

I- INTRODUCTION AUX BIOTECHNOLOGIES VEGETALES

I-1- Rappels et définitions

a- Qu'est-ce que la biotechnologie ?

La biotechnologie est un domaine qui recouvre l'ensemble des technologies et applications ayant recours à l'utilisation ou à la modification de matériaux vivants dans un objectif de recherche scientifique pour accroître les connaissances humaines, ou dans un objectif commercial afin de créer un produit ou service.

Toutefois, la définition de la biotechnologie est si large qu'elle englobe les techniques ancestrales utilisées par l'homme depuis des siècles pour la fermentation ou la domestication des plantes et animaux. C'est pourquoi on identifie séparément les « biotechnologies modernes », issues du génie génétique après la découverte de l'**ADN** en 1953 et aux innombrables recherches ultérieures qui en ont découlé.

b- De multiples applications dans tous les domaines

Si la Silicon Valley en Californie constitue l'épicentre mondial de la recherche fondamentale et appliquée en biotechnologie, la France n'est pas en reste ! De nombreux établissements publics travaillent activement dans ce domaine comme le CNRS et l'**Institut Pasteur**, ainsi qu'une multitude de sociétés privées.

Les principaux secteurs d'activité qui font aujourd'hui un usage quotidien de la biotechnologie sont les industries pharmaceutiques, cosmétiques et agroalimentaires. Dans le domaine de la pharmacie, la biotech est utilisée pour produire de nouvelles thérapies contre les maladies génétiques qui étaient considérées comme incurables jusqu'ici. Dans le domaine alimentaire, elle permet de créer des plantes plus résistantes aux bactéries et aux nuisibles, et d'améliorer le rendement des cultures. Dans le domaine cosmétique enfin, elle sert à créer de la peau artificielle pour éviter les tests sur les animaux.

Mais cet engouement autour de la biotechnologie ne se résume pas à ces quelques domaines ! Elle connaît une diffusion rapide dans tous les pans de l'économie, notamment : la chimie verte, la dépollution des eaux, etc.

c- Les termes et codes couleur des biotechnologies

Les biotechnologies contemporaines sont si nombreuses que les labos de recherche utilisent désormais des « codes couleur » pour les classer et les départager : les « biotechnologies rouges » sont celles qui regroupent les activités médicales comme la fabrication de médicaments, de vaccins ou de thérapies géniques ; tandis que les « biotechnologies vertes » sont celles qui ont trait aux applications agricoles et écologiques avec la création de plantes génétiquement modifiées moins gourmandes en eau et en engrais.

De leur côté, les industriels ont développé leurs propres codes couleur. Les biotechnologies sont ainsi dites « blanches » lorsqu'elles concernent la production de biocarburant, « oranges » si elles ont une visée purement pédagogique, « bleues » si elles sont focalisées sur l'utilisation de matériaux vivants maritimes, et « jaunes » pour tout ce qui concerne les traitements antipollution. Néanmoins, les start-up préfèrent souvent employer des jargons anglophones, comme « agrifood biotech ».

d- Quelle prévention des risques biotechnologiques ?

Bien que très prometteuse en termes de progrès médical, agricole et environnemental, la biotechnologie comporte en soi des risques inhérents qu'il s'agisse d'une menace biologique (exposition involontaire ou délibérée à des agents infectieux), d'une contamination biotechnologique (dissémination d'organismes génétiquement modifiés dans le milieu naturel) ou encore d'effets secondaires non anticipés.

Pour réduire les risques liés au développement des biotechnologies, la CNCDH (Commission nationale consultative des droits de l'Homme) a proposé dès la fin des années 1980 de grands principes éthiques qui ont servi de base aux réglementations nationales et internationales. Toute recherche ou application d'ordre commercial dans les biotechs doit par conséquent inclure une étude des risques physiques, chimiques et toxicologiques, et être accompagnée de solutions pour prévenir et gérer ces risques le cas échéant.

I-2 Biotechnologies végétales :

Comme son nom l'indique, résulte d'un mariage entre la science des êtres vivants : la biologie et un ensemble de techniques nouvelles de laboratoire. De nombreux chercheurs considèrent la biotechnologie végétale comme le perfectionnement des techniques d'amélioration génétique qui ont commencé il y a des millions d'années avec la culture de plantes sauvages pour la consommation humaine. La biotechnologie végétale est un domaine précis dans lequel des techniques scientifiques servent à mettre au point de nouvelles variétés de plante. Elles s'appliquent sur des organes, des tissus, des cellules ou sur de l'ADN des végétaux dont le but est d'augmenter la productivité de l'agriculture et la fabrication de nouveaux produits par les plantes, comme par exemple des molécules thérapeutiques ou des sources renouvelables d'énergie. L'ingénierie génétique végétale peut entre autres procurer aux plantes des propriétés de résistance à la sécheresse, aux pesticides, aux herbicides ou à des insectes. Les organismes génétiquement modifiés (OGM) sont devenus le point de mire d'un débat social, politique et scientifique qui entraîne de nombreuses interrogations, avec leur résistance accrue aux maladies et aux stress environnementaux. Les biotechnologies végétales reposent principalement sur les cultures in vitro (culture dans verre. C'est un mode de multiplication végétative artificielle des plantes. Il s'agit un ensemble de méthodes faisant intervenir d'une part l'asepsie (stérilisation du matériel, désinfection des explants), et d'autre part des conditions de culture parfaitement contrôlées (milieux de culture définis pour chaque type de plante, température, lumière, humidité,...). Le but de cette culture in vitro est de permettre la régénération de la plante entière autonome et fertile à partir de la propriété des cellules végétales : la totipotence. (-potens : pouvoir, toti- : tout): elles ont la possibilité de revenir à un état embryonnaire, et de se redifférencier en toute cellule spécialisée qui serait nécessaire pour former une nouvelle plante. Ses applications sont nombreuses aujourd'hui tant dans le domaine de l'horticulture que dans celui de la recherche (notamment en amélioration des plantes et la création variétale), ou encore pour conserver la diversité variétale (Conservatoires) ou sauvegarder des espèces menacées. Parmi les applications de la culture in vitro de tissus et de cellules connues actuellement nous citons : • Multiplication végétative ou micro propagation, Ex: culture de méristèmes d'orchidées (très dures à bouturer). • Application industrielle, permet la multiplication clonale (à l'identique) d'un génotype sélectionné. Utilisé sur plus de 1000 espèces • Etude de l'embryogenèse somatique, embryon issu de cellule somatique • Guérison des plantes par culture de méristèmes • Éradication des virus qui ne se propagent pas dans les méristèmes apicaux et racinaires •

Micro-bouturage : par simple enracinement sur milieu de culture, augmente la rapidité et la fiabilité du processus de croissance • Production d'hybrides interspécifiques : cellules débarrassées de leur paroi par traitement enzymatique (cellulases), peuvent se diviser (suivant les conditions) et régénérer des plantes entières. A l'aide de cations, les protoplastes fusionnent pour donner un hybride interspécifique. • Obtention d'haploïdes : les individus haploïdes (possédant un seul jeu de chromosomes) permettent de produire rapidement, par doublement chromosomique, des individus totalement homozygotes. • Production de métabolites secondaires (B. Z.).

Les biotechnologies peuvent intervenir à plusieurs niveaux dans la plante:

a- AU NIVEAU CELLULAIRE : par l'utilisation des techniques d'hybridation somatique, d'haplodiploïdisation, multiplication in vitro etc... (*certaines de ces techniques seront traitées ultérieurement*)

- *L'utilisation des biotechnologies cellulaires est étroitement liée aux propriétés de la cellule végétale qui sont:*
 - **La plasticité des cellules végétales** (adaptation rapide aux variations de l'environnement).
 - **La totipotence des cellules** (aptitude à la dédifférenciation) qui permet aux cellules végétales prélevées sur un organe quelconque d'une plante et mise en culture in vitro de régénérer un individu complet et identique à la plante mère.

b- AU NIVEAU MOLECULAIRE : par la création d'une carte génétique, l'identification des gènes d'intérêts par le biais de sondes moléculaires.

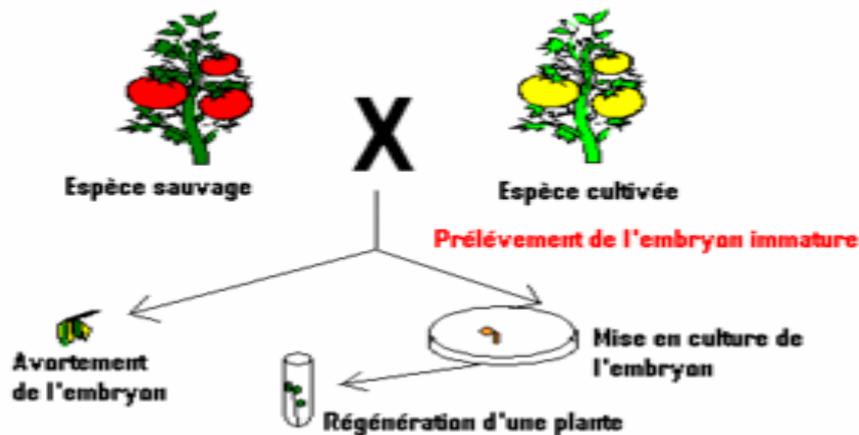
c- HYBRIDATION DES PLANTES : par l'outil des biotechnologies appelé également la transgènèse.

I-2-1 Les biotechnologies cellulaires

Les biotechnologies cellulaires permettent d'exploiter la diversité génétique existante de l'espèce et entre les espèces et d'introduire cette diversité par mutagénèse; la technique de sauvetage d'embryon interspécifique; la fusion de protoplastes et la variation somaclonale.

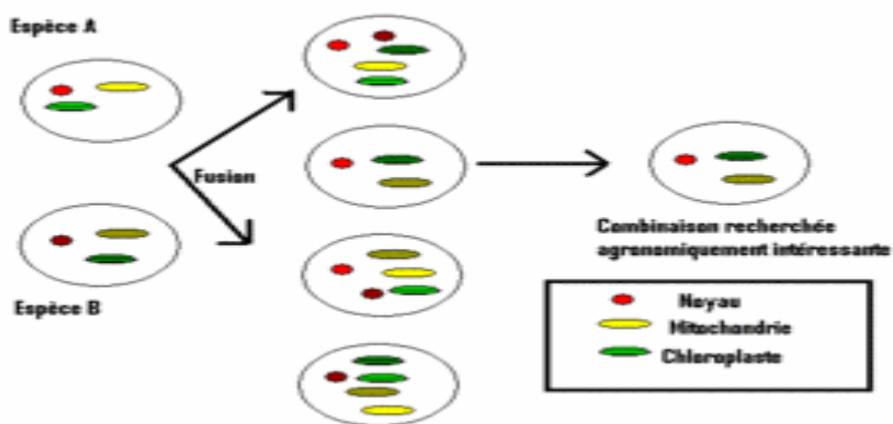
a- Principe de la technique du Sauvetage d'embryon interspécifique

Si on croise une espèce sauvage de tomate avec une espèce cultivée de tomate, l'embryon issu de cette fécondation va avorter à cause de l'absence d'appariement des chromosomes lors de la prophase I de la méiose (synapsis). Pour éviter cette avortement, l'embryon immature sera prélevé et mise en culture dans une boîte de pétri afin d'assurer la régénération d'un nouvel individu possédant les caractéristiques des 2 espèces.



b- Principe de la technique d'hybridation somatique:

L'hybridation somatique consiste à fusionner des **protoplastes de cellules** (cellules végétales dont la paroi a été hydrolysée) d'espèces apparentées afin d'obtenir des plantes génétiquement transformée possédant de nouveaux caractères agronomiques.



En théorie, la fusion permet d'obtenir toutes les combinaisons. Dans la réalité, de nombreuses régulations ont lieu au moment de la première mitose, rendant impossibles certaines combinaisons. De plus, ce n'est pas parce qu'il y a fusion qu'il y a addition des

noyaux et des cytoplasmes. Il se produit des éliminations de matériel, dont les mécanismes sont inconnus.

Avec l'hybridation sexuée, entre deux espèces végétales voisines, deux compartiments génétiques ne seront pas exprimés dans l'hybride : les plastes et les mitochondries, qui sont hérités par la mère. Avec l'hybridation somatique, en fusionnant deux protoplastes d'espèces différentes, plus ou moins proches, les deux cytoplasmes peuvent s'exprimer dans la cellule obtenue, c'est-à-dire confronter les génomes chloroplastiques et mitochondriaux. Une variation génétique inaccessible par les voies classiques est alors disponible. Or de nombreuses résistances (comme la résistance aux herbicides) sont d'origine chloroplastique ou mitochondriale, donc difficilement transférables par les voies classiques. A l'aide de l'hybridation somatique, des résistances contenues dans les espèces sauvages ont pu être introduites dans une souche cultivée.

c- Principe de la technique d'haplodiploïdisation

L'haplodiploïdisation consiste à obtenir des plantes à partir des gamètes mâles (microspores) ou des gamètes femelles (sac embryonnaire). La technique utilisant les gamètes mâles porte le nom **d'androgenèse**, celle utilisant les gamètes femelle porte le nom de **gynogenèse**.

Après extraction des microspores polliniques, ceux-ci sont placés en culture in vitro afin de favoriser la multiplication cellulaire et la différenciation de celle-ci. La plante obtenue est haploïde c'est à dire qu'elle possède qu'un seul exemplaire de chromosome. Il faut alors procéder à la duplication du nombre de chromosomes par l'utilisation de colchicine (alcaloïde très toxique). A l'issue de ces différentes étapes, on obtient une lignées pures.

Cette technique à un grand avantage pour les selectionneurs. Elle permet de fixer les caractères d'une espèce durablement et de manière très rapide. Si on compare le temps qu'il faut entre le moment où l'on réalise le premier croisement de départ et la 2ième année d'inscription, il faudra 9 à 10 ans pour créer une variété par le cycle de sélection classique et 6 à 7 ans par le cycle de sélection avec haplodiploïdisation. Il n'est pas nécessaire de procéder à des cycles d'autofécondations répétitifs comme dans la sélection généalogique.

I-2-2 Les biotechnologies moléculaires

Les sociétés semencières se dirigent vers cette technique, afin d'étudier le polymorphisme des espèces végétales. Cette technique fait appel à des marqueurs moléculaires. Elle a pour avantage de distinguer deux individus très proches dont l'étude phénotypique classique ne le permet pas. Le polymorphisme est identifié sur la base de mutations neutres au niveau des séquences nucléotidiques ou de séquences spécifiques d'individus phénotypiquement identique.

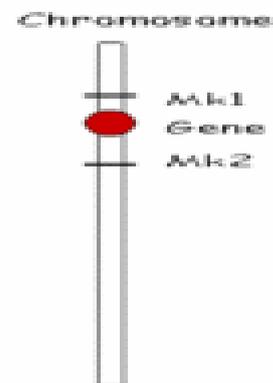
a- Les marqueurs moléculaire peuvent être de 2 types

a1- Marqueurs biochimiques : ils correspondent à des formes différentes d'une même protéines (allèles/isozymes).

a2- Marqueurs moléculaires : Ils correspondent à des régions du génome où les séquences d'ADN sont polymorphes. Ces séquences peuvent correspondre à des séquences codantes (régions transcrites en ARN et traduites en protéines) ou non codantes (régions régulatrices de la transcription).

Qu'est ce qu'un marqueur moléculaire?

- Un marqueur moléculaire (locus) est un petit morceau d'ADN avec une position bien définie dans le génome, montrant du polymorphisme entre différents individus d'une même espèce (allèles)
- Le marqueur peut correspondre à une séquence codante (cDNA) mais pas nécessairement.
- Utilisation des marqueurs basée sur le déséquilibre de liaison: en manipulant les marqueurs, on cherche en fait à manipuler le gène qui y est lié.
- Situation la plus favorable: quand le marqueur est sur le gène



b- Quelques précautions sont à prendre dans le choix des marqueurs moléculaires:

ils doivent être **pluri-alléliques** c'est à dire qu'ils possèdent de nombreux allèles permettant de caractériser différents individus. Ces allèles ne doivent **pas avoir d'effet phénotypique**. Les **marqueurs doivent être codominants** permettant ainsi de distinguer des individus

hétérozygotes de ceux qui sont homozygotes car ils présentent simultanément les caractères des deux parents. Ils doivent être également indépendants des conditions de culture.

<https://youtu.be/BH6dq57kNNU> (lien utile pour introduire les biotechnologies vertes) **A CONSULTER OBLIGATOIREMENT.**