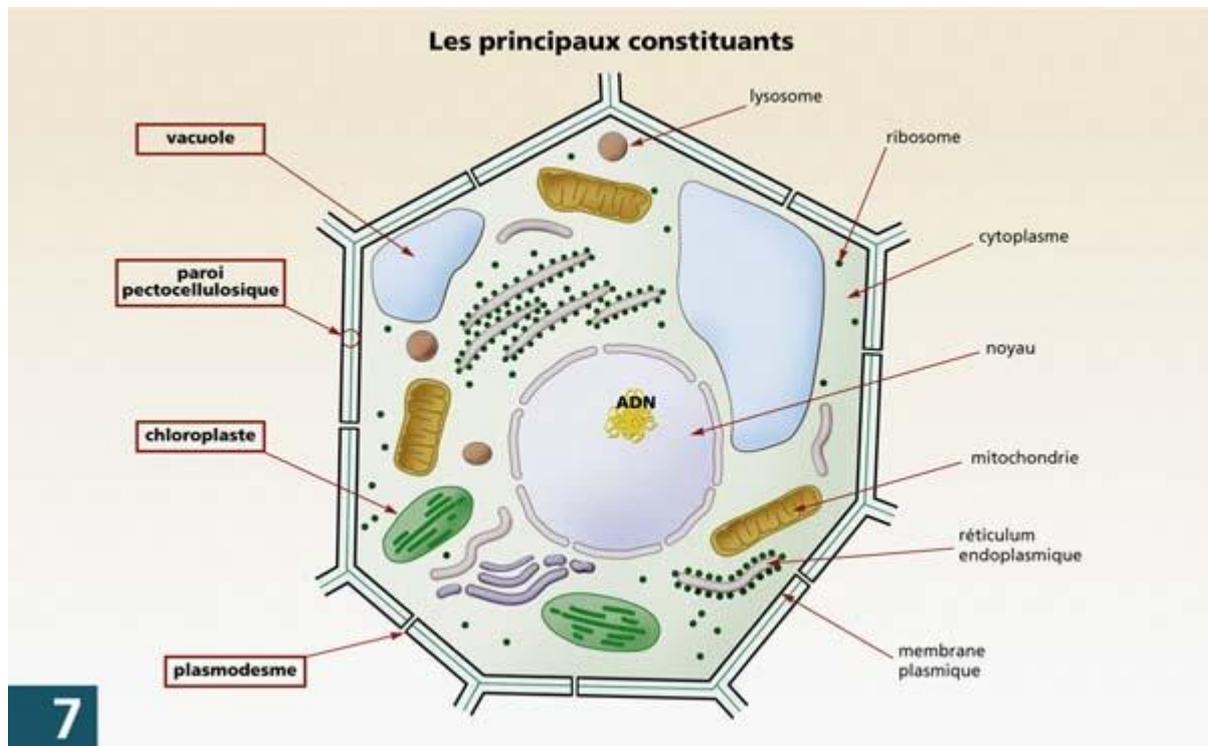


Quelques notions de la biologie

1. Les fondements de la culture *in vitro*

1.1.La cellule végétale



1.1.1. Les principaux constituants

La **paroi pecto-cellulosique** rigide constitue une sorte de squelette externe. Cette paroi est spécifique de la cellule végétale. Elle la protège. Les **plasmodesmes** sont des points qui permettent les échanges entre les cellules.

A l'intérieur de la cellule, se trouve le cytoplasme, entouré d'une membrane de phospholipides appelée membrane plasmique.

Dans le cytoplasme, plusieurs éléments sont présents :

- Le noyau entouré de la membrane nucléaire renferme l'information génétique.
- Les **chloroplastes** sont les organites où se produit la photosynthèse. Ils sont présents dans les organes aériens de la plante, et sont eux aussi spécifiques du monde végétal. C'est le lieu où l'énergie lumineuse est transformée en énergie chimique, puis stockée dans des molécules organiques : les sucres.
- Les mitochondries : elles transforment l'énergie contenue dans les molécules organiques en énergie utilisable par la cellule pour toutes ses fonctions. Cette forme d'énergie, l'adénosine triphosphate (ATP), est universelle au sein des organismes vivants.

- Les ribosomes associés au réticulum endoplasmique sont le lieu de la synthèse des protéines.
- Les **vacuoles** sont spécifiques de la cellule végétale et permettent le stockage de l'eau, d'ions, de sucres, de dérivés azotés et de produits de dégradation.

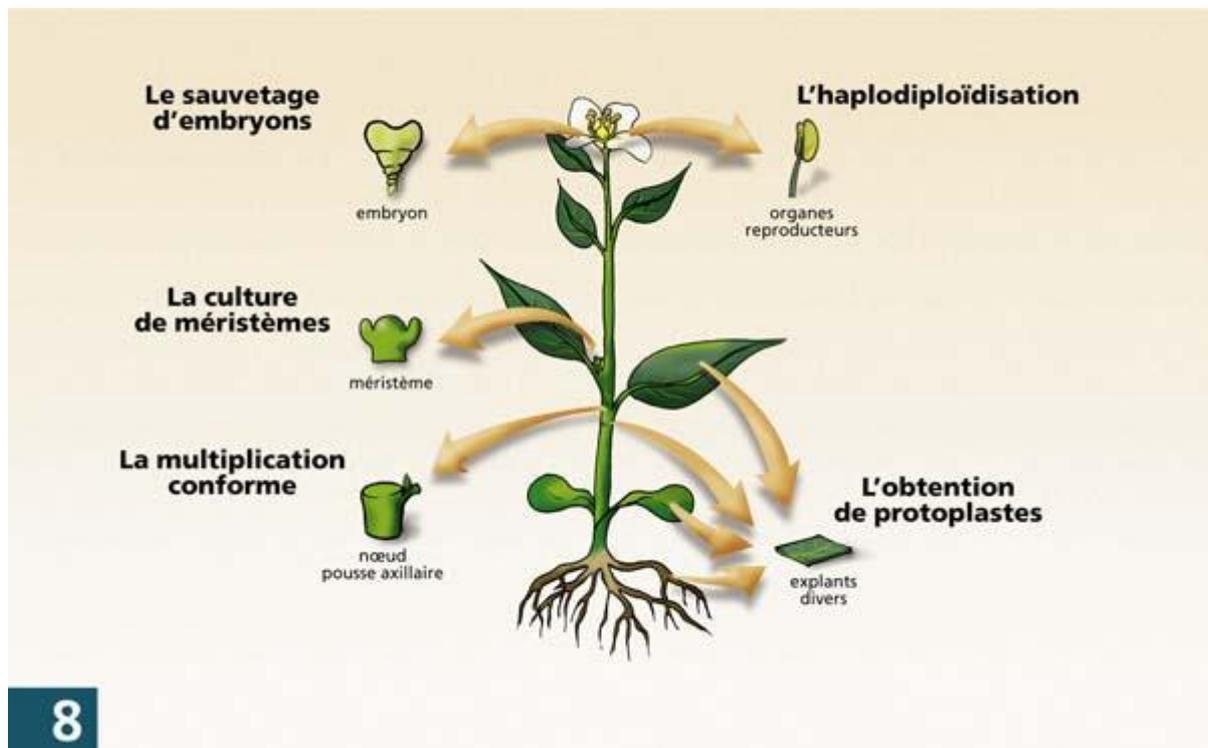
1.1.2. La division cellulaire

Toute cellule résulte de la division d'une autre cellule. Au début de la division, le stock des constituants cellulaires est multiplié par deux. Ainsi toutes les cellules d'une plante possèdent la même information génétique, quel que soit le tissu végétal.

1.1.3. 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.

1.2. Des applications de la culture *in vitro*



Lorsque des cellules ou un groupe de cellules sont placées hors de leur environnement normal qu'est la plante, et sont maintenues en vie, on parle de mise en culture *in vitro*. Le terme *in vitro* rappelle le fait que ces cellules sont entourées par du matériel de laboratoire qui était

originellement en verre. La culture *in vitro* d'explants ou de fragments prélevés sur la plante permet différentes applications.

1.2.1. La multiplication conforme

On peut reproduire à l'identique un individu et le multiplier en très grand nombre, à partir de ou d'un fragment d'organe. C'est la multiplication conforme. Elle se réalise par cellules exemple à partir de nœuds, de pousses axillaires et s'apparente au bouturage des jardiniers. Mis en culture, ces tissus se développent et donnent une plante entière, identique à la plante de départ.

1.2.2. La culture de méristèmes

Les méristèmes sont formés de cellules non différenciées, à l'origine de tous les tissus de la plante. Leur culture permet d'obtenir une plante identique à la plante initiale. L'intérêt des méristèmes réside dans le fait que ce sont des structures indemnes de virus. Leur culture donne des plantes saines.

1.2.3. Le sauvetage d'embryons

Les embryons obtenus après la fécondation peuvent être prélevés, mis en culture *in vitro* et donner un nouvel individu. Le sauvetage d'embryons consiste à prélever un embryon précocement, pour le cultiver *in vitro*, soit pour accélérer les cycles végétatifs, soit parce qu'il ne pourrait pas se développer dans les tissus maternels, par exemple lorsqu'il résulte d'un croisement interspécifique.

1.2.4. L'haplodiploïdisation

La mise en culture des organes reproducteurs consiste à faire se développer des individus à partir des cellules reproductrices ou gamètes. Ces cellules contiennent une copie de l'information génétique qui est normalement présente dans une cellule sous forme de deux copies, les deux chromosomes homologues. Au cours de la régénération, on peut réussir à doubler à l'identique cette copie. Les individus obtenus sont des lignées pures, car ils ont la même information sur les deux chromosomes, ils sont homozygotes.

1.2.5. L'obtention de protoplastes

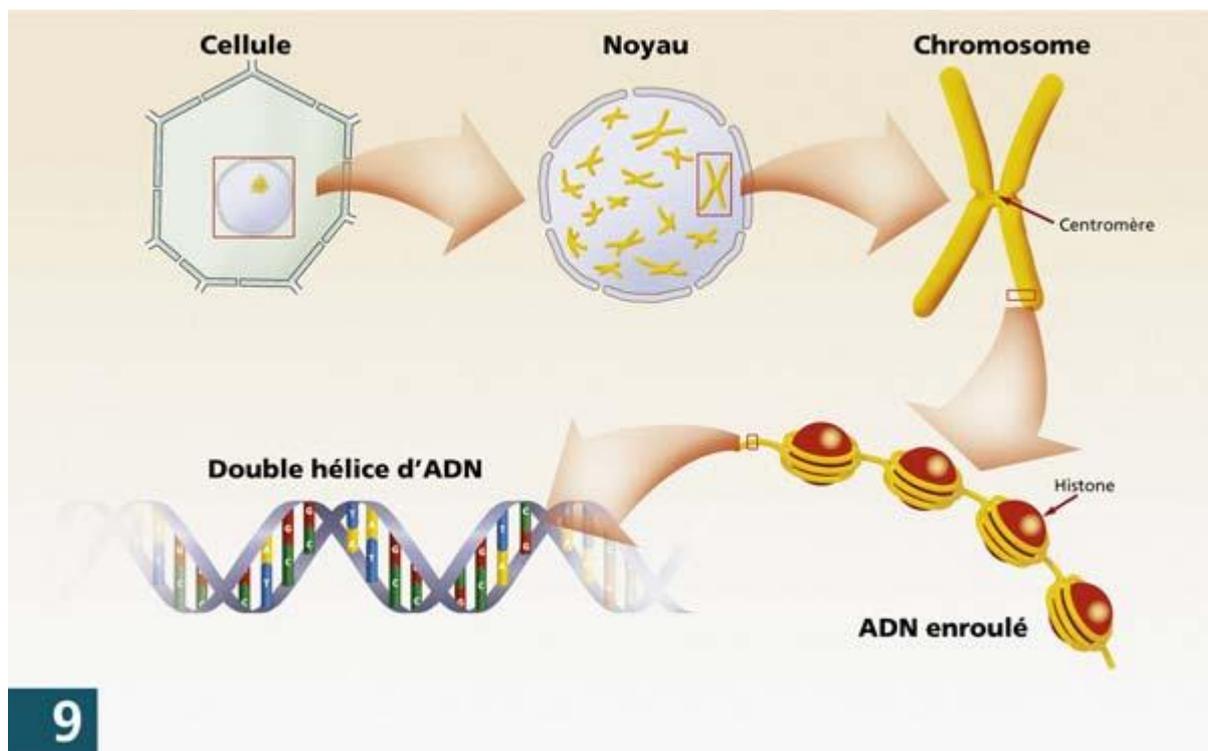
Les protoplastes sont des cellules débarrassées de la paroi pectocellulosique. Ils peuvent être obtenus à partir d'explants divers, c'est-à-dire de fragments prélevés sur les tissus d'une plante, de préférence des limbes de jeunes feuilles.

La fusion de protoplastes permet de créer de nouvelles variétés, d'introduire des caractères à hérédité cytoplasmique, et permet la transformation génétique par électroporation.

L'ensemble de ces techniques permet de régénérer des plantes entières. On peut parfois observer la formation d'un amas cellulaire, le cal. Ensuite une différenciation des tissus sera induite, et des phénomènes d'embryogenèse et d'organogenèse permettent d'obtenir une plantule.

2. L'information génétique des plantes

2.1. L'ADN : support de l'information génétique



L'information génétique détermine les caractères de la plante. Elle est transmise des parents à leurs descendants. L'information génétique, essentielle à la construction et au fonctionnement de la **cellule** et de la plante, se trouve principalement dans le noyau. Elle est la même dans toutes les cellules de la plante, qui la copient à chaque division cellulaire. L'expression de cette information est spécifique selon la fonction et le rôle de la cellule, mais l'information inutilisée reste présente.

L'acide désoxyribonucléique (ADN) est le support universel de l'information génétique chez les êtres vivants. Il est constitué de deux chaînes enroulées en double hélice. Les deux brins de l'ADN sont l'assemblage de molécules élémentaires : les nucléotides. Chaque nucléotide comprend un sucre, le désoxyribose, un résidu phosphate et une des 4 bases azotées : adénine, guanine, cytosine, thymine. Les ADN sont les plus grosses molécules du monde vivant : l'ADN d'une cellule humaine, totalement déroulé, mesure 2 mètres de long.

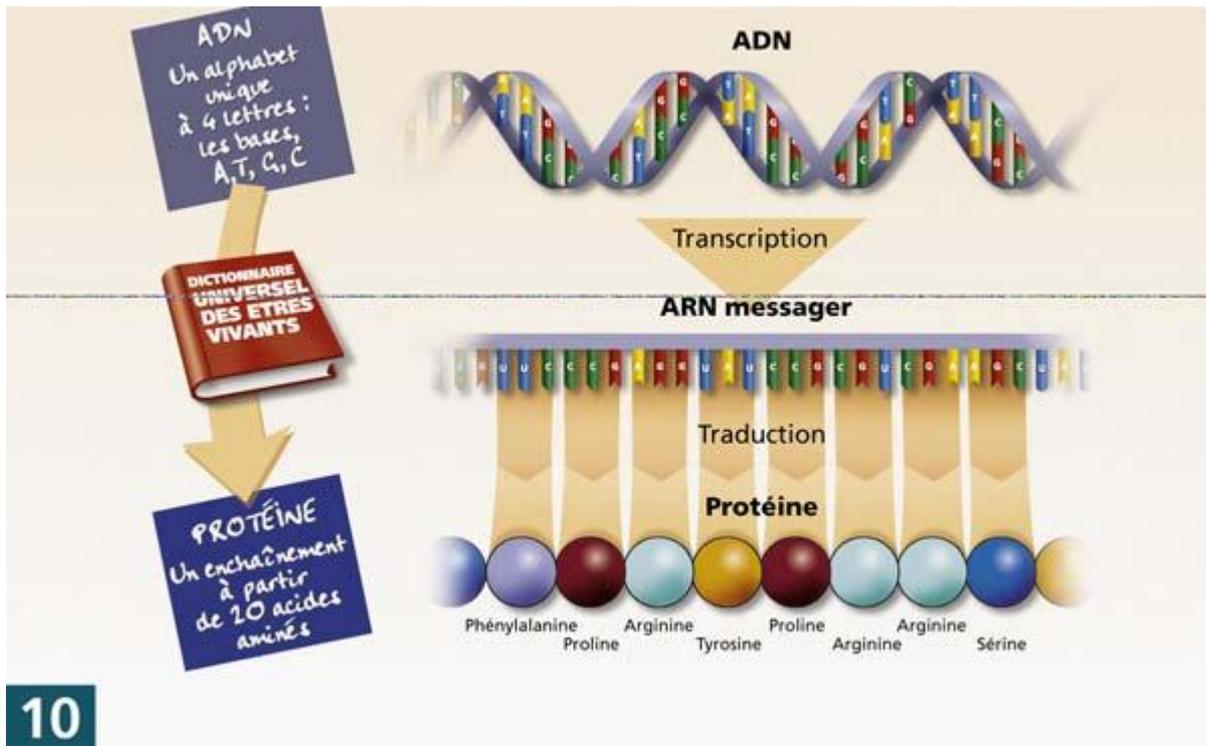
L'ADN enroulé et associé à des protéines, les histones, forme les chromosomes. Une cellule diploïde, notée $2n$, possède des chromosomes associés deux à deux : ce sont les paires de chromosomes homologues. Les cellules reproductrices sont haploïdes, notées n . Elles possèdent un seul exemplaire de chromosomes homologues. Le maïs possède 10 paires de chromosomes différents, soit 20 chromosomes, on note $2n = 20$.

La pomme de terre, espèce tétraploïde, possède 12 chromosomes différents présents en quatre exemplaires. La présentation des chromosomes d'une cellule, rangés par taille décroissante, constitue son caryotype.

Un gène est un fragment d'ADN qui correspond à un caractère héréditaire et constitue l'unité d'information génétique. L'ensemble des gènes d'un individu forme le génome. L'expression des caractères qu'ils gouvernent, telle qu'on peut l'observer, constitue le phénotype.

L'emplacement occupé par un gène sur le chromosome est le locus. On estime que le nombre moyen de gènes par plante est supérieur à 20 000.

2.2. Du gène à la protéine



Un alphabet unique à 4 lettres

Un gène est un fragment d'ADN qui comprend la séquence codant pour une protéine. L'ADN peut être considéré comme un long texte rédigé à l'aide de quatre lettres qui sont les quatre bases : adénine, thymine, cytosine et guanine (A, T, C, G). L'information génétique dépend de l'ordre des bases, c'est la séquence de l'ADN.

Ces bases sont complémentaires deux à deux et ne peuvent s'apparier qu'ainsi : adénine avec thymine, guanine avec cytosine. Ces liaisons sont responsables de la forme en échelle de l'ADN, les liaisons entre bases sont les échelons de la molécule d'ADN, qui s'enroule en hélice. Cette complémentarité entre les bases est également conservée lors de la réplication de l'ADN.

La synthèse d'un ARN messenger

L'ADN est situé dans le noyau, siège de l'information génétique. La synthèse des protéines a lieu dans le cytoplasme au contact des ribosomes accolés au réticulum endoplasmique. Pour assurer la liaison entre les deux, il y a synthèse d'ARN messenger (acide ribonucléique). On parle de transcription pour caractériser la synthèse d'ARN à partir d'ADN.

Les ARN messagers sont constitués comme l'ADN par l'enchaînement de nucléotides. Une des

quatre bases est différente : l'uracile remplace la thymine. Ils sont simple brin, constitués d'une seule chaîne de nucléotides, contrairement à l'ADN. L'ARN messager passe à travers la membrane nucléaire et transporte dans le cytoplasme l'information qu'il porte. L'ARN messager sert de matrice à la production de protéines. C'est la **traduction**.

Un dictionnaire d'assemblage

Une protéine est formée par un enchaînement précis d'acides aminés. Il en existe 20 différents et de leur ordre dépendent les propriétés de la protéine. Il existe donc un dictionnaire d'assemblage qui permet, à partir de l'alphabet de l'ARN messager à 4 lettres, de composer les mots codant pour chacun des 20 acides aminés. C'est le code génétique. Chaque mot est composé de 3 bases : le triplet ou codon.

La redondance du code génétique

Il y a 64 triplets ou codons et 20 acides aminés. Ainsi plusieurs codons codent pour le même acide aminé : il y a redondance. D'autre part, 3 codons ne codent pas pour un acide aminé, mais commandent l'arrêt de la synthèse de la protéine, ce sont les codons-stop.

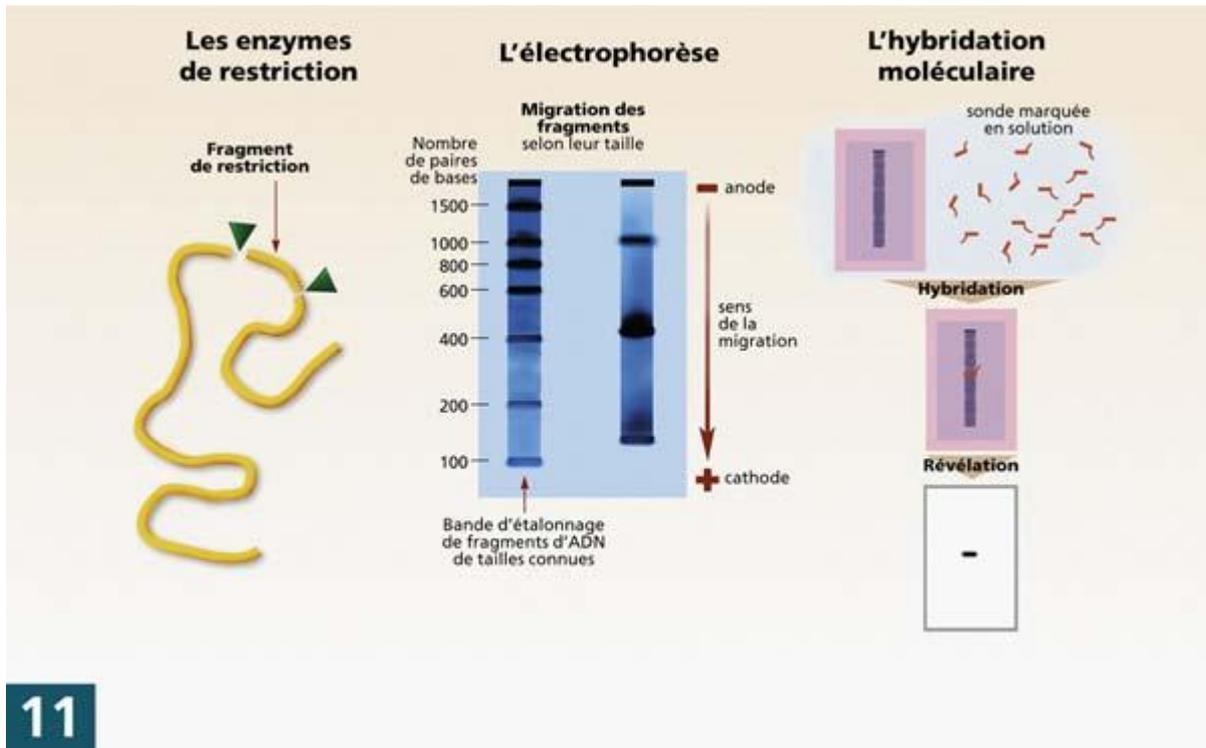
Le code génétique est non chevauchant : une base n'entre dans la composition que d'un seul codon. Le code génétique est ponctué : tous les codons sont contigus. Il n'y a pas de base entre deux codons qui n'entrerait pas dans l'un des deux.

Un langage universel

Le code génétique est commun à tous les êtres vivants, de la bactérie à l'homme, chez les animaux comme chez les végétaux : il est universel. Ceci signifie que lorsqu'un gène, issu d'un organisme codant pour un caractère particulier, est inséré dans un deuxième organisme, ce dernier sera capable d'exprimer la même protéine. Il parle le même langage et comprendra ces informations codées.

3. Les outils d'analyse du génome

3.1. La visualisation d'un fragment d'ADN



3.1.1. Les enzymes de restriction

Chaque enzyme de restriction reconnaît une séquence d'ADN qui lui est spécifique, le site de restriction. Elle coupe alors les deux brins de la molécule d'ADN. Les fragments d'ADN obtenus sont appelés **fragments de restriction**. Ils sont plus facilement utilisables et identifiables qu'une molécule d'ADN entière. Ces enzymes sont utilisées comme des ciseaux biologiques pour réaliser des constructions d'ADN recombiné, ainsi que pour l'analyse de l'ADN, notamment de sa variabilité. Elles sont d'utilisation simple.

3.1.2. L'électrophorèse

L'action d'une enzyme de restriction génère des fragments de restriction de tailles différentes. Ces fragments peuvent être séparés suivant leur taille sur un gel d'électrophorèse. Pour cela, on dépose l'ADN dans des encoches appelées puits, situées à l'extrémité du gel. Celui-ci est ensuite soumis à un champ électrique. Les molécules d'ADN migrent car elles sont chargées négativement. En passant à travers les mailles du gel, elles se séparent suivant leur taille. Ainsi, les molécules les plus grandes sont retardées par rapport aux petites.

La visualisation des fragments d'ADN après électrophorèse se fait par trempage du gel dans une solution de bromure d'éthidium. Cette molécule s'intercale entre les bases de l'ADN et a la propriété d'être fluorescente sous lumière ultraviolette.

Dans le cas d'ADN génomique, on génère une population de fragments, tandis que dans le cas d'ADN mitochondrial ou chloroplastique, on n'observe que quelques fragments de taille déterminée.

Après la migration, la taille des fragments est estimée par comparaison des distances de migration avec celles de fragments de tailles connues qui servent d'étalon.

Par comparaison des profils obtenus dans chaque puits, correspondant chacun à un individu, on peut mettre en évidence des différences entre les individus, c'est-à-dire visualiser le polymorphisme de leur ADN.

3.1.3. L'hybridation moléculaire

L'hybridation moléculaire permet de repérer ou de rechercher un fragment d'ADN dans un mélange de fragments. Cette méthode d'étude repose sur deux propriétés de la molécule d'ADN :

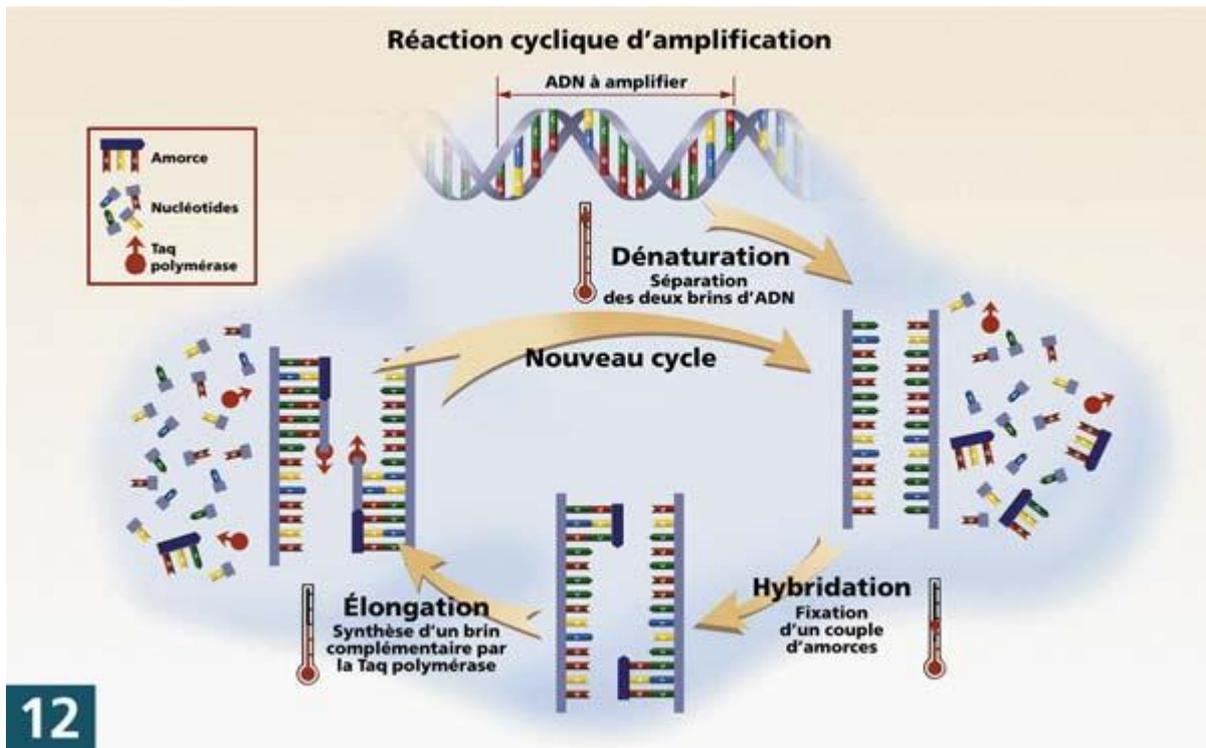
- L'ADN a la faculté de passer de façon réversible de l'état double brin à l'état simple brin, c'est la dénaturation des brins d'ADN ou inversement la renaturation. Sous l'action de la température et/ou d'agents chimiques, il y a rupture des liaisons entre les bases et séparation des brins.

L'abaissement de la température provoque la renaturation des brins, on parle d'hybridation.

- Cet appariement ne se fait pas au hasard, il suit la loi de complémentarité entre les bases de l'ADN. C'est la deuxième propriété des molécules d'ADN : il y a formation uniquement de paires A-T et G-C.

L'objectif de l'hybridation est de révéler si une molécule d'ADN contient une séquence ou un gène particulier. Pour ce faire, on utilise une sonde. C'est un fragment d'ADN correspondant à une séquence connue. La sonde est en général marquée soit radio activement, soit chimiquement. En utilisant le phénomène de renaturation et d'appariement des bases d'ADN, il est possible de repérer la molécule comportant la séquence complémentaire.

3.2. L'amplification de fragments d'ADN *in vitro* : la PCR



La PCR, réaction de polymérisation en chaîne (Polymerase Chain Reaction), est une technique permettant d'obtenir, à partir d'un échantillon d'ADN, d'importantes quantités d'une séquence d'ADN spécifique. Cette amplification repose sur la répllication d'une matrice d'ADN double brin. Elle se décompose en trois phases : une phase de **dénaturation**, une phase d'**hybridation** et une phase d'**élongation**. Les produits de chaque étape de synthèse servent de matrice pour les étapes suivantes, ainsi on réalise une amplification exponentielle.

Applications

La PCR permet de multiplier de l'ADN en grande quantité, elle ouvre ainsi la voie à de très nombreuses applications :

** Le diagnostic. Par exemple, lorsque l'on transforme génétiquement des végétaux, il est important de déterminer si l'ADN transféré est intégré dans le patrimoine génétique de la cellule. La PCR permet de réaliser ce diagnostic rapide de présence éventuelle de l'ADN transféré, sur de faibles quantités d'ADN.

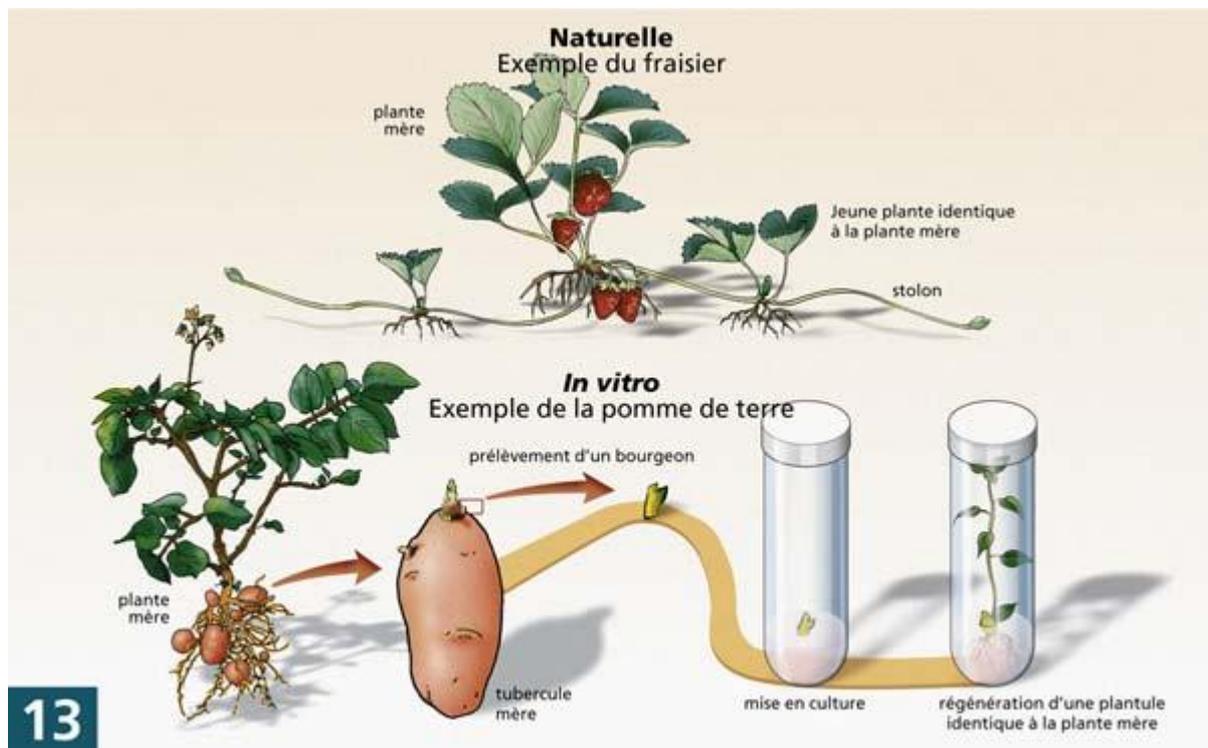
** Le marquage. La PCR par elle-même ne révèle pas de polymorphisme, mais elle

aboutit à la création de nouveaux types de marqueurs, qui révèlent un polymorphisme de fragment d'amplification. Ce sont des marqueurs simples d'utilisation et souvent très polymorphes.

** Le clonage et le séquençage de gènes sont également simplifiés par cette technique.

4. La maîtrise de la reproduction

4.1. La reproduction végétative



4.1.1. Naturelle

Certains végétaux se multiplient naturellement sans passer par la reproduction sexuée. Un nouvel individu se forme à partir d'un organe de la plante "mère" :

** La multiplication par stolons. Dans le cas du fraisier, il y a formation de tiges aériennes rampantes. De place en place, se forment des bourgeons et des racines qui sont le point de départ de nouveaux pieds.

** La multiplication par tubercules. Pour la pomme de terre, des tiges souterraines renflées par les réserves permettent d'obtenir une nouvelle plante par développement de bourgeons (les yeux, donnant des germes).

** La multiplication par rhizomes. Ce sont des tiges souterraines pouvant s'enraciner et donner une nouvelle plante.

** La multiplication par bulbilles, chez l'ail. Les bulbes secondaires, formés sur le côté du bulbe, sont capables de s'en détacher, puis de s'enraciner pour se développer en une nouvelle plante.

On appelle clones tous les individus nés d'un même organisme et possédant le même patrimoine héréditaire. Un tubercule, un stolon, un rhizome, un bulbille sont donc à l'origine d'un clone.

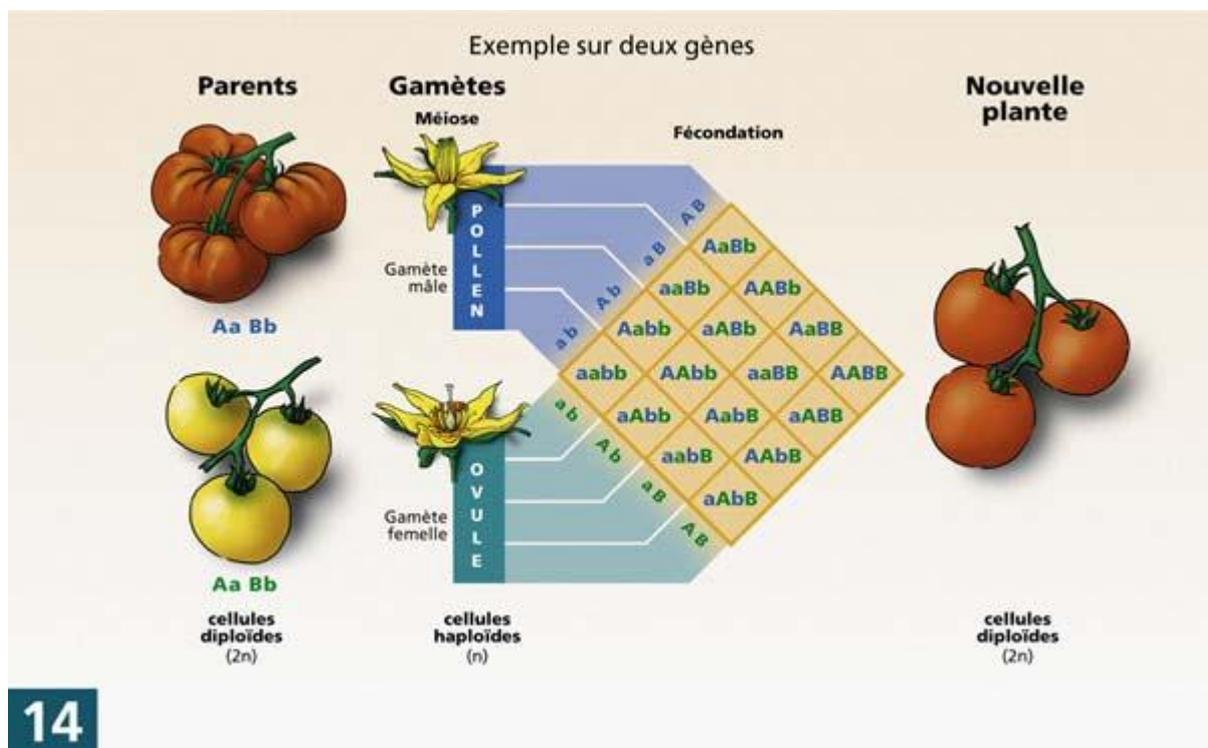
4.1.2. In vitro

C'est une méthode pour cultiver des plantes ou des cellules sur des milieux nutritifs artificiels. A l'origine, la méthode était destinée à régénérer certaines plantes infectées par des virus.

Maintenant, elle est également utilisée pour multiplier des plantes en grand nombre.

Chez la pomme de terre, par exemple, on peut repiquer des fragments de germe comportant un nœud muni d'une petite feuille et d'un bourgeon. La plante issue de la bouture peut être fragmentée à son tour et conduit à d'autres boutures. Un seul bourgeon permet de produire en moins d'un an 2 millions de plantes, toutes identiques à la plante mère.

4.2. La reproduction sexuée



Les descendants par croisement ne sont pas identiques à leurs **parents**. Cette diversité est une conséquence de la reproduction sexuée. Deux phénomènes biologiques fondamentaux caractérisent la reproduction sexuée et sont responsables du brassage de l'information génétique.

4.2.1. La méiose

La méiose assure la production de cellules reproductrices, les **gamètes**. Le pollen est le gamète mâle, l'ovule est le gamète femelle.

Dans le noyau des cellules, les chromosomes d'un individu sont associés par paires, ce sont des chromosomes homologues. L'individu est diploïde ($2n$). A l'issue de la méiose, les gamètes sont haploïdes (n), ils ne possèdent qu'un seul chromosome issu de chacune des paires de chromosomes homologues. La répartition de ces chromosomes étant aléatoire, les gamètes ne possèdent donc pas tous la même information génétique.

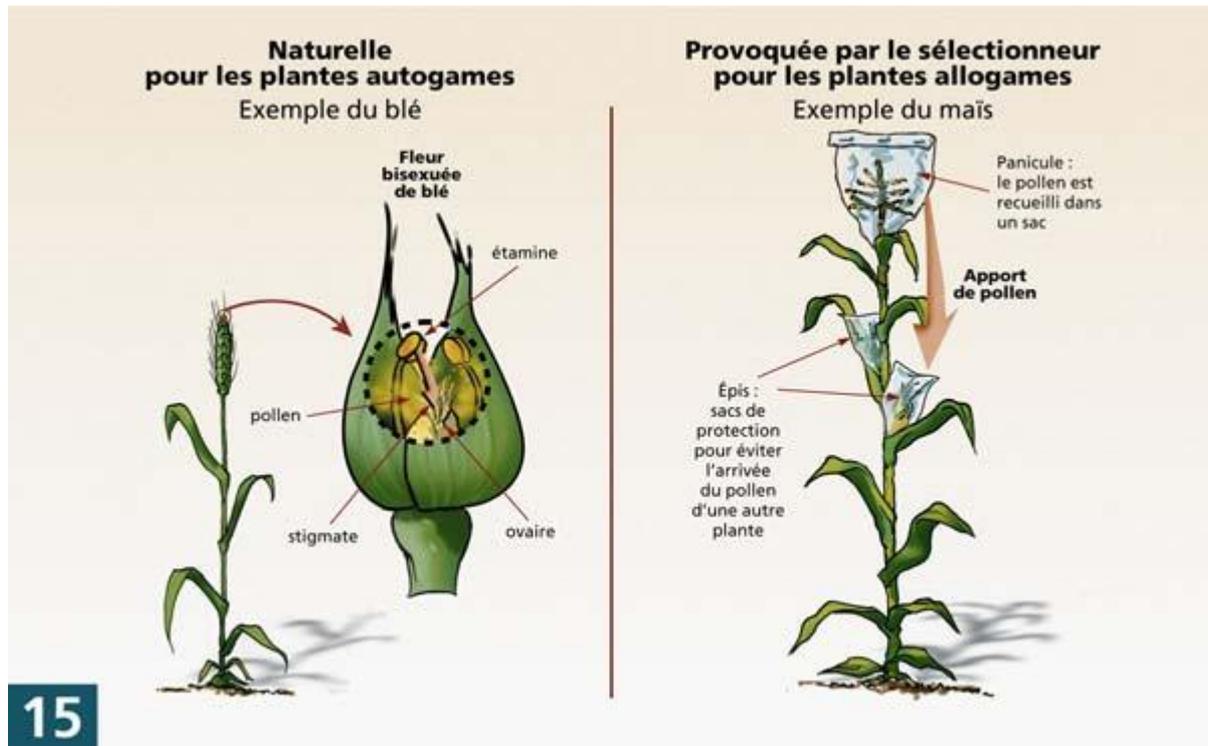
Une cellule diploïde possède deux copies d'un même gène, une sur chaque chromosome de la paire d'homologues : ce sont les allèles. Lors de la séparation des chromosomes homologues par méiose, il y a également séparation des allèles. Chaque gamète ne peut recevoir que l'un ou l'autre des deux allèles d'un même gène.

4.2.2. La fécondation

La fécondation est l'union d'un gamète mâle et d'un gamète femelle. Celle-ci réunit les deux noyaux haploïdes et donne naissance à un œuf diploïde. L'œuf, puis la **nouvelle plante**, possède la même quantité d'information génétique que ses deux parents et les nouvelles paires de chromosomes homologues présentent donc des allèles issus du pollen et des allèles issus de l'ovule.

Ce phénomène est responsable d'un deuxième brassage des chromosomes, car la fusion d'un pollen et d'un ovule se fait au hasard.

4.3. L'autofécondation



L'autofécondation est la fécondation d'un ovule par du pollen issu de la même plante. Les mécanismes qui interviennent sont le plus souvent d'ordre morphologique :

- ** contact direct des stigmates (organes femelles) avec des étamines (organes mâles), ou proximité des deux organes reproducteurs,
- ** protection vis-à-vis du pollen étranger, la fleur ne s'ouvrant pas ou peu.

4.3.1. Naturelle pour les plantes autogames

L'autofécondation est le mode de reproduction habituel des plantes autogames, par exemple du blé, de l'orge et du pois. Leurs fleurs sont bisexuées ou hermaphrodites, c'est-à-dire qu'elles possèdent des organes mâles et femelles dans la même fleur, et la maturité des gamètes est simultanée.

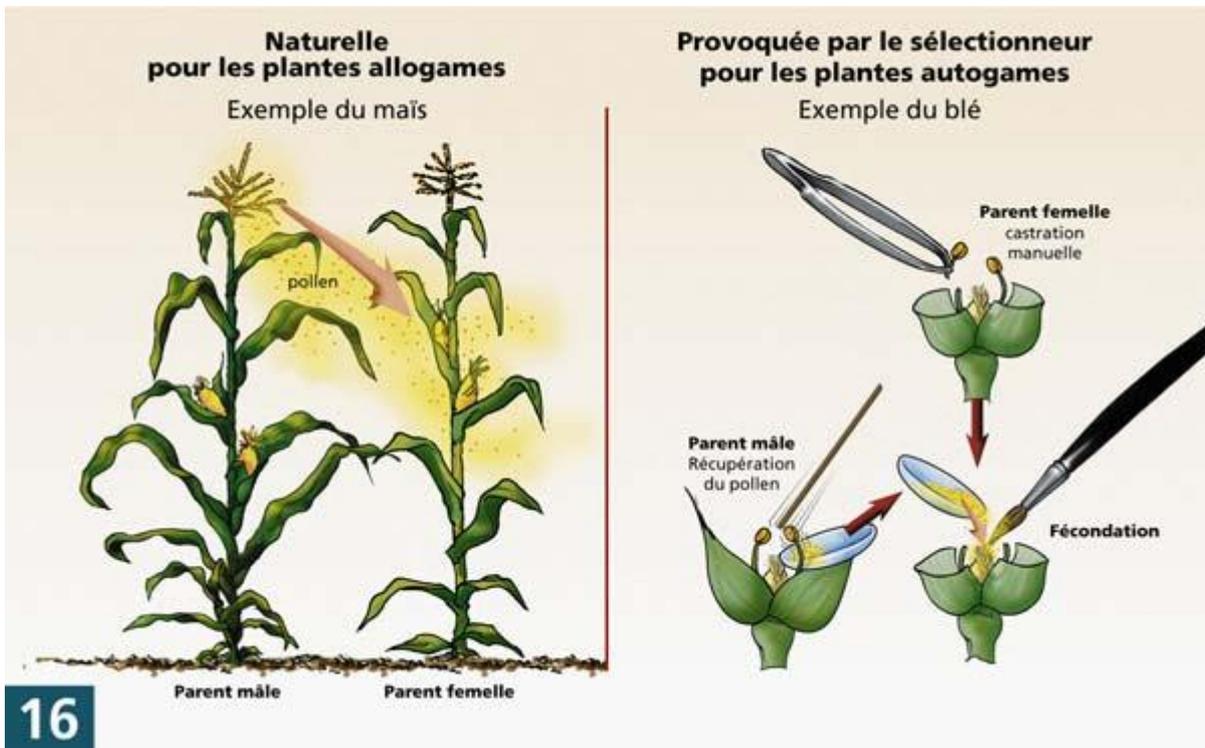
4.3.2. Provoquée par le sélectionneur pour les plantes allogames

Les plantes allogames s'autofécondent rarement. Cependant, le sélectionneur peut souhaiter provoquer l'autofécondation. Pour le maïs, cette pratique est facile, car les fleurs mâles et femelles sont séparées. Les inflorescences femelles sont placées sous sachet pour éviter toute pollution par du pollen étranger. Sur l'inflorescence mâle du même pied, le pollen est recueilli par la pose d'un sachet. Il est ensuite apporté sur les fleurs femelles.

Les individus se reproduisant uniquement par autofécondation sont homozygotes pour tous les gènes. Il y a donc stabilité des caractères au fil des générations, puisque tous les gamètes mâles et

femelles sont identiques. Ce sont des lignées pures.

4.4.L'hybridation



L'hybridation est la fécondation croisée de l'ovule d'une plante par du pollen d'une autre plante de la même espèce.

4.4.1. Naturelle pour les plantes allogames

Les plantes allogames privilégient la fécondation croisée. Elle a lieu pour les plantes qui ont des pieds mâles et femelles séparés, ce sont des espèces dioïques, comme l'asperge. La dissémination du pollen est réalisée par le vent et les insectes.

Chez certaines espèces dites monoïques comme le maïs, les fleurs mâles et femelles sont séparées, mais présentes sur un même pied.

La fécondation croisée est favorisée car les organes mâles et femelles d'une même plante ne viennent pas à maturité en même temps.

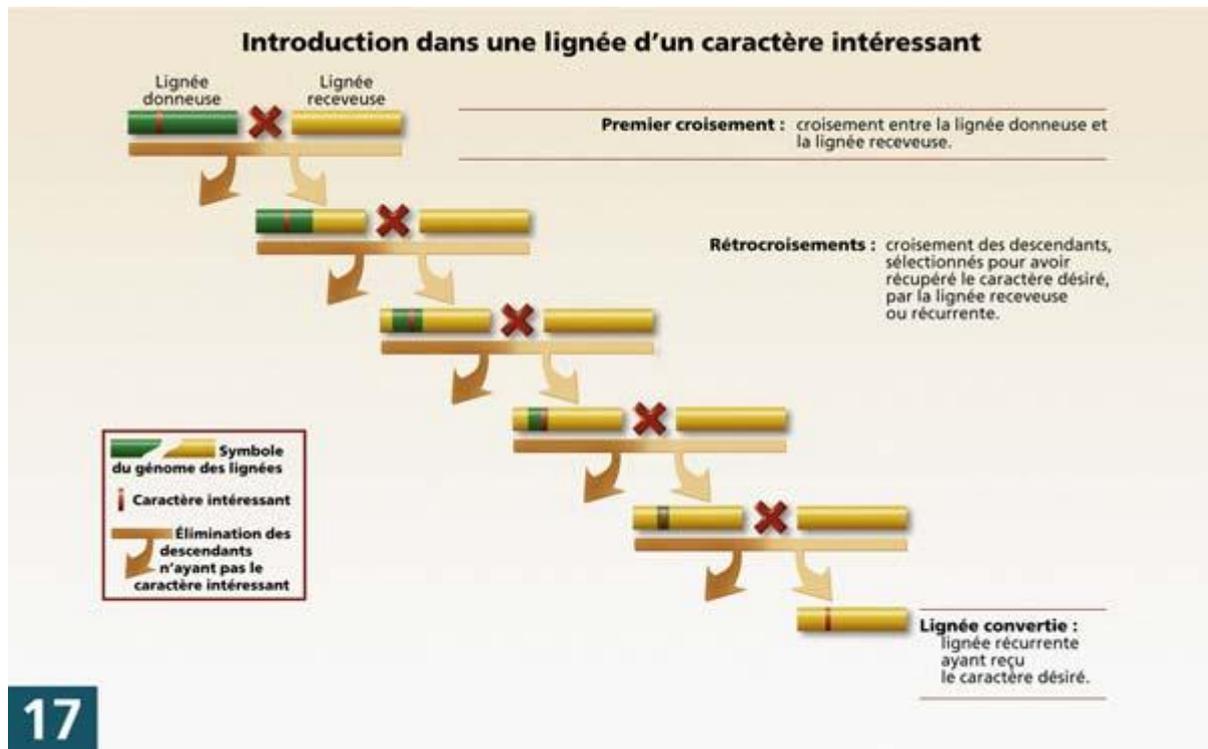
Enfin, pour des espèces où les fleurs sont bisexuées, il peut exister des barrières physiologiques ou physiques à l'autofécondation (luzerne, orchidées, primevère), imposant là encore la fécondation croisée.

4.4.2. Provoquée par le sélectionneur pour les plantes autogames

Le sélectionneur, lorsqu'il croise deux plantes pour associer des caractères intéressants, réalise une fécondation croisée ou hybridation.

Sur le blé par exemple, les deux géniteurs étant choisis, le sélectionneur va castrer manuellement les fleurs d'un épi, c'est-à-dire retirer toutes les étamines contenant le pollen. Cette plante constituera la plante femelle. Il récupère ensuite le pollen de l'autre parent, qu'il dépose sur le stigmate de l'épi femelle castré.

4. 5. Le rétrocroisement



4.5.1. Un cas particulier d'hybridation

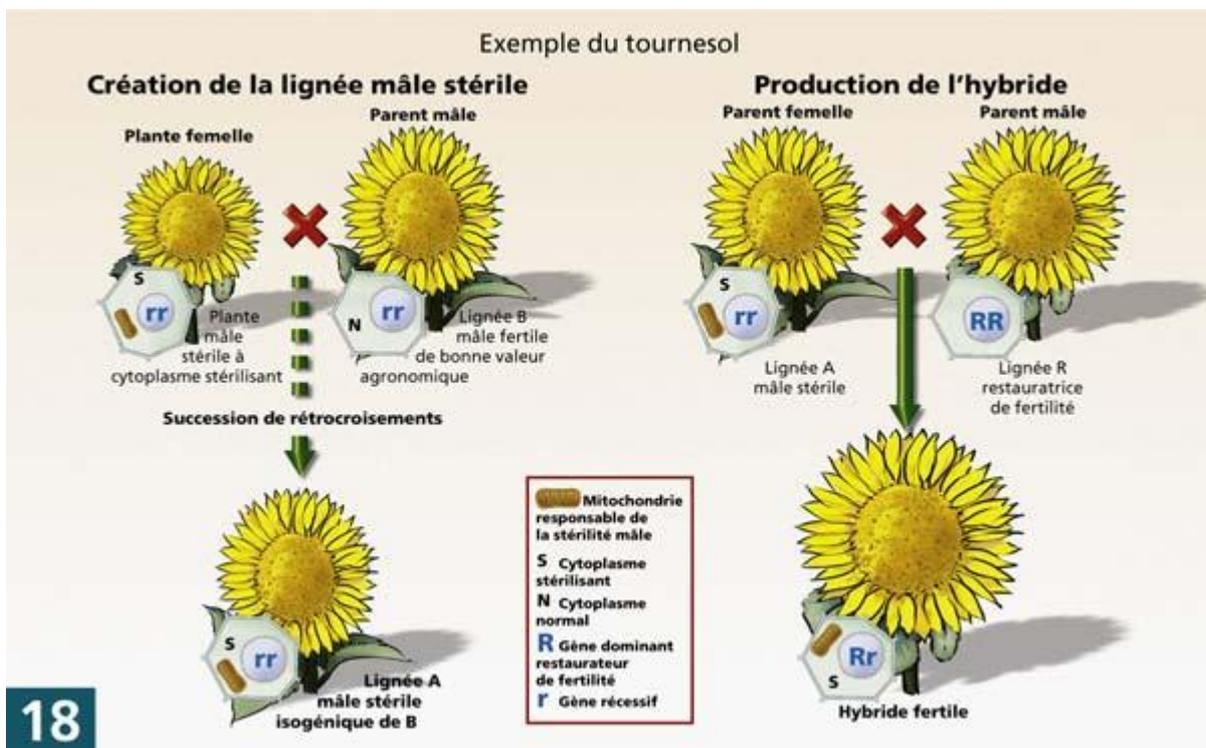
Un **caractère intéressant**, tel que la résistance aux maladies, la tolérance au stress, la stérilité, l'amélioration de critères de qualité, peut être présent dans une plante mais pas dans les lignées élites à la base des variétés commerciales. Le sélectionneur va chercher à créer une lignée identique à la lignée élite, mais possédant en plus ce caractère. Pour obtenir ce résultat, le sélectionneur procède par rétrocroisement, encore appelé back-cross.

Pour cela, il réalise une série d'hybridations entre la **lignée receveuse** ou élite, et la **lignée donneuse** du caractère. Les descendants sont ensuite croisés pendant plusieurs générations par la lignée receveuse ou récurrente. Ceci permet d'augmenter la part de la lignée élite dans le fond génétique des descendants, tout en veillant à conserver le caractère intéressant par élimination des individus n'ayant pas le caractère désiré. Le résultat du rétrocroisement est l'obtention d'une **lignée convertie**, c'est-à-dire quasiment identique à la lignée élite receveuse, mais contenant en plus le caractère désiré.

4.5.2. La génétique du rétrocroisement

Les descendants issus du premier croisement possèdent 50% du patrimoine génétique de la lignée élite et 50% du patrimoine du donneur. Lors des back-cross suivants, la proportion du génotype élite augmente, les individus obtenus au deuxième back-cross sont 75% élite et 25% donneur. Au bout du septième back-cross, la part de la lignée élite est de 96,88%, on estime alors que la lignée obtenue est suffisamment proche de la lignée élite. On tend vers l'obtention d'une lignée isogénique, en ne différant de la lignée élite que par un seul gène. restaurateur

4.6. La stérilité mâle cytoplasmique



Il est intéressant, en amélioration végétale, de créer des variétés de type d'hybride pour bénéficier de l'effet d'hétérosis. Pour produire une variété hybride, il faut disposer d'une lignée mâle et d'une lignée femelle. Pour obtenir la lignée mâle, il faut castrer la plante. Or la castration (manuelle ou mécanique pratiquée par exemple chez le maïs ou chimique pratiquée chez le blé) n'est pas toujours facile ou possible pour une production de semences à grande échelle.

Des mécanismes de stérilité de type génétique ou cytoplasmique ont été découverts. Ils se manifestent par une absence d'anthères, des anthères vides ou du pollen non viable. Cette stérilité est transmise à la descendance partiellement dans le cas d'une stérilité génique, ou totalement dans le cas d'une stérilité cytoplasmique. Très souvent, c'est une production de graines qui est recherchée pour la plante hybride. Dans ce cas, il convient de restaurer la fertilité. C'est le parent mâle de l'hybride qui aura cette fonction.

Cette stérilité est engendrée par une interaction entre des gènes nucléaires et le cytoplasme en particulier les mitochondries. Elle se manifeste quand un gène de stérilité récessif est à l'état homozygote (rr) dans un cytoplasme stérilisant S que l'on oppose au cytoplasme normal N.

4.6.1. L'exemple du tournesol

*** Création de la lignée mâle stérile**

Une source de stérilité mâle a été découverte pour le tournesol. Cette stérilité est apportée par le cytoplasme d'une plante mâle stérile et transmise automatiquement à sa descendance par le cytoplasme de ses ovules.

La lignée mâle fertile de bonne qualité agronomique B, est convertie en son homologue mâle stérile A, par une succession de rétrocroisements avec la plante mâle stérile découverte.

*** Production de l'hybride**

L'hybride est obtenu par croisement de la lignée mâle stérile A avec une lignée restauratrice de fertilité R. Cette lignée apporte le gène dominant (R) qui annule l'effet stérilisant du cytoplasme S de la lignée A. Elle permet ainsi la pollinisation et par conséquent la production de graines sur les plantes hybrides de tournesol.

Quelques notions sur la Biologie

Cette partie est un rappel de quelques notions de biologie, nécessaires à la compréhension de la suite de ce document. Les thèmes développés posent les fondements de la culture *in vitro*, présentent l'organisation de l'information génétique des plantes et les outils d'analyse du génome, et abordent la maîtrise de la reproduction sexuée.

1. LES FONDEMENTS DE LA CULTURE *IN VITRO*

1.1. La cellule végétale

1.2 Des applications de la culture *in vitro*

2. L'INFORMATION GÉNÉTIQUE DES PLANTES

2.1. L'ADN : support de l'information génétique

Trois génomes différents dans la cellule végétale

La structure d'un chromosome

2.2. Du gène à la protéine

L'assemblage des acides aminés

La structure finale de la protéine

3. LES OUTILS D'ANALYSE DU GÉNOME

3.1. La visualisation d'un fragment d'ADN

Description de la technique d'hybridation

Les sondes

3.2. L'amplification de fragments d'ADN *in vitro* : la PCR

La dénaturation

L'hybridation

L'élongation

4. LA MAÎTRISE DE LA REPRODUCTION

4.1. La reproduction végétative

4.2. La reproduction sexuée

Mécanisme de la méiose

Brassage interchromosomique

4.3. L'autofécondation

L'obtention d'une lignée pure, par autofécondation, à partir d'une plante hétérozygote

4.4. L'hybridation

L'hybridation interspécifique

Les variétés hybrides

4.5. Le rétrocroisement

4.6. La stérilité mâle cytoplasmique

Le maintien de la lignée mâle stérile

Le rôle des mitochondries

1.