

Cours destinés aux étudiants de la troisième année BIOTECHNOLOGIE VEGETALE

FACULTE DES SCIENCES EXACTES ET SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE

Département des sciences biologiques

Module : BIODIVERSITE ET AMELIORATION DES PLANTES

Responsable du module : l'Enseignante : AMOKRANE. A

CHAPITRE 01

Diversité de l'expression génétique

Introduction

Même si toutes les cellules d'un organisme partagent le même génome, certains gènes ne sont exprimés que dans certaines cellules, à certains périodes de la vie de l'organisme ou sous certaines conditions. La **régulation de l'expression génétique** est donc le mécanisme fondamental permettant **la différenciation cellulaire, la morphogenèse et l'adaptabilité** d'un organisme vivant à son environnement.

1)-L'information génétique au niveau du chromosome :

Généralement la multiplication des virus a permis de mieux comprendre que l'information génétique, est codée au niveau des chromosomes. Chez ces derniers et qui l'une des caractéristiques des virus, que le génotype n'est pas influencé par le milieu extérieur de telle sorte que l'on peut écrire : **génotype=phénotype**.

Au contraire chez les organismes comme les bactéries ; on constate que l'expression génétique est influencée par les facteurs du milieu (température, humidité ...). Sachons que cette expression génétique est beaucoup plus compliquée chez les végétaux possédant des mécanismes génétiques plus évolués, est plus compliqués.

2)-L'information génétique au niveau de la cellule :

2.1)-Les systèmes structuraux الأنظمة البنائية :

Les organismes vivants sont issus d'une seule cellule qui est **le zygote**, au niveau duquel est stocké le programme relatif à toute **l'information génétique** spécifique de l'organisme vivant, au niveau du chromosome. Ce programme génétique appelé **système structural** est responsable de toutes les synthèses protéiques, qui assurent l'évolution de l'embryon et toutes les fonctions cellulaires relatives à l'être vivant. Ce système existe dans l'ensemble de la masse cellulaire de l'organisme vivant, mais chaque groupe cellulaire n'exprime que seule une partie de ce programme, ce sont les cellules **spécialisées ou différenciées**.

2.2)-Les systèmes de programmation *أنظمة البرمجة*:

Tous les gènes de la matière cellulaire d'une cellule donnée ne participent pas tous au même moment dans la synthèse protéique. Ce sont seulement les gènes actifs qui entrent en expression.

2.2.1) *L'expression de l'information génétique : (Synthèse des protéines)*

Le message à décoder porté par l'ADN nucléaire siège dans le noyau alors que la synthèse des protéines a lieu dans le cytoplasme ; l'information doit donc être transférée d'un site dans l'autre.

2.2.1.1)-*Transcription de l'ADN*

Ce n'est pas le message ADN qui est directement décodé dans le cytoplasme : une molécule ARN sert d'intermédiaire. Elle est synthétisée dans le noyau à partir d'un des deux brins de l'ADN d'un gène. Cette opération est appelée **transcription**. Cet ARN passe ensuite dans le cytoplasme pour y être décodé ; il est appelé ARN messenger. La transcription est catalysée par plusieurs enzymes. Certaines permettent l'ouverture de la double chaîne d'ADN, une autre enzyme, l'**ARN polymérase**, associe les nucléotides complémentaires au brin codant. La transcription permet donc **la production d'un ARN monobrin** correspondant à un gène.

2.2.1.2)-*Traduction de l'ARN messenger*

Cette seconde étape permet la traduction de la séquence des bases de l'ARN messenger en séquence d'acides aminés de la protéine ; elle se déroule dans le cytoplasme. Deux acteurs interviennent : **les ARN de transfert et les ribosomes**.

a)-*Les ARN de transfert*

Ce sont des ARN qui véhiculent les acides aminés jusqu'aux ribosomes. Chaque sorte d'acide aminé est en effet fixée à un ARN de transfert déterminé. Chaque ARN de transfert porte un triplet de bases spécifique d'un acide aminé, appelé anti-codon. Cet anti-codon est complémentaire du codon correspondant à l'ARN messenger.

b) *Les ribosomes*

C'est à leur niveau que se fait l'assemblage des acides aminés en protéine. La petite sous unité du ribosome permet la fixation de deux ARN de transfert.

Les différentes phases de la traduction sont :

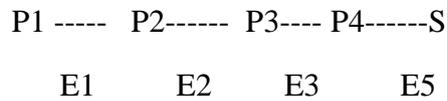
***Initiation**

***Elongation** (les ribosomes se déplacent le long de l'ARN messenger grâce à l'énergie fournie par ATP). Le déplacement se fait par groupe de trois bases. Lorsque deux acides aminés sont côte à côte dans le ribosome, une enzyme réalise la liaison peptidique. En fait, la molécule d'ARN messenger est décodée simultanément par plusieurs ribosomes, ce qui permet la synthèse de plusieurs chaînes polypeptidiques identiques.

***Terminaison** (lorsque les ribosomes rencontrent le codon « stop » (**UAA, UAG ou UGA**) la synthèse s'arrête).

2.2.2)-Régulation de l'expression génétique تنظيم التعبير الوراثي

Lorsqu'une cellule réalise la synthèse d'une substance S, elle doit avoir des mécanismes régulateurs qui lui permettent d'arrêter cette synthèse lorsque celle-ci n'est plus nécessaire. Dans de nombreux cas, la synthèse de S est le résultat final d'une chaîne de réactions où P1, P2, P3,...etc., sont des précurseurs de S :



Chacune des réactions de la chaîne est catalysée par une enzyme spécifique et donc la production de S nécessite la synthèse des enzymes E1, E2, E3, E4.

Le mécanisme de régulation le plus simple est celui où l'excès de S bloque la synthèse de l'une des enzymes de la chaîne : par exemple E2 n'est plus produit, la chaîne est interrompue au niveau de P2 ; la synthèse de E2 reprendra quand l'excès de S sera utilisé. Chez les procaryotes un gène régulateur commande la synthèse d'un répresseur R inactif ; l'excès de S transforme le répresseur inactif en répresseur actif et c'est la forme active de R qui bloque la synthèse de l'ARN messager d'E2 ; l'enzyme E2 n'est plus fabriquée et la synthèse de S s'arrête (régulation par répression de gène).

3)-Les voies de l'expression génétique au niveau du tissu :

Il existe deux mécanismes fondamentaux résultat de l'expression génétique, qui déterminent l'organogénèse chez les végétaux supérieurs qui sont :

*le phénomène de la différenciation cellulaire.

*la division cellulaire.

Ces deux mécanismes se réalisent au même temps et au même lieu (Exemples : les zones méristématiques, les couches régénératrices) pour la formation d'un organe donné.

Remarque :

La structuration végétale dépend de plusieurs facteurs telles que :

*l'information génétique au niveau cellulaire.

*Les échanges d'informations entre noyau et le cytoplasme.

*Des relations intercellulaires.

* Les facteurs extérieurs (température, humidité, alimentation,...)

*Les facteurs biotiques (densité de semis, compétition,...)

De ces facteurs physiques, chimiques et biologiques la réponse est d'ordre cytoplasmique et qui engage la cellule à s'adapter à tous changements, et cela peut prendre différentes formes au niveau de l'expression génétique.

CHAPITRE 02

Les centres d'origines des plantes domestiques

(Plantes cultivées)

Introduction

Huit centres (08) ont été identifiés par **Vavilov** dans l'Ancien Monde et deux dans le Nouveau Monde. Par la suite son élève **Zhukovsky** en ajoute quatre : l'Indonésie, l'Inde et la Chine ; l'Australie et la Nouvelle-Zélande ; l'Euro-Sibérie ; l'Amérique du Nord.

Europe, Afrique et Asie

1. La Méditerranée

Ce centre qui occupe le pourtour du bassin méditerranéen nous a fourni exemple : *Brassica oleracea*, **le chou** ; *Lactuca sativa*, **la laitue** ; le *Vicia faba*, **la féverole**.

L'Afrique

2. L'Abyssinie

Ce centre nous a procuré une abondance de variétés de céréales : *Triticum durum*, **le blé dur** ; *Hordeum vulgare*, **l'orge**.

L'Asie

3. Le Proche-Orient

Ce centre d'origine qui comprend la Syrie, l'Iran, l'Irak, la Turquie, le Caucase et le Turkestan, nous a fourni beaucoup de nos plantes cultivées exemple : *Cucumis melo*, **le melon** ; *Hordeum vulgare*, **l'orge à deux rangs** ; *Medicago sativa*, **la luzerne**

4. L'Euro-Sibérie

Les particularités de ce centre froid seraient : *Humulus lupulus*, **le houblon** ; *Taraxacum officinale*, **le pissenlit** ; *Nasturtium officinale*, **le cresson** ; *Ribes sp.* **les groseilliers** ; *Prunus armeniaca*, **l'abricotier**.

5. L'Asie centrale

De nombreux légumes et arbres fruitiers proviennent de cet endroit exemple : *Daucus carota*, **la carotte** ; *Lens esculenta*, **la lentille** ; *Linum usitatissimum*, **le lin**.

6. L'Inde

Ce centre nous a procuré de nombreuses plantes cultivées dans les zones tropicales, subtropicales et méditerranéennes.

7. L'Indonésie, l'Inde et la Chine

Ce centre qui se caractérise par un climat plus chaud que le centre de l'Inde et de la Chine, serait le berceau de nombreuses **cultures fruitières tropicales**.

8. La Chine méridionale

Ce centre nous a procuré une abondance d'arbres fruitiers : *Malus communis*, **le pommier** ; *Prunus armeniaca*, **l'abricotier** ; *Prunus persica*, **le pêcher** ; *Pyrus communis*, **le poirier**.

L'Australie

9. L'Australie et la Nouvelle-Zélande

Elles nous ont apporté les nombreuses espèces d'Eucalyptus.

L'Amérique du Nord et l'Amérique centrale

10. L'Amérique du Nord

Elle nous ont fourni : des composées du genre *Helianthus* et des éricacées du genre *Vaccinium* (*Vaccinium myrtillus*, **myrtille**), des Rhododendron ; des Erica (bruyères), des azalées ; des juglandacées (*Juglans nigra*, **le noyer**).

11. Le sud du Mexique et l'Amérique centrale

Le sud du Mexique, l'Amérique centrale et les Antilles, nous apportent le *Zea mays* (**maïs**) qui joue chez nous un rôle important dans **l'alimentation du bétail**.

L'Amérique du Sud

12. Le Pérou, la Bolivie et l'Équateur

Ce centre qui occupe les hautes montagnes du Pérou, de la Bolivie et de l'Équateur, est caractérisé par la présence des Chenopodiaceae à graines : *Chenopodium quinoa*, *Solanum andigenum*, **la pomme de terre**. On peut également citer : *Lycopersicon esculentum*, la **tomate** ; *Nicotiana tabacum*, **le tabac** ; *Phaseolus vulgaris*, **le haricot**.

13. Les îles Chiloé

Elles nous ont apportés : *Solanum tuberosum*.

14. Le Brésil et le Paraguay

Cette région est considérée comme le centre d'origine de nombreuses espèces tropicales.

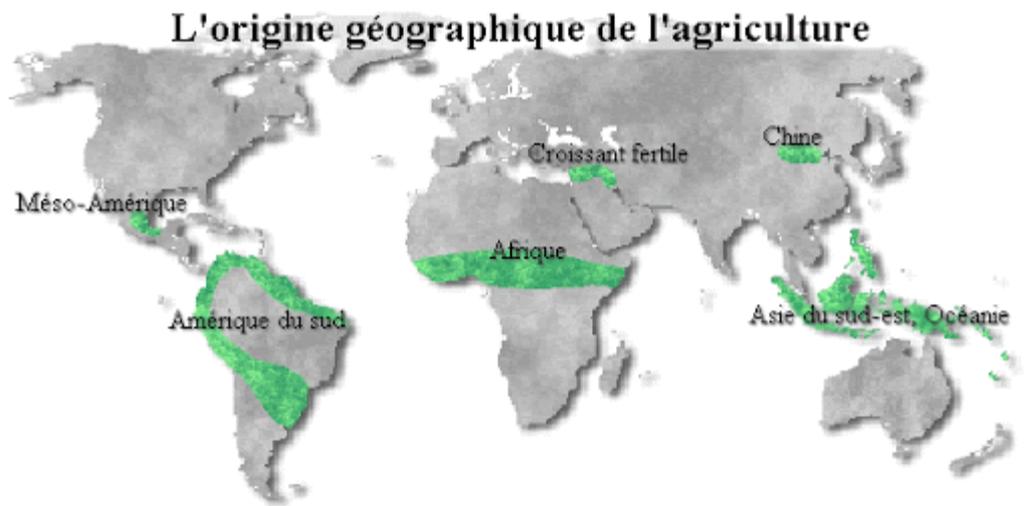


Figure 01 : Origine des plantes cultivées selon **Vavilov**

CHAPITRE 02

Diversité des critères taxonomiques

Introduction

En observant de près les plantes dans la nature, on découvre la grande variété et la diversité des végétaux qui la compose. Il en existe plus de 350 000 espèces végétales dont plus 240 000 espèces de plantes à fleurs et des millions de variétés horticoles.

Les botanistes ont été amenés à identifier les plantes en faisant une description précise des caractères qui leur sont propres et ensuite à les classer selon un système ordonné et cohérent. L'espèce est l'unité de base de la classification des plantes que l'on appelle systématique.

1/Définition des critères de classification (critères taxonomiques) :

Les critères taxonomiques الخصائص التقسيمية désignent l'information qui diffère d'une espèce végétale à une autre. Elles sont utilisées lors de la suggestion de nouveaux systèmes de classification. Les différences d'un individu à un autre, ou d'une génération à une autre résultent des facteurs génétiques et environnementaux.

2/ Critères taxonomiques :

Il existe de nombreuses informations qui sont utilisées comme critères de classification (structure **morphologique**, structure **anatomique**, critère **biochimique** et **cytologique**).

a/ Classification selon la structure morphologique :المورفولوجية

Relatif à l'aspect extérieur ou visible et c'est l'un de plus anciens caractères utilisés par les classificateurs des plantes. **Par exemple :**

- * **la durée de vie du végétal** (annuelle, bisannuelle, pérenne).
- * **le port de la plante** (orthotrope, pléiotropie, monopodial, sympodial).
- * **les racines** (aérienne, adventive).
- * **les tiges** (herbacé, ligneux, tubercule, bulbe, rhizomes)
- * **les bourgeons** (terminal, végétatif, floral)
- * **les feuilles** (simple, composé) présentent une grande diversité de formes (circulaire triangulaire, rectangulaire)
- * **la fleur** elle a été et elle restera, jusqu'à nos jours l'une des principaux critères de classification des plantes (pétales, sépales, étamines)
- * **Graines et fruits** (monocotylédone, dicotylédone, fruit sec, fruit, charnu)

b/ / Classification selon structure anatomique التشرحية

La découverte du microscope a largement participé à la correction de la classification de nombreuses plantes exemple : **la lentille d'eau** reconnu comme plante primitive grâce à l'étude anatomique, il a été démontré que c'est une plante supérieure vue quel comporte un véritable appareil vasculaire comportant des vaisseaux de bois et du libère.

Généralement l'étude des vaisseaux de bois a largement participé à la détermination du degré d'évolution structurale des végétaux.

- La structure du bois des plantes ligneuses est moins développée que la structure du bois chez les plantes herbacées.
- Les vaisseaux du bois long et étroit sont moins évolués que les vaisseaux courts et larges.
- Les plantes ligneuses comportent du bois et du libère secondaire suite à la différenciation du cambium mais chez les monocotylédones il n'existe pas de formation secondaire et les vaisseaux conducteurs primaires sont éparpillés aux niveaux des tiges et des racines.

c/ classification selon le critère chimio taxonomique :

Généralement les composés utilisés en chimio taxonomie sont :

- **Les composés du métabolisme primaire** : jouent un rôle biologique dans les opérations de synthèse alimentaire. Ils existent chez la plus part des végétaux. Ils ne peuvent être utilisés comme critère de classification que lorsque leurs quantités sont très variables entre espèces.
- **Les composés du métabolisme secondaire** : s'accumulent à certains niveaux cellulaires sans participer aux opérations biologiques. Elles ne sont pas largement répandues chez la plus part des plantes. Parmi les plus utilisées on peut citer par exemple :
 - **Les alcaloïdes** (morphine)
 - **Les flavonoïdes** (Bétaine, anthocyanine)

d/ Classification selon les critères cytologiques :

Au 20^{ème} siècle, il a été reconnu que le nombre de chromosomes est le même chez les individus appartenant à la même espèce. Mais des variations du nombre de chromosomes peuvent apparaître chez certaines espèces notamment chez les plantes particulièrement les **angiospermes** résultant du phénomène de la **polyploïdie** التضاعف الكروموزومي .

La structure du chromosome est également utilisée comme critère de classification notamment la position du centromère sur le chromosome.

CHAPITRE 02

La génétique quantitative

Introduction :

Il arrive que les êtres vivants notamment les végétaux même présentant des génotypes identiques à présenter ou à exprimer des phénotypes différents suite à leur présence dans des conditions environnementales différentes. Chaque phénotype exige des conditions environnementales propre ou spécifique. . A l'inverse, il existe des gènes qui sont exprimés de façon à peu près identique dans toutes les cellules d'un organisme, quelles que soient les conditions, on les dénomme « **gènes constitutifs** » ou encore « **gènes de ménage** ».

Il existe deux catégories de caractères chez le végétal :

- Les caractères qualitatifs.

- Les caractères quantitatifs

1. *Les caractères qualitatifs* : S'héritent selon les lois mendéliennes, sont sous le **control d'un nombre limité de gènes** (inferieur ou égale à10 gènes), avec une **influence environnementale faible ou nulle** et qui sont **non mesurable** exemple le caractère couleur on peu pas le mesurer avec des chiffres.

2. *Les caractères quantitatifs* : Sont des caractères qui répondent à un ensemble de critères qui se résume comme suit :

***Sont mesurables** : exemple le poids, la hauteur d'une plante.

***Importantes à l'échelle agronomique** : la productivité.

*Sont sous le **control d'un très grand nombre de gènes** de 10 à100 gènes ou plus.

*Se distinguent par une **variation continue** du caractère.

* Se distinguent par une **influence environnementale très grande** (interaction génotype x environnement très importante).

Remarque :

Parmi les effets génétiques concernant les caractères qualitatifs contrôlés par un très grand nombre de gènes on peu citez :

***Les effets additifs.**

***Les effets de dominance.**

***Les effets épistatiques.**

HYBRIDATIONS INTERSPECIFIQUES COMME STRATEGIE

CHAPITRE 03

D'AMELIORATION DES PLANTES

Introduction

L'améliorateur des plantes à généralement recours **aux hybridations entre espèces différentes ou interspécifiques** lorsque lorsqu'il lui devient pratiquement impossible de trouver des **caractéristiques intéressante** à l'intérieure de l'espèce aux quelle fait partie la plante qui fait l'Object de son étude.

L'hybridation peut se réalisée avec une autre espèce végétale appartenant au même genre, ou entre des genres différents appartenant à la même famille. Ces types hybridations permettent le transfère d'un seul gène, ou un ensemble de gènes désirés d'une espèce à une autre, soit pour l'obtention de nouvelles caractéristiques non trouvées dans les deux espèces séparées. Hybridations interspécifiques sont utilisées dans beaucoup de cas dans le domaine de l'expérimentation

1-Difficultés de réussite des hybridations interspécifiques :

Hawkes (1973) à classé les difficultés qui se présente améliorateur des plantes lors de la réalisation des hybridations interspécifiques en cinq niveau par ordre croissant de difficulté comme suit :

***niveau 1 : le moins difficile.** Au niveau du quel l'espèce cultivée et l'espèce sauvage sont proche de point de vue génétique; c'est-à-dire **ils appartiennent aux même groupe polaire.** Exemple :

L. esculentum* x *L.pimpinellifolium

***niveau 2 :** à ce niveau l'espèce cultivée et l'espèce sauvage appartiennent à **des groupes polaires différents.** L'hybridation est possible, et la première génération hybride F1 est fertile à un degré hautement élevé.

Exemple : ***Oryza sativa* x *Oryza nivara***

***niveau 3 : Plus difficile ;** dans le quelle l'espèce cultivée et l'espèce sauvage sont **différentes par le nombre de chromosomes** .mais il est possible de rendre la première génération fertile par dédoublement chromosomique. Exemple :

Brassica oleracea* x *B.rapa

***niveau 4 :** La réussite de la fécondation nécessite **des traitements spéciaux** tels que par exemple la culture des embryons dans des milieux spéciaux alors qu'ils sont lors des premières étapes évolution primaires. Exemple :

Solanum acaule* x *S.bulbocasanum

***niveau 5 : Le plus difficile** Englobe **les fécondations trop éloignées.** Elles se font généralement entre **des genres différents** .L'exemple du croisement entre la tomate *Lycoperscon esculentum* , et

la pomme de terre *Solanium tuberosum*. Les difficultés de l'hybridation ont pu être surmontées, dans de nombreux cas comme celui là, par la technique de la fusion des protoplastes,

Parmi les principales contraintes de la non réussite des hybridations interspécifiques selon Allard on peut citer :

-Présence de contraintes à l'évolution du grain de pollen.

-l'existence des contraintes à l'évolution de l'embryon : peut résulter parfois à **l'incompatibilité des entre l'embryon en évolution et l'endosperme** **عدم التوافق بين الجنين ونسيج الاندوسبارم**. Elle apparaît généralement lors des hybridations interspécifiques très éloignée, ou l'endosperme ne peut se formé normalement.se qui engendre l'impossibilité à l'embryon de continué son évolution. On peut résoudre parfois le problème imposé par voie de la biotechnologie.

2-Différentes voies pour surmontée les problèmes de production des hybrides interspécifiques :

Les améliorateurs des plantes on pu développés des techniques efficace pour de nombreux problèmes de la production des hybrides interspécifiques dans certain cas particulier .Mais ces techniques ne sont valables pour tous les cas. Parmi les techniques envisagées on peut citer :

*Le recoure à la **polyplôidie**.

***La culture de l'embryon non compatible** : dans l'endosperme de l'autre espèce, ou dans l'endosperme d'une autre espèce.

***Isolé l'embryon en évolution** : et le cultivé dans des milieux de cultures spéciaux dans les situations ou on a le problème **de l'incompatibilité entre embryon et endosperme** .L'objectif d'une telle approche est de fournir à l'embryon tous ses besoins nutritionnelle.

*Réalisation d'hybridation **entre les différentes variétés appartenant à chaque espèce**. Vu que certaine variété est plus compatible au croisement qu'une autre.

* **L'utilisation d'un mélange des grains de pollen des deux espèces** : lors de la réalisation de l'hybridation. Dans un premier temps en ajoute ceux de la même espèce ; puis en ajoute ceux de la deuxième espèce en quantité plus importante de l'espèce utilisé comme père. Cette opération augmente les chances de fécondation, en empêchant la chute de la fleur.

***réalisé l'hybridation dans les deux sens du croisement** : On utilisant chaque espèce comme mère et père.

CHAPITRE 03

LA POLYPLOIDIE COMME STRATEGIE

D'AMELIORATION DES PLANTES

Introduction

Chaque espèce est normalement caractérisé par un nombre donné de chromosome . La plupart des organismes supérieurs possèdent deux jeux de chromosome (ou lots) identique (1lot fourni par le male et l'autre par la femelle) ce sont les diploïdes(2n) .Cependant il est fréquent notamment chez les végétaux de rencontré des variations du nombre de ploïdie (plus de 2n) c'est la polyploïdie (3n,4n,6n,8n,...).Le un tiers des angiospermes (plantes à fleurs) est concernées par ce phénomène.

La polyploïdie est apparue comme phénomène naturelle ; devenue actuellement artificiel par multiplication de l'effectif initial. **Il existe deux types de polyploïdies :**

*Autopolyploidie.

*Allopolyploidie.

1-Autopolyploidie :

Egale à la **multiplication du génome de base** comportant « n » chromosomes qui permet de passer par les phases suivantes :

Haploïde-----Diploïde-----Tétraploïde----- etc.....

2-Allopolyploidie :

Egale au doublement **de deux stocks chromosomiques juxtaposés** dans le noyau d'une seule cellule ; suite à un croisement interspécifique. On parle aussi dans ce cas **d'Amphiploïdie**, schématisée par formule suivante : **n+n-----2n+2n**

L'**allopolyploïdie** rétablit le comportement diploïde nécessaire à la fertilité de hybride interspécifique.

3-Influence de la polyploïdie sur les végétaux :

L'effet de polyploïdie diffère généralement en fonction de la variabilité des espèces végétales, et la variabilité des variétés à l'intérieur de la même l'espèce. Parmi les principaux effets de la polyploïdie sur les végétaux :

***Augmentation de la taille des cellules**, notamment les cellules de gardes (stomates), les grains de pollen.

***Augmentation de la teneur en certaines composantes cellulaires** telles que : **la teneur en eau ; en protéines ; en cellulose ; en auxines ; en vitamines** (la vitamine A augmente de 40% chez le maïs tétraploïde que chez le maïs diploïde) ; **en Acide ascorbique** (beaucoup de fruits tétraploïdes

présentent une teneur en acide ascorbique plus élevées que chez les fruits diploïdes) ; **en nicotine** (la teneur en nicotine es plus élevée chez le tabac tétraploïde que le diploïde).

*Les plantes présentent **une croissance plus élevées ; les feuilles plus large ; plus épaisse.**

* **Augmentation de la taille** de certains organes de la plante tel que les sépales ; les pétales ; les graines ; les fruits .On dénomme ces variations par le phénomène du **gigantisme.**

***Modifications des exigences environnementales** chez les tétraploïdes que chez les diploïdes.

4-Domains d'utilisation de la polyplöidie artificiels en programme d'amélioration des plantes :

Parmi les principaux domaines d'utilisation de la polyplöidie pour l'amélioration les plantes on peu citez :

a/ L'améliorations des plantes semés pour leurs parties végétatives :

b/ L'améliorations des plantes semés pour leurs graines :

c/ L'améliorations des plantes semés pour leurs fruits :

d / La polyplöidie permet à obtention des plantes diploïdes (2n) : Partant de plantes haploïdes ou mongoloïdes ; on peut par polyplöidie d'obtenir des plantes diploïdes.

e/ La polyplöidie par dédoublement chromosomique permet de restauré la fertilité de l'hybride interspécifique : cela à été obtenus pour de nombreux espèces.

5-Méthodes de l'obtention des polyplöides chez les végétaux :

On peu citez :

*le traitement **par les hautes températures.**

*Par la voie **de la culture in vitro (la culture de la cal).** Exemples : tomate ; tabac.

*traitement **par la colchicine.**

6 -La colchicine et son utilisation:

La colchicine est considérée comme l'un des composés majeurs dans la polyplöidie chez les plantes.Elle est issu d'une plante *Cochium autumnale*, qui contient ce composé avec un tau 0,3 % du poids sec.

a/Comment la colchicine produit le dédoublement ?

La colchicine exerce son effet en empêchant la formation du fuseau achromatique lors de la division cellulaire. Ce qui empêche la migration des chromosomes aux pôles cellulaires. Cela entraîne à la formation d'un noyau nouveau contenant le double du nombre initial des chromosomes.

b/ méthodes de manipulation de la colchicine :

On utilise généralement la colchicine aux tissus végétaux selon l'un des procédés suivant :

***Solution aqueuse.**

***Avec support de glycérine.**

***Avec un support de l'agar.**

***Avec support de lanoline.**

c/ Méthodes de traitement avec la colchicine :

***traitement des graines :** On imprègne les semences dont on cherche à traiter dans une solution aqueuse, plus colchicine avec une concentration de 0,05% à 1,5% pour une durée de 2 à 6 jours. Notant les graines à long germination, nécessite une durée plus long.

***traitement des plantules :** Le traitement des parties apicales des plantes donne généralement de meilleurs résultats que le traitement des graines. Le traitement dure de 6 à 24 heures.

*** traitement des plantes entières :** on peut traiter les petits rameaux, les bourgeons, les apex terminaux en utilisant l'une des techniques suivantes :

-En plongeant l'apex dans la solution aqueuse, plus colchicine.

-En aspergeant les bourgeons avec la solution de colchicine, plusieurs fois durant la journée

-En appliquant la colchicine additionnée à la glycérine sur avec une fourchette bourgeons.

- En appliquant la colchicine additionnée à l'agar sur avec une fourchette bourgeons.

CHAPITRE 03

LA CULTURE IN VITRO COMME STRATEGIE D'AMELIORATION DES PLANTES

Introduction

La culture des tissus, est considéré à l'heure actuel comme l'une des méthodes de recherches les plus développées et les plus répandues dans le monde. Généralement à partir de cette technologie que beaucoup de phénomènes biologiques ont pu être expliqués et compris. Cette technique a permis également aux chercheurs d'aborder de nouvelles perspectives de recherche avec des études plus approfondies.

Parmi les principaux objectifs de la culture in vitro. On peut citer :

- * Surmonté **les problèmes de stérilité.**
- * Surmonté les dégâts issus **des maladies virales.**
- * Etude de **l'influence de l'alimentation minérale**
- * Etude de l'influence **des conditions de développement physiques**
- * Etude de l'influence **des conditions de développement chimiques**
- * réalisations **des différentes pratiques culturales**
- * L'étude de **l'influence des stress abiotiques** tel que le stress hydrique, thermique et salin.

1-Les milieux de cultures :

Le milieu de culture doit posséder toutes les exigences alimentaires et hormonales nécessaires aux opérations de croissance, du développement, et la différenciation du végétal. Ces exigences diffèrent non seulement selon l'espèce végétale, mais selon la partie végétale au niveau de la même plante. Pour cette raison majeure qu'il faut bien déterminer à l'avance le milieu de culture le plus approprié et plus convenable, avant de réaliser toutes les expérimentations. Parmi les composantes les plus importantes des milieux de culture on peut citer :

- Eau distillée -Les éléments minéraux -Les sucres -Les vitamines
- Les hormones -Les acides aminés -Agar.....

2-Les différents types de « culture de tissus » :

a/La culture des cellules : La première étape est isoler des cellules à partir de différents organes de la plante ; qui se fait par différents procédés ; soit par voie mécanique (la microdissection) ; soit par voie enzymatique (exemple : Cellulase ; Macazyme ; ...). La méthode de

Berjeman est considéré comme l'une des méthodes les plus répandues pour la culture des cellules isolées.

Remarque : Cette méthode a été utilisée pour la première fois sur la culture du tabac et de la carotte

b/ La culture des anthères :

Les améliorateurs des plantes peuvent profiter de la culture des anthères soit **pour l'obtention des plantes haploïdes ou monoploïdes** à partir des grains de pollen. Soit pour l'obtention des embryons haploïdes et la formation du cal.

c/ La culture de l'endosperme :

Étant donné que l'endosperme est un tissu à structure chromosomique triploïde issu de l'union de l'un des deux anthérozoïdes avec deux noyaux du sac embryonnaire lors de la double fécondation, **l'améliorateur des plantes peut en profiter pour la production ou l'obtention de plantes triploïdes** à partir de l'endosperme on peut soit obtenir directement des bourgeons, soit pour l'obtention du cal.

Remarque : Il faut isoler l'endosperme de l'ovaire quelques jours après fécondation ; durée qui varie d'une espèce à une autre. Chez le Maïs elle varie de 8 à 11 jours. Chez le riz elle varie de 4 à 7 jours.

d/ la culture des ovules et des ovaires :

L'améliorateur des plantes profite de tels milieux de cultures généralement **pour surmonter les difficultés engendrées suite aux hybridations interspécifiques trop éloignées**. A partir de ces milieux on a pu obtenir des graines complètement formées à partir de la culture des ovules ; et l'obtention de fruits complètement formés de la culture des ovaires. Des résultats surprenants on peut être obtenu, comme ce fut le cas pour la tomate et l'haricot, à partir de tels milieux.

e/la culture des embryons :

Ces milieux de culture peuvent aider l'améliorateur des plantes pour **surmonter les difficultés qui précèdent la fécondation tel que le cas du problème d'incompatibilité entre embryons et endosperme** qui apparaissent parfois suite aux hybridations interspécifiques trop éloignées. L'opération de séparation des petits embryons et la détermination du milieu de culture le plus convenable sont deux facteurs fondamentaux dans la réussite de la culture des embryons. La détermination de la durée propice pour la séparation des embryons après quelques jours de la fécondation, varie selon les espèces.

f/ La culture des protoplastes :

La culture des protoplastes est recommandée de point de vue amélioration des plantes, dans le cas **des hybridations interspécifiques trop éloignées (entre genres différents)**. Ce type de culture est également recommandé dans le cas de l'opération d'intégration de particules bien précises tel que des fragments d'ADN, d'organites cellulaires (mitochondries ou chloroplastes), des virus ou des bactéries dans le cas du génie génétique. L'opération consiste à débarrasser la cellule de sa paroi pectocellulosique (protoplaste), et la cultiver dans un milieu de culture idéale.

Remarque : *les jeunes feuilles sont généralement recommandés pour la préparation des protoplastes

*La **cellulase** est l'une des enzymes d'élimination des parois pectocellulosiques la plus utilisée.

g/ la culture des méristèmes : on profite généralement de ce type de culture pour la production de plantes indemne de maladies virales. Cette opération est considérée comme capitale pour les plantes qui se reproduisent végétativement.

Remarque : les parties méristématiques se distinguent généralement par l'absence totale des virus pour les raisons suivantes :

**Absence des tissus conducteurs, métabolisme cellulaire accentué et taux de l'Auxine très élevée.*

**Activité métabolique très intense ; qui empêche le développement du virus.*

**les systèmes de résistance généralement plus élevés.*

**Taux d'auxine généralement plus élevés.*

CHAPITRE 03

LES MUTATIONS COMME STRATEGIE D'AMELIORATION

DES PLANTES

Introduction

La mutation se définit comme **toute modification brutale dans la structure génétique** de l'individu ; à la quelle **résulte une modification analogue** de l'aspect extérieur ou du phénotype de l'individu qui l'emporte. Il existe deux types de mutation qui sont :

1-Mutation intragénique : ce sont les mutations qui englobent des modifications dans la **structure du gène**, engendrant une modification **de son action ou son activité**. On peut déceler ce type de mutation par les effets qu'elle exerce sur le phénotype des individus qui l'emportent.

2-Mutations extragéniques : ce sont les mutations **qui englobent des modifications chromosomiques numériques ou structurales**, tel que les cas : **les déficiences, les duplications, les inversions, les translocations chromosomiques...etc**. On peut généralement détecter ces types de mutation par **des études cytologiques**, et par les effets qu'elle exerce sur le phénotype des individus qui l'emportent.

Différents type des mutations extragénique ; On distingue plusieurs cas :

a-Déficiences : Les cas de déficiences apparaissent lorsque il y a une **perte d'une partie du chromosome**. cette perte peut apparaître soit **au niveau de la partie terminal du chromosome** (déficiency terminal), soit **au milieu du chromosome** est dans ce cas **la perte est intercalaire**. Les cas de déficiences sont parfois bénéfiques : et parfois très redoutables cela dépend de l'importance de la partie chromosomique perdue.

b-Duplication : on parle de duplication lorsque une partie du chromosome est répétée plus d'une fois, **l'additivité** est utilisée le plus souvent pour l'étude des relations quantitatives de l'influence d'un gène donné. L'additivité d'une façon générale n'a pas d'effet redoutable sur l'individu ; mais entraîne le plus souvent une modification du phénotype pour certains caractères.

c-Translocation : Il existe de types de translocations :

***Translocation simple**

***Translocation**

***inversion** : il existe de types d'inversion :

****inversion pericentrique***

****inversion paracentrique***

3- Les mutations naturelles :

Le degré d'apparition des mutations naturelles chez les végétaux, varie selon l'espèce et le caractère. Les mutations apparaissent soit **au niveau des gamètes** lors du déroulement de la méiose ; comme elles apparaîtront **au niveau des tissus somatiques**.

La mutation peut apparaître parfois dans toutes les cellules d'un organe (surtout les bourgeons), et parfois uniquement juste dans une partie de l'organe, ce qu'on appelle « **chimère** ».

Lorsque la mutation touche toutes les cellules d'un bourgeon, on peut donc la préserver si elle est bénéfique par différentes voies : ***La voie végétative ; *la voie sexuée.**

4 – Les mutations artificielles :

Ce sont les mutations produites artificiellement par l'intermédiaire des agents de la mutagenèse. Les premières mutations artificielles ont été réalisées chez la drosophile (1927) ; puis chez l'orge (1928). Par la suite beaucoup de mutations ont été réalisées chez les végétaux en vue de les améliorer.

5-Agents de la mutagenèse : Les agents de la mutagenèse sont de deux types :

***les agents physiques ; *les agents chimiques**

a/les agents physiques : Qui consiste à l'utilisation des radiations ionisantes tels que par exemple :

***Rayons ultraviolets ; *Rayons Alpha ; *Rayons Beta ; *Rayons Gamma ; *Rayons X**

b -Les agents chimiques : les composés chimiques sont classés selon leurs actions :

***composés à grande efficacité**

***composés efficaces à utilisation ré pondus**

***composés à efficacités moindre**

6-Programme d'amélioration par l'application des mutations :

Le programme d'amélioration des plantes utilise le plus souvent les mutations pour atteindre un ou plusieurs des objectifs suivants :

6-1 Crée une mutation sur un seul gène ou un nombre limité de gènes (caractères simples) :

Utilisé lorsque l'améliorateur des plantes cherche à améliorer l'une des caractéristiques importantes qui manque à une bonne variété.

6-2 Améliorer les caractères quantitatifs :

Malgré que les caractères quantitatifs sont sous le contrôle d'un grand nombre de gènes. Des résultats très encourageants ont été obtenus par l'application des agents de la mutagenèse.

6-3 Augmentation du taux des crossing over :

La mutation peut avoir comme objectif de créer des crossing over au niveau des gènes trop liés et également entre les gènes qui sont proches de la région du centromère au niveau de laquelle le déroulement des crossing over naturels sont d'habitude très faibles.

6-4 Provoqué des aberrations chromosomiques :

Le traitement par les facteurs de la mutagenèse à entrainé de nombreuses aberrations chromosomiques qui peuvent être utilisé en programme de l'amélioration des plantes. **Exemple :** suite à des cassures chromosomiques à des emplacements bien précis sur le chromosome, cela à entrainé le transfère de la résistance à la rouille des feuilles chez le blé ; de certaines espèces sauvages au blé cultivé.

7-Méthodes de traitement avec les agents de la mutagenèse :

Il existe trois méthodes principales dans le traitement des plantes :

****Traitement des grains de pollen***

****Traitement des semences***

****Traitement des parties végétatives***

8-Les points à prendre on considération dans le programme d'amélioration des plantes :

L'améliorateur des plantes doit possédé une vision claire concernant les points suivants dans le programme d'amélioration par les mutations :

****Le choix du germoplasme (diversité génétique) convenable à traité.***

****Le choix de la source des semences.***

****Le choix de l'agent de la mutagenèse le plus approprié et la dose à utilisée.***

****Déterminer le nombre de semences à traitées.***

CHAPITRE 03

LE GENIE GENETIQUE COMME STRATEGIE

D'AMELIORATION DES PLANTES

Introduction :

Depuis longtemps, l'amélioration des plantes est basée sur la sélection des plantes qui présentent les caractéristiques les plus importantes parmi la diversité végétales cultivées et sauvages. La reproduction sexuée permet la reprise de la répartition des caractéristiques génétiques parentales, dans la descendance. L'améliorateur des plante réalise généralement un triage dans la descendance on ne laissant que les lignées qui présentent les attributs désirables, et par la suite leurs multiplications. Cette méthode de sélection permet parfois que les caractéristiques indésirables accompagnent les caractéristiques désirables. Notant également que ce mode de reproduction n'est réalisable que pour les plantes **compatibles génétiquement** ; bien que dans certains cas on a pu **surmonter les barrières génétiques** par l'emploi des techniques artificielles tel que **la fusion des protoplastes**. De là est apparu l'idée du transfère d'un gène ou d'un ensemble de gènes intéressants sans la ségrégation ou la perte des autres caractéristiques intéressantes. Autrement dit la recherche de plantes transgéniques en intégrant une partie d'ADN étranger à son génome.

1-le transfère de la matière génétique :

Pour réaliser ou assurer le transfère de la matière génétique végétale à un autre végétal **sans reproduction sexuée ou fécondation**. On peut recourir à différentes méthodes tel que :

a/l'utilisation du T-DNA :

Agrobacterium tumefacens est une bactérie du sol, qui contient dans son génome, un plasmide (particule de l'ADN) présentant une grande taille (formé de 100 à 200 nucléotides) nommé Ti. Se dernier est responsable de induction de tumeurs chez les végétaux plus particulièrement **chez les dicotylédones**, est cela en transférant une partie du plasmide Ti, nommé **T-DNA** (ADN transformateur) aux génomes des cellules végétales. Le **T-DNA** est une partie du plasmide formé de 25 nucléotides parmi les quels les gènes cancéreux, responsable de l'apparition des tumeurs. **c'est un système de transformation naturelles**, utilisé artificiellement pour transférer des gènes fusionnés à l'emplacement des gènes **T-DNA**. A partir de ce constat le plasmide Ti est débarrassé de son arme est prêt a transférer des gènes intéressants et permet d'obtenir des plantes transgéniques. Les gènes transféré s'associent aux génomes des végétaux ; puis aux descendances selon les lois de la génétique mendélienne.

b/transfère direct : parmi les techniques les plus réponsus on cite :

*On réalise **une incubation d'un protoplaste avec le T-DNA**. Pour faciliter l'opération de la fusion on utilise un champ électrique pour de courte durées, pour crée des pores dans la membrane cytoplasmique. Par la suit les protoplastes transgéniques sont **placés dans des milieux de culture approprié** pour qu'elles se développent en plante entière transgéniques.

*par la technique de l'injection ou le bombardage des cellules ou des tissus par des particules emportant les gènes.

2- les grandes pratiques transgéniques dans le domaine de l'amélioration des plantes :

***la transgénèse de l'enzyme sensible à l'herbicide :**

-*Glyphosate* :

-*Sulphonylurées* :

-*Bromoxil* :

-*Phosphinotricine* :

***Sélection des plantes résistantes aux maladies :** Généralement les maladies issues des virus ; des bactéries, des champignons et les insectes entraîne le plus souvent des pertes considérables des rendements (productions économiques). Les fongicides et les insecticides sont largement utilisés pour réduire les pertes suite à ces maladies. Mais le plus souvent ces produits chimiques sont chères et ont une action défavorable sur la nature à long terme. De là est apparu l'idée d'obtenir des plantes transgéniques résistantes aux maladies et aux insectes pour résoudre ce problème.

-La résistance aux virus : Notant hôte. Par la voie de la transgénèse, on a pu introduire chez le tabac le gène codant la protéine de la non capsid au virus du mosaïque du tabac (le virus n'arrive plus à former sa capsid au niveau de la cellule hôte). A cet effet la plante est devenue résistante à ce virus. Dans certains cas on a pu transformer le gène contrôlant la duplication du virus. De ce résultat de nombreux essais ont été réalisés pour améliorer la résistance à de nombreuses infections virales.

-Résistance aux insectes : La protéine de la bactérie nommée **Bacillus thuringiensis** se distingue par la propriété d'un insecticide. Cette protéine n'a pas d'influence sur les mammifères qui n'ont pas des récepteurs convenables au niveau de leurs tubes digestifs pour ce type de protéines. **Par la voie de la transgénèse**, on a pu obtenir **des plantes résistantes** après l'introduction du gène codant cette protéine chez certaines plantes tel que le tabac, le coton, le maïs, la pomme de terre. De telle sorte que ses plantes sont devenues toxiques pour les larves de nombreux insectes.

***Amélioration de la qualité des plantes (maturité du fruit) :** Le critère de maturité est d'une grande importance pour certaines plantes cultivées (exemple la tomate), de sorte qu'il faut veiller à la conservation du fruit en bon état après la récolte, lors du transport et la répartition sur les marchés. Certains agriculteurs se basent sur la stratégie de récolter leurs tomates alors qu'elles sont encore verte dans l'espoir qu'elle atteigne les consommateurs à l'état mure. Mais cette stratégie n'est pas toujours prometteuse. Généralement s'agit d'une enzyme nommée **Polygalacturonase** qui est responsable à rendre la tomate à structure molle est cela par son action à la désintégration de différentes particules de l'enveloppe cellulaire, est cela lors de l'opération de la maturation ; ce qui rend facile la déchirure de l'enveloppe, et par suite l'accès facile et rapide de l'atteinte par les maladies et la pourriture lors de la conservation. Par la voie de la transgénèse, on a pu obtenir des tomates qui se distinguent par sa capacité de rester en bon état (ferme et indemne) pour une durée assez longue, ce qui facilite son transport et sa conservation et cela après l'introduction **un gène muté du Polygalacturonase**.

CHAPITRE 04

La conservation de la biodiversité

Introduction

De nos jours la biodiversité est devenue une préoccupation mondiale. Tout le monde admette la **disparition accélérée** de nombreuses espèces, et considèrent essentiel que cette biodiversité soit préservée de toute menace.

Il existe deux catégories de conservation de la biodiversité à l'échelle mondial:

***la conservation in situ** (à l'intérieur le milieu naturel)

***La conservation ex situ** (à l'extérieure du milieu naturel).

*La conservation in situ :

La conservation in situ est considérée comme la stratégie idéale, mais pratiquement impossible suite à la destruction des niches écologiques ou des habitats naturels **des espèces rares** ou **des espèces en voie d'extinction**.

La méthodologie de la conservation in situ est la **mise en place de zones protégés** qui permet la sauvegarde d'un grand nombre d'espèces avec un minimum **de perte**. C'est une technique de conservation de la faune et de la flore qui intervient sur le terrain dans le milieu naturel .Les lieux de conservation des espèces animales ou végétales sont alors situés dans la nature (réserves naturelles, parcs naturels régionaux, parcs nationaux ou transnationaux, etc.).

* La conservation ex situ :

La conservation ex situ signifie la conservation à l'extérieure du milieu naturel. C'est une technique de conservation des animaux et des plantes hors du milieu naturel. **la conservation ex situ** est considéré comme l'une des méthodes de conservation (en jardin conservatoire, en élevage conservatoire), elle applique aussi des nouvelles méthodes, de laboratoire, avec éventuellement **culture in vitro** ou conservation **d'embryons congelés**, de graines conservées en frigo, dans une **banque de graines** ou des **banques de semences** qui sont des lieux protégés ou l'on maintient *ex-situ* et souvent en congélation des semences de plantes cultivées ou d'intérêt médical.

Remarque :

Des banques de semences végétales existent dans plusieurs pays qui regroupent des millions d'échantillons de nombreuses espèces, sous-espèces ou variétés cultivées et parfois sauvages.

Remarque :

La Liste rouge remplit de nombreuses fonctions, notamment :

**Sensibilise les gens sur l'importance de la biodiversité.*

**Détermine les espèces menacées par la disparition.*

**Donne une idée sur le rythme de renouvellement des espèces.*

**Donne des techniques pour la préservation de la biodiversité.*