

UNIVERSITÉ BATNA 2

FACULTÉ SNV

DÉPARTEMENT D'ÉCOLOGIE ET ENVIRONNEMENT

L3 BGV

MODULE: Biotechnologies et culture des tissus végétaux



# *Cours 1:* **Bases biologiques des cultures *in vitro***

Dr. BOUSWANE NH

# 1. *généralités*

1. Les biotechnologies végétales sont des biotechnologies –techniques industrielles- où le matériel végétal constitue la matière première.

Les biotechnologies végétales permettent l'amélioration et la production des plantes en masse .



## 2. Principaux buts des biotechnologies végétales

- La multiplication massive de plantes saines et/ou hybrides avec éventuellement une production commerciale.
- la création de nouveaux génotypes par: Sélection de variants somaclonaux ou gamétoclonaux intéressants présentant des caractères de résistance aux stress biotiques ou abiotiques).
- Utilisation des cellules végétales pour la production massive de molécules à forte valeur; métabolites secondaires: médicaments, biocarburants...

# 3. La Culture in vitro

Les cultures in vitro végétales sont des cultures d' **explants** de plantes, sur un **milieu synthétique**, dans des **conditions stériles**, dans un **environnement contrôlé** et dans un **espace réduit**.

## Un explant:

- \* graine
- \* organe (feuille, racine...)
- \* morceau d'organe
- \* un tissu (méristème, épiderme....)
- \* cellule
- \* protoplaste



**Milieu synthétique:** composé généralement d'eau, de sels minéraux (macro et micro-éléments), d'hormones végétales, de vitamines, de **sucre**, et pour les milieux solides: un agent gélifiant. Ce milieu doit être adapté en fonction de l'espèce et du but recherché (multiplication, croissance, production de racines, etc).

**Conditions stériles:** le milieu de culture, riche en sucre, étant très propice au développement de bactéries et de champignons, il est important de travailler avec du matériel stérilisé. Même les explants doivent être désinfectés.

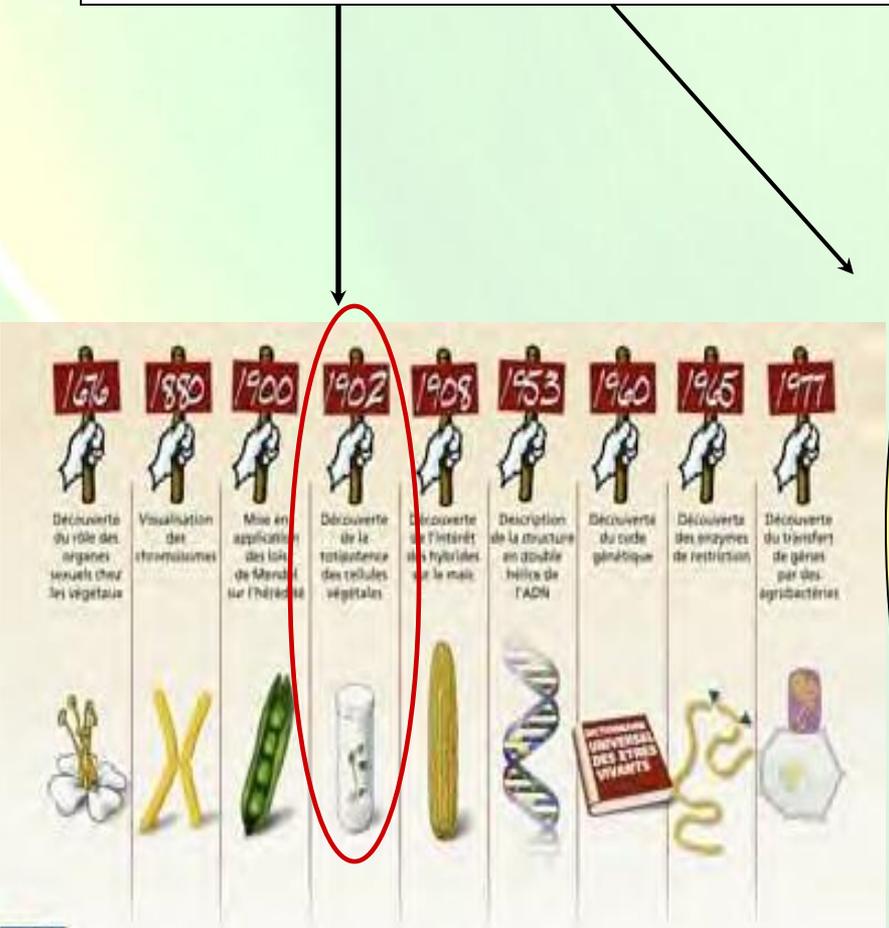
**Environnement contrôlé:** ce contrôle concerne la température ainsi que l'intensité et la durée de l'éclairage.

**Espace réduit:** les plantes sont maintenues à une faible taille dans des bocalux. Ceux-ci sont rangés sur des étagères dans des chambres de culture (= environnement contrôlé).

**3.1 Historique:**

Certaines cellules végétales ont la capacité de régénérer la plante entière. Cette propriété, qui s'exprime dans la multiplication végétative naturelle est connue et utilisée depuis longtemps, avec le bouturage par exemple.

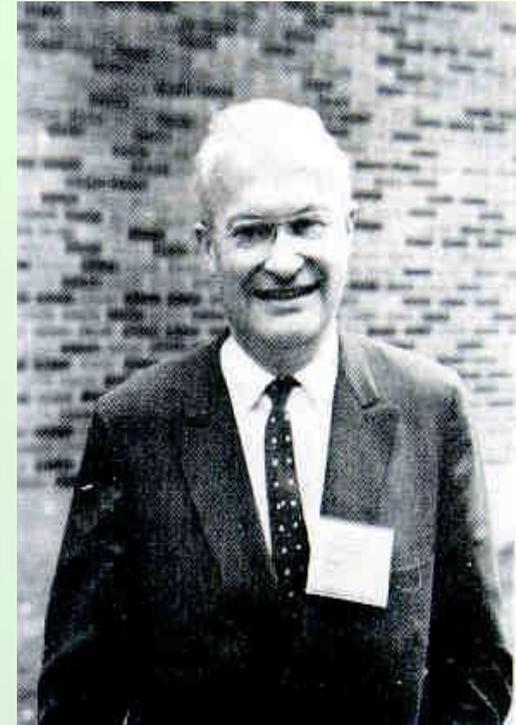
1902. Découverte de **la totipotence** des cellules végétales par **Haberland**. Un tissu végétal est capable de régénérer une plante



1950. Premières techniques de culture in vitro. Il s'agit de la technique de multiplication végétative, développée par **Morel et Martin**, sur la pomme de terre.

### 3.1 Historique:

- mise en évidence de l'auxine dans les années 1930.
- En 1950, la découverte de l'existence d'autres hormones de croissance végétales qui contrôlent la formation de racines (c'est la rhizogenèse) et le développement des parties aériennes de la plante.
- Ces hormones, doivent être fournies aux cellules en culture.
- De plus, on a déterminé que CIV nécessitait une certaine hygiène: c'est l'asepsie.



## 4. Totipotence

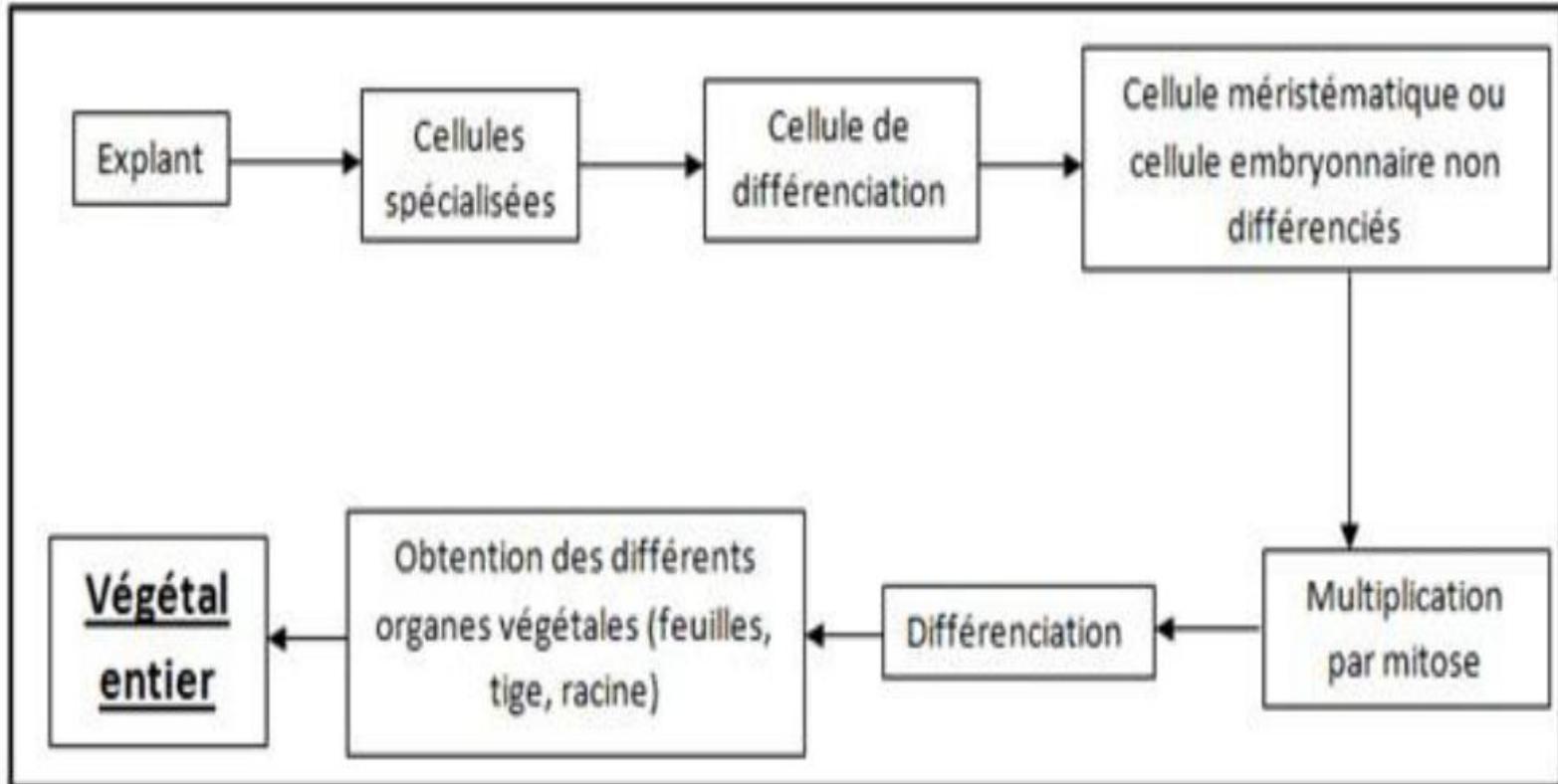


C'est l'aptitude de la cellule végétale à exprimer la totalité de ses potentialités pour donner **un organisme entier**.

Une cellule est dite totipotente quand elle a la **capacité** de se **différencier** en n'importe quelle **cellule spécialisée** et de se structurer en formant un **organisme** pluricellulaire.

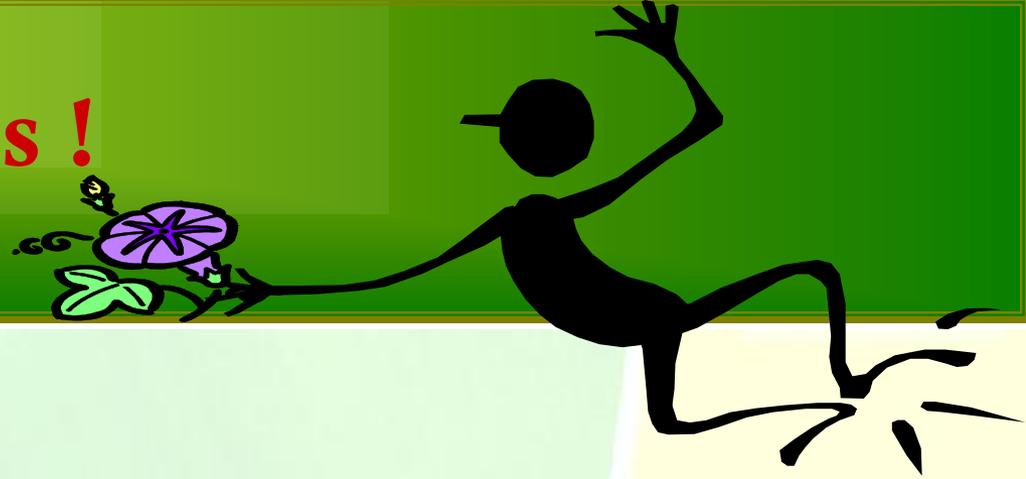
En effet, les cellules végétales, prélevées sur un organe quelconque d'une plante, possèdent la capacité de **régénérer** un **individu** complet **identique** à la plante **mère**.

La totipotence débute par la formation de **callus** : amas de cellules **indifférenciées** qui permet de **régénérer** un individu entier **génétiquement identique** à la plante **mère**. Pour cela, il faut que les **explants** soient placés dans des **conditions** appropriées.



**Schéma explicatif de la totipotence**

# Moments clés !



## ➤ Multiplication végétative

Dans les années 60 et 70 que fut exploité le potentiel de multiplication de la culture in vitro.

A partir d'un seul bourgeon, on peut obtenir plusieurs millions de nouvelles plantes en un an.

La mise en œuvre de ce mode de multiplication nécessite pour chaque nouvelle espèce ou variété, l'élaboration de milieus de culture particuliers

## 4. Milieu de culture:

Le milieu de culture est important pour la croissance. Il est le plus souvent une solution aqueuse rendue semi-solide ou moyen de gélose (agar). Remplaçant le sol et suppléant la plante, il doit contenir différents éléments.

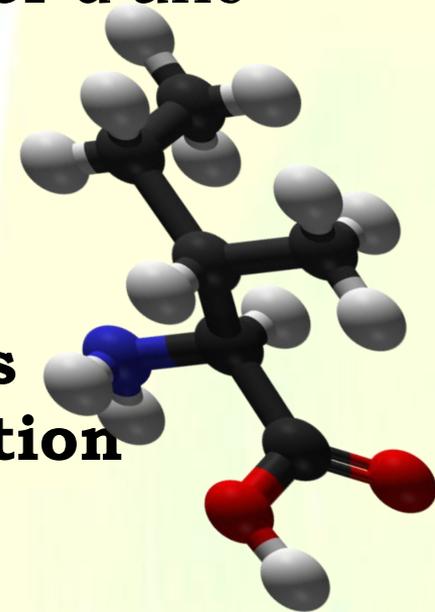


**La composition du milieu de culture dépend du: matériel végétal (espèce, variété, cultivar. .Etc.), type d'explant (taille), l'objectif de la culture.....**

Très généralement il est composé de **sucre** (énergie), des éléments **minéraux**, des **régulateurs de croissance**, des **vitamines**, des composés **organiques** (acides aminés....)

La **concentration** de ces composés peut **varier** d'une **espèce** à l'autre, mais ces variations n'ont qu'une **incidence faible** sur les réactions des **cellules**.

Les **facteurs essentiels** sont Les **régulateurs de croissance** qui stimuleront la **multiplication cellulaire** et **orienteront** la **morphogenèse**.



## Les régulateurs de croissance

- Hormones et régulateurs de la croissance végétale se regroupent en familles; les deux principales sont: l'**auxine**, les **cytokinines** et les **gibbérélines**. Elles commandent le programme de croissance des cellules végétales;
- Leurs effets varient avec les concentrations utilisées et le dosage, à doses élevés, ils peuvent se montrer inhibiteurs ou toxiques.

Les cellules des plantes ont la capacité de régénérer un organisme complet >>> l'apport d'hormones en quantités appropriées dans un milieu où croissent des cellules déclenche la formation d'organe.

Ainsi, selon la proportion d'auxine et de cytokinine, les cellules donnent naissance à des tiges, à des racines ou à des tissus indifférenciés.



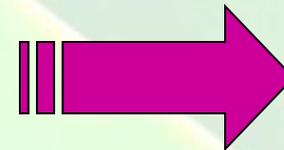
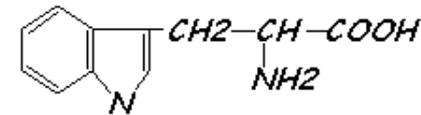
# A. L'auxine

fabriquée dans l'**apex** des tiges, dans les méristèmes et les jeunes feuilles des bourgeons terminaux à partir d'un **acide aminé**, le **tryptophane**. Une fois fabriquée, l'hormone migre vers ses **cellules cibles**. Ce transport s'effectue **des apex vers la base**, on dit que le transport de l'auxine est **polarisé**.

Transport  
de l'auxine



← Apex : les cellules synthétisent l'auxine (à l'aide de précurseurs comme le tryptophane)

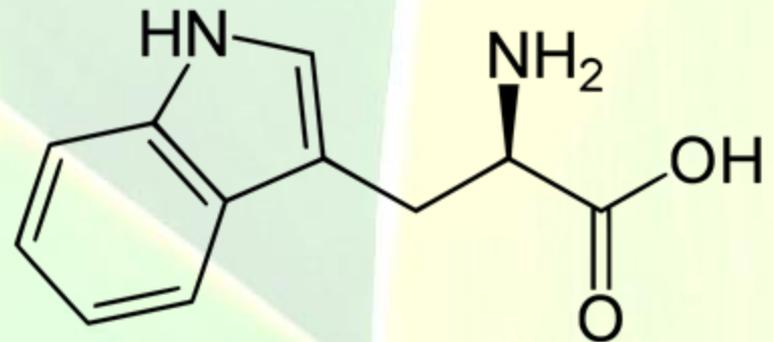


Effet biologique :  
croissance

## Rôles

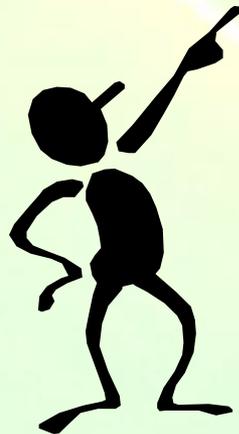
Les Auxines possèdent de nombreuses propriétés.

- Activent la multiplication cellulaire (mitose) ;
- Amènent la formation de racines (rhizogénèse) ;
- Stimulent le métabolisme.



## B. La cytokinine

- C'est une famille d'hormones découverte par Skoog, quand il remarqua des résultats aberrants ou non cohérents dans l'étude des auxines. Il appela cette nouvelle forme d'hormones les kinétines, puis cytokinines.



- Les cytokinines sont des hormones synthétisées par la racine.
- Lorsque l'on injecte de la cytokinine à la base d'une tige, on remarque que cette dernière migre vers le bourgeon où elle se concentre. Elle favorise le débourrage des bourgeons axillaires.
- La cytokinine contrôle le développement des feuilles.

## *Rôles*

-Agissent en synergie avec les auxines avec un effet stimulant sur le métabolisme et sur la division cellulaire.

Si de fortes concentrations de cytokinines sont combinées à des concentrations plus faibles d'auxines, les cytokinines ;

-Agissent en synergie avec les auxines ;

- Activent la multiplication cellulaire (mitose) avec la formation d'un cal.

# Rôle des auxines et des cytokinines dans l'organogenèse

Le rapport auxines / cytokinines détermine le devenir des tissus en culture,

Notion de balance hormonale

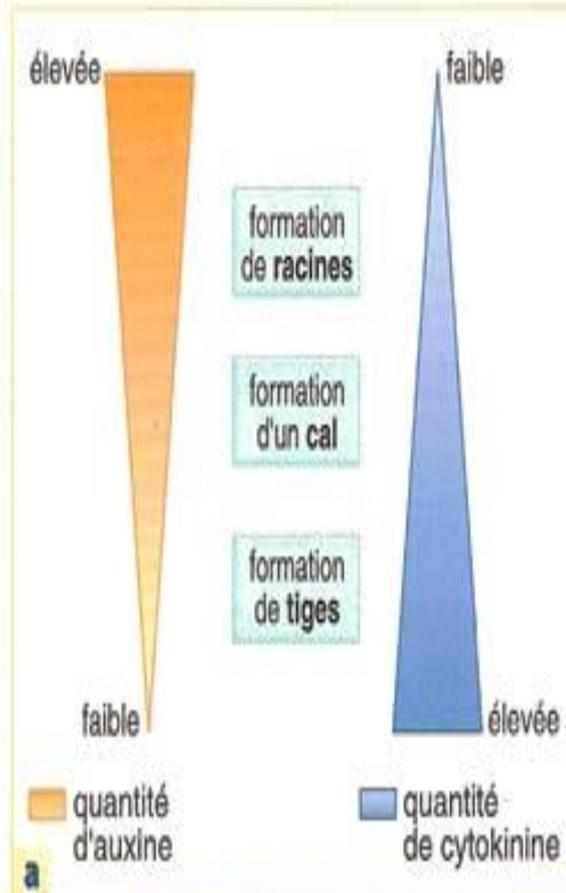
- En **concentrations égales**->**division** de cellules indifférenciées
- **Auxine** -> formation de racines
- **Cytokinines** -> bourgeons



## Le contrôle de l'organogenèse par les hormones

On peut orienter l'organogenèse d'un cal (tissu peu différencié) en modifiant les proportions d'hormones dans le milieu de culture.

Le *document 3a* présente les quantités relatives d'auxine et de cytokinine nécessaires pour obtenir différentes réponses morphogéniques.



**Doc.** (a) Hormones (auxine et cytokinine) et formation d'organes (cal, racines, tiges) ;  
(b) plusieurs racines se différencient à partir d'un cal sous l'action combinée d'auxine et de cytokinine.