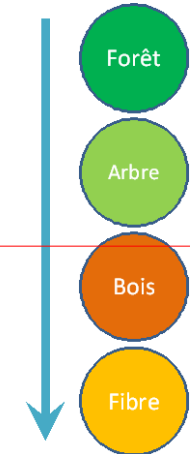


XYLOFOREST = Six plateaux

- XYLOSYLVE (INRA)
 - Systèmes sylvicoles innovants
- XYLOBIOTECH (FCBA)
 - « Biotechnologies forestières »
- XYLOMIC (INRA)
 - Génomique et phénotypage des arbres
- XYLOPLATE (UBx)
 - Ingénierie avancée du bois
- XYLOMAT (UPPA)
 - produits composites à base de bois
- XYLOCHEM (Ubx)
 - Chimie et bio-raffinerie du bois



Equipex Xyloforest - conference du Mardi - 18/10/2011

2



XYLOBIOTECH : MOTS-CLES



Ressources Génétiques
Sauvages et améliorées

Conservation
Propagation
Caractérisation

Forêt

Régénération
Variétés
Plantation

Industrie
Cellulose

Bioraffinerie
Energie Scierie, tonnellerie
Ameublement, structures bois

Equipex Xyloforest - conference du Mardi - 18/10/2011

3



Un triptyque traitant de l'Arbre



XYLOSYLVE XYLOBIOTECH XYLOMIC

Ressources génétiques sauvages et domestiquées :

Ecosystèmes, Espèces, populations, individus, variétés

- Comprendre
- Conserver / préserver
- Améliorer / Sélectionner / Adapter
- Multiplier / Diffuser
- Tracer / Caractériser



- Origine géographique /provenance / Ecosystèmes
- Ascendances / Parenté
- Génomique (ADN)
- EpiGénétique
- Physiologie > Adaptation

Equipex Xyloforest - conference du Mardi - 18/10/2011

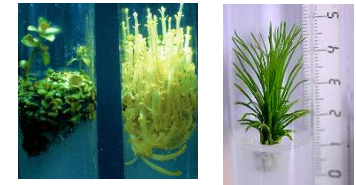
4

XYLOBIOTECH

- Cœur = culture de (parties de) végétaux en milieu hypercontrôlé : rompre les « corrélations », réduire les influences :
 - « stérilité », « absence de micro-organismes »
 - Miniaturisation
 - En laboratoire, in vitro
 - Organes / cellules isolé(e)s

Xylobiotech
INRA Orleans + FCBA Pierroton

- « rajeunissement » et autres conditionnements physiologiques : modèles d'études et rétablissement de la vigueur
- Permettre la Transgénèse (recherche)
- Permettre la cryoconservation des ressources génétiques sauvages et améliorées



➔ Equipements : 910 k€

Xylobiotech
INRA Orleans + FCBA Pierroton

Culture in vitro : aussi un outil pour :

- Aider le pré-déploiement de variétés (ex : eucalyptus – CAFSA, FibrExcellence, ...)
- Aider le testage (ex: pin maritime)
- Objet de recherche en soi :



- Projets régionaux
- Biotech 2005, Embryo 2011, Embryome
- Projet EU SEP

- ➔ Vers la robotisation ??
- ➔ Serre automatisée pour une meilleure uniformité et un suivi de croissance précis + confinement des transgéniques



Etablissement des cultures

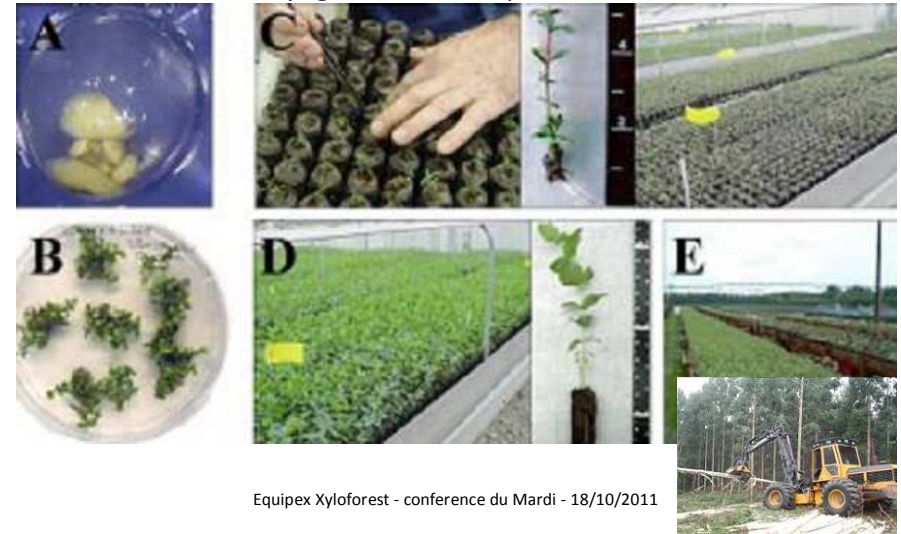
- Fragmenter : bourgeons, cellules, embryon
- Désinfecter
- Nourrir (eau, minéraux, lumière, CO2...)
- Climatiser
- Support et transposition de techniques traditionnelles :
 - MICRO bouturer, greffer, propager

Cela permet de :

- Conserver : culture continue ou ralentie/gelée
- Propager plus vite / à contre saison
- Modifier la physiologie
- Produire du matériel homogène à des fins expérimentales (modèles)

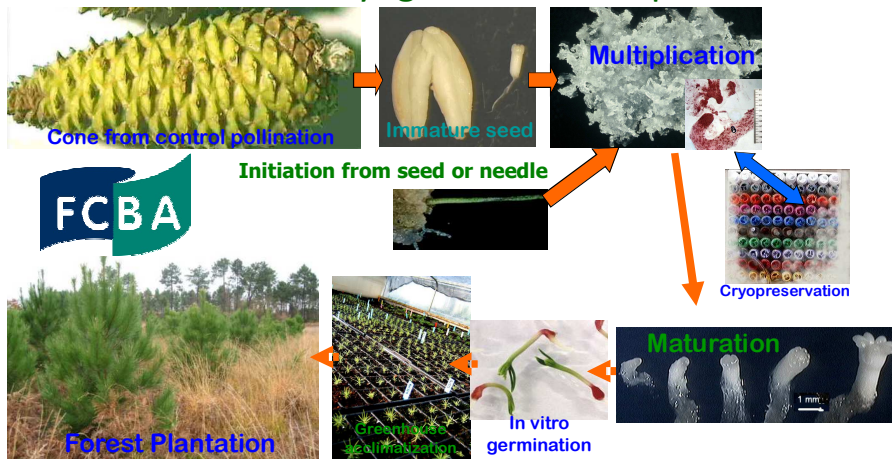
Propager vite / à contre-saison

- Feuillus : microbouturage : ex : Eucalyptus
- Résineux : embryogenèse somatique : ex : Pin maritime



Propager vite / à contre-saison

- Feuillus : microbouturage : ex : Eucalyptus
- Résineux : embryogenèse somatique : ex : Pin

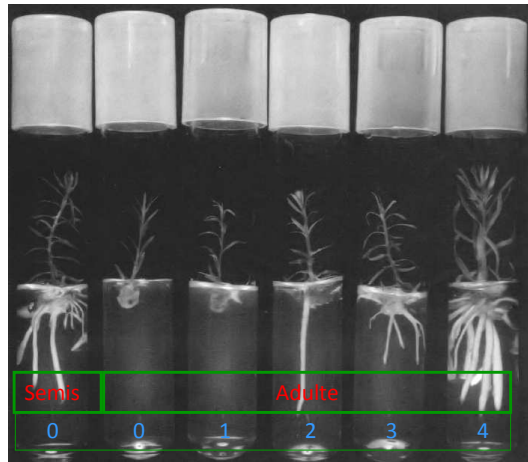


Somatic embryogenesis in *Pinus pinaster*

Influencer la physiologie

- Possibilité de traitement hormonaux ciblés/temporaires
- « rajeunissement » par microbouturage/microgreffage en cascade

« Rejuvenation » : réversion du « vieillissement » physiologique



Microgreffes en série:

avec un impact sur la morphologie, la vigueur végétative (croissance et propagation végétative) et le stade reproductif (floraison)

MICROGREFFAGE CHEZ LE PIN MARITIME



Etude de l'effet du vieillissement physiologique et lien avec les stress Embryogenèse somatique d'arbres âgés (pleinement caractérisés)

Conserver

- Culture continue ou
- Culture ralentie (froid et/ou nutrition limitante)
- => risques divers (dégénérescence, accidents) et coûts
- **Cryoconservation :**
congélation à - 196°C, Azote Liquide
=> Pouvoir réactiver

Cryoconservation

Application jusqu'à présent :

- De bourgeons dormants : ormes, merisier
- De bourgeons actifs : eucalyptus, peuplier, alisiers
- D'embryons : conifères
- De graines / pollen (divers)

Cryoconservation

- De bourgeons **dormants** : ormes, merisier
- De bourgeons **actifs** : eucalyptus, peuplier, alisiers
- D'embryons : conifères
- De graines / pollen (divers)

Cryoconservation

- Archivage des collections **sauvages**
- Archivage des collections **domestiquées** en cours d'étude
- Stock de matériel végétal expérimental
- **Plateforme** :
 - haute capacité : 30 000 échantillons
 - Automatisation – documentation
 - Maitrise technique - prestations

Cryoconservation

- De bourgeons dormants : ormes, merisier
- De bourgeons actifs : eucalyptus, peuplier, alisiers
- D'embryons : conifères
- De graines / pollen (divers)

Cryoconservation

- De bourgeons dormants : ormes, merisier
- De bourgeons actifs : eucalyptus, peuplier, alisiers
- D'embryons : conifères
- De graines / pollen (divers)

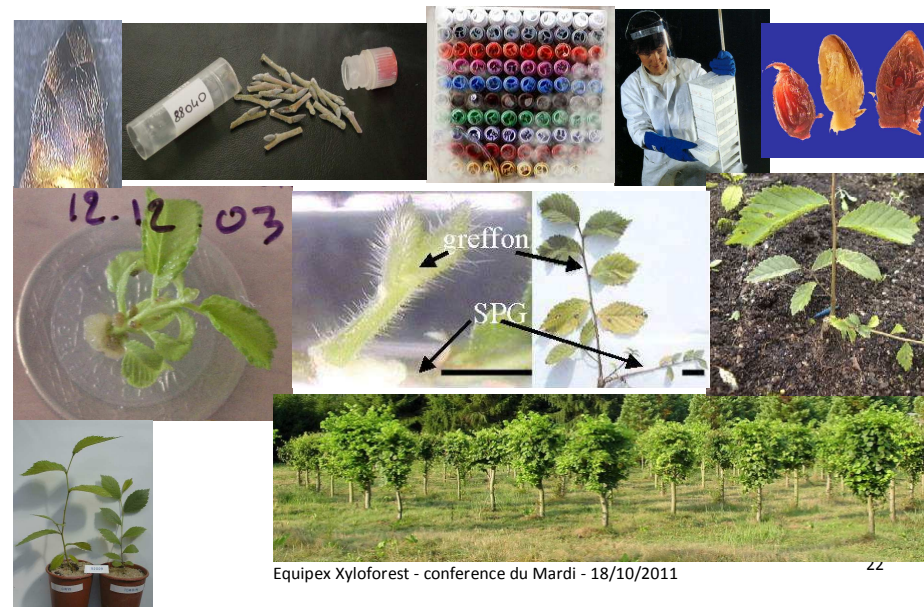
- Plateforme de Stockage de 30 000 échantillons sous azote liquide (système automatisé) – service et équipement
- Matériel représentatif de la base génétique des programmes de sélection (épicéa, pin maritime > 2000 clones, eucalyptus...)
- Ressources génétiques sauvages : ex: 500 clones d'ormes représentatif de la biodiversité au niveau EU



Lien projets/réseaux :

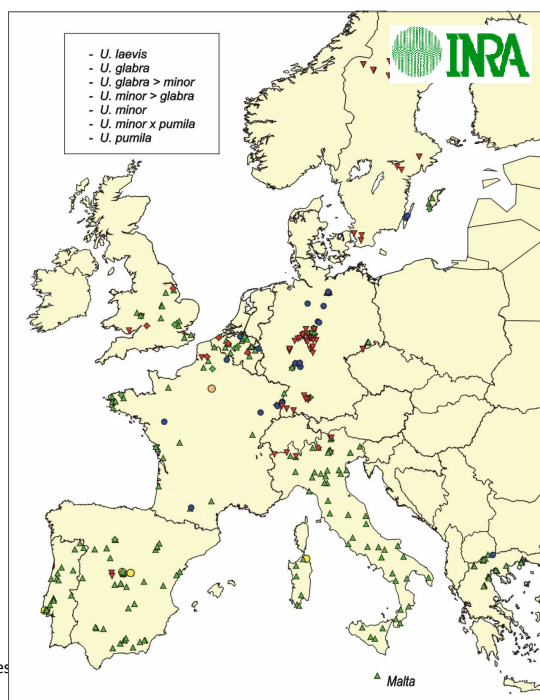
Commission des ressources génétiques forestières
 Réseau CryoVeg, COST Cryoplanet
 Projet EU Resgen 2001 orme
 Projet Quadrilatéral KBBE Tree-For-Joules

GIS pin maritime



Equipex Xyloforest - conference du Mardi - 18/10/2011

Geographical origin of the plant material cryopreserved by AFOCEL and NFV during the RESGEN project. 444 clones from nine countries were successfully cryopreserved with an average of 180 buds per clone



Equipex Xyloforest

Transgénèse pour la génomique fonctionnelle

- Altérer le fonctionnement d'un gène pour valider :
 - Sa fonction
 - Les conditions de son expression
- AFIN DE L'UTILISER COMME OUTIL :
- d'étude
 - de caractérisation
 - de sélection

En labo et serre
=> imagerie

Equipex Xyloforest - conference du Mardi - 18/10/2011

PHENOTYPAGE des Plantes (Orléans)

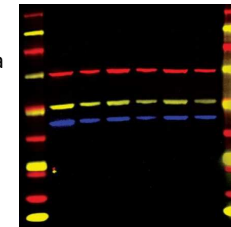
1. FluorCam : imagerie haute résolution multispectrale pour caractériser les arbres à échelle « mésoscopique »

- « hybride » entre caméra et scanner
- Travaille dans un très large gamme de longueur d'onde en éclairage et en détection :
 - Du proche infra rouge à l'UV
 - Imagerie à haute résolution à plat et objets en relief de taille petite à moyenne
 - Mesure de la fluorescence
 - Traitement d'image : superposition, quantification de la lumière

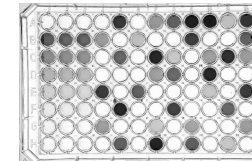
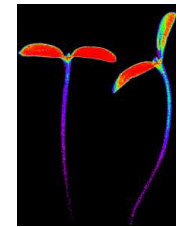


Fluorcam : imagerie hyperspectrale

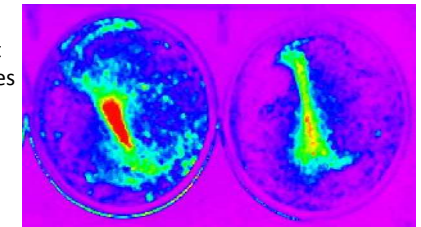
Multiplexage : plusieurs analyses à la fois = plusieurs longueurs d'ondes différentes



Autofluorescence de la chlorophylle



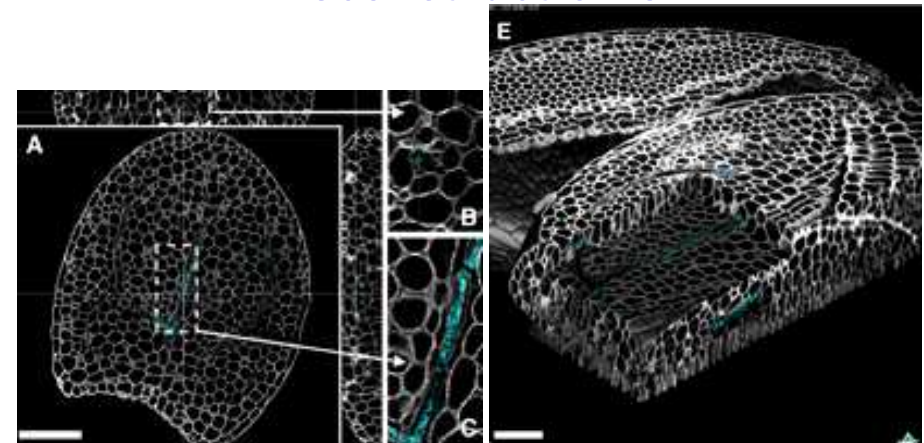
Quantification et séries temporelles



PHENOTYPAGE des Plantes (Orléans)

2. Microscopie confocale : Reconstruction en volume à partir de coupes « virtuelles » + imagerie en fluorescence

Microscopie confocale: Reconstruction 3D



Microscopie confocale – fluorescence :

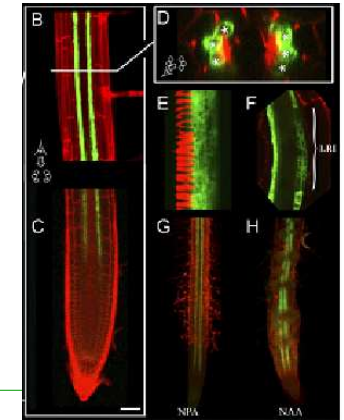
Determination de la specificité spatiale de promoteurs



Haselof J, MRC lab, Cambridge

Outils de Transgènesè pour la gènomique fonctionnelle

- Modifier l'expression d'un gène pour observer son impact sur la plante / le bois ou en visualiser le patron d'expression
- Modèles feuillus : peuplier (eucalyptus)
- Modèles résineux : pin maritime (mélèze)
- Lien fort avec Xylomic



Lien projets/réseaux :

Projet national GenoQB

Projet Quadrilatéral KBBE Tree-For-Joules, Sustainpine

Projet UE + USA-CAN : ProCoGen

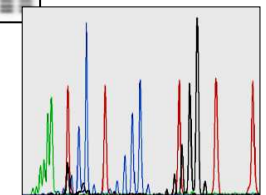
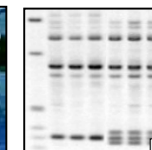
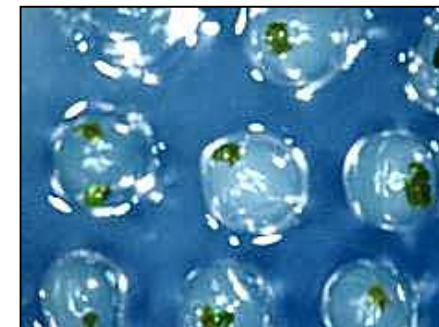
Exemple de projet « en interaction » avec XYLOBIOTECH :

Projet KBBE **Tree For Joules (2011-2014)** :

« Improving Eucalyptus and Poplar wood properties for Bioenergy »



- **Partenaires (privés – publics):**
 - Allemagne : **Biopos, VTi**
 - Espagne : **ENCE, CIFOR-INIA, UPM, UMA,**
 - Portugal : **IBET, IICT, Altri-Silvicaima**
 - France : **CIRAD, UPS/CNRS Toulouse, INRA AGPF, FCBA**
- **Objectifs : sélection d'arbres + pour les divers usages énergétiques (combustion directe, biocarburants)**
 - **Identification et caractérisation des gènes impliqués : génomique étude arbres en forêt et transgènesè**
 - **Séquençage de génomes**
 - **Comparaison de l'organisation des génomes (les espèces d'intérêt industriel eucalyptus et peuplier)**
 - **Caractérisation du matériel végétal (phénotypage)**
 - **Proposition d'Outils de sélection moléculaire**



Cryoconservation et autres opérations de propagation : les empreintes génétiques (ADN) constituent un outil essentiel pour garantir l'identité / la conformité du matériel végétal :

- Matériel venant de la forêt (entrant) = matériel allant en forêt (sortant du labo)
- Absence d'intrus/erreurs d'étiquetage
- Absence de mélanges

➔ contrôle des problèmes pouvant survenir à toutes les étapes

The interconnected biotech toolbox

