

# **Biotechnologies végétales**



# Biotechnologie :

- L'application de la science et de la technologie à des organismes vivants, de même qu'à ses composantes, produits et modélisations, pour modifier des matériaux vivants ou non-vivants aux fins de la production de connaissances, de biens et de services.

● تطبيق العلم والتكنولوجيا على الكائنات الحية ، وكذلك مكوناتها ومنتجاتها ونماذجها ، لتغيير مواد حية وغير حية لإنتاج المعرفة ، المنافع والخدمات.

# Biotechnologies

« l'application des principes scientifiques et de l'ingénierie à la transformation de matériaux par des agents biologiques pour produire des biens et services » (OCDE)

→ technologies de bioconversion



Fermenteurs

Bioréacteurs

# Biotechnologies végétales

« Développement et utilisation de techniques de cultures *in vitro* dans différents domaines relatifs au végétal et à l'amélioration variétale »

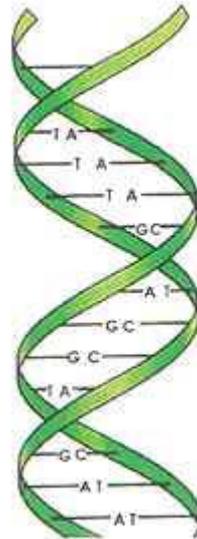
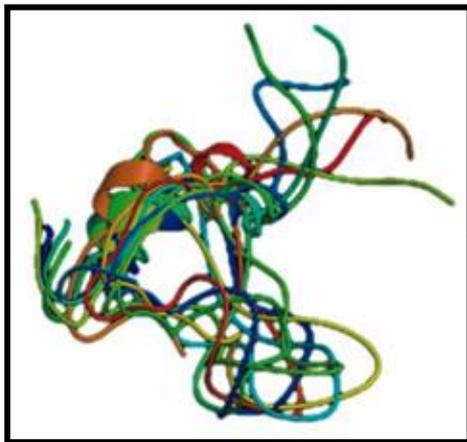
## ● المواضيع المقترحة للأبحاث

- Haplodiploïdisation
- Culture de méristèmes
- Micropropagation
- Sauvetage d'embryons
- Fusion de protoplastes
- Création de variabilité
- Banque de germoplasmes
- أهمية زراعة الأنسجة في إنتاج مركبات الأيض الثانوى
- أهمية زراعة الأنسجة في إنتاج نباتات الزينة العطرية
- أهمية زراعة الأنسجة في إنتاج المركبات الصيدلانية
- أهمية زراعة الأنسجة في إنتاج النباتات الطبية



# Biotechnologies

« Technologies impliquant l'obtention et/ou l'utilisation d'organismes génétiquement modifiés »



“Biotechnologies modernes”  
(Protocole de Carthagène)

## Definition proposée par l'Association Française des Biotechnologies Végétales :

التقانات الحيوية النباتية هي تقنيات تغطي كل التدخلات المخبرية حول الأعضاء، الأنسجة، الخلايا أو الـ ADN النباتي ، وهذا للتحكم الجيد أو الإسراع في الانتاج، أو لتحسين خصائصها، خدمة للبحث، الزراعة أو الاستغلال الصناعي.

Les biotechnologies végétales sont des technologies qui recouvrent toutes les interventions en laboratoire sur les organes, les tissus, les cellules ou l'ADN des végétaux, soit pour mieux maîtriser ou accélérer leur production, soit pour améliorer leurs caractéristiques, au service de la recherche, de l'agriculture ou de productions industrielles.

Et une définition plus simple que je vous propose:

Ensemble de pratiques faisant appel aux cultures *in vitro* de plantes et aux techniques de biologie moléculaire dans les domaines de l'agronomie, l'industrie et la recherche fondamentale

# Totipotence de la cellule végétale

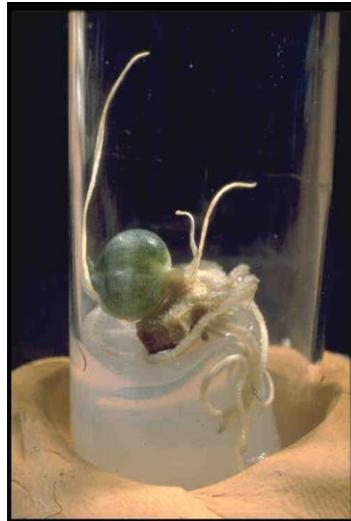
La totipotence repose sur l'aptitude à la dédifférenciation

=

قدرة الخلايا (الفاقدة للانقسام استعداد هذه الميزة) على التمايز

Les cellules végétales, prélevées sur un organe quelconque d'une plante, possèdent la capacité de régénérer un individu complet identique à la plante mère.

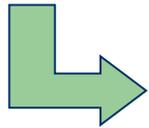
C'est la totipotence des cellules végétales. Elle repose sur l'aptitude à la dédifférenciation.





# Historique de la culture de tissus et d'organes de plantes

- Contexte théorique au début du XX<sup>ème</sup> siècle:
  - Théorie cellulaire (Schleiden et Schwann)



Comment étudier le comportement de cellules isolées ?

- Microbiologie et biochimie



Cultures en conditions stériles



Caractérisation de substances de croissance

# G. Haberlandt : le concept de totipotence de la cellule végétale

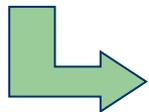
## Deux idées importantes :

- la culture de cellules isolées constituerait potentiellement un modèle de recherche
  - maintien en vie de cellules isolées
  - Pas de multiplication cellulaire
  
- on peut potentiellement régénérer une plante entière à partir d'une cellule isolée → totipotence
  - Échec (mauvais choix d'explants, méconnaissance des substances de croissance)



# Émergence des techniques de culture

- Haberlandt (1902) : concept de totipotence
- White (1934) : culture *in vitro* de racines de tomates
- Gautheret (1935) : utilisation d'auxine pour cultiver du cambium de saule
- 1939 : 1ère culture indéfinie de cals de carotte



La culture de tissus est possible en utilisant des substances de croissance et/ou des tissus méristématiques

# Émergence des techniques de culture

- Braun (1941) : travaux sur le crown gall التدرن التاجي



Croissance *in vitro* des tumeurs sans ajout d'hormones

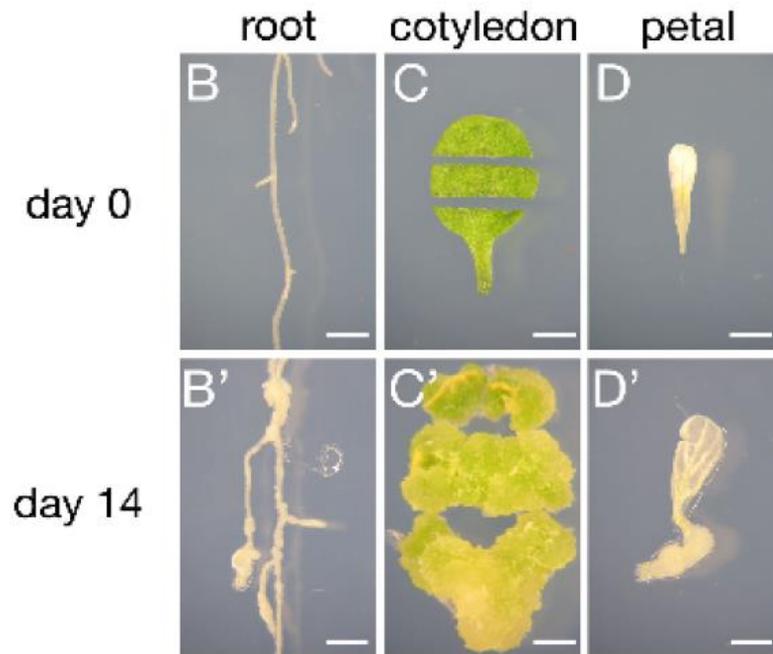
- Miller (1955) : cytokinines
- Murashige et Skoog : mise au point de milieux de culture efficaces contenant des cytokinines et des auxines



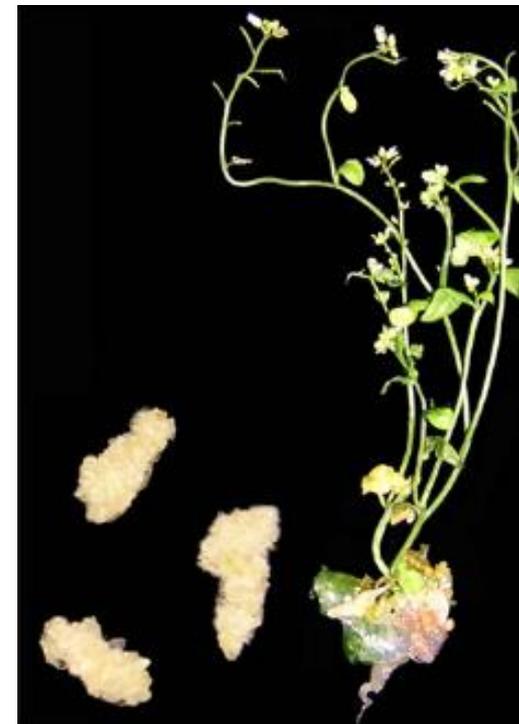
Organogénèse & callogénèse



# “La totipotence repose sur l’aptitude à la dédifférenciation”



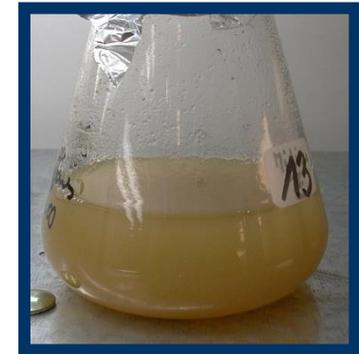
Sugimoto 2010 Dev Cell



Birnbaum 2008 Cell

# Confirmation des hypothèses d'Haberlandt

- 1956 (Muir) suspensions cellulaires
- 1958 (Reinart et Stewart) Embryogenèse somatique chez la carotte



# Confirmation des hypothèses de Haberlandt

- 1960 Production fiable de protoplastes par digestion enzymatique (Cocking)
- 1971 (Nagata et Takabe) Régénération d'un plant entier à partir d'un protoplaste



# Développements : des outils agronomiques

- 1965 (Morel) Germination et micropropagation *in vitro* des orchidées
- 1967 (JP Bourgin & JP Nitsch) : tabacs haploïdes à partir d'anthères
- 1973 : hybride issu d'une fusion de protoplastes



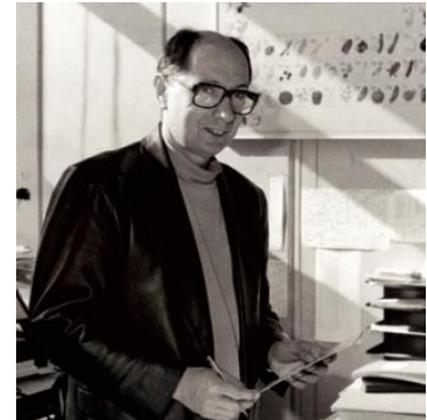


# Développements : production de métabolites secondaires

- 1977 : culture de cellules de tabac dans un réacteur de 20 000 litres
- 1983 (Mitsui Petrochemical) : production industrielle d'un pigment: la shikonine
- 1997 L'entreprise Samyang Genex (Daejeon, Corée) produit un anticancéreux, le Genexol, à partir de cultures in vitro de *Taxus*

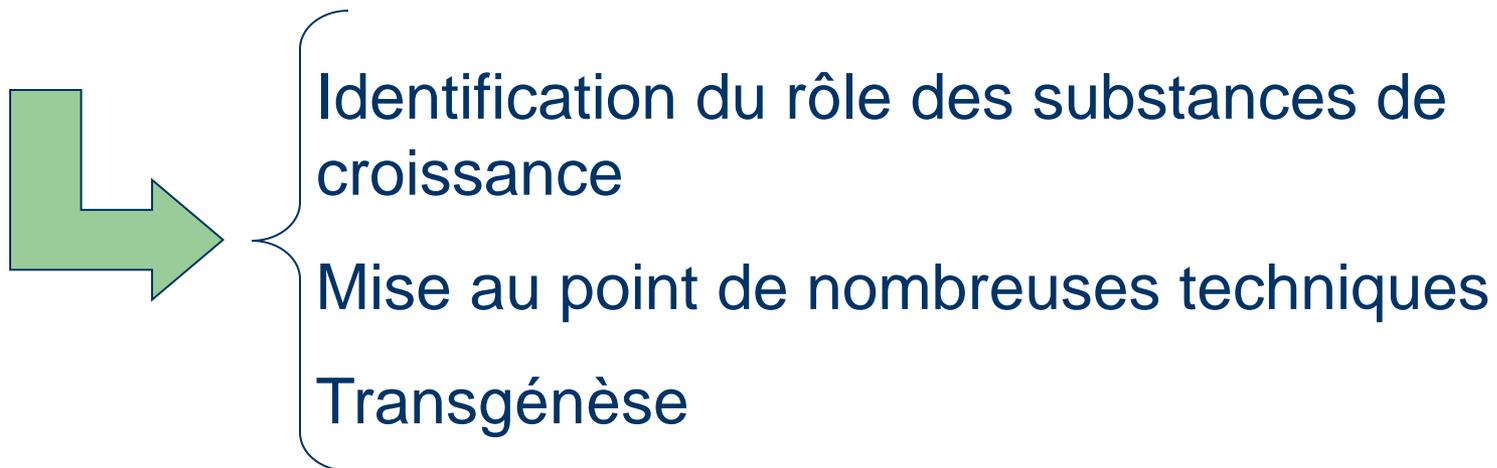
# Développements : la transgénèse

- Marc Van Montagu (1983) : tabac résistant à la kanamycine
- 1994 : Flavr Savr (Calgene, antisensage d'une polygalacturonase)
- 1996 : maïs transgénique commercialisé aux USA



# Conclusions

- Problématique initiale :
  - recherche d'un modèle de cellules isolées
  - démonstration de la totipotence des cellules végétales

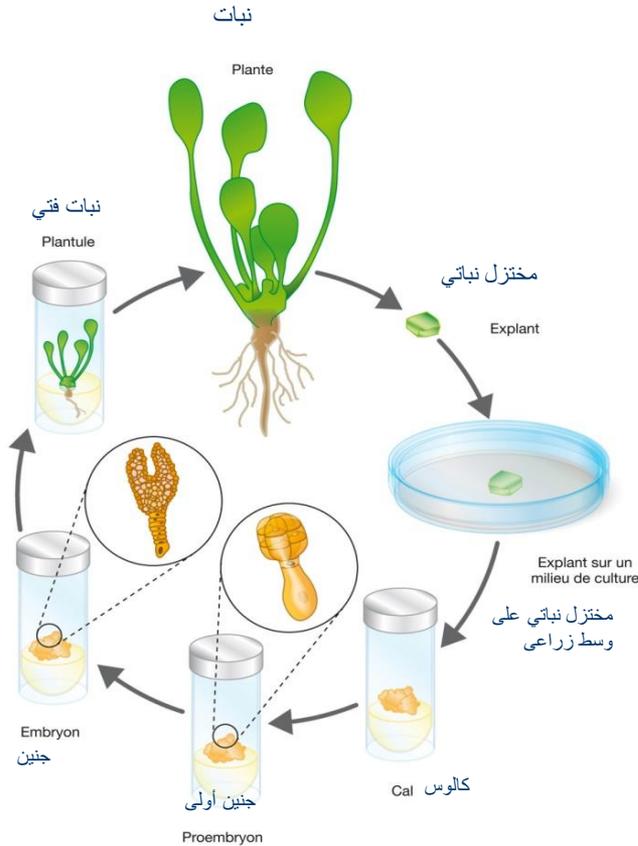


# Revenons sur le phénomène de totipotence...

Les cellules végétales, prélevées sur un organe quelconque d'une plante, possèdent la capacité de régénérer un individu complet identique à la plante mère. C'est la totipotence des cellules végétales. Elle repose sur l'aptitude à la dédifférenciation (site du GNIS)

# Totipotence et culture cellulaire végétale

La figure ci-contre montre un exemple de totipotence et présente un aperçu des étapes menant à la culture cellulaire, puis de la marche à suivre qui conduit à la régénération d'une plantule. Les cellules végétales mises en culture à partir d'un explant montrent leur totipotence en se dédifférenciant d'abord pour former un cal et en régénérant ensuite un proembryon, lequel se développe en embryon, qui devient ensuite une plantule, puis une plante entière.



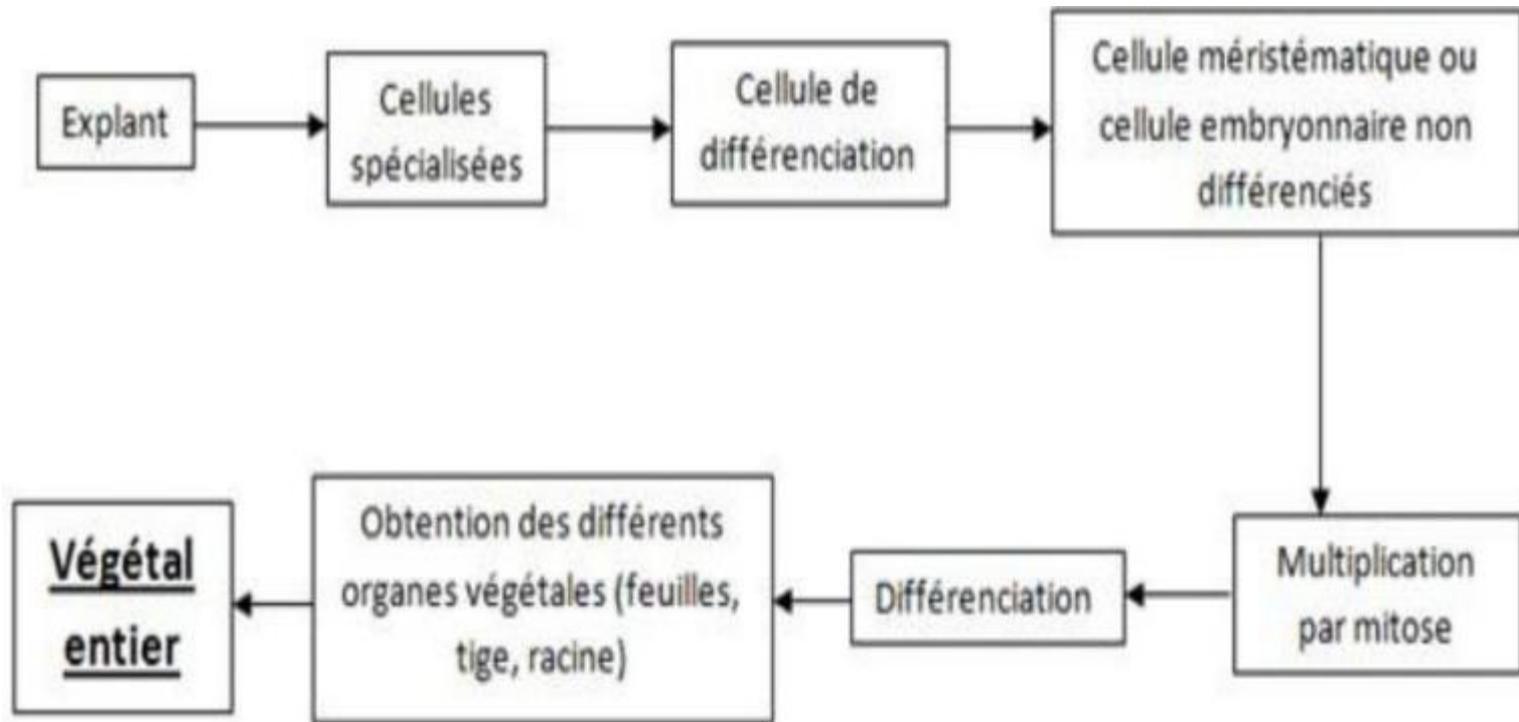
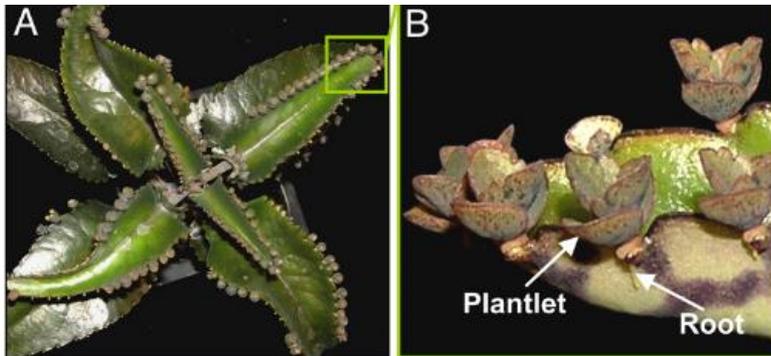


Schéma explicatif de la totipotence

# Embryogenèse / Organogénèse

- Embryogénèse
  - à partir de cellules somatiques

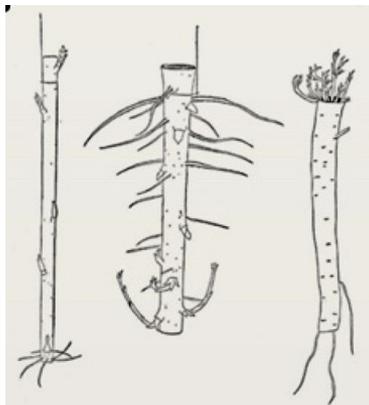


Garces et al. PNAS 2007

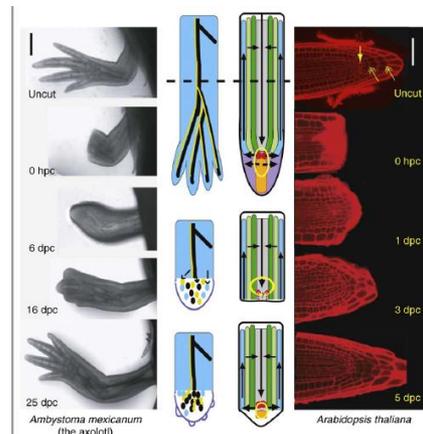
- à partir de cultures de cellules “indifférentiées”



- Régénération d'organes et de tissus à partir de cellules somatiques ou de cellules « indifférentiées »



Birnbaum 2008 Cell



Sena & Birnbaum 2010



Birnbaum 2008 Cell

# Des cellules plus ou moins totipotentes

Les méristèmes :



- un réservoir de cellules totipotentes

Les autres types cellulaires :

- une totipotence plus ou moins facile à exprimer
- Utilisation de substances de croissance exogènes

Variabilité

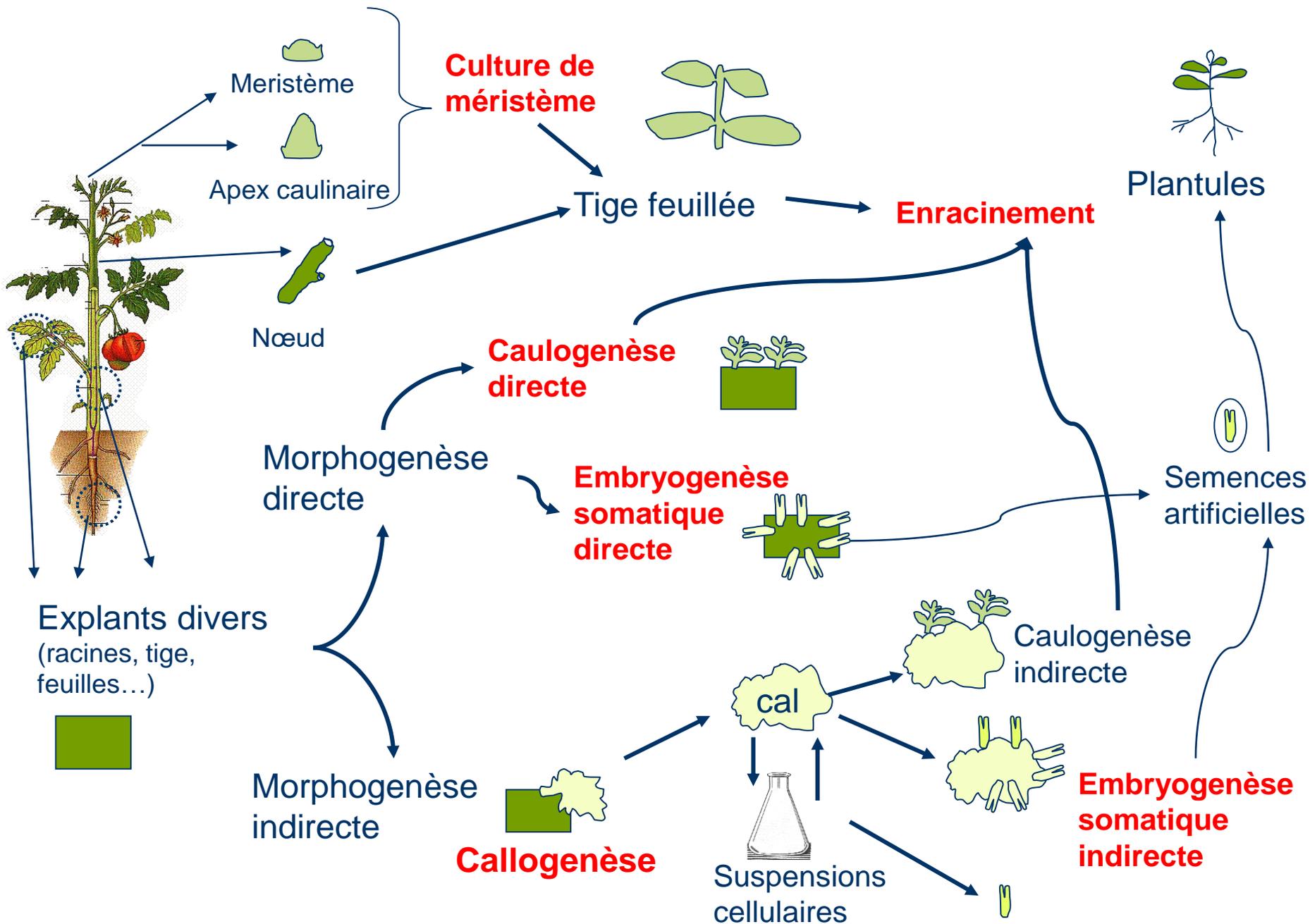
interspécifique

• Régénération directe

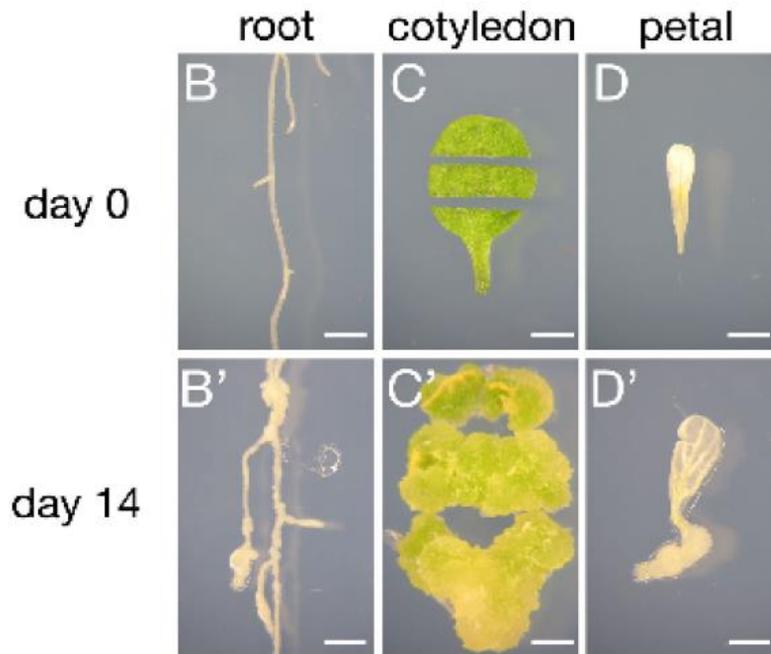
• Régénération en passant par un stade de cal



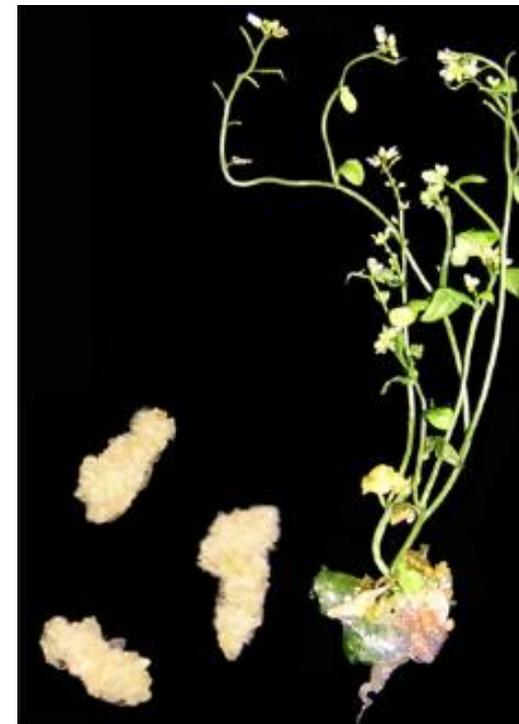
# Principales méthodes de micropropagation



# “La totipotence repose sur l’aptitude à la dédifférenciation” (?)



Sugimoto 2010 Dev Cell



Birnbaum 2008 Cell



# Comprendre les mécanismes de dédifférenciation

*G. Grafi / Developmental Biology 268 (2004) 1–6*

**Differentiation**

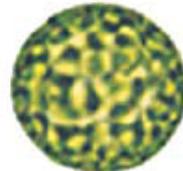
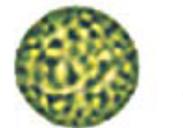


**Mesophyll cells**

**Dedifferentiation:**

Acquisition of pluripotentiality

Cellulase



**Protoplasts  
(Plant cells devoid  
of cell walls)**

Auxin

**Redifferentiation**

no hormones

**Cell death**

Auxin/cytokinin

**Proliferation**

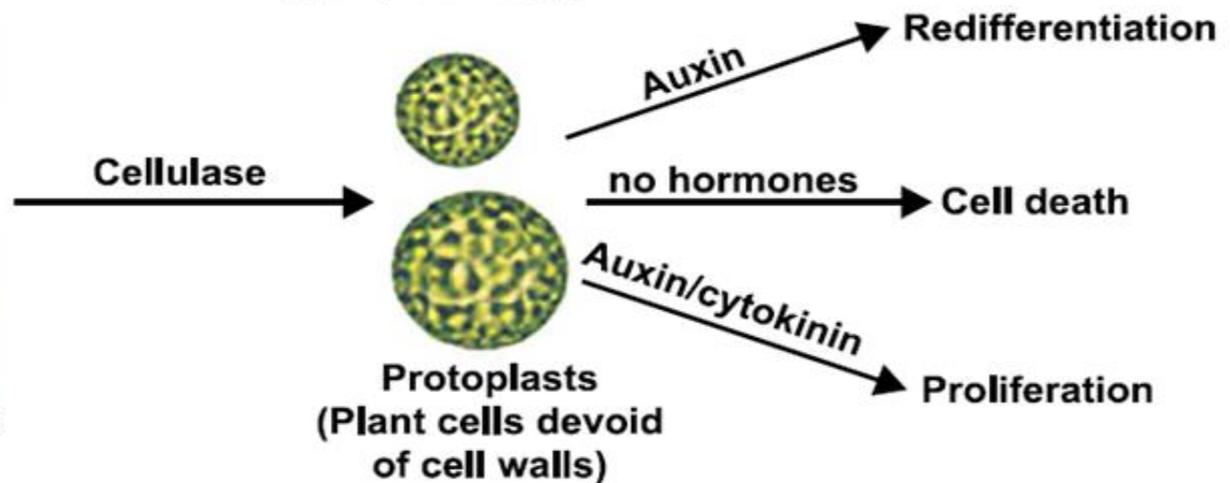
# Comprendre les mécanismes de dédifférenciation

**Differentiation**



**Mesophyll cells**

**Dedifferentiation:**  
Acquisition of pluripotentiality



# Le rôle du péri-cycle : un grain de sable dans le modèle

Developmental Cell  
Article

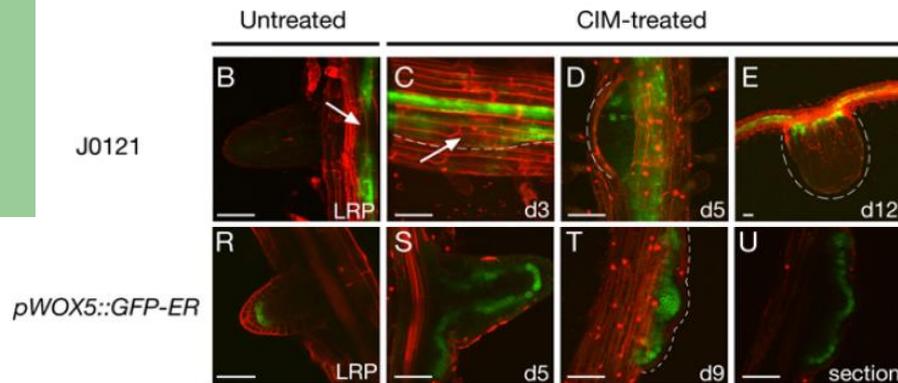
## *Arabidopsis* Regeneration from Multiple Tissues Occurs via a Root Development Pathway

Kaoru Sugimoto,<sup>1</sup> Yuling Jiao,<sup>1</sup> and Elliot M. Meyerowitz<sup>1,\*</sup>

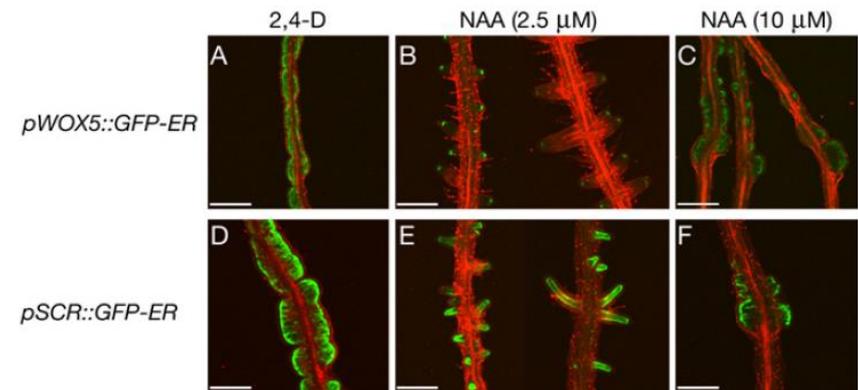
<sup>1</sup>Division of Biology 156-29, California Institute of Technology, Pasadena, CA 91125, USA

\*Correspondence: meyerow@its.caltech.edu

DOI 10.1016/j.devcel.2010.02.004

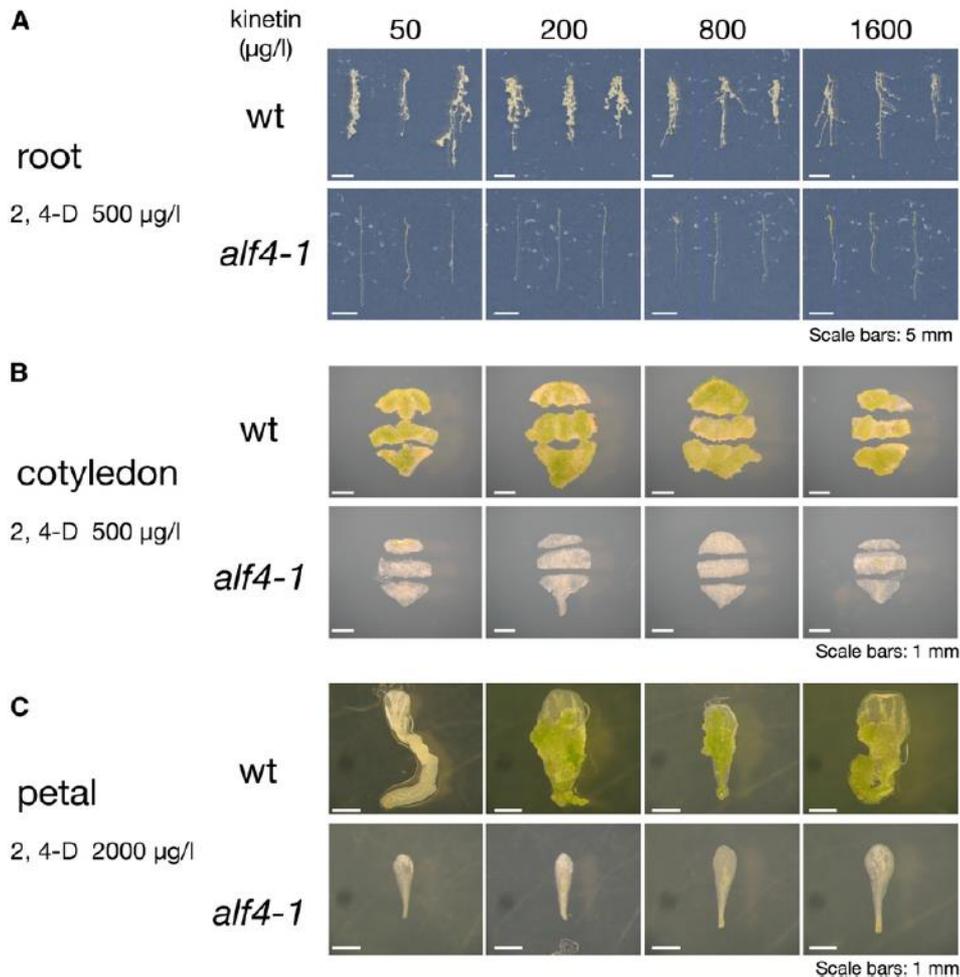


**Figure 1. Callus Derived from Root Is a Moderately Organized Tissue Similar to a Lateral Root Primordium**



**Figure 2. Callus Resembles the Tip Part of the Lateral Root Meristem**

*pWOX5::GFP-ER* (A)–(C) and *pSCR::GFP-ER* (D)–(F) marker expression (green) in the root explants treated for 10 days with NAA or 2,4-D. (A) and (D) 2,4-D (same concentration as normal CIM); (B) and (E) 2.5  $\mu\text{M}$  NAA; (C) and (F) 10  $\mu\text{M}$  NAA. Cellular outlines were visualized with propidium iodide staining (red). Scale bars represent 50  $\mu\text{m}$ .



### CONCLUSION:

In this study, we show that callus formation from multiple organs is not a process of reprogramming to an undifferentiated state, but rather the differentiation of pericycle-like cells present in the organ toward root meristem-like tissue.

In this case, the pericycle-like cells are functionally analogous to animal tissue stem cells, which are found in many tissues throughout the body and can divide and differentiate into specialized types of cells.

This leaves open the question how root meristem-like callus tissue has the ability to form aerial shoots in the next stage of the regeneration process