

B-I9

RÉSULTATS PRÉLIMINAIRES POUR LA MISE AU POINT D'UNE TECHNIQUE DE CLONAGE DE *POSIDONIA OCEANICA* (L.) DELILE

F. LOQUES (1,2), C. BULARD (2), G. CAYE (1) et A. MEINESZ (1)

- Groupe de Recherches Marines, Laboratoire de Biologie et d'Ecologie Marines, Université de Nice, Nice (France)
- Laboratoire de Physiologie Végétale, Université de Nice, Nice (France)

Abstract: For setting up *Posidonia oceanica* clonage technique, preliminary tests for the culture *in vitro* of different tissues have showed that macromeristems was the most favorable one. After desinfection of meristematic explants, we have obtained a beginning of development and a month-life of explants on a sterile culture medium containing indol acetic acid and kinetin.

Les recherches et observations récentes sur la reproduction sexuée de *Posidonia oceanica* tendent à démontrer que cette phanérogame se reproduit exceptionnellement par voie sexuée. Les floraisons, observées certaines années, semblent se limiter à certains sites géographiques localisés (Thelin et Boudouresque, 1985; Caye et Meinesz 1984) et les fruits n'arrivent pas tous à maturité. De plus, on n'a jamais signalé, à notre connaissance, de germinations *in situ* de graines de *Posidonies*. De ce fait, les peuplements de *Posidonies* de Méditerranée se reproduisent essentiellement par voie végétative et sont ainsi exposés à une dégénérescence génétique. Il serait donc intéressant de réaliser des croisements de différents clones ou de multiplier des clones particulièrement résistants ou féconds. Comme la croissance des rhizomes est extrêmement lente, la multiplication par bouturage d'un pied intéressant ne peut s'envisager que sur plusieurs décennies. C'est pourquoi les techniques de clonage, bien connues pour de multiples phanérogames terrestres, seraient extrêmement utiles pour la multiplication et la régénérescence des herbiers de *Posidonie*. Nous avons donc tenté des expériences de mise au point d'une technique de clonage de *Posidonia oceanica*.

Avant la mise en culture, les tissus de *Posidonie* sont lavés à l'eau courante, puis désinfectés superficiellement. Selon la nature des explants, nous avons testés diverses combinaisons de produits mouillant et désinfectant (alcool à 75%, tween à 5%, benlate à 6 g/l, hypochlorite de calcium à 10 et 70 g/l).

La mise en culture des explants, et les repiquages s'effectuent en conditions aseptiques (pièce à U.V.). Nous avons utilisé des tubes à essais contenant 15 ml de milieu gélosé, recouverts d'un capuchon scellé avec du ruban adhésif. Pour le milieu de culture, la solution de base contient les macro- et les microéléments de Linsmaier et Skoog (1965), de l'agar (bacto agar difco à 6 g/l), des vitamines et des facteurs de croissance (auxines et cytokinines), ainsi que du saccharose. Ces trois derniers éléments ont été testés à différentes concentrations. Le matériel est placé dans une chambre à température constante (22° C) et sous éclairage de 1850 lux, 16 heures par jour, et l'évolution des explants a été notée régulièrement.

Sélection des divers tissus

Nous avons effectué des essais sur des fragments de rhizome, d'inflorescence, de jeunes fruits, de feuilles et de macromeristèmes (petit dôme de tissu méristématique, entouré de tissu sous-jacent, portant de très jeunes ébauches foliaires encore blanches et translucides).
-Pour les rhizomes, des contaminations bactériennes et fongiques importantes nous ont empêchés d'obtenir des explants stériles. D'autre part, le dégagement de phénols (par les tissus somatiques) longtemps considérés comme des inhibiteurs de croissance (Hemberg, 1961), est également responsable de l'échec de la culture de ce tissu.

-Des fragments d'organes floraux et de jeunes fruits récoltés en automne 1985 ont rapidement dégénéré par nécrose, mais de semblables tissus seront testés à nouveau.

-Comme chez la plupart des Monocotylédones, la mise en culture de fragments foliaires s'est également avérée très difficile (nécrose rapide).

-La plus longue durée de survie a été obtenue avec les macromeristèmes que nous avons réussi à désinfecter et à cultiver jusqu'à un mois.

Mise en culture des macromeristèmes

Dans les cultures de macromeristèmes, au départ les ébauches foliaires sont translucides, dès cinq jours elles commencent à blanchir et deviennent turgescentes enfin vers huit-dix jours, on aperçoit un léger verdissement qui s'accroît jusqu'à trois semaines, âge où les ébauches sont très chlorophylliennes. C'est à ce stade qu'il convient d'effectuer un repiquage pour renouveler les éléments minéraux et modifier éventuellement les équilibres en hormones exogènes. Cette étape présente encore certaines difficultés quant à la définition du nouveau milieu de culture.

Pour les milieux de culture testés, les meilleurs résultats ont été obtenus avec l'acide indole acétique (AIA) pour l'hormone de type auxinique, et avec la kinétine pour celle de type cytokinique. D'autre part, nous avons pu constater que le rapport auxine/cytokinine semble jouer un rôle prépondérant dans la réussite de la culture.

La saison de prélèvement ainsi que la rapidité de mise en culture après la récolte semble jouer également un rôle déterminant pour une meilleure survie des explants.

Les essais de clonage de *Posidonia oceanica* ont porté sur divers types de tissu. Ce sont les macromeristèmes qui ont donné les meilleurs résultats. Une technique de désinfection a été mise au point permettant une survie et un début de développement des explants pendant plus d'un mois. Ces expériences se poursuivent par la recherche d'un milieu convenable pour le développement ultérieur des ébauches.

BIBLIOGRAPHIE

- CAYE G. et MEINESZ A., 1984. 1st. Int. Workshop *Posidonia oceanica* Beds, 1, 193-201.
-HEMBERG T., 1961. Handbuch der Pflanzenphysiologie, XIV, 1172-1174.
-LINSMAIER E.M. et SKOOG F., 1965. Physiologia Plantarum, Vol. 18 (1), 100-127.
-THELIN F. et BOUDOURESQUE C.F., 1985. *Posidonia Newsletter*, 1, 5-14.

B-II1

APERÇU SUR LES RELATIONS POLYCHÊTES - SUBSTRAT DANS LA MATTE DE *POSIDONIA OCEANICA*

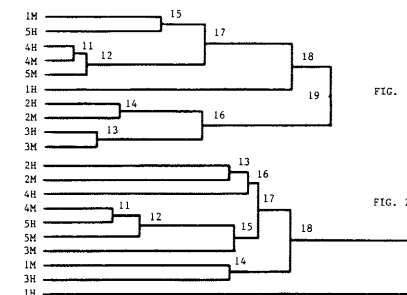
Alan WILLISIE

Centre d'Océanologie de Marseille, Rue Batterie des Lions, Marseille (France)

ABSTRACT: The site groups obtained through cluster analyses of grain-size data and polychaete dominances are compared. Relations between the two are considered.

Une étude de la macrofaune endogée de la matre de *Posidonies* a été effectuée à 5 stations (chacune comprenant un site de matre morte et un de matre d'herbier vivant) situées à -11m de profondeur (cartographie, granulométrie : cf. BOURCIER & WILLISIE, 1986). Dans cette note la discussion se base sur la comparaison des classements des sites analysés par l'intermédiaire de la granulométrie et la dominance des catégories écologiques de polychètes, les données ayant été traitées par une analyse hiérarchique ascendante (distance moyenne).

De la première classification (fig. 1) se dégagent deux groupes (Gr. A : 4H, 4M, 5M, 5H, 1M, 1H. Gr. B : 2H, 2M, 3H, 3M). Le groupe A comprend les sites caractérisés par une teneur élevée en sable moyen, quel que soit le degré d'envasement observé. On y distingue une transition à partir des sites à sédiment peu classé et envasé (4M, 4H, 5M) jusqu'à un site à sédiment bien classé (1H) et à faible teneur en pélites. Le stade intermédiaire comprend des sites à teneur plus élevée en sable moyen qu'en pélites (1M, 5H). Le groupe B comprend des sites caractérisés par un sédiment, principalement de sable fin, plus ou moins envasé.



Sur le plan faunistique, 6713 spécimens et 214 espèces ont été regroupés dans 12 catégories (BELLAN, 1964. HARMELIN, 1964. PICARD, 1965. LAUBIER, 1966. Trois groupes se dégagent. Le groupe 1 (fig.2) comprend les sites 4M, 5M, 3M, 5H, caractérisés par la prédominance des indicatrices de perturbation (ou I.P., 4M : 25.11 %, 5H : 26.54 %, 5M : 31.16 %, 3M : 38.23 %).

Analyse hiérarchique des sites. Fig. 1 Granulométrie. Fig. 2 Données faunistiques.

Le groupe 2 est formé par 4H, 2H et 2M, où l'on observe de faibles écarts de dominance entre les I.P. (2H : 18.79 %, 2M : 15.64 %, 4H : 14.49 %) et les catégories propres à un substrat les mieux représentées (2M : les caractéristiques de la matre - 16.00 %. 4H : les mixicoles - 18.85 %, les espèces de substrat dur - 16.37 %). Le groupe 3 (1M, 3H) contient des sites où une catégorie écologique liée à une classe granulométrique est prépondérante. A 3H, les gravellicoles atteignent 25.36 % (I.P., 20.36 %). A 1M, les sabulicoles (24.63 %) et les gravellicoles (16.54 %) sont les mieux représentées (I.P. 12.68 %). Le dernier groupe (1H) présente une nette prédominance des gravellicoles (53.14 %) sur les I.P. (7.34 %).

La comparaison des deux types d'analyses met en évidence une identité des observations principalement pour deux cas de figure extrêmes. En effet, aux sites présentant le sédiment le mieux classé et le moins envasé correspondent bien les sites dont la faune est dominée par des espèces caractéristiques d'une classe granulométrique précise. D'autre part, aux sites dont le sédiment est le moins classé et le plus envasé, correspond une faune annélienne traduisant une perturbation marquée.

Ainsi on peut déduire trois niveaux du degré d'impact de la perturbation sur la faune annélienne de la matre de *Posidonies*.

Dans le premier niveau (1H, 3H et 1M) l'effet "substrat", qui correspond à la résultante des effets des conditions du milieu sur le fond (BLANC & JEUDY DE GRISSAC, 1978), détermine la structure faunistique de la matre au détriment de l'effet "perturbation" (taux de pélites). Ceci se répercute au niveau spécifique par le fait qu'aux sites 1H et 3H, une onuphiidae, *Evalinocia bilineata*, forme abranche, domine le stock de polychètes (50.18 % et 22.86 %). Cette forme est la plus abondante pour cette espèce notamment dans les fonds de sable infralittoraux, "parcourus par de vifs courants de type linéaire" (BELLAN, 1964, 1977). Cette espèce présente des abondances plus élevées que la capitellidae *Mediomastus cf. capensis*, considérée comme I.P. (STORA, 1982). A 1M, si cette espèce présente la plus forte abondance, ce sont néanmoins les sabulicoles et les gravellicoles qui dominent le stock annélien. Au second niveau (4M, 5M, 5H et 3M), les sites sont dominés par les I.P.. De plus, *M. cf. capensis* est l'espèce la plus abondante à ces sites. Le facteur perturbation occulte la structure pré-existante de la composition écologique de la faune annélienne, liée au type de substrat en place. Ceci a pour conséquence de faire chuter à un rang inférieur la catégorie écologique qualifiant le type de substrat. Les niveaux correspondent aux cas de figures extrêmes.

Le troisième niveau d'influence (4H, 2M et 2H) correspond à un stade intermédiaire où il y a dualité d'action des effets "substrat" et "perturbation", sans prépondérance marquée de l'un ou l'autre sur le plan faunistique.

Le taux de pélites (comme vecteur de polluants), plus par son effet délétère que par sa spécificité granulométrique, agit sur la composition structurale du peuplement de polychètes de la matre de *Posidonies*. Le classement des sites selon les données granulométriques dégage bien des groupes affines, mais celui effectué à l'aide des données faunistiques permet la mise en évidence de l'effet de masque produit par le facteur de perturbation.

- BELLAN, G., 1964. Rec. Trav. Stn mar. Endoume, Fr., 49 (33) : 1-372.
BELLAN, G., 1977. Essays on Polych. Annel., U. South Cali. : 449-460.
BLANC, J.J. & JEUDY DE GRISSAC, A., 1978. Rapport C.N.E.X.O. (76/4043 & 77/4074).
BOURCIER, M. & WILLISIE, A., 1986. Rapp. Commiss. internation. Mer Médit. (ce recueil).
HARMELIN, J.G., 1964. Rec. Trav. Stn mar. Endoume, 35 (51) : 43-105.
LAUBIER, L., 1966. Ann. Inst. Océanogr., 43 (2) : 137-316.
PICARD, J., 1965. Thèse Doc. Sci. nat., U. Aix-Marseille : 1-160.
STORA, G., 1982. Thèse Doc. Etat-Sciences, U. Aix-Marseille, 1-227.