

# Les génomes végétaux

## I. Introduction

La cellule des organismes eucaryotes (animaux, plantes, champignons) se distingue de celle des organismes procaryotes (Archées et Bactéries) par la présence de différents organites spécialisés, comme le **noyau** (contenant l'information génétique de la cellule), la **mitochondrie** (siège de la respiration cellulaire), ou encore le **chloroplaste** (siège de la photosynthèse chez les végétaux).

Le noyau eucaryote est délimité par une double membrane appelée **enveloppe nucléaire**. Il contient le **génomme nucléaire** caractéristique de la cellule eucaryote, c'est-à-dire le matériel génétique d'un individu codé dans son **ADN** (acide désoxyribonucléique). C'est généralement de ce génome dont on parle lorsqu'on mentionne le génome d'un eucaryote. Pourtant, la cellule eucaryote contient aussi des génomes non-nucléaires, au sein des organites (voir figures ci-dessous):

- le **génomme mitochondrial**, au sein de la matrice des **mitochondries**;
- le **génomme chloroplastique**, au sein du stroma des **chloroplastes** (cas des plantes ou des algues, par exemple).

Dans chaque cellule végétale coexistent et coopèrent **3 génomes** : celui du **noyau**, organisé en **chromosomes**, celui des **mitochondries**, les usines énergétiques sièges de la respiration (structuré en **ADN**), et celui des **chloroplastes**, ces organites spécifiques des végétaux où a lieu la photosynthèse (structuré en **ADN**) (**Figures 1 et 2**).

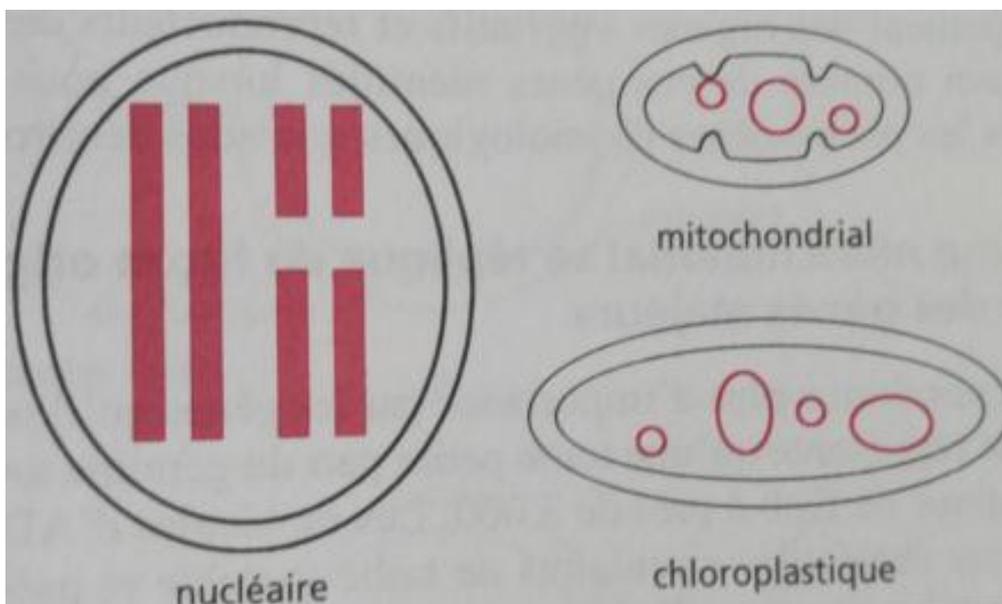


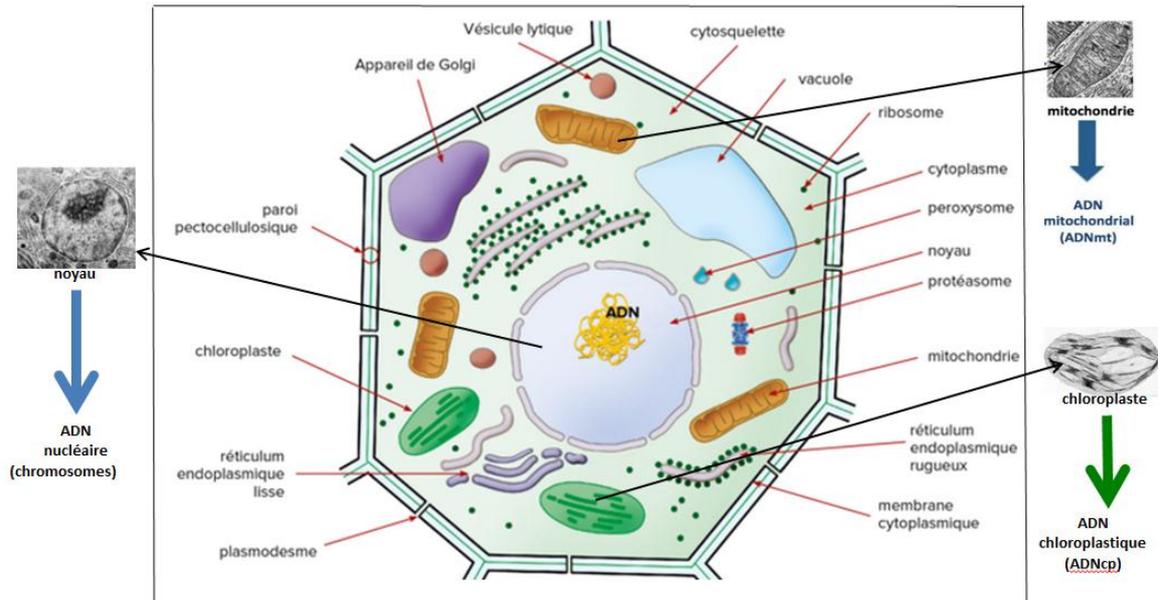
Figure 1. La répartition des génomes au sein de la cellule eucaryote végétale

### La cellule végétale renferme trois génomes.

La première et la plus importante des différences concerne le nombre de génomes par cellule puisqu'il y a, en plus de ceux communs avec le monde animal, nucléaire et mitochondrial, le génome plastidial,

représenté par de nombreuses molécules circulaires d'ADN de grande taille et support d'un certain nombre de gènes et donc de caractères spécifiques aux plantes tels que le gène de la **Rubisco**.

Chez les plantes appartenant aux êtres vivants eucaryotes, les génomes présentent de nombreuses et grandes similitudes avec celui des animaux eucaryotes. Il s'agit des mêmes molécules, ADN, ARN et enzymes d'exploitation, comportant les mêmes bases azotées et les mêmes sucres et fonctionnant selon les mêmes règles.



**Figure 2. La localisation de l'information génétique dans une cellule eucaryote végétale**

Chaque plante possède 3 génomes différents:

- Génome chloroplastique, le plus petit des trois, entre 135 et 160 kpb.
- Génome mitochondrial, environ 200 à 2000 kpb
- Génome nucléaire, taille très variable ( $1,1 \cdot 10^6$  à  $110 \times 10^9$  kpb). Il représente 95 % de la totalité de l'information génétique nécessaire à la vie de la cellule végétale.

Le génome mitochondrial et le génome chloroplastique sont appelés les génomes cytoplasmiques

L'information génétique est à :

- 95% nucléaire
- 4% chloroplastique
- 1% mitochondriale

Au sein des cellules végétales, il y a **une coopération entre les trois génomes**. On attribue aux ADN mitochondriaux et chloroplastiques la responsabilité de l'hérédité de type cytoplasmique, donc de transmission maternelle. En effet, lors de la fécondation, le pollen, gamète mâle, apporte l'information contenue dans le noyau, alors que l'ovule, gamète femelle, fournit, en plus de son noyau, **son cytoplasme**.

**N.B :** Les organites cellulaires des eucaryotes végétaux (noyau, chloroplaste et mitochondrie) possèdent une information génétique propre : ADN.

**L'ADN constitutif de ces trois génomes n'est pas organisé de la même manière.**

Tableau. Comparaison cellulaire et moléculaire entre cellule eucaryote et cellule procaryote

Caractères	Cellules de type procaryote		Cellules eucaryotes		
	Archées	Bactéries	Cytoplasme	Mitochondrie	Chloroplaste
<b>Matériel génétique</b>	- ADN nu au sein d'un chromosome unique, le plus souvent circulaire -Gènes en mosaïque	- ADN nu au sein d'un chromosome unique, le plus souvent circulaire - Gènes en continu (rarement en mosaïque)	- ADN (associé à des protéines, les histones) au sein de plusieurs chromosomes linéaires, localisés au sein du noyau (double membrane) - Gènes en mosaïque (avec introns)	- ADN nu au sein d'un chromosome unique, circulaire - Gènes en continu (rarement en mosaïque)	- ADN nu au sein d'un chromosome unique, circulaire - Gènes en continu
<b>Reproduction</b>	- Division en 2	- Division en 2	- Mitose, méiose et fécondation	- Division en 2	- Division en 2
<b>Ribosomes (machinerie de synthèse des protéines)</b>	- de type "70S", libre - quelques traits similaires à ceux des eucaryotes	- de type "70S", libre	- de type "80S", libres ou fixés sur le réticulum endoplasmique	- de type "70S", libre	- de type "70S", libre
<b>Taille</b>	~ 1-10 voire 100 microns	~ 1-10 voire 100 microns	~ 10-500 microns, parfois plus petits	~ 1-10 microns	~ 1-10 microns
<b>Nature des lipides membranaires</b>	- Phospholipides avec liaisons de type éther	- Phospholipides avec liaisons de type ester - Glycolipides (chez les Cyanobactéries)	- Phospholipides avec liaisons de type ester	- Phospholipides avec liaisons de type ester	- Phospholipides avec liaisons de type ester - Glycolipides
<b>Compartmentation</b>	- non	- souvent non - parfois oui (thylacoïdes chez les Cyanobactéries, espace périplasmique chez les bactéries Gram, ...)	- Oui (réticulum, membrane nucléaire, appareil de Golgi, etc...)	- Non - Organite limité par une double membrane	- Oui (thylacoïdes) - Organite limité par une double membrane (enveloppe)
<b>Cytosquelette</b>	- probable, mais pas connu	- Oui, mais ne déplace pas les composants cellulaires	- Oui, déplace les composants cellulaires	- Non	- Non
<b>Métabolisme</b>	- Chimiosynthèse ou hétérotrophie	- Chimiosynthèse ou photosynthèse, ou hétérotrophie (respiration et/ou fermentation)	- Fermentation	- Respiration (voire fermentation chez certains anaérobies)	- Photosynthèse

## II. Techniques de la biologie moléculaire

Les techniques de la biologie moléculaire et les méthodes de la génétique ont permis de progresser de façon extraordinaire dans la connaissance des génomes végétaux. Les résultats qui s'accumulent sur deux espèces modèles «à petit génome», le riz (*Oryza sativa* L.) et l'arabette des dames (*Arabidopsis thaliana*

(L.) Heynh.), la cartographie génétique, la transgénèse et les nouvelles méthodes de sélection qui en découlent modifient considérablement les conceptions de l'amélioration des espèces végétales cultivées.

La médiatisation des résultats obtenus sur le décryptage du génome humain, et ses retombées espérées sur le traitement de certaines maladies, a tendance à laisser dans l'ombre les travaux des généticiens travaillant sur les espèces végétales. Il faut cependant garder à l'esprit que les premières causes de mortalité dans le monde aujourd'hui restent la famine et la malnutrition. Les végétaux sont indispensables à toute vie sur terre.

Comme pour le génome humain, et comme pour ceux des animaux et des micro-organismes, le développement des outils et des techniques de la biologie moléculaire a permis de progresser très rapidement dans notre connaissance des génomes végétaux.

Les centaines de milliers d'espèces végétales, des algues unicellulaires aux arbres, en passant par les fougères, les mousses et les plantes herbacées, possèdent chacune une organisation génomique particulière. De plus, dans chaque cellule végétale coexistent et coopèrent 3 génomes : celui du noyau de la cellule, organisé en chromosomes, celui des mitochondries, les usines énergétiques sièges de la respiration, et celui des chloroplastes, ces organites spécifiques des végétaux où a lieu la photosynthèse.

### III. Taille des génomes végétaux

Différentes méthodes sont utilisées pour estimer la taille d'un génome, c'est-à-dire **le nombre de paires de bases de l'ADN** contenu dans un noyau d'une **cellule haploïde** de l'espèce considérée.

La taille du génome « haploïde », correspondant à la moitié du stock chromosomique, varie de 125 millions de paires de bases (Mpb) environ chez *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. (ou arabette des dames, petite crucifère cousine du colza devenue une espèce modèle pour la génétique végétale en partie grâce à la taille de son génome) à 123000 Mpb chez *Fritillaria assyriaca* (la fritillaire). Ainsi, ces deux espèces de plantes à fleurs (angiospermes dicotylédones) sont constituées des mêmes organes (racines, tiges, feuilles et fleurs) mais ont des dimensions de génomes qui diffèrent de 1230 fois. (Pour mémoire, la taille du génome humain est d'environ 3000 Mpb.)

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 de 42 chromosomes résulte de l'association de 3 génomes d'espèces proches ayant chacune 14 chromosomes. Mais la polyploïdie ne suffit pas à expliquer cette énorme variation de taille puisque ce blé a une taille de génome « haploïde » de 16000 Mpb, alors que le riz (de la même famille des Poacées) a un génome de 450 Mpb. 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 Mpb) et le maïs (2500 Mpb) sont aussi des espèces très étudiées par les généticiens.

**Mpb = million paires de bases.**

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. Les chromosomes sont constitués d'une longue double hélice d'ADN entourant des nucléosomes. La chaîne nucléoprotéique constituant ces nucléosomes est plus ou moins condensée selon les phases du cycle cellulaire. Cette organisation en chromosomes permet la réplication puis la ségrégation des gènes à la mitose et à la méiose. Les centromères qui s'attachent au fuseau équatorial lors de la division cellulaire

sont essentiels à la régularité de la ségrégation. Les télomères, à chaque extrémité des chromosomes, sont indispensables à la fidélité de la réplication.

#### IV. Les séquences répétées

Un génome de 100 Mpb 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.

Dans les années 1970, les études de cinétique de réassociation de l'ADN ont permis de mieux décrire la complexité des génomes végétaux. On a pu ainsi distinguer les séquences répétées (qui se réassocient rapidement car elles existent en un très grand nombre d'exemplaires) et les séquences dites « uniques », qui se réassocient très lentement. **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.

Parmi les séquences répétées en tandem se trouve l'ADN ribosomique, qui code pour les ARN des ribosomes où s'effectue la synthèse protéique. Plusieurs milliers de copies de cette séquence, dont seule une partie est effectivement transcrite, sont concentrées dans une ou quelques régions chromosomiques et peuvent couvrir plusieurs dizaines de kilobases (milliers de paires de bases). L'autre grand groupe est celui des ADN satellites, ainsi appelés d'après leur position par rapport à la plus grande partie de l'ADN après centrifugation dans un gradient de densité. Ces ADN satellites sont constitués d'unités répétées en tandem dont le motif élémentaire a de 150 à 350 paires de bases. On trouve ces familles de séquences dans les régions télomériques (**télomère**: extrémité d'un chromosome) et dans les régions centromériques.

On trouve aussi dans les génomes des végétaux des séquences VNTR (pour *Variable Number of Tandem Repeats*), mini- ou microsatellites, comme dans les génomes des espèces animales. Ces séquences sont réparties de façon aléatoire le long des chromosomes et sont constituées d'un nombre variable de répétitions d'un motif élémentaire plus ou moins long. **Les microsatellites sont des répétitions en tandem d'une courte séquence de 2 à 5 nucléotides.** Le polymorphisme important quant au nombre de motifs répétés, constaté entre individus de la même espèce, fait de ces locus microsatellites d'excellents marqueurs pour l'établissement des cartes génétiques. Parmi le groupe des séquences répétées dispersées, la classe la plus abondante est représentée par des séquences caractéristiques des éléments transposables, gènes sauteurs capables de se déplacer (transposition) et de se multiplier au sein du

génomique. Les séquences de ces transposons, ou de leurs dérivés inactivés, peuvent représenter un pourcentage significatif du génome.

### V. Les séquences «uniques»

Se trouvant en simple copie ou en faible nombre de copies dans un génome donné, elles représentent la fraction accessible à l'analyse génétique classique.

**Il s'agit des séquences codant pour les gènes exprimés et dont les mutations vont se manifester par une caractéristique particulière, visible à l'œil nu ou accessible à l'analyse biochimique.**

Les recherches scientifiques font appel à cette fraction du génome qui est *a priori* la plus intéressante puisque codant pour des protéines intervenant dans le métabolisme.

Cette matière de base des généticiens d'hier est aussi celle de la génétique moléculaire. Le très grand nombre de marqueurs nucléiques aujourd'hui disponibles, par exemple les RFLPs (polymorphismes de la longueur des fragments de restriction), font également fréquemment appel à cette fraction du génome.

### VI. La cartographie physique

Les cartes génétiques permettent de situer les gènes et les marqueurs les uns par rapport aux autres le long des groupes de liaison. Les méthodes de la cytogénétique, qui se sont naturellement développées sur les espèces à grands génomes, pour lesquelles les chromosomes sont facilement repérables au microscope, ont permis de faire la correspondance entre groupes de liaison et chromosomes. C'est particulièrement le cas du blé tendre : on a construit des lignées où manque une paire de chromosomes ou une paire de bras chromosomique. Cette perte d'un ensemble de gènes n'empêche pas le développement de la plante, qui possède encore deux jeux complets de gènes équivalents du fait de son état hexaploïde. On peut alors déduire de son absence le chromosome porteur du gène que l'on cherche à localiser. L'hybridation *in situ* de séquences d'ADN rendues fluorescentes permet de les localiser directement sur les chromosomes. Elle permet aussi de décrire la constitution chromosomique de génomes complexes résultant d'hybridations interspécifiques.

Le développement de banques génomiques en YACs (pour *Yeast Artificial Chromosomes*) où le génome est coupé en morceaux de quelques centaines de kilobases et chaque morceau intégré dans un chromosome artificiel de levure permet d'établir la carte physique du génome. L'ordonnement des différents YACs et la localisation sur ces derniers des marqueurs amènent à faire la correspondance entre les distances génétiques, mesurées en pourcentages de recombinaisons, et les distances physiques, mesurées en nombre de paires de bases d'ADN. Une fois complétée la carte physique, ce qui sera bientôt le cas de l'arabette et du riz, on peut localiser un gène directement par hybridation de marqueurs proches sur la banque de YACs ordonnée.

## VII. Les applications

L'établissement des cartes génétiques chez les végétaux cultivés a un intérêt qui n'est pas uniquement académique. On peut aujourd'hui sélectionner beaucoup plus efficacement les variétés cultivées en contrôlant au cours des croisements la transmission des allèles favorables des gènes importants. Ce sont soit les gènes eux-mêmes que l'on caractérise au niveau moléculaire, soit les marqueurs proches de ces gènes.

## VIII. Les plantes transgéniques

La possibilité de transformer génétiquement les plantes représente l'autre direction privilégiée des créateurs de nouvelles variétés (transgénèse végétale, OGM). A partir du moment où un gène est cloné il est possible, pour un certain nombre d'espèces, de l'intégrer au génome de la plante et de le faire s'exprimer. On peut réaliser cette transformation en utilisant comme vecteur des plasmides bactériens. On peut aussi transformer directement des cultures cellulaires en les bombardant avec de minuscules billes de métal enrobées de l'ADN à introduire. La faculté que possèdent les plantes de régénérer un individu entier à partir d'une cellule quelconque permet alors de récupérer des individus transformés et de les multiplier.

De nombreux exemples sont déjà bien connus : celui de la tomate dont le mûrissement peut être retardé par l'introduction d'un gène (le transport devient alors plus aisé du fait de sa fermeté) ou encore ces nouvelles variétés de colza ou de betterave résistantes à un herbicide qui facilitent la tâche des agriculteurs. Pour le colza comme pour la betterave on connaît des espèces proches, au sens géographique comme au sens évolutif, avec lesquelles des hybridations naturelles se produisent et qui peuvent à leur tour acquérir le transgène.

Ces quelques exemples posent des questions qui, sans être de même nature que les questions éthiques, interpellent le législateur comme le simple citoyen. Pourtant il faut aussi garder à l'esprit que, pour les nombreuses espèces de plantes où la transgénèse est aujourd'hui possible, on va pouvoir réduire considérablement l'épandage d'engrais et de pesticides, et sauvegarder notre environnement, avec des plantes plus efficaces et plus résistantes aux différents ravageurs. En plus des instances internationales, deux comités d'experts indépendants ont été mis en place en France, la Commission de génie génétique et la Commission de génie biomoléculaire, pour réfléchir à ces questions et réglementer les pratiques des laboratoires et des entreprises commerciales.

On a récemment introduit chez le peuplier un gène contrôlant certaines étapes de la floraison de l'arabette. Les peupliers transformés ont fleuri la première année de leur culture, alors qu'il faut normalement une dizaine d'années pour qu'un peuplier fasse des fleurs. On imagine l'immense intérêt pour les généticiens des arbres de pouvoir raccourcir le temps de génération.