

**Université Mostapha BenBoulaid Batna 2  
Faculté des Sciences de la nature et de la vie  
Département d'Ecologie et Environnement**

**Master I  
Biotechnologie Végétale**

**Cours de Physiologie Cellulaire et  
Moléculaire Végétale**

**ENSEIGNANTE : Dr. SALMI M**

*Année universitaire 2020/2021*

## Partie I : Aspect cellulaire et moléculaire de la différenciation végétale

### I- Rappel

#### 1- Les tissus végétaux

Dans les organes des végétaux supérieurs, les cellules ayant même organisation et même fonctions, sont groupées en ensembles appelés tissu. Chez les végétaux vasculaires, on distingue les tissus suivants :

- Les parenchymes
  - Les tissus protecteurs
  - Les tissus conducteurs
  - Les tissus de soutien
  - Les tissus sécréteurs
- } Sont des tissus principaux car ils sont présents dans les organes de tous les végétaux

#### 1-1- Les parenchymes

Ces tissus tiennent une place importante dans les organes végétaux (feuilles, tiges vertes, jeunes racines), et ils remplissent des fonctions fondamentales (photosynthèse, accumulations des réserves...)

Les parenchymes sont formés de cellules allongées dont les vacuoles sont bien développées mais dont la paroi cellulaire est assez mince, On classe les tissus parenchymateux d'après leurs fonctions en :

- Parenchyme chlorophyllien
- Parenchyme de réserve
- Parenchymes aquifère
- Parenchyme lacuneux
- Parenchyme aérifère

#### 1-2- Les tissus protecteurs

Les tissus parenchymateux seraient rapidement tués par une déshydratation importante s'ils n'étaient pas séparés du milieu extérieur, relativement sec, par des tissus imperméables

\*les tissus protecteurs\*

-Les épidermes

-Le liège ou suber

### 1-3- Les tissus conducteurs

Ce sont des tissus assurant la circulation des sèves au sein du corps végétal.

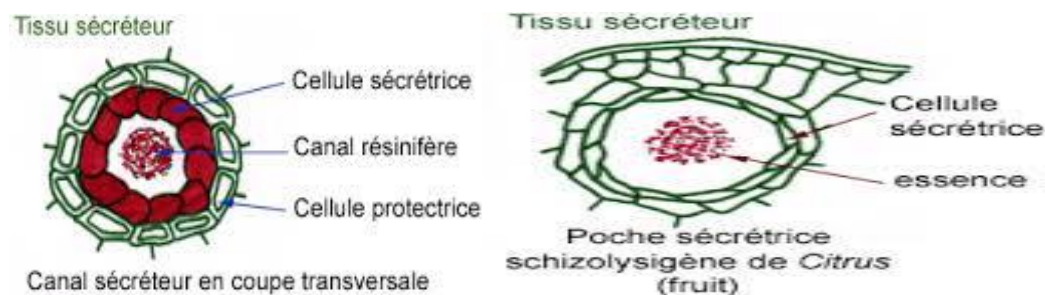
✚ Le xylème : Assurant essentiellement la conduction de la sève brute

✚ Le phloème : Assurant essentiellement la conduction de la sève élaborée

Ces tissus se trouvent dans les tiges et les racines

### 1-4- Les tissus sécréteurs

Ce sont des tissus spécialisés dans la synthèse et l'accumulation de certaines substances (essences, résines, latex.....)



### 1-5- Les tissus de soutien

Ces tissus assurent la rigidité et la solidité des organes qui les contiennent (organes aériens essentiellement), C'est une modification de la paroi cellulaire qui confère aux cellules des tissus de soutien leurs propriétés.

## II- Les méristèmes

Les tissus adultes, ou différenciés étudiés précédemment sont construits à partir de cellules formées par des tissus végétaux indifférenciés appelés méristèmes, dont les cellules se multiplient activement. On distingue deux sortes de méristèmes (les méristèmes primaires et les méristèmes secondaires ou cambiums), différente l'un de l'autre par :

- Leur localisation dans la plante
- Leurs caractères cytologiques

- Leur rôle dans la construction des organes et des tissus

## 1- Les méristèmes primaires

A l'apex (l'extrémité d'une tige ou d'une racine), apparaissent les nouveaux organes grâce au fonctionnement des méristèmes, ce sont les méristèmes apicaux caulinaire situés sur la région apicale des tiges et les méristèmes apicaux racinaires localisés sur l'extrémité de la racine. Ils sont présents chez toutes les plantes, mais fonctionnent d'une manière différente. Ils assurent la croissance en longueur de toutes les plantes.

Les botanistes ont proposé deux modèles d'organisation du méristème apical caulinaire afin d'en expliquer le fonctionnement : le modèle zoné et le modèle en assises cellulaires.

Le modèle zoné décrit le méristème apical caulinaire comme un dôme divisé en trois régions : la zone centrale des cellules mères, la zone périphérique et le méristème médullaire. La zone centrale des cellules mères contient des cellules qui se divisent rarement et donnent naissance aux cellules de la zone périphérique et du méristème médullaire. La zone périphérique forme un anneau entourant la zone centrale. Elle est constituée de cellules qui se divisent rapidement pour donner naissance aux primordiums foliaires et à une partie de la tige. Sous les zones centrale et périphérique se trouve le méristème médullaire qui produit la moelle.

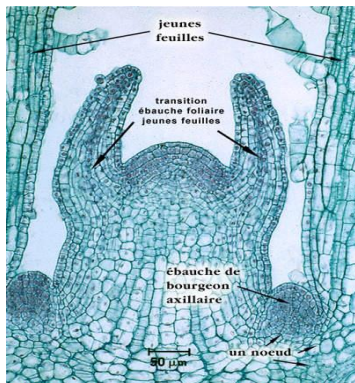
Dans le modèle en assises, ou modèle tunica-carpus, le méristème apical caulinaire est formé de trois assises cellulaires, L1, L2 et L3, dans lesquelles les cellules se divisent fréquemment. L'assise L1 sera à l'origine du protoderme puis de l'épiderme des feuilles, la L2 donnera le tissu chlorophyllien et la L3 sera à l'origine du procambium des feuilles et du méristème fondamental. (c) Les cellules de l'assise L1 ne subissent que des divisions anticlines (plan de division perpendiculaire à la surface du méristème) tandis que celles de l'assise L3 et du corpus se divisent de façon anticline et péricline (plan de division parallèle à la surface du méristème).

### ✓ Cellules méristématiques :

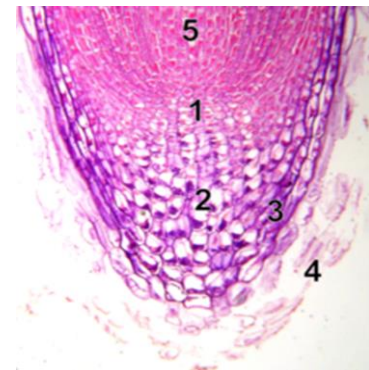
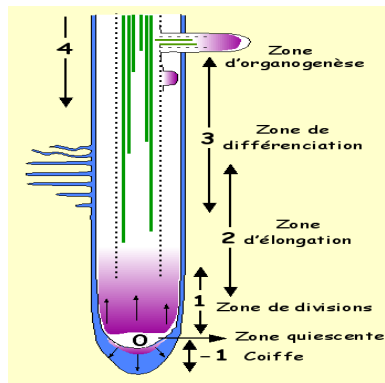
Les cellules des méristèmes primaires sont des cellules indifférenciées, à activité mitotique importante responsables de la croissance indéfinie de la plante, Elles se localisent sur l'extrémité des tiges et des racines elles sont petites, isodiamétriques, le noyau est sphérique, volumineux, les vacuoles sont nombreuses et très petites et des plastes non différenciés, proplastides, les mitochondries sont nombreuses. Le noyau occupe une part importante du volume

cellulaire de sorte que le rapport nucléoplasmique est plus grand dans les cellules méristématiques que dans les cellules différenciées. Certaines cellules méristématiques restent dans les limites du méristème jusqu'à leur mort. On leur donne le nom **d'initiales**.

Généralement, une initiale ne se différencie jamais. Sa seule fonction est de produire des cellules-filles à un rythme plus ou moins soutenu, à des intervalles de temps plus ou moins longs.



**Le méristème caulinaire**



**Le méristème racinaire**

## 2-Le méristème secondaire

C'est une zone génératrice apparaissant plus tard à maturité de la plante. Les cellules permettent une croissance en épaisseur autour de la tige et des racines des Angiospermes Dicotylédones, les Angiospermes Monocotylédones n'en possèdent pas.

**Tableau 1 : Caractéristiques des méristèmes secondaires**

<b>Localisation</b>	Dans les parties âgées des tiges et des racines
<b>Rôle</b>	Assurent la croissance en épaisseur
<b>Cellules</b>	Grandes, allongées et aplaties
<b>Noyau</b>	Fusifforme, petit, appliqué contre la paroi
<b>Cytoplasme</b>	Peu important

<b>Vacuoles</b>	Une ou deux grandes vacuoles
<b>paroi</b>	Paroi pecto-cellulosique
<b>Plastes</b>	Non différencies, proplastés
<b>Inclusions lipidiques</b>	Peu nombreuses

### 3- Différenciation de la cellule méristématique :

Les cellules issues de la prolifération des cellules méristématiques se transforment en tissus adultes, Au cours de cette transformation appelée différenciation, les cellules acquièrent une forme, une structure et une physiologie caractéristique de chaque sorte de tissu.

#### Comment se produit la différenciation cellulaire ?

En effet, toutes les cellules ont le même patrimoine génétique, et pourtant elles ne contiennent pas toutes les mêmes protéines et n'ont donc pas toutes le même comportement métabolique. On dit qu'elles se sont différenciées en cellules épidermique, parenchymateuses, etc. Lors de cette différenciation, certains gènes cessent de pouvoir être transcrits : ils se "verrouillent" sous l'effet de réaction chimiques (comme la méthylation) ou de la présence de certaines protéines (comme les histones). Finalement dans les cellules de chaque tissu, seuls les gènes codant les protéines utiles dans ce tissu restent non verrouillés et continuent à pouvoir s'exprimer. Encore arrive-t-il que des gènes non verrouillés ne s'expriment effectivement qu'en présence de certaines substances spécifiques (dites activateurs) ou en absence de certaines autres substances (dites répresseurs).

#### 3-1- Différenciation d'un parenchyme chlorophyllien

- Les cellules indifférenciées s'allongent beaucoup tandis que leurs vacuoles augmentent considérablement de taille et fusionnent pour constituer la grande vacuole de la cellule adulte.
- Pendant ce temps, les proplastés évoluent en chloroplastes
- Au cours du grandissement de la cellule, la paroi cellulaire, qui dans les cellules méristématiques est une paroi primaire, s'allonge et s'épaissit

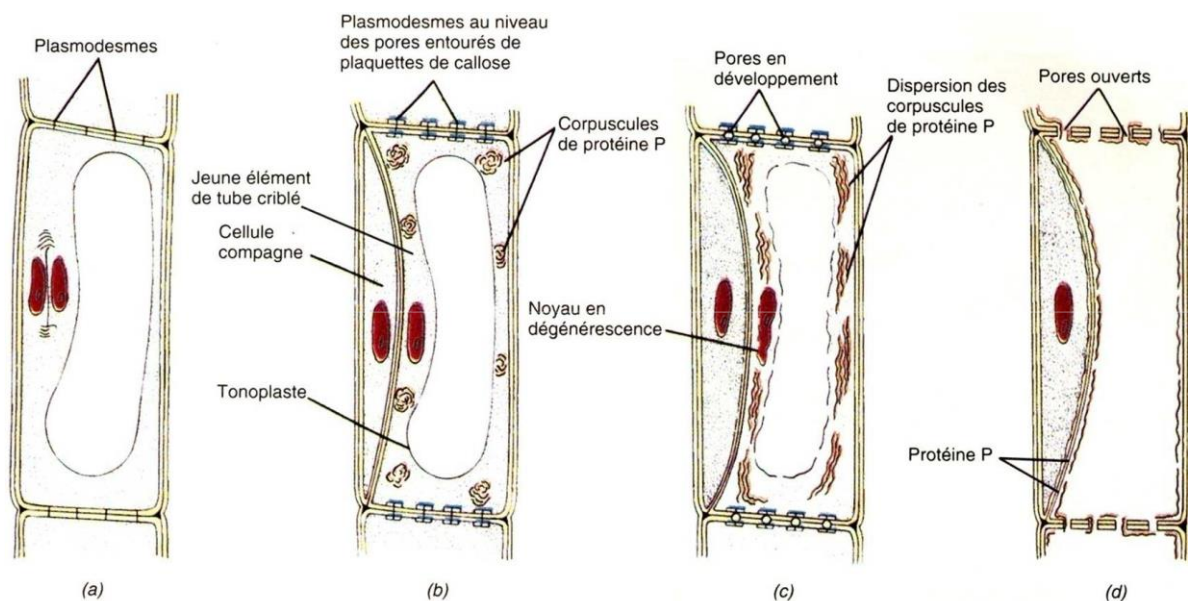
### 3-2 - Différenciation des éléments conducteurs

La première étape de la différenciation des éléments conducteurs est la même pour le phloème et le xylème. Sur une coupe longitudinale pratiquée dans un bourgeon, on observe sous le méristème apical, des files de cellules plus allongées et plus étroites que les cellules voisines. Ces cellules forment le tissu proconducteur,

#### 3-2-1- Différenciation d'un tube criblé

Un tube criblé résulte de la différenciation d'une file de cellules du tissu proconducteur, Chaque cellule subit une division longitudinale donnant naissance à deux cellules situées au même niveau ; l'une d'elles fournira la cellule criblée, l'autre la cellule compagne.

La cellule qui se différencie en cellule criblée s'allonge ; ces vacuoles, en se développant, fusionnent en une grande vacuole centrale tandis que les parois cellulaires latérales s'épaississent. Le noyau dégénère puis disparaît, le tonoplaste qui limite la vacuole disparaît également et le cytoplasme se dilue dans le contenu de l'ancienne vacuole. Au cours de cette transformation, les parois transversales se percent de pores et forment des cribles.

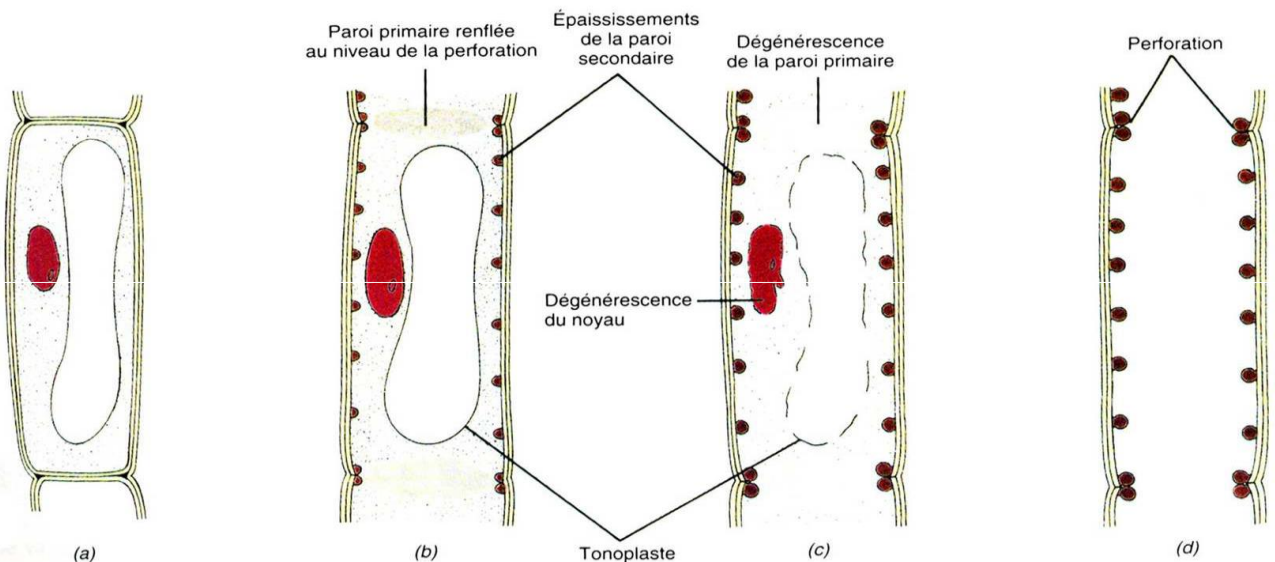


#### 3-2-2- Différenciation d'un vaisseau ligneux

Un vaisseau ligneux provient, lui aussi, d'une file de cellules du tissu proconducteur, Ces cellules s'allongent puis, lorsque la croissance cellulaire est achevée, leur cytoplasme élabore contre la paroi primaire et vers l'intérieur de la cellule, des dépôts secondaires de lignine.

C'est tout d'abord, le noyau qui disparaît, puis le tonoplaste. Dans le cytoplasme qui est dilué dans le contenu de la vacuole, les divers organites cellulaires, plastes, mitochondries... Dégénèrent à leur tour.

Les parois transversales sont résorbées faisant largement communiquer entre elles tous les éléments d'un même vaisseau, éléments qui finalement sont vides de tout cytoplasme.



#### 4- L'importance des méristèmes en biotechnologies

Le méristème est un tissu important en biotechnologie. Ce sont des structures indemnes de virus, dont la culture in vitro permet d'obtenir des plantes saines...

À quoi ça sert ?

La culture de méristèmes a permis, dans les années 50, de guérir des plantes virosées, en particulier chez les plantes qui sont multipliées végétativement : pomme de terre, fraisier, tulipe, etc. (Dans le cas de la pomme de terre, les maladies à virus ont entraîné en 1956 la perte de 15 % de la production mondiale, soit 30 millions de tonnes). Cette découverte expérimentale a eu un retentissement considérable et est appliquée aujourd'hui dans le monde entier. En particulier dans les zones tropicales particulièrement sensibles aux épidémies, la culture de méristèmes est la seule technique qui permet de maintenir des productions saines de canne à sucre ou de bananier.

Cette découverte fut pressentie au début des années 1950 par deux chercheurs de l'Inra (P. Limasset et P. Cornuet) et confirmée par les travaux de deux autres chercheurs de l'Inra (G. Morel et C. Martin) qui aboutirent, après trois années de travail, à la régénération d'une plante saine (un dahlia) à partir de méristèmes d'une plante contaminée par trois virus.



## 5- La totipotence des cellules végétales

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 : les cellules peuvent redevenir des cellules simples, non spécialisées et se différencier ensuite pour donner à nouveau les différents types de cellules spécialisées.

### a- Conditions de dédifférenciation :

- Rompre les corrélations physiques et physiologiques avec les cellules voisines
- Culture en milieu artificiel
- Addition d'activateurs de croissance

### b- Pourquoi les cellules végétales sont-elles totipotentes ? Arguments classiques

- Petit nombre de types cellulaires
- Seulement 3 ou 4 types d'organes fondamentaux (racine, tige, feuilles) dont les fleurs, vrilles, épines, fruits et tubercules sont des dérivés
- Grande plasticité génomique

### c- Limites de la totipotence :

- Différenciation irréversible : xylème
- Pour beaucoup d'espèces d'intérêt agronomique, les protoplastes ne sont pas totipotents (récalcitrants) ex : *Vitis vinifera*.
- Variation somaclonale

## Partie II : Les phytohormones

Aujourd'hui, on sait que la coordination fonctionnelle entre organes est contrôlée par les hormones. Or on distingue les hormones par défaut liées aux animaux. On devrait donc les appeler phytohormones.

### 1- Définition

Les hormones végétales, encore appelées phytohormones, sont des substances organiques naturelles qui influencent l'ensemble des processus physiologiques de croissance, de différenciation et de développement des plantes et leur confèrent leur capacité d'adaptation aux variations de conditions de l'environnement.

Les phytohormones contrôlent et coordonnent aussi bien l'apparition que la croissance et la différenciation des organes nouvellement formés. Les deux réponses cellulaires responsables de la croissance sont :

- la division cellulaire qui génère de nouvelles cellules et survient le plus souvent dans des méristèmes
- l'expansion cellulaire, ou élongation, qui permet l'agrandissement des cellules donc des organes. Ces deux réponses sont très étroitement contrôlées par l'action combinée de plusieurs phytohormones dites de croissance dont l'auxine, les cytokinines, les gibbérellines et les brassinostéroïdes. D'autres phytohormones comme l'acide abscissique, l'acide jasmonique, l'éthylène ou encore l'acide salicylique sont plus souvent classées comme phytohormones de stress au regard de leurs actions dans les réponses aux contraintes biotiques ou abiotiques. Ces hormones peuvent néanmoins être impliquées dans le contrôle d'étapes essentielles de développement comme la maturation des fruits pour l'éthylène ou le développement du pollen pour le jasmonate.

## **2- Caractéristiques d'une phytohormone**

Pour être une phytohormone, une substance doit être :

- ❖ Vectrice d'une information (apportée à une cellule cible sélectivement sensible à son action et dont elle influence le fonctionnement).
- ❖ Endogène (c'est-à-dire non fournie par l'environnement).
- ❖ Oligodynamique : (c'est-à-dire agir à faible dose, de l'ordre de la micromole).

## **3- Notions de dose-réponse et de sensibilité tissulaire**

Les phytohormones sont des substances actives agissant à faibles concentrations. Des concentrations excessives en hormones provoquent des effets sévères voire délétères. Des ajustements constants de concentrations sont nécessaires pour le maintien de conditions favorables de vie.

Une phytohormone peut avoir des effets distincts voire opposés sur une même réponse en fonction de la concentration. Par exemple, la réponse à l'auxine est en fonction de la concentration, avec un optimum de réponse pour une concentration  $x$ , une réponse moindre pour les concentrations inférieures dites infra-optimales de même que pour les concentrations supérieures ou supra optimales où l'excès d'hormone devient inhibiteur.

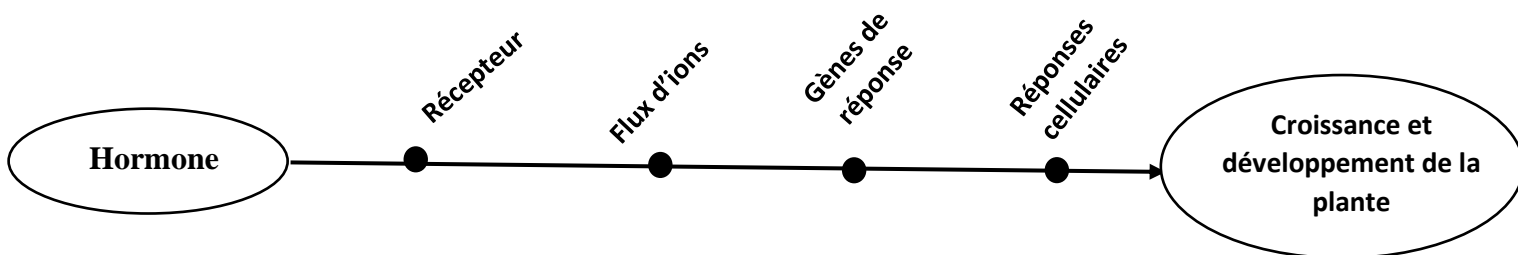
La concentration optimale varie en fonction des réponses et en fonction des tissus.

Par exemple, la concentration optimale d'auxine stimulant l'élongation cellulaire dans les tissus aériens (tige, feuille) est très largement inhibitrice de l'élongation cellulaire dans la racine. Dans un même tissu, la concentration optimale d'auxine pour stimuler l'élongation est environ 10 fois plus faible que celle qui stimule l'entrée en division des cellules.

#### 4-Comment les hormones agissent-elles ?

Le message hormonal est assimilé à un signal qui doit être reconnu, lu, interprété et traduit par les cellules pour aboutir à une réponse cellulaire observable à l'échelle d'une cellule, d'un tissu, d'un organe ou de la plante entière.

La perception du signal : implique l'existence d'une réaction de l'hormone avec un site récepteur. Les hormones végétales peuvent diffuser de cellule à cellule par l'intermédiaire des plasmodesmes. La cellule qui doit répondre à l'hormone appelée **cellule cible**, doit être capable de détecter la présence de la molécule d'hormone. Cette détection est effectuée par des interactions entre l'hormone et un récepteur cellulaire qui est à la fois spécifique de l'hormone et caractéristique de la cellule cible. Les récepteurs sont des glycoprotéines qui se lient de façon réversible à l'hormone. La liaison à l'hormone provoque la formation d'un complexe **hormone-récepteur actif**, ce qui engendre une cascade d'évènements (on parle de voie de signalisation ou d'une cascade de transduction), et se traduit le plus souvent par une modification de l'expression de différents gènes, gènes codant des protéines qui selon leur fonction vont à leur tour agir sur d'autres cibles, et ainsi de suite pour aboutir à une ou plusieurs réponses cellulaires coordonnées.



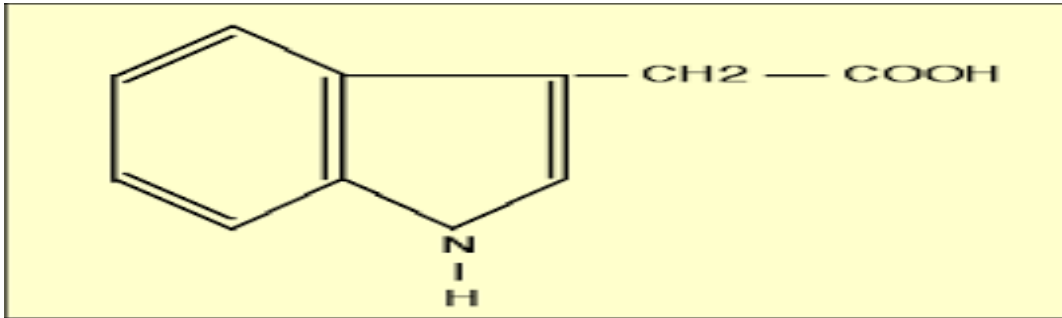
#### 5- Les principales phytohormones

Les principales phytohormones sont : les auxines, les gibbérellines, les cytokinines, l'acide abscissique, l'éthylène, les jasmonates.

##### 5-1- Auxine

##### 5-1-1- Biosynthèse de l'auxine

Il s'agit d'une petite molécule acide, soluble dans la phase aqueuse de la plante (partie hydrophile). Elle est dérivée de l'acide aminé tryptophane. C'est en réalité une famille dont le plus grand représentant est l'Acide indole acétique IAA ou IAA. Les voies de biosynthèse de l'IAA sont longues, mais la voie majeure se résume globalement à une décarboxylation et une désamination. Elle part donc du Tryptophane, arrive à l'IAA, passant par l'évacuation d'un azote et d'un carbone. Nécessite du Tryptophane et une bonne aération ce qui prouve que c'est une oxydation.



### 5-1-2- Transport

L'AIA est transporté de cellule à cellule par des transporteurs d'influx et d'efflux ce qui permet un transport polarisé. C'est la seule phytohormone pour laquelle un transport actif a été clairement démontré. Le phloème contribue aussi au transport de l'auxine des feuilles vers les racines.

### 5-1-3- Propriétés physiologiques

En règle générale, les auxines favorisent l'accroissement des racines alors que les cytokinines favorisent la croissance des tiges et des bourgeons.

- ✓ Jouer un rôle sur la croissance apicale (forte concentration d'IAA dans les méristèmes apicaux au détriment des méristèmes auxiliaires). Si l'on étête un arbre, les bourgeons auxiliaires repartent, Elle inhibe les bourgeons qu'elle rencontre. (Dominance apicale).
- ✓ Induire une rhizogènese, formation de racine si on inhibe la formation de la tige (par trop hautes concentrations d'auxines).
- ✓ Stimuler la croissance des fruits charnus: la manipulation de l'auxine pourra par exemple permettre l'obtention de grosses pommes ou de fruits sans pépins.

### 5-1-4- Le lieu de biosynthèse

La synthèse se déroule au niveau des méristèmes, des bourgeons terminaux racinaires et caulinaires, des jeunes feuilles ainsi dans les embryons des graines en germination où elles

semblent s'activer par imbibition. La synthèse a lieu en trois étapes dans trois compartiments cellulaires, on a une coopération entre les organites au sein de la cellule : les proplastides (=jeunes plastides), le réticulum et le cytosol.

## **5-2- Les gibbérellines**

### **5-2-1- La nature chimique des gibbérellines**

Les gibbérellines sont nommées Ga suivi d'un chiffre (de 1 à 130). On connaît plusieurs dizaines de gibbérellines différentes, réparties dans tout le règne végétal, et notées de GA1 à GAn (GA = acide gibbérellique). Certaines plantes ne présentent qu'une seule gibbérelline ex. blé, citrus GA1, canne à sucre GA5, alors que d'autres en présentent plusieurs à la fois. Leurs structures ne diffèrent que par des détails. La plus répandue et qui est commercialisée, est GA3.

### **5-2-2- Propriétés physiologiques des gibbérellines**

#### **✚ Sur la croissance des plantes**

Les gibbérellines permettent un allongement des entre-nœuds. Donc elle va jouer un rôle sur la régulation de la taille des plantes.

Pour expliquer l'influence des gibbérellines sur la croissance, plusieurs hypothèses ont été proposées :

- stimulation de la synthèse des protéases ce qui entraîne une augmentation de la teneur en acides aminés (en particulier le tryptophane, substance mère de l'AIA) ;
- stimulation de la synthèse d'enzymes hydrolytiques telles que les cellulases dont l'action pourrait provoquer une augmentation de la plasticité de la membrane ;

#### **✚ Sur la germination**

Les gibbérellines activent la transcription et la traduction des gènes codant pour l'alpha-amylase qui digère l'amidon en glucose. Il existe donc une proportionnalité entre la quantité de gibbérellines et la quantité de glucose finale.

#### **✚ Sur le débourrement**

Le « débourrement » des bourgeons des plantes pérennes : une élévation de la teneur en gibbérellines au printemps, après action du froid de l'hiver, lève la dormance induite par une accumulation d'acide abscissique en automne.

## **Sur les fleurs**

Le traitement de fleurs non fertilisées par des gibbérellines permet d'obtenir des fruits parthénocarpiques de même volume que les fruits ordinaires ; cela est particulièrement net avec les tomates, les pommes et les pêches.

### **5-3- L'acide abscissique :**

#### **5-3-1- Nature**

L'acide abscissique est un composé en C15 qui a été trouvé pendant l'abscission des fruits et des feuilles de cotonnier et que WAREING en 1958 a nommé dormine. Cette substance a reçu le nom d'acide abscissique en 1965.

#### **5-3-2- Propriétés physiologiques**

L'acide abscissique intervient à différent niveau de la croissance et du développement. Il se classe dans la catégorie des inhibiteurs.

- Abscission : on a pu montrer que cette substance, joue un rôle dans l'initiation de la zone d'abscission.
- Dormance : elle bloque la croissance de la tige et des feuilles. Le passage au froid lève cette dormance. Elle Inhibe la germination des graines. On note une concentration importante d'ABA dans les fruits ce qui a pour rôle de régler la chute des fruits et d'empêcher la germination des graines à l'intérieur du fruit.
- Sénescence : l'ABA accélère le jaunissement des feuilles en dégradant les protéines et l'ARN. Stomates :
- l'ABA régule l'entrée d'eau en fermant les stomates, alors que les Cytokinines favorisent l'ouverture des stomates.
- Croissance : l'acide abscissique inhibe la croissance et contrarie l'effet des autres hormones.

### **5-4- Les cytokinines**

#### **5-4-1- La biosynthèse**

Les cytokines sont synthétisées dans l'apex racinaire, mais il y a des expériences qui démontrent qu'environ toutes les cellules sont capables d'en synthétiser si elles en ont besoin.

#### **5-4-3- Propriétés physiologiques**

✚ **Division cellulaire** : On note cependant des exigences différentes entre les végétaux en effet :

-l'addition de cytokinines entraîne la prolifération des cellules de la moelle de tige de tabac « in vitro ».

L'AIA et les cytokinines sont complémentaires et que les doses exigées dépendent fortement des quantités exogènes dans les plantes (action en synergie).

✚ **Différentiation cellulaire** : les cellules de moelle de tabac cultivées in vitro peuvent verdier grâce à l'addition de cytokinines.

✚ **Organogenèse** : rôle important dans la formation des bourgeons. Sur la moelle de tabac « in vitro » on note :

AIA + faible dose de cytokinines racines.

AIA + dose moyenne de cytokinines bourg.

AIA + très forte dose de cytokinines pas d'organogenèse.

Pour SKOOG il n'y a pas de substances spécifiques. C'est le rapport [AIA/CYTOKINIES] qui détermine l'organogenèse.

✚ **Levée de la dormance.**

## 5-5- L'éthylène

### 5-5-1- Nature

C'est un gaz simple  $C_2H_4$  qui peut avoir des effets hormonaux sur les végétaux. Synthétisé par presque tous les végétaux supérieurs à des taux très variable. On lui attribue un effet de mûrissement des fruits. Ex bananes, citron.

### 5-5-2- Propriétés physiologiques :

✚ **Dormance** : l'éthylène favorise la germination. On a constaté que les variétés dormantes produisent moins d'éthylène que les autres.

✚ **Croissance** : on a pu constater que l'éthylène empêche l'élongation des cellules ; favorise la ramification des racines ainsi que l'apparition des poils absorbants.

✚ **La Floraison** : l'éthylène favorise la floraison uniquement chez les broméliacées, ex. : de l'ananas, la dose la plus favorable est de 1000ppm [ un traitement de 12h][ à 100ppm on obtient 33% de floraison, alors qu'à 10ppm aucune floraison].

✚ **La sénescence** : on constate que ce gaz favorise le jaunissement des feuilles via une dégradation de la chlorophylle.

✚ **Maturation des fruits** : il favorise la maturation des fruits. On a constaté qu'au cours de ce phénomène une transformation de l'amidon en sucres solubles. Le mûrissement nécessite une transformation des composées pectiques en pectines solubles ce qui donne l'aspect mou des fruits. L'éthylène intervient aussi dans le changement de la couleur du fruit ainsi que dans la production de produits volatiles (parfum des fruits). Il intervient donc dans le phénomène de maturation des fruits dans sa globalité.

### **Partie III : La génomique**

#### **Définition de la génomique**

C'est une discipline de la biologie moderne. Le terme génomique regroupe les analyses qui consistent à localiser, isoler et séquencer les gènes, puis à étudier leur fonction. La génomique se divise en deux branches :

- **La génomique structurale** : Cette branche de la génomique regroupe toutes les analyses de la structure des génomes (Ici « structure » est entendu au sens « organisation des génomes ») ; Les méthodes concernées sont donc le séquençage des génomes, l'identification des gènes, des séquences régulatrices, des séquences répétées, etc.
- **La génomique fonctionnelle** : Une fois les génomes annotés, l'étape suivante sera la recherche de la fonction des séquences identifiées, donc elle vise à déterminer la fonction et l'expression des gènes séquencés en caractérisant le transcriptome et le protéome.

#### **1- Le génome**

Ensemble complet de matériel génétique (les gènes et les séquences non codantes) présent dans chaque cellule d'un organisme.

Dans chaque cellule, on trouve :

Un génome nucléaire, Un génome mitochondrial, Un génome plastidial.

##### **1-1- Génome nucléaire**

Comme dans les autres espèces, les génomes nucléaires des végétaux sont organisés en chromosomes, dont le nombre varie de 10 chez l'arabette à plus de 100 chez la canne à sucre.

##### **1-2- Chromosome**



Définie chez les eucaryotes, la dénomination de chromosome a été étendue au cours des dernières années à l'ensemble des structures porteuses d'information génétique.

### **-Morphologie du chromosome**

Lorsque la cellule ne se divise pas, le noyau apparaît comme un réseau de filaments enchevêtrés auquel Flemming (1879) a donné le nom de chromatine.

La structure des chromosomes est plus visible pendant certaines phases de division cellulaire lorsqu'ils sont fortement compactés (Métaphase). La stabilité de la taille et de la forme du chromosome de métaphase permet d'utiliser ce stade pour définir les caractéristiques chromosomiques de l'espèce. Chez les eucaryotes le chromosome est constitué de deux chromatides étroitement associées au niveau du centromère. La constriction centromérique est un repère qui permet de séparer le chromosome en deux régions principales : un bras court (par convention situé au-dessus du centromère) et un bras long (en-dessous du centromère). Les extrémités des bras chromosomiques sont des régions possédant une architecture particulière sur le plan moléculaire et sont appelées télomère.

Chaque chromosome peut être distingué de tous les autres par plusieurs critères morphologiques dont la taille ordre décroissant, la position de son centromère : Les chromosomes métacentriques, les chromosomes submétacentriques, les chromosomes acrocentriques.

### **-Structure des chromosomes**

L'ADN n'est pas nu dans le noyau mais associé à des protéines (dont les histones), La structure de base de la chromatine est le nucléosome, constitué d'un octamère d'histones (2xH2A, 2xH2B, 2xH3 et 2xH4) autour duquel s'enroule la molécule d'ADN (1,7 tour autour de chaque nucléosome, soit 146 paires de bases). Entre deux nucléosomes successifs, on trouve une portion d'ADN « linker » de 200 pb environ chez les organismes supérieurs.

La molécule d'ADN est liée aux histones par ses groupements Phosphate (environ une liaison tous les deux tours et demi d'hélice). Une cinquième histone, l'Histone H1, stabilise l'enroulement de l'ADN autour du nucléosome où elle joue le rôle de socle.

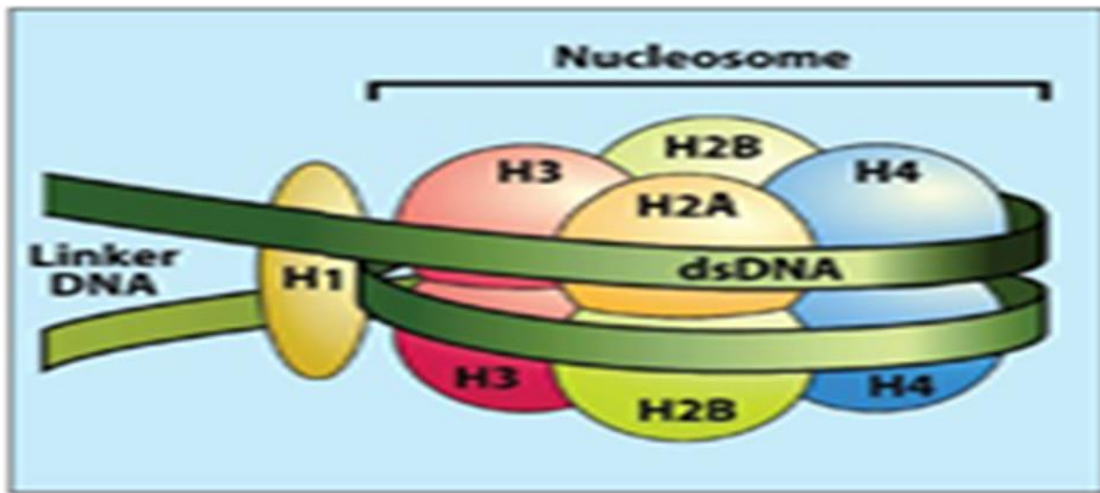
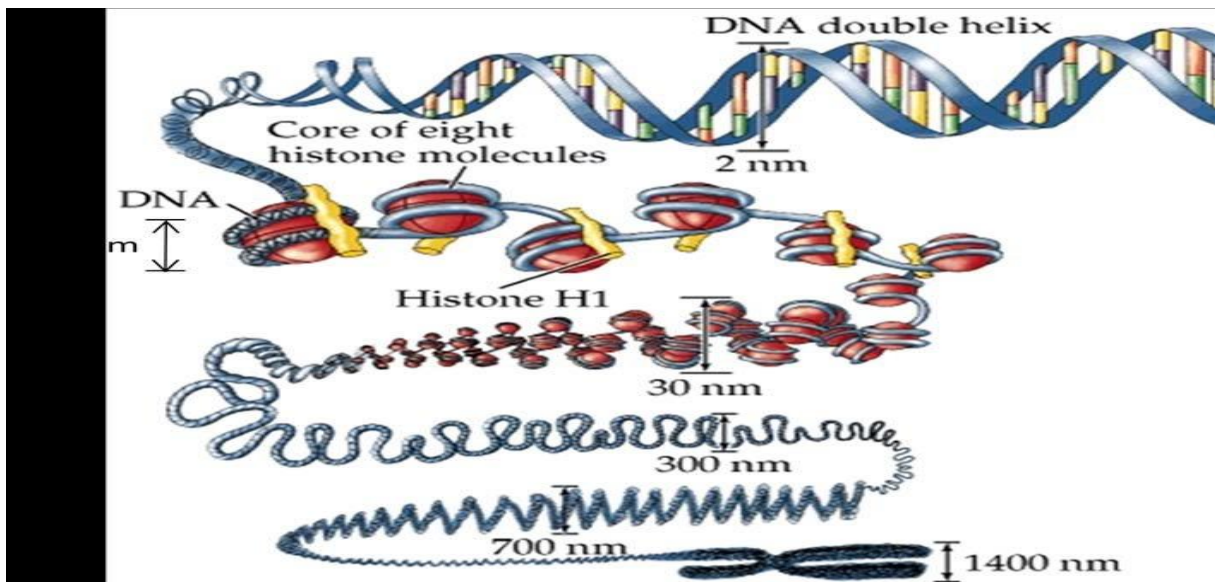


Figure 1. Structure of a nucleosome: dsDNA and histone proteins (H1, H2A, H2B, H3, H4).



### 1-3- Le gène

C'est l'unité d'information et il correspond à un segment d'ADN, codant la séquence des acides aminés d'une protéine. Les gènes ont des tailles variables : de moins de 100 paires de bases à plusieurs millions de paires de bases. Les gènes sont séparés par des régions non codantes (introns). Les régions de l'ADN qui codent pour des polypeptides sont appelées régions codantes. Chaque gène est porteur d'une information génétique, qui détermine un caractère héréditaire précis.

### -La nature chimique des gènes

En 1928, Fred Griffith découvre le phénomène de "transformation" : une coinjection chez une souris de pneumocoques non pathogènes (R) et de pneumocoques virulents (S) mais tués préalablement entraîne la mort de l'animal. Les pneumocoques non pathogènes sont ainsi



**Exemple :** Deux séquences nucléotidiques sont identiques à 76%. Cependant, quand les séquences sont traduites en acides aminés, l'identité décroît à 28%. Ces gènes, que l'on aurait pu penser être homologues, ne le sont donc pas.

#### **1-4- Organisation du génome nucléaire**

##### **1-4-1- Nombre d'exemplaires du génome par cellule :**

. Haploïdes : 1 exemplaire du génome par cellule. Les gamètes, unicellulaires (ex levure)

. Diploïdes : 2 exemplaires du génome par cellule, un hérité du père, un hérité de la mère.

Les 2 exemplaires sont très similaires, mais pas strictement identiques.

. Tétraploïdes, hexaploïdes .....: 4, 6, .....exemplaires du génome. Rare chez les animaux, plus fréquent chez les plantes. Ex : Blé dur, blé tendre.....

##### **1-4-2- La taille des génomes végétaux**

La taille du génome se mesure en nombre de nucléotides, ou bases. La plupart du temps, on parle de pb (pour paire de bases, puisque les génomes végétaux sont constitués de doubles brins d'ADN). On emploie souvent les multiples kb (pour kilobase) ou Mb (mégabase), qui valent respectivement 1 000 et 1 000 000 bases.

La taille du génome « haploïde », correspondant à la moitié du stock chromosomique, varie de 100 millions de paires de bases (Mb) environ chez *Arabidopsis thaliana* (ou arabette des dames, petite crucifère devenue une espèce modèle pour la génétique végétale en partie grâce à la taille de son génome) à 123 000 Mb chez *Fritillaria assyriaca* (la fritillaire). Ainsi, ces deux espèces de plantes à fleurs sont constituées des mêmes organes (racines, tiges, feuilles et fleurs) mais ont des dimensions de génomes qui diffèrent de 1 230 fois. (Pour mémoire, la taille du génome humain est d'environ 3 000 Mb.)

Il est vrai que de très nombreuses espèces végétales sont polyploïdes, c'est-à-dire avec plusieurs stocks chromosomiques par noyau. Le blé tendre, par exemple, est un hexaploïde ; son noyau contient 42 chromosomes. Ce blé a une taille de génome « haploïde » de 16 000 Mb, alors que le riz (de la même famille des graminées) a un génome de 450 Mb. C'est d'ailleurs la raison pour laquelle, outre son importance agronomique majeure, le riz est devenu l'autre espèce modèle des généticiens des végétaux, représentant les monocotylédones. La tomate (génome de 950 Mb) et le maïs (2 500 Mb) sont aussi des espèces très étudiées par les généticiens.

### **1-4-3- Quelques chiffres sur le contenu génique**

Le contenu en gènes entre les différentes espèces de plantes séquencées ou en cours de séquençage varie de 15000 gènes pour *Chlamydomonas* à 46000 gènes pour le soja.

Les génomes de grande taille comme ceux du maïs et de l'orge ont un contenu en gènes très appauvris par rapport à ce qu'on pourrait attendre avec des génomes de cette taille. Cette observation montre bien que la taille des génomes n'est pas corrélée à leur complexité en termes de nombre de gènes. Ce paradoxe est connu à la fois chez les plantes et chez les animaux sous le nom de paradoxe de la valeur C.

#### **- Paradoxe de la valeur C**

Ce paradoxe dit ni le nombre de chromosomes, ni la taille du génome (quantité d'ADN contenue dans une copie d'un génome), ni le nombre de gènes ne sont corrélés avec la complexité de l'organisme.

### **1-4-4- Les séquences répétées**

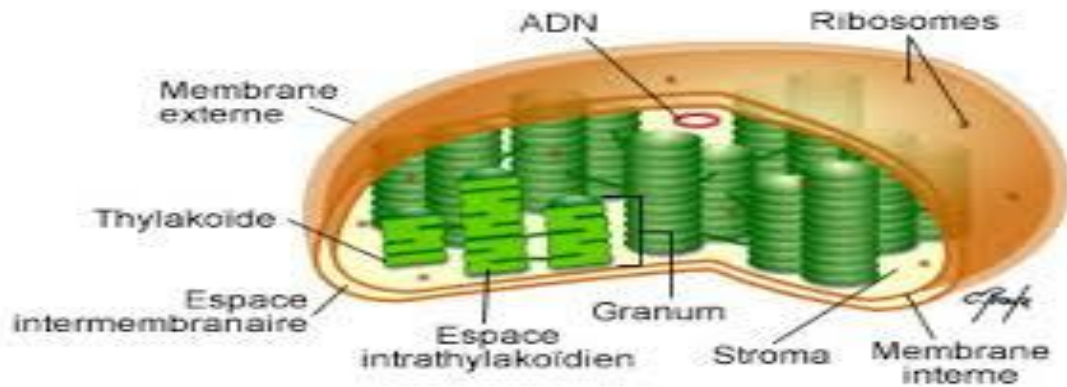
Un génome de 100 Mb environ suffit pour le fonctionnement et l'organisation d'une plante à fleur évoluée, ce qui a donné lieu à de nombreuses spéculations sur la fonction de l'ADN apparemment en excès chez les espèces à grand génome. Constitué d'ADN répété, il ne code vraisemblablement pas pour des protéines et son rôle est encore mal connu, il pourrait être impliqué dans des phénomènes de régulation ou d'organisation physique des chromosomes.

La proportion d'ADN répété est d'autant plus importante que la taille du génome est grande. Ainsi les espèces à grand génome comme le blé ont plus de 80 % de séquences répétées, alors que l'arabette en a autour de 20 %. On distingue deux types de séquences répétées : celles qui sont dispersées dans l'ensemble du génome et celles dites « en tandem », où les séquences identiques sont regroupées et se suivent le long de la molécule.

## **1-5- Le génome plastidial**

### **1-5-1- Origine des plastes**

Le plaste est un organite cellulaire des cellules végétales et des algues possédant une double membrane externe et un ADN propre.

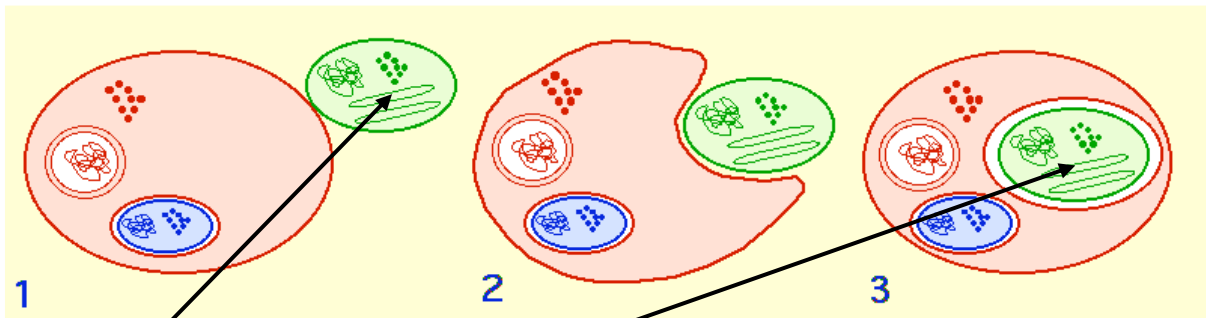


Structure d'un chloroplaste

Il est presque certainement le fruit de l'évolution d'une symbiose entre une cellule eucaryote et une bactérie photosynthétique (cyanobactérie).

### La théorie endosymbiotique

Réalisation d'une cellule eucaryote autotrophe par absorption d'une bactérie photosynthétique par une cellule eucaryote hétérotrophe.



Cette bactérie devient un chloroplaste (un plaste particulier), ses membranes internes ont une origine bactérienne. La membrane externe de l'enveloppe a pour origine la membrane plasmique de la cellule elle-même.

### **1-5-2- La photosynthèse**

La photosynthèse est le processus responsable de la transformation de l'énergie lumineuse en énergie chimique au niveau de la plante, autrement dit : processus permettant de synthétiser de la matière organique (sucres) à partir de la lumière du soleil. Elle se réalise au niveau des chloroplastes qui sont des organites cellulaires spécialisées, et permet une consommation de dioxyde de carbone et d'eau afin de produire du dioxygène et des molécules organiques telles que le glucose. Pour se faire la photosynthèse se réalise en deux grandes phases, la phase claire et la phase sombre.

**La phase claire** est un ensemble de réactions photochimiques, qui dépendent de la lumière, et au cours desquels les électrons sont transportés à travers les deux photosystèmes (PSI et PSII) afin de produire de l'ATP (molécule riche en énergie) et du NADPH + H<sup>+</sup> (potentiel réducteur). La phase claire permet donc directement la transformation de l'énergie lumineuse en énergie chimique.

**La phase sombre** correspond au cycle de Calvin, entièrement enzymatique et indépendante de la lumière, au cours duquel l'ATP et le NADPH + H<sup>+</sup> sont utilisés pour la conversion du dioxyde de carbone et de l'eau en glucides. Cette seconde partie permet l'assimilation du gaz carbonique.

### 1-5-3- Structure des photosystèmes

Les photosystèmes sont les centres photorécepteurs de la membrane des thylakoïdes contenus dans les chloroplastes. Ils sont constitués d'une antenne collectrice et d'un centre réactionnel situé au centre de l'antenne. L'antenne collectrice permet de capter l'énergie lumineuse grâce à des pigments de plusieurs types : chlorophylle a, b et caroténoïde. L'énergie captée est transmise au centre réactionnel qui est un emplacement spécialisé constitué d'amas de pigments contenant seulement une paire de chlorophylle « a » capable de céder ses électrons à l'accepteur primaire, premier accepteur de la chaîne d'accepteurs d'électrons. L'accepteur primaire du photosystème I (PSI) est la chlorophylle A0 (chlorophylle « a » modifiée) et du photosystème II (PSII) est la phéophytine.

La chaîne d'accepteurs d'électrons permet le transport des électrons de molécule en molécule dans le sens de l'augmentation du potentiel. La grande différence qui distingue le photosystème I du photosystème II est la longueur d'onde d'absorption, pourtant les centres réactionnels des deux photosystèmes présentent tous les deux une paire de chlorophylle « a ». En effet c'est bien le photosystème II qui démarre la photosynthèse. Il sera ainsi présenté en premier dans le cours.

### 1-5-4- Mécanisme des photosystèmes

#### **Le photosystème II (PSII)**

L'énergie lumineuse est tout d'abord absorbée par l'antenne collectrice qui transmet ensuite son énergie au complexe P680. La chlorophylle « a » présente dans le complexe P680 libère alors les électrons qui seront captés par l'accepteur primaire (chlorophylle A0 =

chlorophylle « a » modifiée) et transportés par la chaîne d'accepteurs d'électrons (Fig.15). Ces électrons passent ensuite par le complexe de cytochromes où ils induisent le passage de protons du stroma vers l'espace intra-thylakoïdien. Les protons ainsi accumulés forment ce que l'on appelle le gradient de protons, qui permettra à l'ATP synthétase de produire de l'ATP. En quittant le complexe de cytochromes, les électrons sont transmis au photosystème I (PSI). La chlorophylle « a » du P680 a donc perdu des électrons qu'elle doit récupérer pour continuer à fonctionner ; ils lui sont fournis via la photolyse de l'eau.

### **Le photosystème I (PSI)**

La poursuite de la photosynthèse nécessite encore de l'énergie lumineuse qui sera absorbée par l'antenne collectrice et qui sera transmise au complexe P700 (Fig.16). Le rôle du complexe P700 sera de charger en énergie les électrons transmis par le complexe des cytochromes. Ces électrons seront captés par l'accepteur primaire (phéophytine) et seront transportés par la chaîne d'accepteurs d'électrons jusqu'à la ferrédoxine. Elle-même les transportera jusqu'à la NADP réductase qui réduira le  $\text{NADP}^+$  en  $\text{NADPH} + \text{H}^+$ . La chlorophylle « a » du P700 a donc perdu deux électrons qu'elle doit récupérer pour que le système fonctionne ; ces électrons lui sont fournis par le PSII.

### **1-5-5- Les mécanismes de la phase sombre**

La phase sombre correspond à la phase d'assimilation du  $\text{CO}_2$  qui utilise les molécules énergétiques produites lors de la phase claire et qui est réalisée de manière cyclique. Ce cycle est appelé cycle de Calvin et il se déroule dans le stroma du chloroplaste. L'assimilation du  $\text{CO}_2$  se fait en quatre étapes principales dont les trois premières se déroulent au sein du cycle de Calvin.

#### **1-5-5-1- Le cycle de Calvin**

##### **a- Fixation du $\text{CO}_2$ (carboxylation)**

La première molécule du cycle de Calvin est le ribulose-biphosphate (RuBP) possédant 5 carbones. La fixation du  $\text{CO}_2$  sur cette molécule nécessitera l'utilisation d'une enzyme appelée la Rubisco (pour Ribulose Biphosphate Carboxylase Oxygénase). Cette enzyme permettra la formation d'une molécule instable à 6 carbones qui donnera rapidement deux molécules de 3-phosphoglycérate à 3 carbones.

##### **Mode d'action de la Rubisco**

Comme son nom l'indique, la Rubisco possède deux activités catalytiques :



✚ La première correspond à son activité carboxylase qui permet, à partir du RuBP, la formation de deux molécules d'acide phosphoglycérique.

✚ La deuxième correspond à son activité oxygénase qui permet, à partir du RuBP, la formation d'une molécule d'acide phospho-glycolique et d'une molécule d'acide phosphoglycérique (PGA). Cette seconde activité freine donc la photosynthèse, ne permettant pas la poursuite du cycle de Calvin.

On se demande alors dans quelle condition chacune sera active. Pour répondre à cette question il est essentiel de prendre en compte deux facteurs : tout d'abord l'activité dominante en quantité équivalente d'oxygène et de dioxyde de carbone, puis l'environnement dans lequel la plante est placée. En effet l'activité dominante en quantité équivalente d'oxygène et de dioxyde de carbone est la carboxylase, car l'affinité de cette enzyme pour le CO<sub>2</sub> est plus importante que l'affinité pour l'O<sub>2</sub>. Par contre l'atmosphère est bien plus chargée en O<sub>2</sub> qu'en CO<sub>2</sub> obligeant la Rubisco à fonctionner en oxygénase.

Il est important de préciser que l'activité de la Rubisco varie également face à des variations de température. En vertu d'une propriété intrinsèque de cette enzyme et aussi à cause de l'effet différentiel de la température sur la solubilité du CO<sub>2</sub> et de l'O<sub>2</sub>, le rapport de l'activité oxygénase sur l'activité carboxylase de la Rubisco varie dans le même sens que la température. Autrement dit la fixation du CO<sub>2</sub> par cette enzyme est favorisée à de faible température.

### **b- Réduction du carbone fixé**

La deuxième phase du cycle de Calvin correspondra à la réduction du 3-phosphoglycérate. Celui-ci sera tout d'abord phosphorylé par de l'ATP pour donner l'acide bipospho-glycérique, qui sera lui-même réduit par le NADPH pour former le 3-phosphoglyceraldéhyde (G3P) qui est un sucre.

### **c- Régénération de l'accepteur de CO<sub>2</sub>**

Le G3P formé peut avoir différentes destinées ; un sixième de celui-ci sera utilisé par la cellule comme composant glucidique (cf. suite du cours) et les cinq sixièmes restant seront utilisés pour poursuivre le cycle de Calvin. La reformation du RuBP, qui sera réutilisée pour fixer le CO<sub>2</sub>, se fera en plusieurs étapes et nécessitera l'utilisation d'ATP.

### **1-5-5-2-Synthèse des sucres**

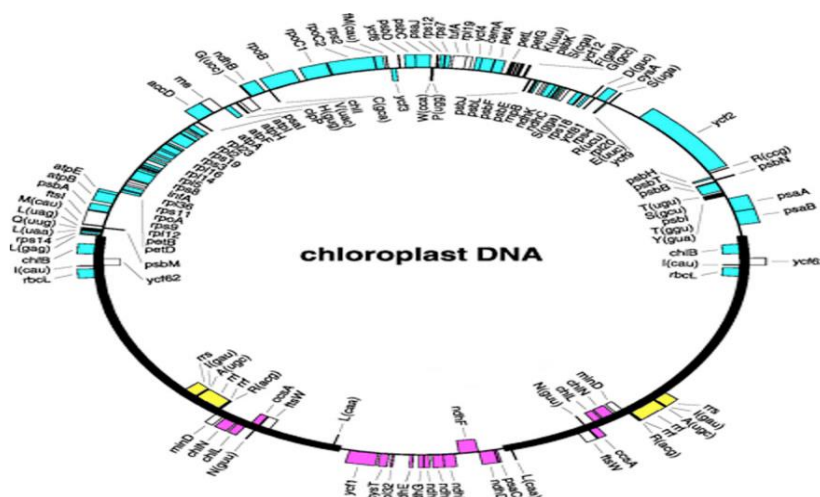
Comme vu précédemment, un sixième du 3-phosphoglycéraldéhyde (G3P) produit dans le cycle de Calvin va entrer dans les réactions métaboliques de la plante, dans lesquelles ils seront principalement transformés en glucides :

- ✚ Soit sous forme de saccharose ( $\alpha$ -Glu-Fruct) qui est la forme de transporté dans la sève élaborée.

- ✚ Soit sous forme d'amidon qui est la forme de mise en réserve ( $\alpha$ -1,4-Glu).

### 1-5-3- Structure du génome plastidial

La cellule végétale contient plusieurs plastes et chaque plaste contient plusieurs centaines de copies du génome. Le génome plastidial est présent sous la forme d'un ADN double brin circulaire dont la taille varie de 120 à 160 kpb



Le génome plastidial n'est pas libre dans le stroma. En effet, plusieurs copies se rassemblent et forment des paquets denses appelés nucléoïdes. Le nombre, la forme et la taille des nucléoïdes varient selon les espèces et selon la différenciation du plaste. En effet, tandis que les proplastides ne contiennent qu'un seul nucléoïde, on en dénombre plusieurs douzaines dans les chloroplastes. Chez les plantes supérieures, des attaches à la fois à la membrane thylacoïdienne et à l'enveloppe du chloroplaste ont été démontrées.

#### A- Fonction des gènes plastidiaux

Le génome plastidial code environ 120 gènes alors que le plaste contient en moyenne plus de 2000 protéines différentes.

#### Exemple :

- ARN ribosomal (rRNA)

- ARN transfert (tRNA) pour la traduction plastidiale
- gènes pour le ribosome chloroplastique
- 4 gènes codant des sous unités de l'ARN polymérase
- Un gène pour la sous unité grande de la RUBISCO
- 9 gènes pour les photosystèmes I et II
- 6 gènes pour l'ATP synthase

Les gènes codés directement dans le plaste ne permettent pas de synthétiser tous les composants nécessaires à son expression et à son fonctionnement. Ces derniers sont donc sous la dépendance des gènes nucléaires, transcrits dans le noyau, traduits dans le cytoplasme puis importés dans le plaste ( ex : 1 gène codant la petite sous unité de la rubisco dans le noyau). Le chloroplaste importe plus de 95 % des protéines nécessaires à son fonctionnement. L'expression des deux génomes, nucléaire et plastidial, doit donc être coordonnée.

### **B- La communication entre le noyau et le plaste**

Au cours de l'évolution, la taille du génome plastidial a été réduite et de nombreux gènes ont été transférés au noyau. La plupart des protéines utilisées dans le plaste sont traduites dans le cytoplasme de la cellule végétale. Ces protéines possèdent un peptide de transit N-terminal qui permet sa redirection vers les différents compartiments du chloroplaste. Des transporteurs spécifiques présents sur les deux membranes de l'enveloppe du chloroplaste, appartenant aux systèmes Tic et Toc, permettent leur import à l'intérieur du plaste. Les protéines sont ensuite adressées au sous-compartiment plastidial. Cette communication du noyau vers le plaste est indispensable au fonctionnement de l'organite.

### **C- Quelques applications de la transformation du chloroplaste (transplastomique)**

Ce type d'organite peut être transformé par la technique de la boulistique.

- **La résistance au glyphosate**

Le Glyphosate est un puissant herbicide avec un bas impact environnemental, utile pour éliminer les plantes infestant une culture résistante. Daniell et al. (1998) a transformé avec succès des plantes de tabac avec un gène de résistance au glyphosate inséré dans le génome du chloroplaste. Les plantes sont résistantes et le gène ne peut pas être transféré par le pollen à des autres plantes.

- **Résistance aux insectes grâce à la toxine Bt**

Les toxines du *Bacillus thuringiensis* (Bt) sont toxiques pour les insectes après ingestion (mais elles ne sont pastoxiques pour les animaux). Kota et al. (1999) ont vu que l'expression de la toxine Bt dans les chloroplastes de plante porte à une mortalité élevée des insectes en protégeant les plantes des attaques. En plus l'expression de la toxine est localisée dans les feuilles et absente dans le tissu (fruits, grains).

- **L'hormone de croissance humaine, la sérum-albumine (et le vaccin contre l'hépatite B) :** sont ainsi produites dans des chloroplastes de feuilles de tabac.

#### **D- Les avantages de la transformation du chloroplaste**

##### **-L'absence de transmission du transgène par voie pollinique**

En effet, le chloroplaste chez de nombreuses angiospermes n'est transmis que par voie maternelle. En revanche chez les gymnospermes, il n'est transmis que par voie paternelle. Il existe cependant des exceptions. La luzerne et le seigle, il est transmis par les deux voies, chez le kiwi, il est transmis par voie paternelle.

##### **-Des taux d'expression élevés :**

Du point de vue de l'expression des gènes l'avantage de la transformation du chloroplaste, pour la production de grandes quantités de protéines.