

Chapitre III: Quelques domaines d'application de la culture in vitro



1. Culture d'embryons immatures

La technique de culture d'embryons immatures permet d'accélérer les procédures classiques de sélection...

À quoi ça sert ?

La technique de culture d'embryons immatures permet d'éviter la phase de maturation de la graine et d'accélérer les procédures classiques de sélection.

Comment ça marche ?

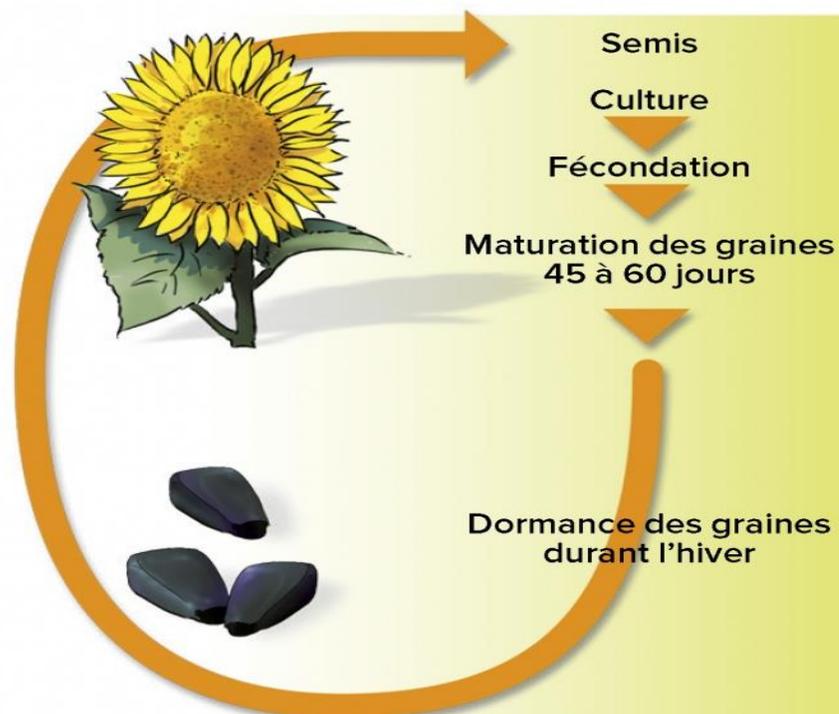
Les embryons sont prélevés quelques jours après la fécondation et non à maturité de la graine et cela permet ainsi de réaliser plusieurs générations par an. On peut réaliser en une année plusieurs cycles d'autofécondations ou de rétrocroisements successifs nécessaires pour la fixation et la conversion de lignées.

Cette technique est très utilisée chez le tournesol et dans une moindre mesure chez le maïs. Chez le tournesol où les phénomènes de dormance des graines sont particulièrement forts, elle est particulièrement facile à mettre en œuvre, et permet d'obtenir 4 à 5 générations successives par an, au lieu d'une seule en culture normale, car le cycle végétatif est ramené à 80 jours.

La culture d'embryons immatures

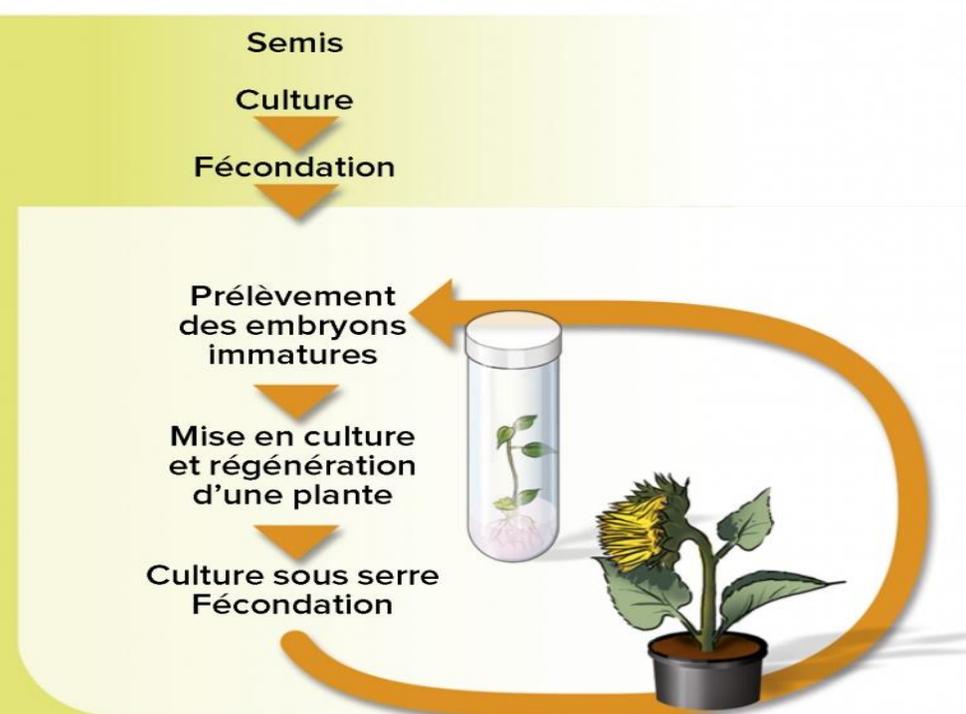
Exemple du tournesol

Cycle de sélection classique



Une génération par an

Cycle de sélection avec culture d'embryons immatures



4 à 5 générations par an

2. La fusion de protoplastes

La fusion de protoplastes permet le **croisement** entre deux espèces éloignées...

À quoi ça sert ?

La fusion de protoplastes permet le croisement entre deux espèces éloignées, quand le sauvetage d'embryons n'est pas suffisant (en cas d'instabilité chromosomique de l'embryon).

Comment ça marche ?

On obtient des protoplastes à partir de cellules végétales dont la paroi a été dégradée par des enzymes. Ces cellules peuvent non seulement fusionner entre elles mais encore régénérer des plantes entières. On retrouve dans les descendants les noyaux et les cytoplasmes des deux parents, à la différence de la reproduction sexuée, où le pollen ne transmet pas son cytoplasme.

C'est ce qu'ont utilisé des chercheurs dans les années 1990 pour transférer le caractère de stérilité mâle cytoplasmique naturel du radis dans le colza, réalisant ainsi une avancée majeure. L'intérêt est d'obtenir des plantes de colza mâle stériles qui permettent la production d'hybrides à l'échelle commerciale chez cette plante qui normalement s'autoféconde.

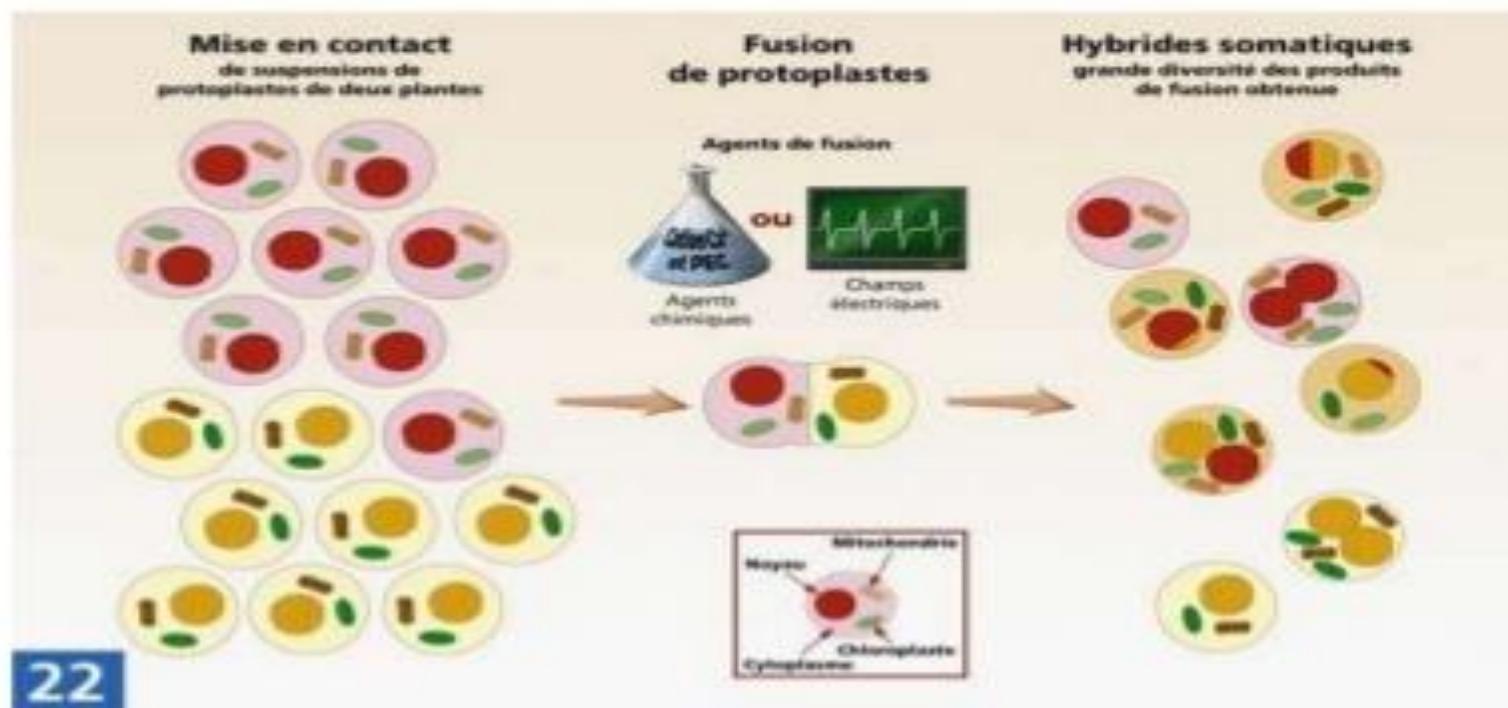
Applications

LA TRANSFORMATION GÉNÉTIQUE

L'HYBRIDATION SOMATIQUE

La propriété la plus importante des protoplastes est leur capacité à fusionner entre eux lorsqu'ils sont placés dans un milieu approprié. Cette technique permet de surmonter les barrières liées à la reproduction sexuée et de créer de nouvelles combinaisons entre noyau et cytoplasme.

Du fait de l'absence de la paroi pectocellulosique, l'introduction directe de l'ADN dans les cellules est facilitée.



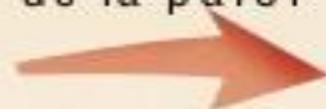
L'obtention de protoplastes

Cellules végétales débarrassées de leur paroi pecto-cellulosiques (cf H. H.)

Parenchyme
de jeunes feuilles



Digestion
enzymatique
de la paroi

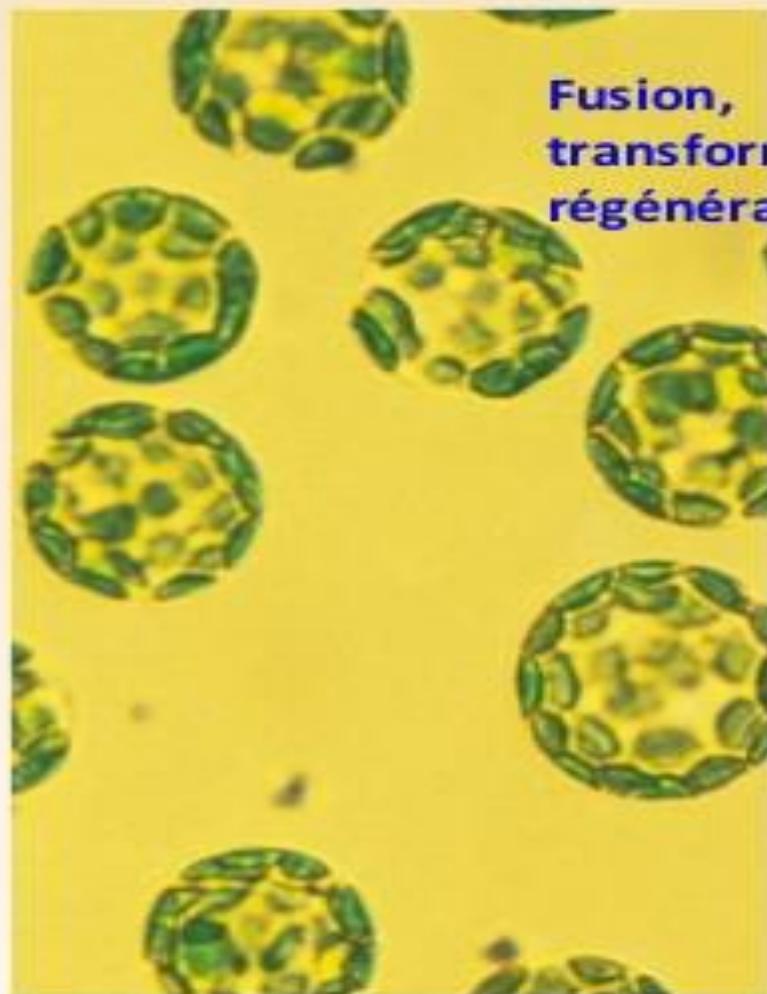


Enzymes
de lyse
de la paroi
pectocellulosique



Ajouts
d'éléments
stabilisants
sucres,
sels minéraux

Suspension
de protoplastes



**Fusion,
transformation,
régénération**

3. Haplo-diploïdisation

La technique d'haplo-diploïdisation permet d'obtenir des lignées pures...

À quoi ça sert ?

La création de lignées pures est une étape nécessaire dans les programmes d'amélioration des plantes. Elle permet de stabiliser les combinaisons génétiques favorables obtenues par sélection. Dans une lignée pure, les plantes sont "**homozygotes**" pour tous les caractères, c'est-à-dire que les deux lots de chromosomes homologues sont identiques. En sélection classique, on obtient cette "**homogénéisation**" du génome en réalisant de nombreuses autofécondations.

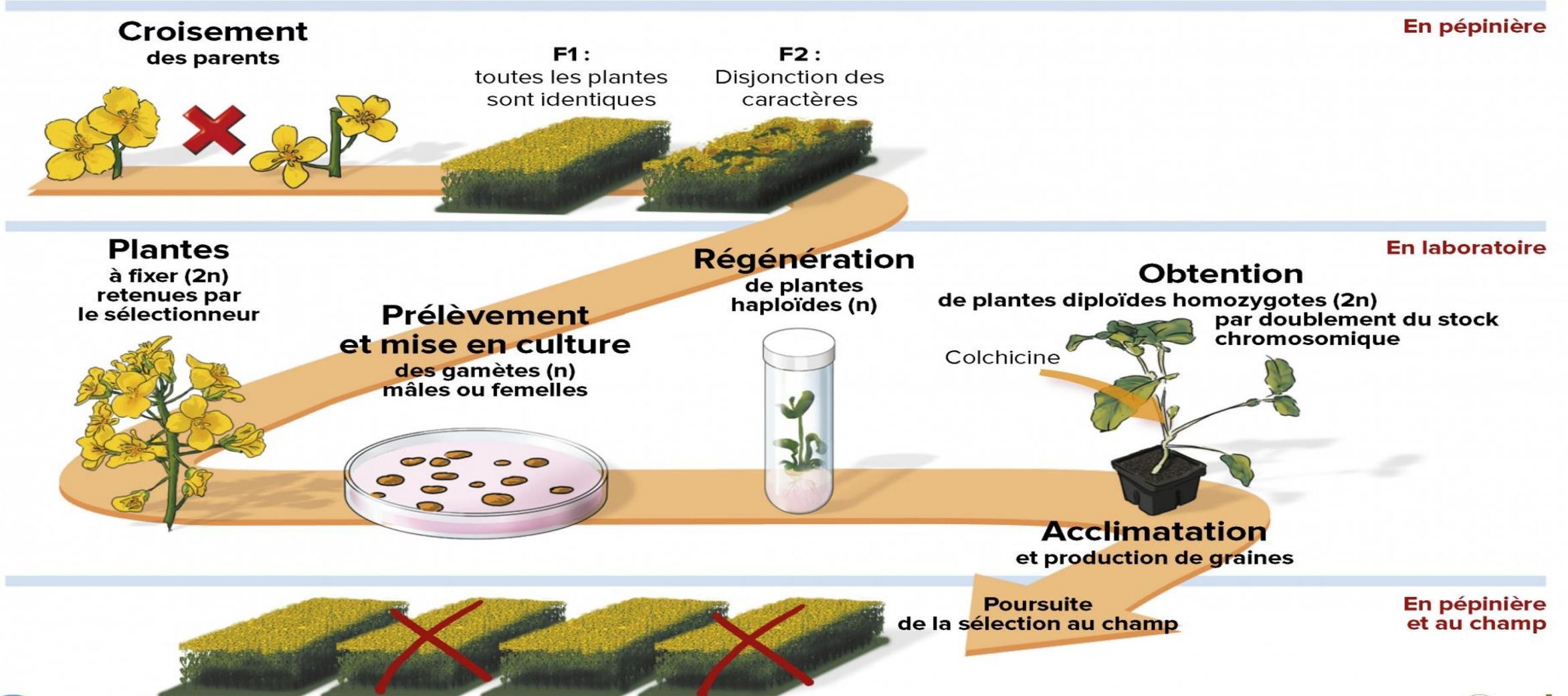
Comment ça marche ?

On commence par obtenir une plante haploïde par exemple en cultivant des grains de pollen isolés (une plante haploïde ne possède qu'un seul lot de chromosomes). Puis, à partir de ces plantes haploïdes, on peut obtenir des plantes dites "haploïdes doublées", après doublement du stock chromosomique, en utilisant la colchicine.

Ainsi des lignées pures sont produites en quelques mois au lieu de 8 à 10 ans par la méthode classique d'autofécondations.

Le principe de l'haplodiploïdisation

Exemple du colza



4. Sauvetage d'embryons interspécifiques

Pour "sauver" l'embryon, on le prélève quelques jours après la fécondation...

À quoi ça sert ?

À la suite d'une hybridation interspécifique (chou/radis, blé/orge), on peut rencontrer des problèmes d'incompatibilité entre les tissus embryonnaires et les tissus maternels provenant de l'ovule.

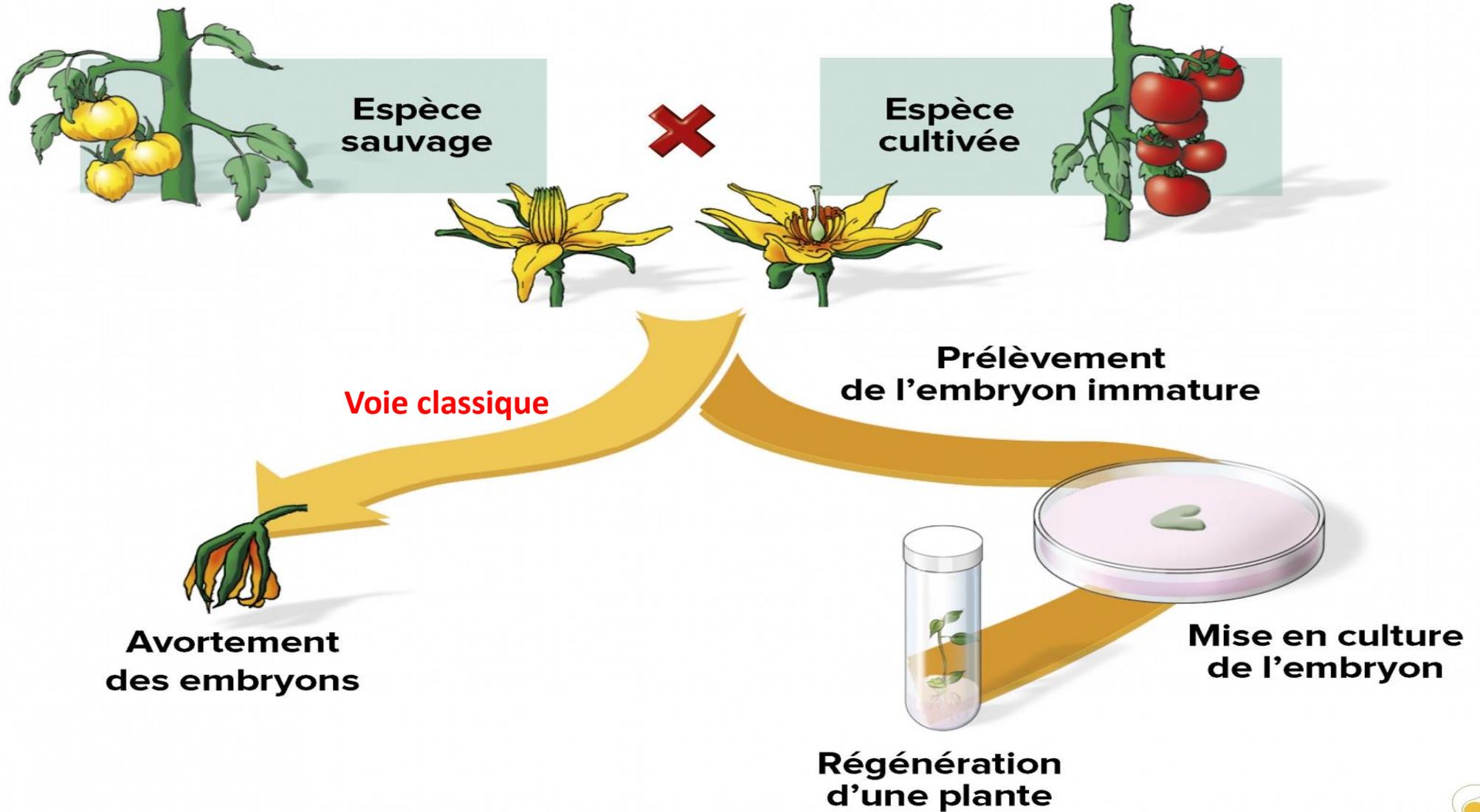
Comment ça marche ?

Pour "sauver" l'embryon, on le prélève quelques jours après la fécondation et on le cultive *in vitro*. À l'Inra, les chercheurs ont utilisé cette technique pour transférer des caractères agronomiques d'intérêt entre espèces sauvages et cultivées. Ils ont ainsi obtenu des hybrides interspécifiques de courgette (résistant à 2 virus et à l'oïdium), de laitue, d'haricot, de tournesol.

Exemple : le raisin sans pépin DANUTA.

Le sauvetage d'embryons interspécifiques

Exemple de la tomate





Bon courage !!