTCHOUC NATUREL ET PROJETS DE COLLABORATION AVEC LE CATAS (Biotechnologie)

Rapport de mission au Vietnam et en Chine
Du 13 au 24 novembre 2006

MONTORO Pascal
UMR-1098 (UMR-BEPC)
CIRAD-Cultures Pérennes

CP- 2059
Janvier 2007

1 2 JUIN 2007

DK-540519.

Remerciements

Je remercie tout d'abord le secrétaire général de l'IRRDB, le Dr Aziz, pour son invitation à participer aux réunions annuelles de l'IRRDB qui se sont tenues à Ho Chi Minh Ville au Vietnam. Mes remerciements vont aussi aux directeurs de l'institut de recherche sur le caoutchouc, le Pr Wei Xiadi, et de l'ITBB du CATAS, le Pr Dr Ming Peng, pour leur invitation à donner un cours sur les biotechnologies chez l'hévéa. Je tiens aussi à remercier le Dr Li Zhe, pour son accueil sur le campus de Bao Dao et les échanges fructueux sur l'embryogenèse somatique, le Pr CHEN Xiongting pour la présentation de ses travaux sur la culture *in vitro* et la visites des essais au champ, Ms Cuifang Duan pour sa disponibilité pour préparer son projet de thèse au Cirad.

CIRAD-DIST
Unité bibliothèque
Lavalette

CIRAD
000087762

Personnes rencontrées

Vietnam
Dr Aziz, Secretary general, IRRDB
Tous les direteurs des intituts de recherche sur le caoutchouc
Ms Duan Cuifang

Univesité

Chine
Pr Qiubo Chen, vice president, CATAS
Dr Ming Peng, Dir ITBB
Pr Xiongting CHEN (embryogenèse somatique et microbouturage hévéa), ITBB
Pr JIN (hévéa & bananier), ITBB
Pr Zhili ZHANG, SKLTCB
Pr Chengbin XIANG, université de Chine à Anhui (3ème université nationale)
Pr Li Zhe, responsable équipe transformation génétique hévéa, RRI-CATAS
Ms Cuifand Duan, responsable équipe génomique fonctionnelle, RRI-CATAD
Pr Lin Weifu, directeur adjoint RRI-CATAS

Emploi du temps

Novembre	Lieux	Objectifs
11-12	Mpt-Paris-HCMV	Voyage jusqu'à Ho Chi Minh Ville
13-14	HCMV	International Natural Rubber Conference Trois présentations de l'équipe Cirad
15	HCMV	Réunions annuelles de l'IRRDB
16	HCMV	Réunions annuelles de l'IRRDB Présentation des activités du groupe Biotechnologie de l'IRRDB
17	HCMV	Visite de l'université d'agriculture de HCMV
18	HCMV-Hongkong	Transfert vers HKG
19	HKG	Repos
20	HKG-Haikou	Transfert vers Haikou sur Haïnan
20	Haikou	Visite de l'ITBB Conférence de PM sur les Biotechnologies hévéa
21	Haikou	Visite des activités mcirobouturage du Pr Chen Xiongting
21	HK-Baodao	Transfert à Baodao
21	Baodao	Visite des essais au champ de vitroplants Visite des laboratoires de l'institut de recherche sur le caoutchouc
22	Baodao	Conférence de PM sur les Biotechnologies hévéa Visite des activités de l'équipe du Dr Li Zhe Conférence sur l'embryogenèse somatique entretenue chez l'hévéa. Induction et maintien de la friabilité Dîner avec le Vice Président du Catas Réunion avec Ms Cuifang Duan (préparation du dossier de thèse)
22	Baodao	Réunion avec Ms Cuifang Duan (préparation du dossier de thèse)
22	Baodao-Haikou	Transfert et nuit à Haikou
23	Haikou-Pékin-Paris-Mpt	Retour vers la France

Résumé

Répondant aux invitations de l'IRRDB et du CATAS, cette mission a permis dans un premier temps au Vietnam de participer à la Conférence internationale sur le caoutchouc naturel (INRC), aux réunions annuelles de l'IRRDB et à la visite de l'université d'Ho Chi Minh Ville, et dans un second temps en Chine, de donner des séminaires de formation sur les biotechnologies chez l'hévéa et de préparer deux projets de collaboration avec le CATAS.
L'INRC a rassemblé un grand nombre de chercheurs de plusieurs pays membres de l'IRRDB. Un faible nombre de présentations sur les biotechnologies y ont été données. La majeure partie des représentants du groupe biotechnologie de l'IRRDB étant absent, ce groupe n'a pu se réunir comme prévu lors des réunions IRRDB. Les directeurs des instituts ont été prévenus que ce groupe souhaitait se réunir en 2007 afin de préparer une ou plusieurs propositions de projet scientifique à enjeu international.
La visite de la plateforme de biotechnologie et de biochimie de l'université d'agriculture d'Ho Chi Minh Ville a montré la bonne organisation et les moyens conséquents dont disposent les chercheurs et étudiants vietnamiens.
A un niveau encore beaucoup plus avancé, le CATAS a investi énormément dans les infrastructures et le retour de chercheurs sino-américains dans le domaine de la biologie moléculaire. Deux séminaires ont été donnés sur les récents développements au CIRAD au niveau de la micropropagation, de la transformation génétique et de la régulation éthylénique chez l'hévéa respectivement sur les campus du CATAS à Haikou et à Danzhou. Un troisième séminaire plus axé sur l'embryogenèse somatique entretenue de l'hévéa a été demandé par l'institut de recherche sur le caoutchouc du CATAS.
Les projets de collaboration avec l'accueil de deux chercheurs, l'un en postdoc sur l'embryogenèse somatique et l'autre en thèse sur le sujet de la communication éthylène-jasmonate ont été approfondis et les financements discutés. Le Vice-président de l'université devrait apporter son aide à l'obtention des budgets pour favoriser ces collaborations avec le CIRAD.

Mots clés

IRRDB, hévéa, biotechnologie, CATAS, embryogenèse somatique, biologie moléculaire, éthylène, jasmonate

Abréviations

IRRDB, International Rubber Research and Development Board
INRC, International Natural Rubber Conference
CATAS, Chinese Academy for Tropical Agricultural Sciences
RRI, Rubber Research Institute
ITBB, Institute for Tropical Bioscience & Biotechnology

Sommaire

Remerciements i
Personnes rencontrées ii
Emploi du temps iii
Résumé iv
Introduction 1
1. Conférence internationale sur le caoutchouc naturel 2
2. Visite de l'université d'agriculture de Ho Chi Minh Ville 3
3. Séminaires sur les biotechnologies chez l'hévéa au CATAS 4
4. Visites des instituts de recherche du CATAS à Haïkou 5
5. Programme de culture *in vitro* du Pr Xiongting CHEN à l'ITBB du CATAS 5
6. Visite du Rubber Research Institute of CATAS 6
7. Programme d'embryogenèse somatique et de transformation génétique du Dr Li Zhe à l'institut de recherche sur le caoutchouc au CATAS à Danzhou 7
8. Projet de collaboration CIRAD-RRI/CATAS sur la diversification clonale en embryogenèse somatique 7
9. Projet de collaboration sur l'interaction éthylène-jasmonate 8
Résultats attendus 9
Conclusion 10
Bibliographie 11

Annexe
1 – Organigramme

Introduction

L'IRRDB (International Rubber Research and Development Board) organise une semaine par an une conférence, l'INRC (International Natural Rubber Conference) en collaboration avec les différents instituts membres, et les réunions annuelles des directeurs des instituts et du Bureau de l'IRRDB.

Liaison Officer du groupe Biotechnologie de l'IRRDB depuis 2002, Pascal Montoro a été invité aux réunions annuelles où j'ai fait un bilan des activités biotechnologies chez l'hévéa dans les différents instituts et proposé d'organiser une réunion du groupe lors de la prochaine réunion IRRDB.

Pascal Montoro a saisi cette occasion pour participer à l'INRC et y présenter 3 exposés sur les travaux réalisés par le groupe Hévéa Cirad de l'UMR-BEPC.

La mission s'est poursuivie avec une visite du CATAS (Chinese Academy for Tropical Agricultural Sciences) avec lequel deux projets de collaboration sont en discussion. Cette visite fait aussi suite à une invitation du RRI (Rubber Research Institute) et de l'ITBB (Institute for Tropical Bioscience & Biotechnology) en échange de quoi Pascal Montoro a donné, à l'ITBB à Haikou et à le RRI à Danzhou, des séminaires sur les récents développements au CIRAD au niveau de la micropropagation, de la transformation génétique et de la régulation éthylénique chez l'hévéa. Un troisième séminaire plus axé sur l'embryogenèse somatique entretenue de l'hévéa a été demandé par le RRI.

1. Conférence internationale sur le caoutchouc naturel

La Conférence internationale sur le caoutchouc naturel s'est tenue à Ho Chi Minh Ville au Vietnam les 13 et 14 novembre. Cette conférence a été organisée en 14 sessions sur l'amélioration des cultures, gestion des cultures, physiologie et exploitation, protection des cultures, socio-économie et technologie. Près de 105 communications scientifiques ont été présentées dont 8 liées aux biotechnologies ou des approches de biologie moléculaire. L'équipe Cirad de l'UMR-BEPC a présenté 3 papiers (Montoro *et al.*, 2006, Leclercq *et al.*, 2006, Lardet *et al.*, 2006).

Huit gènes codant des aquaporines ont été isolés et leur expression analysé dans le phloème et les laticifères (Kessarin Tungngoen, PhD, Univ. Mahidol, Thaïlande). L'accumulation de transcrits d'une TIP1 (aquaporine tonoplastique) est observée après blessure tandis que celle d'une PIP2 (plasmalemmique) est réduite après saignée. Une étude préliminaire de la réponse clonale est abordée sans répétition biologique à la fois par analyse Northern et PCR quantitative.

Une approche protéomique a été initiée dans le but d'isoler et caractériser les protéines liées membranes des particules de caoutchouc (Cuifang Duan, MSc., chercheure du CATAS, Chine). 160 peptides ont été analysés au MaldiToff Toff. L'analyse par comparaison de séquences montrent que de nombreuses protéines seraient impliquées dans la défense, l'assemblage/dégradation, la réponse aux hormones (Jasmonate et éthylène). La discussion a fait ressortir une probable contamination avec des protéines solubles du latex lors de l'isolement des particules de caoutchouc et la nécessité de mettre en place des contrôles et des études complémentaires pour confirmer ces premières conclusions.

Une mise en évidence de protéines induites par l'éthylène a été présentée par le Dr Sumarmadji (travaux de thèse, IRRI, Indonésie). Le pic de production de latex est atteint 8 jours après stimulation chez les 4 clones étudiés. Parmi les protéines observées, on en note plusieurs spécifiques de l'induction éthylénique, 1 de 27kDa et 2 de 35-70 kDa.

James Jacob a aussi présenté une analyse d'expression différentielle pour le TPD par *differential display*. Une vingtaine de séquences ont été retenues pour leur spécificité mais aucune validation par Northern par exemple n'a été apportée. On note parmi les séquences isolées un ABC transporteur ainsi qu'un antiport *Na*+ de type MATE.

James Jacob a présenté un second papier sur le TPD mettant en relation les fortes teneurs en ATP, un peroxyde d'hydrogène et éthylène. Il a présenté un modèle de travail où l'éthylène déclencherait la production de ROS et de CN qui induiraient le TPD.

M. Omokhafe du Nigeria a présenté un projet de production de clones nains utilisant la micropropagation et l'hybridation interspécifique des différentes espèces d'Hevea.

On peut retenir un papier de Heru de l'IRRI centre de Sembawa sur l'estimation du volume de bois basée sur la circonférence des jeunes plants. Ce modèle semble bien fonctionné sur les clones greffés mais moins sur les seedlings à cause de la variation enregistrée sur ce matériel.

Une key note a été présenté par le *liaison officer* du *Plant protection group,* Dr Jayasinghe. Les premières apparitions de Corynespora au Sri Lanka datent de 1985. Seul le clone RRIM 600 a résisté. Le greffage des arbres dévastés a permis de rétablir rapidement la production des plantations RRIC 103. Une nouvelle vague d'infection en 1995 a montré la variabilité de Corynespora. Différents symptômes non décrits sont alors apparus. Jayasinghe fait ensuite des recommandations pour contrôler le développement de Corynespora notamment en terme de diversification clonale.

Nghia, chercheur vietnamien en thèse au MRB, a présenté aussi une première caractérisation morphologique de 21 isolats de Corynespora trouvés sur 12 clones d'hévéa. Il va poursuivre son travail par une étude génétique des isolats par Inter Simple Sequence Repeat et une analyse protéomique de la réponse chez les plantes.

2. Visite de l'université d'agriculture de Ho Chi Minh Ville

La visite de l'université de Nong Lam a été organisée par M. Tran Van Can à la demande de Jérôme Sainte-Beuve en compagnie de M. Hubert Omont. Nous avons été accueillis par le recteur, le Pr Nguyen Hay, et le Dr Phan Phuonc Hien, vice directeur et responsable du bureau des relations internationales. Le recteur nous a présenté l'université basé sur 180 ha, comprenant 12 facultés dont une d'Agronomie, Forêt, Environnement et Sciences. L'université comprend environ 800 personnes dont 500 enseignants et 22000 étudiants.

Nous avons ensuite visité le RIBET (Research Institute of Biotechnology and Environment Technology). Cet institut est un ensemble de plateaux techniques de biochimie et de biologie cellulaire et moléculaire qui accueille des étudiants et des chercheurs vietnamiens et étrangers. Le Pr Nguyen Hay et le Dr Phan Phuonc Hien sont respectivement responsables des plateaux de biochimie et biotechnologie. Les projets scientifiques sont principalement réalisés en collaborations avec les centres de recherche de l'université :

- centre d'analyse et d'expérimentation de biologie et chimie ;
- centre de biotechnologie ;
- centre de recherche sur les technologies environnementales.

La construction d'un nouveau bâtiment pour le RIBET est prévue avec un budget de 4 millions de dollars.

Les laboratoires du RIBET sont toutefois actuellement bien équipés et un technicien est spécialisé sur chaque appareil.

Labo 1	HPLC, Chromoto Phase Gazeuse, Spectrophotomètre de masse, Electrophorèse capillaire, etec.
	Analyses des résidus de pollution (eau, sol, air)
	Analyses des composés aromatiques du riz
Labo 2	Absorption atomique, etc.
	Analyse des métaux lourds (eau, sol, air). Coll. Avec l'Australie
Labo 3	Biotechnologie animale et végétale (Resp. Pr Cuong)
	18 machines PCR, électrophorèse, 4 hottes à flux laminaire, PCR quantitative, lyophilisateur, séquenceur (ABI-PRISM, 3100 genetics), ultracentrifugeuse Beckman, etc.
	Analyse des OGM, biodiversité (RAPD, AFLP, SSR (analyse des produits PCR sur séquenceur et Q-PCR méthode Pr TRI (Hanoï).
Labo 4	Purification protéines (couplage de plusieurs appareils : Biorad, Duo Flow, UV-Vis Detector, analyser Waters, refractive index detector, etc.) et identification protéines sur base de données 2D.
	Analyse des produits alimentaires

3. Séminaires sur les biotechnologies chez l'hévéa au CATAS

Le CATAS invite une dizaine de chercheurs étrangers par an pour améliorer les échanges et la formation des chercheurs et étudiants. Dans ce cadre, Pascal Montoro a reçu une invitation pour donner des séminaires au CATAS sur l'état d'avancement des biotechnologies au CIRAD.

Un premier séminaire de 2 heures intitulé « Recent developments of biotechnologies and studies on ethylene-responsive genes in *H. brasiliensis* » a été donné à l'ITBB à Haïkou. Une cinquantaine d'étudiants et d'enseignants étaient présents. Ce séminaire a été suivi d'une longue discussion qui a permis de revoir le Pr Xiongting CHEN (embryogenèse somatique et microbouturage hévéa) et le Pr JIN (hévéa & bananier) et de rencontrer le Pr Zhili ZHANG du SKLTCB. Les chercheurs de l'ITBB n'étant pas des spécialistes de l'hévéa, de nombreuses questions ont été posées sur l'hévéaculture et les moyens d'améliorer rapidement l'espèce.

Le même séminaire a été donné au RRIC à Danzhou (campus de Baodao). Une trentaine de chercheurs et étudiants de différents instituts du CATAS ont assisté à ce séminaire. L'intérêt a été marqué sur l'obtention des cals friables, la cryoconservation et la transformation génétique. Des questions ont aussi été posées sur la régulation hormonale en cas de stress biotiques.

Un deuxième séminaire plus axé sur l'embryogenèse somatique a été organisé au RRIC à la demande des chercheurs : les différentes voies d'embryogenèse, l'obtention de cals friables et les essais agronomiques ont été développés.

CIRAD-DIST
Unité bibliothèque
Lavalette

4. Visites des instituts de recherche du CATAS à Haïkou

Le CATAS regroupe plusieurs instituts et est composé de 6000 agents avec plus de 15000 étudiants sur les deux campus de Haikou et Danzhou ainsi que plusieurs fermes expérimentales.

Nous sommes en relation avec deux instituts du CATAS qui sont basés à Haïkou. Le premier est le *State Key Lab for Tropical Crops Biotechnology* (SKLTCB) et le second est l'*Institute of Tropical Bioscience and Biotechnology* (ITBB).

Après avoir travaillé près de 20 ans chez Monsanto, le Dr Ming Peng a été sélectionné pour diriger l'ITBB. Il termine un premier contrat de trois ans qui devrait se prolonger avec pour objectif de terminer la construction et le démarrage des activités dans de nouveaux buildings. Les trois buildings en construction sur le campus font 6 étages pour totaliser 15 000 m^2. De nouvelles serres sont déjà construites ce qui devrait leur offrir près de 2000 m^2 d'expérience. Lors du dîner, une discussion a été établie avec le Pr Chengbin XIANG de l'université de Chine à Anhui (3ème université nationale). Spécialiste des stress abiotiques, Le Pr Xiang a travaillé près de 20 ans chez Pionneer et son épouse chez Dupont de Nemours. Le Dr Peng souhaite développer de nouvelles collaborations avec le CIRAD notamment dans le domaine de la tolérance au froid et la casse au vent chez l'hévéa par transgénèse. Le CATAS aurait déjà produit de plantes transgéniques « putatives » car sans effet notable au champ. Les résultats sur la caractérisation moléculaire des plants n'ont pas été communiqués. Les seuls plants transgéniques efficaces seraient actuellement des tabacs.

5. Programme de culture *in vitro* du Pr Xiongting CHEN à l'ITBB du CATAS

Le Pr Chen mène toujours ses recherches au SKLTCB du CATAS à HaiKou et ses essais au champ à Danzhou. Il a développé une méthode propagation par microbouturage de jeunes vitroplants issus d'embryogenèse somatique à partir d'anthère. Cette dernière technique n'étant pas utilisable pour de la production de masse, le rajeunissement obtenu permet toutefois une multiplication importante.

Les clones propagés par cette méthode sont :

- PR 107,
- Haiken 2,
- Dafeng 95,
- Wenchang 217
- Yun Yan 77-2
- RRIM 600
- Reyan 7-33-97

Les microboutures développent leurs premières racines en tube puis elles sont transportées dans les serres du campus de Haïkou. L'acclimatation s'opère en trois phases avant plantier au champ :

- 2 à 3 mois de sevrage et développement racinaire dans du sable sous tunnel à même le sol de la serre. Le tunnel est progressivement supprimé.
- 2 à 3 mois d'endurcissement en polybag de 10cm de diamètre et 20 cm de hauteur dans un mélange de terreau toujours en serre.
- 1 an de pépinière sans ombrage dans les polybags plantés dans le sol.

Le matériel est ensuite transporté à Danzhou pour le plantier ou bien chez différents hévéaculteurs pour totaliser une vingtaine d'hectares d'essais mis en place depuis 1997. Le coût d'un vitroplant serait d'environ 5 yuans mais ils sont offerts pour le moment au fermier.

La visite a permis de voir les 3 essais en cours au CATAS.

Le premier est un ancien plantier de 1997 avec le clone Haiken 2. Ce champ a été dévasté par un typhon en 2005 (2/3 des arbres cassés au milieu), ce qui démontre la faible résistance à la casse au vent chez ce clone. On peut observer la conicité des troncs des microboutures par rapport aux greffés. L'essai a été planté par répétition dans la ligne de 4 microboutures et 4 greffés. Leur production respective était approximativement de 7 kgCN/arbre/an contre seulement 5 kg chez le témoin soit une augmentation de 50%.

Le deuxième essai a été planté en 2003 sur 1,5 ha avec des microboutures du clone Haiken 2. La parcelle est divisée en trois lots : 2 lots de microboutures et un lot de plants greffés. Aucun dommage n'est enregistré sur cet essai.

Le dernier essai a été planté en début 2006. Il comporte plusieurs clones tels que le PR 107. Leur croissance au démarrage est assez hétérogène.

Il existerait d'autres essais avec des greffés juvéniles mais ils n'ont pas pu être visités.

6. Visite du Rubber Research Institute of CATAS

La modernisation de l'institut est assez impressionnante depuis la dernière mission de P. Montoro et M.P. Carron en 2002. Les laboratoires ont été entièrement restaurés et équipés de matériel permettant d'envisager toutes les approches : cytologiques, biochimiques, moléculaires, protéomiques, cultures cellulaires (micropropagation et transformation génétique). De nombreux recrutements de jeunes chercheurs ont été réalisés et les possibilités d'accueil d'étudiants sont remarquables.

7. Programme d'embryogenèse somatique et de transformation génétique du Dr Li Zhe à l'institut de recherche sur le caoutchouc au CATAS à Danzhou

Ce programme a été réactivé il y a plus d'un an suite au recrutement du Dr Li Zhe. L'ensemble de l'équipe est relativement jeune et sans expérience sur l'hévéa. Les cinq agents rencontrés sont très motivés et expérimentent de nombreuses voies en embryogenèse somatique primaire et entretenue à partir de tégument ou d'anthères, de cotylédons et de feuilles, ainsi que la transformation génétique.

La voie d'embryogenèse primaire permet une obtention régulière d'embryons souvent anormaux mais dont quelques uns peuvent se développer en plantes. Des cals friables sont entretenues. Ces cals portent des embryons : ils ressemblent aux cals embryogènes entretenus obtenus par Pascal Montoro au cours de sa thèse. L'établissement de cultures en suspension est un objectif majeur pour cette équipe mais des difficultés sont apparemment dues au brunissement des suspensions. Des conseils ont été apportés quant à la méthode d'installation de la culture en milieu liquide.

Des essais de transformation génétique sont en cours et des cals avec des secteurs exprimant l'activité de gène rapporteur gusA ont été vus. Un des objectifs à court terme est l'intégration du gène CBF-1.

8. Projet de collaboration CIRAD-RRI/CATAS sur la diversification clonale en embryogenèse somatique

Le CATAS a sélectionné un clone tolérant à la casse au vent, le Reyan 88-13. Ce clone représente un véritable enjeu de développement pour les zones hévéïcoles sujettes à des vents violents. Ces caractéristiques en font un bon candidat pour l'intégration des plus-values apportées par les biotechnologies. Les recherches en culture *in vitro* au CATAS ont permis d'aboutir à la production de cals portant des embryons somatiques ; néanmoins la compacité des cals et le blocage du développement des embryons somatiques représentent deux contraintes dans l'utilisation ce procédé de micropropagation. L'application à ce clone des techniques d'embryogenèse entretenue développées par le CIRAD et Michelin ouvre les perspectives les plus larges en matière de biotechnologies (micropropagation, suspension cellulaire, culture de protoplastes, transformation génétique...).

Le projet vise donc l'accueil d'un chercheur du CATAS pour l'établissement de lignées de cal embryogène soit à partir de tégument de fruit soit à partir d'embryons somatiques primaires chez le clone Reyan 88-13. La cryoconservation des lignées permettra leur conservation sur le long terme et facilitera leur transport entre les différents laboratoires impliqués. Parmi les lignées obtenues, un premier criblage sera réalisé au CIRAD pour sélectionner la ou les lignées les plus embryogènes. Dans un second temps, les lignées sélectionnées seront caractérisées vis à vis des rendements de régénération, d'acclimatation des

vitroplants et du développement des vitroplants au champ. Les essais au champ seront conduits en parallèle chez un autre partenaire de l'IRRDB. L'appui à ce transfert de technologie sera réalisé par trois chercheurs du CIRAD.

Le Pr Li Zhe a remis en septembre 2006un premier dossier au Ministère chinois des technologies. Ce dossier refusé faute de co-financement a été présenté à nouveau en octobre avec un co-financement du Catas de l'ordre de 10% du budget total mais qui est encore insuffisant. Le Pr Chen Qiubo s'est engagé à étudier très rapidement le dossier pour y apporter le co-financement nécessaire. Une réponse est attendue pour le début d'année 2007.

9. Projet de collaboration sur l'interaction éthylène-jasmonate

Mlle Cuifang DUAN est chercheure à l'institut de recherche sur le caoutchouc du CATAS. Elle dirige une jeune équipe 'Functional genomics of rubber tree » étudiant le rôle du jasmonate dans la différenciation des laticifères et la production de caoutchouc naturel. Elle a participé aux dernières Conférences INRC où elle a présenté des résultats très intéressants sur le rôle du jasmonate sur le production de latex. Elle a sollicité l'équipe cirad pour réaliser une thèse à Montpellier.

L'objectif du projet de thèse viserait à mieux comprendre les interactions favorables et défavorables entre l'éthylène et le jasmonate dont les voies de signalisation contrôlent la réponse cellulaire, des tissus laticifères mais aussi des tissus environnants, ce qui aurait une implication sur la biosynthèse des polyisoprènes, la détoxication des radicaux libres lié à la fluidité du latex et à son écoulement, la sénescence des tissus, etc.

Mlle Duan a préparé avec Pascal Montoro un document introductif au projet de thèse. Les travaux utiliseraient le dispositif expérimental en milieu confiné développé au CIRAD et sur l'approche pharmacologique (activateurs / inhibiteurs) pour réaliser une caractérisation fine de l'action des hormones. Mlle Duan étudierait l'impact global de ces régulations par analyse transcriptomique de la réponse à ces signaux.

Programmation prévisionnelle des travaux de thèse de Cuifang DUAN. Appuis techniques ([1]) MA. Rio, ([2]) C. Sanier sur plateau PHIV, ([3]) travaux poursuivis par J. Lelcercq.

Activités	**2007**		**2008**		**2009**		**2010**	
	S1	S2	S1	S2	S1	S2	S1	S2
Réunification des ressources moléculaires disponibles (CATAS, CIRAD, EUSC, IRD)		+	+					
Création banques SSH et constitution de ressources moléculaires (EST) complémentaires aux banques existantes		+	+					
Développement d'une base de données transcrits uniques et de puces à ADN de type Affymetrix			+	+				
Traitements des plants (hormones et inhibiteurs) et extractions des populations d'ARN en cinétique		+	+	+	+			
Etude de la réponse des voies de biosynthèse de l'éthylène et du jasmonate ([1])			+	+				
Analyse globale du transcriptome en réponse aux traitements (stress hormonaux, etc.)				+	+	+		
Gestion et analyse des données				+	+	+		
Validation par analyse fine de l'expression de gènes ciblés par PCR quantitative			+	+	+	+		
Localisation de l'expression de gènes clés par hybridation *in situ* ([2])						+		
Validation cellulaire par induction *in vivo* d'effecteurs/inhibiteurs de l'implication d'un processus dans le fonctionnement du cambium et/ou des laticifères (Real Time Microscope) ([2])						+		
Préparation de constructions moléculaires pour inactivation de certaines fonctions clés (transgénèse ou RNAi selon développement de ces techniques)						+	+	
Validation par inactivation génique ([3])							+	+
Proposition d'un modèle de travail							+	
Rédaction du manuscrit et d'un projet de publication							+	+

Résultats attendus

- Connaissances sur les régulations hormonales impliquées dans la réponse aux stress éthylénique, blessure et jasmonate.
- Identification de mécanismes cellulaires déterminants dans la tolérance aux stress d'exploitation chez l'hévéa.
- Marqueurs d'expression exprimés spécifiquement sous stress pour développer une stratégie de phénotypage de jeunes hévéas pour leur métabolisme et la tolérance aux stress
- Collection de gènes impliqués dans la biosynthèse, la perception et la signalisation éthylène et jasmonate
- Collection d'EST de réponse aux stress

Conclusion

Parmi les 105 communications à l'INRC, les équipes Cirad en ont présenté une dizaine dont trois sur les biotechnologies. Le niveau de maîtrise de l'embryogenèse somatique et de la transformation génétique place toujours le Cirad en leader sur ces technologies. Sur les aspects plus fonctionnels, l'équipe de l'UMR-BEPC se trouve bien positionner sur l'analyse transcriptomique de la régulation éthylénique et de nombreux échanges ont eu lieu avec les chercheurs de l'IRD, du CATAS et de l'IRIEC, les autres acteurs majeurs indiens et malaisiens étant absents.

Bien que le Board de l'IRRDB souhaité en 2005 un renouvellement des Liaison Officers, Pascal Montoro a été confirmé dans sa fonction au niveau du groupe Biotechnologie. Un feu vert lui a été donné pour organiser une réunion du groupe juste avant les réunions annuelles 2007 qui se tiendront au Cambodge. Sur la base des 3 propositions présentées (conservation des ressources génétiques, réseau pour favoriser le transfert de l'embryogenèse somatique et sa diversification clonale, consortium génomique), cette réunion aura pour objectifs d'identifier au moins un projet à enjeu international en biotechnologie.

La visite du CATAS révèle que cette université va devenir un centre de recherche incontournable sur les biotechnologies et la génomique des cultures tropicales dans un proche avenir. Le développement de l'ITBB et du RRI est très rapide. De nombreuses activités de recherche et des moyens très conséquents sont offerts aux chercheurs chinois. La future équipe Burst de l'UMR-DAP devra y jouer un rôle majeur en développant des collaborations sur la base de celles initiées en embryogenèse somatique et sur l'interaction entre hormones. Les bons contacts établis avec le vice-président du CATAS, le Pr Qiubo, devraient faciliter l'accès aux financements du CATAS et maintenir un rôle d'intervention dans l'enseignement au CATAS. L'année 2007 sera déterminante pour ces collaborations.

CIRAD-DIST
Unité bibliothèque
Lavalette

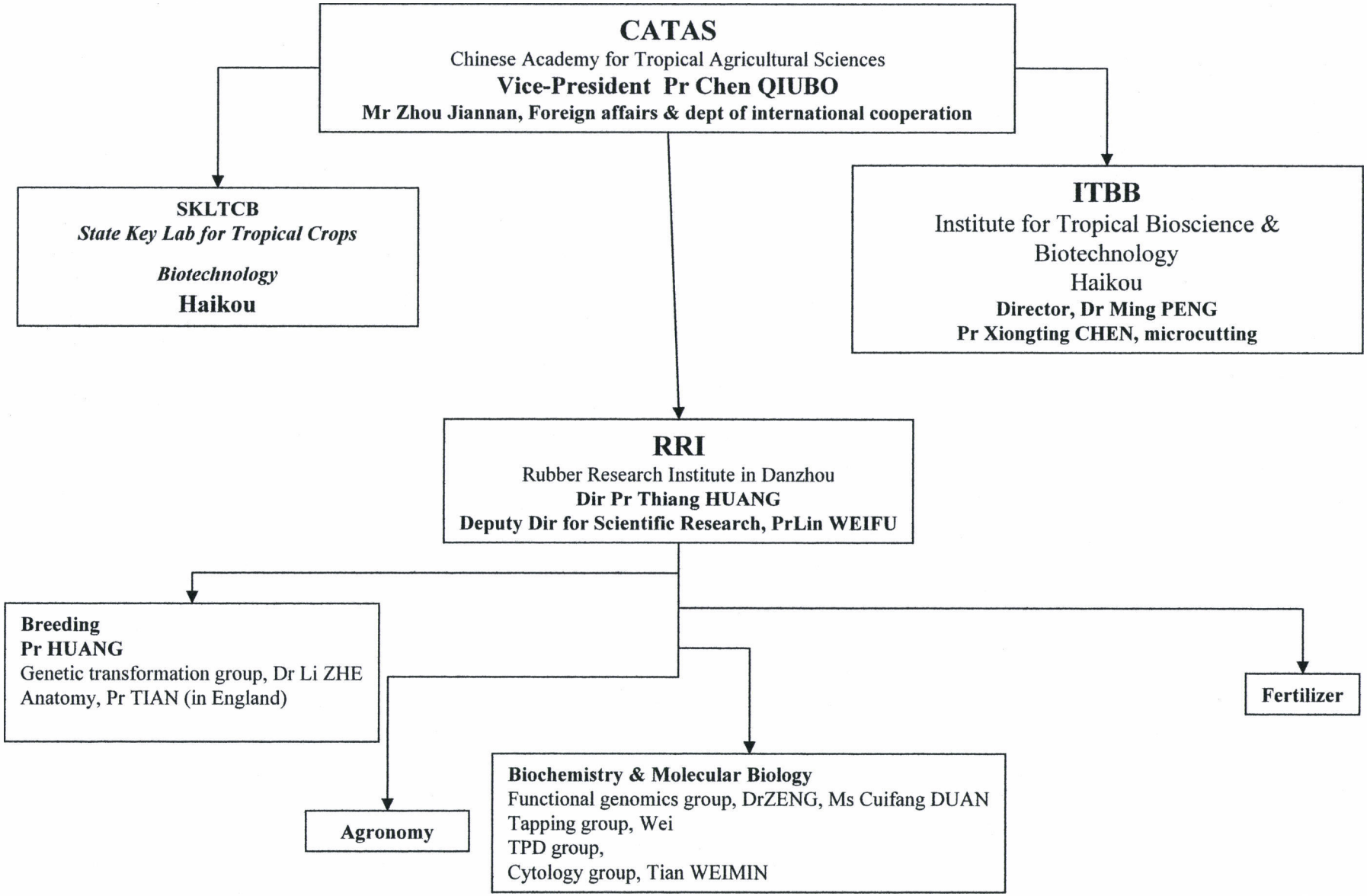
Bibliographie

Lardet, L., Martin, F., Chapuset, T., Carron, M. P. & Montoro, P. (2006). Establishment of a cryopreservation process for long-term storage of embryogenic calli of Hevea brasiliensis (Müll. Arg.). In *International Natural Rubber Conference*. Ho Chi Minh City.

Leclercq, J., Martin, F. & Montoro, P. (2006). Shortening genetic transformation procedure by using green fluorescent protein marker. In *International Natural Rubber Conference*. Ho Chi Minh City, Vietnam.

Montoro, P., Lagier, S., Baptiste, C., Marteaux, B., Pujade-Renaud, V., Leclercq, J. & Alemanno, L. (2006). Characterization of the HEV2.1 promoter in transgenic Hevea brasiliensis calli and plants. In *International Natural Rubber Conference*. Ho Chi Minh City, Vietnam.

ANNEXE


CATAS
Chinese Academy for Tropical Agricultural Sciences
Vice-President Pr Chen QIUBO
Mr Zhou Jiannan, Foreign affairs & dept of international cooperation
SKLTCB
State Key Lab for Tropical Crops
Biotechnology
Haikou
ITBB
Institute for Tropical Bioscience & Biotechnology
Haikou
Director, Dr Ming PENG
Pr Xiongting CHEN, microcutting
RRI
Rubber Research Institute in Danzhou
Dir Pr Thiang HUANG
Deputy Dir for Scientific Research, PrLin WEIFU
Breeding
Pr HUANG
Genetic transformation group, Dr Li ZHE
Anatomy, Pr TIAN (in England)
Agronomy
Biochemistry & Molecular Biology
Functional genomics group, DrZENG, Ms Cuifang DUAN
Tapping group, Wei
TPD group,
Cytology group, Tian WEIMIN
Fertilizer

CIRAD-DIST
Unité bibliothèque
Lavalette