

## LES VITROVARIATIONS ET LEURS HÉRÉDITÉS, EPIGÉNÉTIQUE OU EPIGÉNIQUE

**SIBI Monique L., Professeur**  
**Université de Lorraine/INPL**  
Amélioration Génétique et  
Biotechnologies Végétales  
*sibi5@univ-lorraine.fr*

### Avant-propos :

Des liens ont été établis dans le document :

- dans le texte, en cliquant sur les 1ères lettres des termes en [bleu et soulignés](#), on appelle des illustrations (tableaux, figures, etc.) ;
- au bas de ces illustrations, en cliquant sur le **sigle du paragraphe d'origine** (le numéro de page y est aussi indiqué), on retourne à la page du texte dont on vient.
- en bas de page, en cliquant sur : **1111** on revient au **Sommaire**.

### Document de 115 pages :

Sommaire : 2 pages  
Texte : p. 3-45  
Références bibliographiques : p. 46-63  
Illustrations et additifs : p. 64-115

### Illustrations :

Planches h1-h4 sur l'orge : Malika Fakiri (Docteur, INPL/ENSAIA)  
Planches 5-6 "Essai tomate" : Pierre Pécaud (Dir. du Centre INRA-Avignon, Montfavet)  
Tableaux, images et autres planches : Monique Sibi, et Adrien Sibi (Infographiste)

## LES VITROVARIATIONS ET LEURS HÉRÉDITÉS, EPIGÉNÉTIQUE OU EPIGÉNIQUE

SIBI Monique L., Professeur  
Université de Lorraine/INPL  
Amélioration Génétique et  
Biotechnologies Végétales  
[sibi5@univ-lorraine.fr](mailto:sibi5@univ-lorraine.fr)

### Sommaire

<b>I- Culture de tissus et vitrovariation, des paliers historiques.....</b>	<b>3</b>
<b>I A- De la régénération de bourgeons à la vitrovariation.....</b>	<b>3</b>
I Aa- les cultures <i>in vitro</i> , un siècle de travaux et avancées.....	3
I Ab- les premiers vitrovariants, le constat.....	3
1— tissus somatiques.....	3
2— tissus gamétophytiques.....	4
I Ac- hérédités et types de modifications.....	4
1— autofécondation des plantes régénérées.....	4
2— hérédités en croisements.....	4
<b>I B- Adopter une Terminologie.....</b>	<b>5</b>
I Ba- modifications spontanées <i>in situ</i> .....	5
I Bb- souches cellulaires aux potentialités nouvelles.....	5
I Bc- matériel régénéré modifié et type d'hérédité.....	6
1— régénérants variants.....	6
2— hérédités des modifications.....	7
<b>II- Plasticité du génome et techniques diversifiantes.....</b>	<b>8</b>
<b>II A- Remodelage <i>in vitro</i> des potentialités et organogenèse.....</b>	<b>8</b>
II Aa- action stressante du milieu et structures biologiques.....	8
1— <i>in situ</i> , l'unité est la plante.....	8
2— <i>in vitro</i> , l'unité est la cellule ou l'explant.....	8
II Ab- taille de l'explant, degré d'organisation, et régénération.....	9
<b>II B- Malléabilité du génome et variabilité.....</b>	<b>9</b>
II Ba- régénération à partir de cellules modifiées.....	9
II Bb- fond génétique du matériel végétal.....	10
II Bc- longue phase callogène ou régénération directe.....	11
1— phase callogène prolongée et mutations.....	11
2— régénération directe ou après callogénèse et taux de recombinaisons.....	12
3— indifférence de la durée de callogénèse et variants épigéniques.....	13
II Bd - conclusions.....	13
<b>III- Approfondir pour cerner des hypothèses.....</b>	<b>14</b>
<b>A- Structure du végétal et régénération.....</b>	<b>14</b>
Aa- organisation de la plante en sous-couches.....	14
Ab- nombre de cellules à l'origine d'un régénérant.....	14
<b>B- Expression et transmissibilité héréditaire des modifications.....</b>	<b>15</b>
Ba- registre dans lequel entre la modification.....	15
Bb- hérédité de la cible biologique modifiée.....	16
<b>IV- Construction de tests expérimentaux.....</b>	<b>17</b>
<b>IV A- Préalables à une analyse cohérente.....</b>	<b>17</b>
IV Aa- impératifs biologiques du matériel.....	17
IV Ab- exigences quant aux tests et traitement des données.....	17
IV Ba- dénombrement chromosomique des régénérants.....	18

<b>IV Bb- descendance d'autofécondation des plantes régénérées.....</b>	<b>19</b>
1— descendance identique à celle du témoin.....	19
2— ségrégation de la descendance.....	19
x •• implication du compartiment chromosomique nucléaire.....	19
y •• implication extrachromosomique nucléaire ou cytoplasmique.....	20
3— phénotype variant homogène pour toute la descendance.....	20
4— conclusion.....	21
<b>IV Bc- croisements diallèles et autofécondation des produits.....</b>	<b>21</b>
1— croisements réciproques identiques.....	22
2— croisements réciproques significativement différents.....	23
x •• sélection gamétique.....	24
y •• effets différentiels extrachromosomiques ou épigénétiques.....	25
<b>V- Présentation d'exemples concrets.....</b>	<b>26</b>
<b>V A- Vitrovariants de tissus somatiques ou gamétophytiques.....</b>	<b>26</b>
V Aa- régénération de vitrovariants.....	26
1— description des régénérants.....	26
2— dénombrements chromosomiques.....	27
V Ab- vitrovariation chez les descendances.....	28
1— descendances d'autofécondation.....	28
2— analyses des produits de croisements diallèles.....	29
3— autofécondation des produits de croisements.....	29
<b>V B- Synthèse des résultats et proposition d'hypothèses.....</b>	<b>30</b>
Ba— résultats.....	30
Bb— hypothèses.....	30
<b>VI- Utilisations pour la diversification en création variétale.....</b>	<b>32</b>
<b>VI A- Conditions stressantes et vitrovariants orientés.....</b>	<b>32</b>
VI Aa- milieu de culture et agents stressants.....	32
1— impact du milieu de culture.....	32
2— agents stressants.....	32
VI Ab- modalités d'application du stress.....	33
1— stress brutal.....	33
2— stress progressif.....	33
VI Ac- augmentation de la tolérance aux stress.....	34
<b>VI B- Intégration en amélioration variétale.....</b>	<b>34</b>
VI Ba- vitrovariants recherchés ou indésirables.....	34
VI Bb- vitrovariants et sélection.....	35
<b>VII- Discussion et Conclusions.....</b>	<b>37</b>
<b>A- Discussion.....</b>	<b>37</b>
1- des exemples dans tous les domaines sont présentés dans la bibliographie.....	37
2- variabilité des régénérants issus de culture <i>in vitro</i> chez les végétaux :.....	38
3- les études montrant les spécificités héréditaires des vitrovariants :.....	38
4- nomenclatures adoptées et particularités de l'hérédité :.....	39
5- intérêt et qualité du matériel végétal pour cette étude :.....	40
6- variabilité révélée ou induite ? rapidité d'apparition :.....	41
7- quelles cibles et mécanismes biologiques des vitrovariants sont concernés ou modifiés ?.....	41
8- aboutissement de ces observations et ces analyses.....	42
9- quels supports pourraient expliquer les hérédités singulières :.....	42
<b>B- Conclusions.....</b>	<b>44</b>
<b>Références bibliographiques des auteurs cités, et complémentaires.....</b>	<b>46</b>
<b>Ressources Illustratives.....</b>	<b>64</b>

## I- CULTURE DE TISSUS ET VITROVARIATION, DES PALIERS HISTORIQUES

### IA- DE LA RÉGÉNÉRATION DE BOURGEONS À LA VITROVARIATION

#### IAa- les cultures *in vitro*, un siècle de travaux et avancées

Après les tentatives de Haberlandt en 1902, les balbutiements de la culture *in vitro* ont été amorcés et présentés par Robbins en 1922, puis par White dès 1931 (1931, 1932 a et b, 1933). Cependant, les premières expérimentations décrivant des phénomènes de régénération sur carotte ont été publiées par Nobécourt en 1946. Ensuite, nombreux autres travaux réalisés au cours des années 50 ont été rassemblés par Gautheret (1959, 1964).

Ultérieurement, les techniques conduisant à la régénération de bourgeons à partir de tissus somatiques et à la multiplication végétative de plantes entières se sont diversifiées: culture d'entre-noeuds, de bourgeons préformés, d'apex, de méristèmes, de cellules isolées ou de protoplastes, ou encore, embryogenèse somatique (Halperin et Wetherell, 1964).

De même, la régénération d'embryons puis de plantes haploïdes à partir des gamétophytes mâles ou femelles a été progressivement établie chez de nombreuses espèces, avec les premières réussites sur le *Datura* en 1964 par Bourgin, et les premiers débuts réels sur le blé tendre, dans les années 70 (Picard, 1973; Ouyang *et al.*, 1973; Wang *et al.*, 1973).

Dans tous les cas la **conformité** au matériel de départ était posée, par la communauté scientifique, comme un **dogme inébranlable**.

[\(TblOrgVv\)](#)

#### IAb- les premiers vitrovariants, le constat

##### 1— tissus somatiques

Après régénération de tissus somatiques, les premiers vitrovariants ont été signalés dès les années 1970 par Lutz, et par Mousseau sur le tabac ; ensuite, en 1971 par Heinz et Mee sur la canne à sucre et par Sibi sur la laitue de 1971 à 1976, puis sur la tomate (Sibi, 1979 à 1990 ; Evans et Sharp, 1983) et ensuite sur les matériels les plus divers, par un grand nombre d'auteurs.

Ce phénomène a aussi été décrit, après embryogenèse somatique des parois des anthères de la renoncule *Ranunculus asiaticus*, par Meynet *et al.*, en 1990.

[\(ConfNConf\)](#)

[\(TablList69-80\)](#)

[\(EmbSRenoncule\)](#)

## 2— tissus gamétophytiques

L'apparition de plantes modifiées après régénération par culture *in vitro* de gamétophytes, puis doublement des chromosomes, a également été décrite pour la première fois, après l'androgenèse du tabac, en 1976 par Burk et Matzinger, puis du riz, par Truong en 1977, mais aussi après l'androgenèse et la gynogenèse de l'orge, à partir de 1982, par San Noeum et Ahmadi.

## I Ac- hérédités et types de modifications

Les hérédités des modifications ont été examinées par analyse des descendance d'autofécondation des nouveaux types, comparées à celles du témoin de départ, exclusivement multiplié par graines.

Et, le cas échéant, le suivi du comportement des produits de croisements réciproques a été complété par l'étude de leur descendance d'autofécondation.

### 1— autofécondation des plantes régénérées

L'analyse de l'expression héréditaire, après autofécondation, des nouveaux caractères des vitrovariants issus de tissus somatiques, a donc été entreprise pour la première fois sur la laitue par Sibi (1971-76), puis sur le tabac par Binns et Meins (1973).

Ce même type d'étude a alors été réitéré sur tomate (Sibi, 1979-86; Evans *et al.*, 1984) puis utilisé par nombreux auteurs; des travaux ont ainsi porté, entre autres, sur diverses céréales dont le riz (Bouharmont *et al.*, 1989) et le blé tendre (Barakat *et al.*, 1995-98).

De même, ont été décrits les vitrovariants haploïdes doublés, issus de l'androgenèse du tabac (Burk et Matzinger, 1976 ; Burk, 1980), du riz (Truong-André, 1977 ; Kouadio, 1979; Dossou-Yovo *et al.*, 1982, Schaeffer, 1982; Schaeffer *et al.*, 1984), du blé tendre (Picard *et al.*, 1986), puis provenant de l'androgenèse et de la gynogenèse de l'orge (San Noeum et Ahmadi, 1982; San Noeum, 1987; Sibi *et al.*, 1991-1994).

### 2— hérédités en croisements

Des croisements ont aussi été effectués, de façon à localiser les modifications selon les compartiments cellulaires, et tout particulièrement les croisements réciproques (diallèles) quelquefois suivis de l'autofécondation des produits; mais, vue la lourdeur du travail, cette dernière phase fût assez peu usitée.

Les premières expérimentations de ce type ont donc été réalisées puis présentées, dès 1974 par Sibi, sur la laitue puis sur la tomate, tout comme ensuite, l'ont été les vitrovariants androgénétiques de tabac (Matzinger et Burk, 1984), de riz (Kouadio, 1979), ou androgénétiques et gynogénétiques d'orge (San Noeum, 1987; Sibi *et al.*, 1990-1994).

## I B- ADOPTER UNE TERMINOLOGIE

La terminologie employée, pour signaler la présence de cellules ou d'individus à l'aspect inattendu ou dont le comportement est nouveau, est généralement descriptive, quelquefois elle tente de recouvrir des hypothèses.

### I Ba- modifications spontanées *in situ*

Le terme “variant” fut le premier utilisé par les botanistes, maraîchers et horticulteurs pour spécifier toute unité naturelle modifiée, apparue brutalement et spontanément *in situ*, sans aucun *a priori* quant aux potentialités héréditaires.

Toutefois, la littérature scientifique anglo-saxonne répertorie divers termes tels que « **genotrophs** », pour spécifier les variants géants de lin obtenus *in situ* par Durrant (1962), après introduction d'engrais chimiques dans le sol. Ou encore, chez le maïs, des mécanismes de transformations de type équivalent, furent appelés par Brink *et al.* (1962) « **paramutations** ». Ce dernier terme fut repris et discuté par Tartoff (1973) et aussi par Holliday (1987) qui proposa « **epimutation** » pour regrouper cet ensemble, et désigner des modifications de l'ADN apparaissant *in situ* avec de très fortes fréquences.

### I Bb- souches cellulaires aux potentialités nouvelles

Dans la plupart des travaux de cultures *in vitro*, les modifications enregistrées sont présentées comme des mutations occasionnées par la multiplication cellulaire.

Pourtant, que les souches établies soient animales ou végétales, il est fréquent que les changements manifestés ne puissent être interprétés en termes de mutations.

Ainsi, au sein de cultures *in vitro* de tissus humains, en constatant que les fréquences de mutants étaient supérieures à celles des révertants (qui donnent le taux normal de mutation d'un locus), De Mars (1974) conclut à un nouvel état de fonctionnement du matériel et il qualifia le phénomène, de « **perigenic modifications** » pour indiquer une implication du « compartiment » cellulaire situé directement autour du gène.

## I Bc- matériel régénéré modifié et type d'hérédité

### 1— régénérants variants

Les **vitroplants**, obtenus par régénération *in vitro* de tissus végétaux peuvent présenter un phénotype soit modifié, soit conforme.

La terminologie désignant les nouveaux phénotypes obtenus directement après régénération *in vitro* a été relativement diversifiée, mais la dénomination « **phénovariant** » fut la première proposée par Sibi (cité par Orton, 1984) entre 1971 et 1976, et les individus conduisant à des modifications héréditaires furent dénommés “mnémovariants”.

C'est en 1981 que Larkin et Scowcroft dans une méta analyse, inventorièrent un certain nombre des cas de variations obtenues après culture *in vitro*, et qu'ils employèrent l'expression « **variation somaclonale** » (somaclonal variations), terme dès lors adopté par les anglo-saxons.

Mais faut-il rappeler que le terme “clone” implique une multiplication à **l'identique** donc sans aucun changement phénotypique ou génétique entre le matériel de départ et le produit final.

Remarquons aussi que lors de la multiplication végétative *in situ*, les mutants spontanés, qui apparaissent au cours du clonage des organes somatiques, devraient être classés, eux aussi, parmi la variation dite "somaclonale", puisqu'il s'agit de clonage et qu'aucune référence à « l'*in vitro* » n'est suggérée.

De plus, comment attribuer le terme « **somaclonal** » aux variants provenant de la régénération de gamétophytes mâles ou femelles. Ce problème fut d'ailleurs perçu par Evans *et al.* (1984) qui utilise le terme « **gametoclonal** », pour décrire des variants qui, de toute façon, ne sont en rien issus d'un processus strictement clonal puisqu'ils se distinguent génétiquement du matériel d'origine. Par ailleurs, un embryon somatique, donc issu de clonage à partir de tissus somatiques, ne devrait-il pas être répertorié comme « embryoclonal », laissant planer un doute sur la conformité ou l'écart à la norme.

Ainsi, les termes “**vitrovariant**” et “**vitrovariation**” semblent-ils mieux adaptés pour généraliser la présence d'un **matériel variant, issu de culture *in vitro*, quel que soit l'organe, le tissu d'origine, la technique d'obtention, ou le comportement héréditaire** (Sibi, 1981 à 2005).

**(NomenclVv)**

## 2— hérédités des modifications

Lors de culture de tissus de tabac, des changements, soit transitoires, soit stables après régénération et reproduction sexuée, ont été appelés “**habituations**” par Binns et Meins (1973) puis Meins et Lutz (1980), et “**mutation-like adaptation**” par Skokut et Filner (1980), car ces modifications ne pouvaient être considérées comme le résultat de mutations conventionnelles.

Le fait que certains de ces comportements aient été qualifiés de « **epigenetics** » (épigénétiques), c'est-à-dire non permanents, alors qu'ils sont transmissibles par voie sexuée, amena Filner (1980) à souligner les confusions de la terminologie, comme déjà ressenti par un grand nombre d'auteurs, tel De Mars (1974) qui utilise le terme “**perigenic**”, comme dit précédemment.

Ainsi, les recherches entreprises depuis 1971 sur des lignées homozygotes de laitue (1971 à 1976), puis de tomate (1979 à 1986) montrent qu'en plus du taux accru de mutants accompagnant les cultures *in vitro*, il peut apparaître une autre catégorie de variations, qui **ne peut** être explicitée en termes de supports à hérédité mendélienne, ou spécifiquement cytoplasmique.

Ce type de conclusions a été confirmé par divers travaux, dont ceux effectués sur des haploïdes doublés d'orge issus d'androgenèse ou de gynogenèse (San Noeum et Ahmadi, 1982; San Noeum, 1987; Sibi *et al.*, 1991-1994 ; Fakiri, 1995).

Le terme “**épigénique**” a ainsi été proposé et discuté par Demarly et Sibi (1974 à 96) pour recouvrir des **modifications transmissibles par voie sexuée, et dont l'hérédité ne présente, ni ségrégation mendélienne, ni comportement strictement cytoplasmique**; ce concept sera développé plus loin.

Soulignons encore que « épigénique » se distingue **ici** du terme « épigénétique », car ce dernier ne devrait désigner que des expressions transitoires.

Cependant, la communauté scientifique semble actuellement n'utiliser que le second, “**épigénétique**”, tout en reconnaissant les biais d'acception.

## III- PLASTICITÉ DU GÉNOME ET TECHNIQUES DIVERSIFIANTES

(Retour vers (p.32) : [VI Aa](#))

### II A- REMODELAGE *IN VITRO* DES POTENTIALITÉS ET ORGANOGÈNESE

#### II Aa- action stressante du milieu et structures biologiques

##### 1— *in situ*, l'unité est la plante

Ici, les unités soumises aux pressions et au choix sont les plantes constituant la population.

Dans le végétal intègre, les corrélations internes sont maintenues, de même que leur rôle sur les cellules. Les conditions de stress imprimées *in situ* confèrent une action sur des cibles biologiques et impliquent les structures génétiques correspondantes.

Confrontée à la **sélection naturelle** la population présente un modelé (ou une diversité) correspondant aux exigences des divers chocs rencontrés ; il en découle un polymorphisme génétique associé.

Dans le cadre de la **sélection effectuée par l'homme**, la diversité ou l'homogénéité génétique sont liées à l'échantillon de départ, aux critères de choix et à la stratégie adoptée, selon les caractéristiques biologiques de base de la plante.

Ceci peut conduire à un système de variabilité spécifique qui diffère de celui exprimé, par les plantes entières d'une population dans la nature.

([FctInSituVitro](#)) (Retour [vers VI](#) (p.32))

##### 2— *in vitro*, l'unité est la cellule ou l'explant

Tout d'abord, l'explant végétal que l'on place *in vitro* se présente sous forme "nue"; autrement dit, la cellule, les groupes cellulaires, ou encore les fragments tissulaires, comme déjà décrit, sont isolés de leur contexte habituel et des corrélations internes associées qui étaient présentes *in situ*; le matériel se trouve alors prédisposé à la variation.

Ainsi, les pressions appliquées *in vitro* vont logiquement agir différemment de celles imprimées de façon classique *in situ*. Alors, si l'action stressante change, il en sera de même de l'impact biologique ; et par le fait, les modifications et la variabilité seront de type inhabituel et différeront totalement de celles exprimées par une plante entière (sélectionnée ou non par l'homme).

([FctInSituVitro](#))

## II Ab- taille de l'explant, degré d'organisation, et régénération

*In situ*, chaque cellule fait partie d'un organe intégré à l'ensemble de la plante ; son expression et sa régulation sont donc très précisément programmées et corrélées à la globalité du végétal.

En culture *in vitro* le volume de l'explant et son organisation détermine le degré de l'emprise des modifications relationnelles et du remodelage des expressions (**TblOrgVv**):

- un entre-noeud, un bourgeon préformé ou un apex différencié, sont déjà programmés et "stratifiés" dans leur devenir; alors, peu d'écarts de comportement sont à attendre des vitroplants obtenus, sauf si les conditions de culture ou le milieu, en raison de sa composition, déclenchent de fortes perturbations ou entraînent un développement, même minime, sous forme inorganisée;

- les tissus excisés, les cellules dissociées, les protoplastes peuvent donner une large variabilité, et les régénérants seront d'autant plus diversifiés que le développement passera par un stade cal.

(**OrgStabl**)

Il est à noter que l'embryogenèse somatique, même directe, peut aussi être génératrice d'une variabilité dont l'étendue, pour la renoncule, paraît dépendre de l'origine du tissu utilisé.

Si l'on peut constater une conformité du phénotype externe des régénérants provenant des ovaires, une large variabilité s'exprime pour les régénérants issus des parois des anthères.

(**EmbSRenoncule**)

## II B- MALLÉABILITÉ DU GÉNOME ET VARIABILITÉ

### II Ba- régénération à partir de cellules modifiées

La cellule possède maintes voies d'expression, car l'information chromosomique de base peut fonctionner selon diverses modalités.

Dans un cal non-morphogène (amorphe), seules les fonctions de survie sont nécessaires et doivent de ce fait demeurer intactes; mais, toute modification portant sur les structures biologiques et génétiques d'autres fonctions sont possibles, lorsqu'elles sont sans conséquence de létalité (Sibi, 1974) .

Ainsi, l'une quelconque des cellules peut se trouver perturbée et, par évolution de ses potentialités puis "**dérive**", donner naissance, après division, à deux cellules distinctes de celle de départ. Les files cellulaires, puis l'aire tissulaire générée, présenteront comme par "**contagion**" ces nouvelles aptitudes.

(**DériveContag**)

Avant régénération, ce même type d'événement peut se réitérer, au cours des diverses divisions cellulaires, et engendrer un grand spectre de variabilité, ou polymorphisme.

### **(Polymorphisme)**

Les observations et conclusions, touchant à la durée de la phase "cal" et à son rôle sur l'accroissement du taux de variations, semblent alors tout à fait logique, de même que l'impact des facteurs stressants appliqués pendant cette période.

Dès que le secteur tissulaire concerné par les modifications subit des phénomènes de morphogenèse, les cellules sont impliquées dans un fonctionnement spécifique de l'aboutissement en un bourgeon, et les nouveaux changements intrinsèques deviennent alors impossibles.

Cependant, la régénération à partir des zones modifiées permet de dupliquer ou "d'amplifier" les cellules concernées (Sibi, 1974) et de "transférer" ces modifications aux bourgeons néoformés, donc aux plantes régénérées, qui peuvent même s'avérer quelquefois être des chimères (provenant de cellules aux potentialités génétiques différentes).

### **(Polymorphisme)**

Il est alors possible de visualiser l'expression des potentialités nouvelles au travers de la plante entière et sa descendance ; le matériel régénéré peut donc être analysé génétiquement, quant à la stabilité et au comportement héréditaire de ces nouveaux caractères.

## **II Bb- fond génétique du matériel végétal**

L'impact du génotype sur la réussite des cultures *in vitro* a été rencontré par la plupart des auteurs et étudié, entre autres, par Keyes *et al.* (1980) au travers de l'analyse quantitative des potentialités régénératrices du trèfle violet.

Il est aussi à souligner que la malléabilité, ou la stabilité de comportement, semble être fonction du fond génétique.

Ainsi, De Nettancourt et Devreux (1977) montrent, selon l'homogénéité génétique, les modulations de l'expression des gènes impliqués dans l'autoincompatibilité gamétophytique de la tomate *Lycopersicon peruvianum*. Chez cette espèce allogame et très fortement hétérozygote les auteurs signalent, lors de la fixation de lignées par consanguinité, la transformation d'allèles d'autoincompatibilité d'un type, en un autre ( $S_1 \rightarrow S_2$ ), alors que ce phénomène n'apparaît jamais chez le matériel de départ, même soumis à de la mutagenèse (Sree-Ramulu, 1980, 1982). Tout se passe comme si des systèmes alternatifs contrôlaient une forme allélique ou l'autre, selon le degré d'homozygotie de la plante.

Ce type d'instabilité peut aussi apparaître lors de la culture *in vitro* de ce même matériel. Ainsi, Sree-Ramulu (1982, 1983) montre que les régénérations issues de la culture d'entre-noeuds ou de tiges, demeurant donc hétérozygotes, ne manifestent aucune modification au locus « —S » (\*), alors qu'après culture

d'anthères, les plantes haploïdes doublées, donc homozygotes, amènent à de nouvelles expressions alléliques « S », parmi lesquelles des réversions et aussi quelquefois le passage d'un contrôle gamétophytique vers un contrôle sporophytique.

Cet ensemble confirme donc la stabilité des allèles « S » dans un fond génétique à fort degré d'hétérozygotie et le rôle de la consanguinité sur les remaniements de comportement du système « —S ». Mais aussi, l'auteur conclut que les nouvelles spécificités apparues *in vitro* ne résultent pas de mutations ponctuelles au locus « —S », mais plutôt de modifications au niveau de la régulation du génome.

\* les diverses écritures de « S », respectent celles utilisées par les auteurs.

## II Bc- longue phase callogène ou régénération directe

### 1— phase callogène prolongée et mutations

Dès 1974, la durée de la culture *in vitro*, et plus précisément la longueur de la phase non-morphogène était supposée être un facteur de variabilité. Nous avons vu plus haut l'impact possible de la taille et de l'organisation de l'explant, de la perte des corrélations interne de l'organe, et de l'inorganisation ou du mauvais contrôle des divisions.

Diverses expérimentations ont permis de constater, à mesure des repiquages successifs *in vitro*, un accroissement des taux de mutants (Skirvin et Janick, 1976; Deshayes, 1976; Brettell *et al.*, 1980; Mc Coy et Phillips, 1982; Lee, 1984) et l'expression de caractères ancestraux (Sibi, 1974, 1976; Ahloowalia, 1986), comme si cette phase avait un effet mutagène sur les cellules cultivées ou si les systèmes de réparation des ADN étaient perturbés (Sibi, 1980-1990).

Ainsi, les plantes de tomate *Lycopersicon esculentum* obtenues à partir du développement direct d'apex (Novák et Maskovà, 1979) ou régénérées directement sur des fragments de feuilles paraissent ne donner lieu à aucun phénomène de variation phénotypique externe (Karthä *et al.*, 1977), alors que nombreux auteurs ont pu observer des modifications de toutes sortes pour les plantes régénérées à partir de cals.

[\(TabList69-80\)](#) ([TblOrgVv](#))

La majorité des vitrovariants de tomate semble correspondre à des mutants de gènes nucléaires, et leur fréquence d'apparition, par rapport au nombre de plantes régénérées, est comprise entre 56% (Sibi, 1979-81) et 5,6% (Evans *et al.*, 1984), avec la valeur intermédiaire de 17% (Buiatti *et al.*, 1985). La diversité des valeurs étant vraisemblablement liée aux différences génotypiques du matériel végétal et des techniques utilisées.

Ajoutons pourtant que, même la culture d'apex, ou un bref séjour *in vitro*, peuvent entraîner un enregistrement ou une « imprégnation » de cette phase, ainsi que souligné par les résultats qui suivent.

## 2— régénération directe ou après callogenèse et taux de recombines

Les cultures *in vitro* ont des effets particuliers sur les taux de recombines ; variations décrites sur la tomate *Lycopersicon esculentum*, par Sibi *et al.* en 1984, puis par Compton et Veilleux en 1991.

Les premiers travaux montrent qu'à la suite de la mise en culture *in vitro* de l'un des deux cotylédons de la plantule germée (le reste se développant en tant que témoin), les plantes régénérées présentent dans leur descendance, une augmentation des taux de recombines donc, théoriquement, de la distance entre les deux gènes marqueurs (étude d'un couple sur chromosome I, puis d'un autre sur chromosome II).

La valeur de cet allongement est comprise entre 6,07 et 6,91 c.M. (centimorgan), pour une distance génique des témoins respectifs de départ de 19,84 à 25,65 c.M., soit un accroissement relatif de 30,59 à 35,29%.

### (CréatTomt, Marq-CO, CO-Tomt, TauxCO)

Les seconds montrent (Compton et Veilleux, 1991) que non seulement il peut y avoir augmentation de la distance cartographique entre les gènes (un couple de marqueurs placé sur le bras long du chromosome III, et un autre sur le chromosome II) avec une valeur relative allant jusqu'à 18,8%, mais aussi, étant donné le triple marquage du chromosome III, des diminutions de longueur sur l'autre bras allant jusqu'à 9,5%.

Ajoutons que d'autres travaux effectués sur la pomme de terre par la même équipe (Singsit *et al.*, 1990) ont aussi montré, après régénération par cal, des augmentations des taux de recombines. Ces modifications ne sont donc pas spécifiques d'une seule espèce.

Il est à noter que le séjour *in vitro* nécessaire au phénomène d'augmentation des taux de recombines est relativement bref.

- Dans le premier cas, les régénérants sont obtenus, soit directement sur les cotylédons, donc dès le début de la phase de culture *in vitro*, ou encore, après un à deux repiquages.

- Dans le second, il s'agit aussi bien de régénérants issus de cals de cotylédons ou de pédoncules floraux, que de plantes provenant de micropropagation par culture d'apex.

Dans chaque situation d'augmentation des distances cartographiques, les auteurs impliquent la possibilité d'une amplification entre les marqueurs, ainsi que suggéré par l'augmentation des quantités d'ADN analysées, après culture *in vitro* de tissus végétaux (Nutti Ronchi, 1971; Nagl, 1972; Buiatti, 1977; Cullis et Cleary, 1986) de même que de tissus animaux (Schimke *et al.*, 1978).

Quant aux diminutions de longueur, elles seraient liées, selon Compton et Veilleux, à des remaniements chromosomiques telles les délétions.

En plus de ces hypothèses, il est permis de supposer l'existence d'un impact des cultures *in vitro* sur un mécanisme ou un contrôle plus général de la régulation des taux de recombinaisons (Sibi *et al.*, 1984; Compton et Veilleux, 1991), qui viendrait rééquilibrer le contrôle local du phénomène (Pandey, 1972).

### 3— indifférence de la durée de callogenèse et variants épigéniques

L'impact d'une longue durée de culture *in vitro*, qui avait pu être observé sur les taux de mutations géniques, semble ne pas affecter la fréquence des modifications "épigéniques". Effectivement celles-ci paraissent essentiellement dépendre du génotype (espèce, variété) et des conditions de culture *in vitro*. Ce type de vitrovariant peut ainsi apparaître dès le premier cycle *in vitro*, et sa fréquence, pour la laitue, semble stabilisée dès le troisième ou quatrième transfert.

Pour la tomate, les plantes régénérées après une courte phase de culture *in vitro*, ont donné jusqu'à 17% de descendances, porteuses de modifications épigéniques, et cette valeur n'est pas plus élevée lorsque les souches sont plus âgées.

## II Bd - conclusions

Le simple passage par culture *in vitro*, et surtout par une phase "cal", même brève, paraît donc faire partie des principaux facteurs de variabilité. Le nombre de cycles semble essentiellement agir sur le taux de mutants nucléaires, et il apparaît surtout que la "plasticité" du génotype et de l'espèce ont un rôle essentiel sur l'acceptation plus ou moins aisée de tous les types de fonctionnements nouveaux.

**(OrgStabl)**

### III- APPROFONDIR POUR CERNER DES HYPOTHÈSES

#### A- STRUCTURE DU VÉGÉTAL ET RÉGÉNÉRATION

##### Aa- organisation de la plante en sous-couches

Chez un grand nombre d'espèces végétales, il a été démontré (Satina *et al.*, 1940) que l'organisme est structuré en un minimum de trois assises cellulaires. (**ApexMéristM**, **Bourgeon**, **SsCches**) (retour à : **III Bb** (p. 16))

- **L<sub>1</sub>**, tissu superficiel, qui correspond la "couche épidermique" et recouvre les parties aériennes (en anglais, **L** pour « layer » ; en français **t** pour « tunica »);
- **L<sub>2</sub>**, assise intermédiaire qui représente la zone "sous-épidermique" et dont nous verrons le rôle dans l'hérédité;
- **L<sub>3</sub>**, tissu profond (ou **c**, pour "*corpus*") duquel émerge les racines (Sagawa et Melhquist, 1957; Péreau-Leroy, 1975).

Ces empilements peuvent exister en plus grand nombre (jusqu'à dix sous-couches) et le phénotype est la résultante des interactions entre ces différentes assises (Cameron *et al.*, 1964; Dermen et Stewart, 1973; Péreau-Leroy, 1974).

Analysons l'impact de cette organisation vis-à-vis de l'implication de chaque assise dans la création de la descendance:

- la **lignée cellulaire germinale** provient exclusivement de la sous-couche **L<sub>2</sub>**
- la graine implique à la fois **L<sub>1</sub>** et **L<sub>2</sub>**
- et le fruit fait quelquefois intervenir en plus, les tissus **L<sub>3</sub>**  
(Sagawa et Melhquist, 1957; Péreau-Leroy, 1975) (**SsCches**)

Alors, toute modification qui ne concerne pas la sous-couche **L<sub>2</sub>** du régénérant, ne pourra être transmise par l'embryon contenu dans la graine.

##### Ab- nombre de cellules à l'origine d'un régénérant

Il peut arriver qu'un bourgeon soit régénéré à partir d'une unique cellule du cal ou du tissu concerné (Skirvin et Janick, 1976 ; Skirvin, 1977), mais de façon plus générale, il semble que plusieurs cellules se synchronisent dans leur fonctionnement, et soient impliquées dans la régénération d'une même plante.

Ainsi les plantes de pétunia, régénérées à partir d'une chimère péricline albinos et chlorophyllienne, présentent un phénotype: soit vert, soit blanc, ou encore, mixte (Bergougnioux, 1974). Le dernier cas montre que les assises, tant vertes qu'albinos, du matériel d'origine ont simultanément participé à la morphogénèse.

Cette conclusion est confirmée aussi bien sur le tabac (Carlson et Chaleff, 1974), que sur la tomate (Sree-Ramulu *et al.*, 1976 a et b; Buiatti *et al.*, 1985), le maïs (Springer *et al.*, 1979), ainsi que sur diverses espèces florales (Skirvin *et al.*, 1982).

Un régénérant peut donc être issu de tissus aux potentialités génétiques diversifiées, comme schématisé lors de « dérive » puis « différenciation », et « contagion » aux lignées cellulaires somatiques, avant régénération et constitution d'une chimère « en secteurs ».

### **(DériveContag, Polymorphisme)**

La récolte des graines, pour analyser la descendance, devra alors nécessiter des précautions tel le repérage et l'individualisation des lots provenant des différentes parties de la plante régénérée.

## **B- EXPRESSION ET TRANSMISSIBILITÉ HÉRÉDITAIRE DES MODIFICATIONS**

Les transformations enregistrées au niveau des plantes régénérées peuvent être visibles ou non ; leur stabilité et leur maintien héréditaire sont associés à, au moins, deux facteurs:

- le registre dans lequel entrent les modifications, entraînant (ou pas) leur stabilité ;
- la transmissibilité héréditaire des potentialités du tissu concerné, par les structures biologiques impliquées.

### **Ba- registre dans lequel entre la modification**

L'expression des modifications observées dépend, comme déjà signalé, des types d'éléments ou cibles biologiques concernées au sein du régénérant, et de leur stabilité.

Les amplifications géniques sont fréquemment instables (Buiatti, 1977), de même que certaines variations évolutives ou réversibles (Meins et Binns, 1977; Reisch et Bingham, 1979, 81; Skokut et Filner; 1980).

L'extinction ou la remise en expression de gènes (Sager et Kitchin, 1975; Siminovitch, 1976) liées à l'intensité d'efficacité ou à la répartition des méthylations des ADN (Holliday et Pugh, 1975; Bird, 1981; Holliday, 1987; Martiensson et Colot, 2001) peuvent être transitoires, et disparaître plus ou moins vite au cours de l'un des stades de développement de la plante régénérée, ou lors de la méiose, ou dans le passage à la descendance, ou encore, lors de phases ultérieures.

De même, pourrait-on impliquer, comme montré plus récemment, des modifications des **petits ARN interférents** qui sont des **ARN non-codants**, ou « **ncRNA** » (Mattick, 2003 ; Storz *et al.*, 2005 ; Mattick et Makunin, 2006 ; Costa, 2006 ; Flanagan et Wild, 2007 ; Gendrel et Heard, 2014), entraînant la perturbation de régulations dont les répercussions dépendraient des zones génétiques cibles associées.

Par ailleurs, qu'en serait-il d'éléments protéiques comparables aux « **prions** » dont on a pu observer l'expression épigénique dans les cellules animales, les cellules fongiques et les levures (Halfmann *et al.*, 2012).

Mais alors, si une nouvelle configuration moléculaire induit un phénotype variant correspondant, les études montrent que le retour à la forme initiale paraît impossible (Clarke, 2001 ; Shorter and Lindquist (2005) ; Tanaka *et al.*, 2006).

La stabilité des perturbations serait alors liée au maintien héréditaire de ces modifications, ou à la récurrence de leur apparition au cours des générations, après leur déclenchement.

### **Bb- hérédité de la cible biologique modifiée**

De l'organisation en sous-couche de la plante régénérée (revoir § [IIIAa](#) (p. 14)), découle que les dénombrements chromosomiques, effectués sur les pointes des racines, ne permettent de vérifier que le tissu profond  $L_3$  non concerné dans l'ontogenèse de l'embryon (issu de  $L_2$ ) et de la graine qui aboutit à la génération suivante.

[\(SsCches\)](#)

La vérification du nombre de chromosomes devra donc être réitérée sur la pointes des racines de la descendance du régénérant.

De plus, tout changement ne touchant pas l'assise  $L_2$ , ou son équivalent, sera perdu à la méiose et ne se retrouvera pas chez les descendants.

Inversement, des plantes régénérées d'apparence phénotypique normale peuvent donner, par autofécondation, des descendance présentant des caractéristiques modifiées, lorsque les bases biologiques de l'expression sont exclusivement portées par la sous-couche  $L_2$ , mais n'émergeaient pas phénotypiquement chez les plantes mères.

Un « effet retard » peut donc être observé pour les potentialités cryptiques résidant au sein de la plante régénérée.

## IV- CONSTRUCTION DE TESTS EXPÉRIMENTAUX

### IV A- PRÉALABLES À UNE ANALYSE COHÉRENTE

#### IV Aa- impératifs biologiques du matériel

Retour [vers V](#) (p.26) « Ex. Concrets »

Le matériel biologique permettant une étude complète doit répondre aux impératifs suivants:

- espèce **diploïde**, possédant donc des caractères génétiques qui suivent les **lois classiques** mendéliennes de l'hérédité;
- structure de départ homozygote, donc **génétiquement fixée**;
- système floral permettant les **autofécondations**, de même que les **croisements réciproques** de parents définis ;
- nombre restreint de paires chromosomiques, aisément **dénombrables**;
- matériel pour lequel on maîtrise la formation *in vitro* de **cals** et de **régénérants**.

#### IV Ab- exigences quant aux tests et traitement des données

- tous les tests expérimentaux doivent porter, **à la fois** sur les catégories analysées **et** des **témoins** ;
- chacune des catégories, testée ou témoin, doit comprendre des **effectifs convenables** (statistiquement fiables);
- les dispositifs expérimentaux, de type “blocs aléatoires” (supérieur à un), doivent être conduits dans de bonnes conditions, c'est-à-dire **sans compétition**, **ni** effets d'**interactions** entre chacun des individus et sa position dans la parcelle (valide la fiabilité des données).

## IV B- DIAGNOSTIQUE GÉNÉTIQUE : ÉTUDE DES GÉNÉRATIONS SUCCESSIVES

De façon à cerner le type d'hérédité et le • « **compartiment cellulaire** » impliqué dans les modifications observées chez les régénérants, les étapes successives suivantes ont été mises en place :

### IV Ba- dénombrement chromosomique des régénérants

#### IV Bb- descendance d'autofécondation des plantes régénérées

1— descendance identique à celle du témoin

2— ségrégation de la descendance

x • *implication du compartiment chromosomique nucléaire*

y • *implication extrachromosomique nucléaire ou cytoplasmique*

3— phénotype variant homogène pour toute la descendance

4— conclusion

#### IV Bc- analyses en croisements diallèles

1— croisements réciproques identiques

2— croisements réciproques significativement différents

x • *sélection gamétique*

y • *effets différentiels extrachromosomiques ou épigéniques*

### ([Diagnostq](#))

(• **compartiment cellulaire** : au sens de « matériel biologique héréditaire »)

### IV Ba- dénombrement chromosomique des régénérants

Les irrégularités caryotypiques comme l'aneuploïdie ou encore les changements du niveau de ploïdie sont directement détectables par les comptages chromosomiques effectués sur les pointes racinaires des plantes régénérées.

La variabilité de ce niveau est abondamment décrite par les auteurs, et rassemblée dans des ouvrages (D'Amato, 1952, 1978; Reisch, 1983; Karp et Bright, 1985; Ahloowalia, 1986).

Cependant on doit rappeler que lors de ce comptage, on a en fait uniquement vérifié le caryotype d'organes provenant de la sous-couche tissulaire L<sub>3</sub>. Les chromosomes devront donc être à nouveau dénombrés à la génération suivante, puisque les embryons sont porteurs des potentialités cellulaires et chromosomiques de l'assise L<sub>2</sub>, qui peuvent différer de celles de L<sub>3</sub>.

### ([ApexMéristM](#), [SsCches](#))

Lorsque les modifications phénotypiques de la plante régénérée ne peuvent être associées à des anomalies caryotypiques, il faut, en toute évidence, analyser les produits de son autofécondation.

## IV Bb- descendance d'autofécondation des plantes régénérées

Chaque plante régénérée est une entité propre, et chacune des descendance doit être comparée à celle du témoin homozygote d'origine.

Alors différents cas peuvent se présenter quant au comportement de la descendance:

### 1— descendance identique à celle du témoin

Si la descendance d'autofécondation du variant est conforme à celle du **témoin**, on peut conclure à des changements **transitoires** de la plante régénérée.

Il s'agissait donc vraisemblablement d'effets instables dus à la culture *in vitro*, et la perte des modifications a pu intervenir avant même la différenciation des cellules reproductrices.

On peut aussi penser qu'au sein du régénérant, la sous-couche L<sub>2</sub>, mentionnée précédemment et impliquée dans l'ontogenèse de la descendance, n'était pas concernée par les changements exprimés phénotypiquement par cette plante.

([SsCches](#))

### 2— ségrégation de la descendance

Les modifications entraînant, en autofécondation, une ségrégation des caractères peuvent être localisées au niveau des divers matériels (ou **compartiments**) héréditaires et même interférer, ou passer d'un domaine cellulaire à l'autre.

#### *x •• implication du compartiment chromosomique nucléaire*

Les critères qualitatifs (déterminés par un faible nombre de gènes) vont ségréger selon une disjonction mendélienne, donnant naissance aux catégories classiques de génotypes, donc de caractéristiques, parmi lesquelles **le phénotype du témoin est représenté**.

([TestsAF](#))

Pour des critères quantitatifs (dépendant d'un plus grand nombre de gènes), c'est l'accroissement de la variance intra-descendance, par rapport à celle du témoin, qui signalera leur ségrégation.

Ces situations correspondent à des modifications de gènes nucléaires codants, situées **sur l'un** des deux chromosomes d'une même paire, chez le régénérant.

Autrement dit, il s'agit, soit de mutations, comme présenté ci-dessus, soit d'effets de transpositions (Mc. Clintock, 1956) généralement instables, ou encore de remaniements chromosomiques (inversions, délétions) de petite amplitude, difficilement détectables par analyse simple.

### *y •• implication extrachromosomique nucléaire ou cytoplasmique*

La migration, dans le noyau, d'éléments extrachromosomiques, vers d'autres points du génome, tels les transposons (Mc. Clintock, 1956) ou la ségrégation d'éléments cytoplasmiques (Otha, 1980; Birky, 1983) peut aussi entraîner une large gamme de catégories, pour lesquelles le phénotype peut s'exprimer directement, ou encore se superposer aux mutations.

La ségrégation des caractères est alors complexe et ne correspond pas aux catégories prévues par les lois classiques de l'hérédité.

### **3— phénotype variant homogène pour toute la descendance**

Dans ce cas, plus surprenant, on peut observer des caractéristiques nouvelles identiques pour toute la descendance, mais où **le phénotype témoin n'apparaît jamais**. De plus, l'**homogénéité** est **équivalente à celle du témoin fixé**, et lors du suivi de critères quantitatifs, la variance intra-descendance n'est pas accrue.

Dans un tel cas, quel que soit le site des modifications au sein de la cellule, **les deux** chromosomes d'une même paire s'expriment de façon identique.

Le niveau biologique impliqué dans ce type de vitrovariant peut aussi bien être chromosomique nucléaire, qu'extrachromosomique, ou cytoplasmique, il peut donc s'agir :

- de modifications de l'ADN nucléaire affectant simultanément les deux locus homologues, comme des doubles mutations, des amplifications ou délétions de zones cibles, des conversions de types particuliers (Nagylaki et Petes, 1982; Borst et Greaves, 1987);
- de l'intervention de mécanismes de modifications des histones par méthylation, acétylation, phosphorylation, etc. (Lacoste et Côté, 2003), ou de réparation des ADN (Holliday et Pugh, 1975); ou même, tels les prions, de modifications structurelles de protéines, passant d'une forme normale ou avantageuse, à une autre aux potentialités déviantes, délétères (Clarke, 2001 ; Saupé et Supattapone, 2006) ou simplement différentes ; cependant, ce dernier type d'événement, constaté chez les mammifères, n'a pas encore été détecté chez les végétaux.
- ou encore, d'expressions géniques nouvelles par modification post-traductionnelle, ou -transcriptionnelle, au travers d'éléments extrachromosomiques, ou cytoplasmiques, tels les petits ARN interférents (Fire *et al.*, 1998 ; Fire A.Z. et Mello C.C., Prix Nobel de médecine, 2006) ou ARNi.

Précisons que l'homogénéité phénotypique et génétique constatée **exclut l'intervention d'éléments transposables**, tels qu'observés et analysés par B. Mc Clintock (1956).

#### 4 – conclusion

Soulignons que tous ces types de modifications peuvent se cumuler et complexifier l'analyse génétique. Ainsi, en même temps qu'un événement mutationnel, il peut s'être produit des remaniements cytoplasmiques, ou plus largement, épigéniques, inhibant ou masquant le phénotype témoin ainsi que la ségrégation mendélienne associée.

À partir de ces uniques tests sur les descendances d'autofécondation, mis à part les cas simples de ségrégations mendéliennes, il est impossible en l'état de promouvoir une hypothèse claire. Il apparaît alors indispensable de recourir à la réalisation puis l'analyse génétique des produits de **croisements réciproques**.

#### IV Bc- croisements dialèles et autofécondation des produits

Rappelons que la génération précédente d'autofécondation était **homogène et différait du témoin**.

Les expérimentations en croisements réciproques sont généralement utilisées pour mettre en évidence l'**expression dissymétrique** des caractéristiques, selon qu'elles proviennent du gamète mâle ou du gamète femelle de la plante hermaphrodite.

L'ensemble des croisements réciproques, de toutes les plantes qui entrent dans le test, constitue un « **dispositif dialèle** ». Les potentialités de chaque entité parentale sont donc confrontées symétriquement vis-à-vis de chacun des autres partenaires, pour donner naissance à un ensemble de **couples de produits de croisements réciproques**.

([TblDénom](#), [ModGriffing](#))

Parmi les modèles mathématiques d'analyse à notre disposition, la méthode de Griffing (1956, "tableau complet, sans les autofécondations" -méthode 3, modèle I-) paraît l'une des moins contraignantes et des plus adéquates pour nos études.

([TablSomDif](#), [SCdialèle](#))

Comme à chaque génération, l'homogénéité des variances de toutes les catégories doit être vérifiée; c'est le **garant de la validité des valeurs enregistrées et des hypothèses proposées**.

Les “comparaisons multiples des moyennes” (test de Duncan) portant, pour les critères enregistrés, sur la performance des croisements et de leurs parents (ou leur autofécondation) complètent l’information ; seront ainsi comparés et plus précisément observés:

- d’une part, **les produits de croisements, au sein du couple de réciproques;**
- d’autre part, **chacun de ces croisements, avec ses parents respectifs.**

Ensuite, le comportement des couples de **descendances d’autofécondation** issues de chaque couple de produits de croisements entraînera des hypothèses spécifiques de chacune des réponses suivantes :

- 1— croisements réciproques identiques**
- 2— croisements réciproques significativement différents**
  - x •• sélection gamétique*
  - y •• effets différentiels extrachromosomiques ou épigéniques*

### **1— croisements réciproques identiques**

Le comportement identique des produits réciproques, qu’il s’agisse des traits qualitatifs ou quantitatifs, indique une expression équivalente des génotypes, que les potentialités génétiques soient issues de la voie paternelle ou maternelle.

Les nouveaux phénotypes, observés aux générations précédentes, sont alors imputables à des modifications de gènes nucléaires, et, puisque la génération d’**autofécondation** était **homogène**, il nous faut impliquer des **doubles-mutations**.

#### **(1-dble-mut)**

Il doit en résulter que, les deux groupes de descendants, issus de l’autofécondation du couple de croisements réciproques, ségrégeront et présenteront **les mêmes catégories de phénotypes ou la même étendue de variabilité** : autrement dit, lors de l’implication d’un petit nombre de gènes, les mêmes ségrégations simples, et, dans le cas de caractéristiques quantitatives, des valeurs moyennes et des variances identiques.

## 2— croisements réciproques significativement différents

### Des données biologiques soutiennent cette hypothèse :

Cette situation doit être associée à l'expression de phénotypes réciproques distincts pour des critères qualitatifs, et à des valeurs moyennes significativement différentes (avec des variances identiques) pour des caractères quantitatifs.

La contribution dissymétrique, selon le sens de croisement, est fondée sur les faits biologiques suivants:

- la diversité potentielle cellulaire (mitochondries, chloroplastes, miARN, entre autres) révélée par de nombreux travaux (Preer, 1971; Quétier, Vedel, 1977; Frankel *et al.*, 1979; Scowcroft, 1979; Gray, 1982; Fire *et al.*, 1998, etc.);
- l'existence de systèmes aboutissant à des contenus génétiques distincts, selon que le gamète est mâle ou femelle (Clauhs et Grun, 1977; Lansman *et al.*, 1983; Sager et Grabowy, 1983);
- l'expression différentielle des gènes, selon l'origine mâle ou femelle du gamète.

Les mécanismes agissant sur les bases génétiques et amenant à des stocks haploïdes spécifiques sont propres à chaque parent; ils s'expriment au travers du phénotype des descendances, et peuvent s'installer:

- pendant la différenciation sexuelle (Tilney-Bassett et Abdel-Wahab, 1982);
- avant la maturation des cellules gamétiques (Clauhs et Grun, 1977);
- pendant les étapes précédant la fécondation (au cours de la pénétration du tube pollinique dans les tissus maternels, etc.);
- dans le zygote, par le biais d'un "sceau", spécifique de l'origine sexuelle, et imprimé au matériel gamétique (Tilney-Bassett et Birky, 1981; Tilney-Bassett et Abdel-Wahab, 1982).

Globalement, deux types de modalités, aboutissant à ces phénotypes réciproques distincts, peuvent être impliqués et doivent être distingués:

— tout d'abord, des processus conduisant à des structures gamétiques spécifiques de la voie mâle ou femelle (sélection gamétique) :

*x •• sélection gamétique*

(2- [SélGmtq](#))

— ou encore, l'intervention d'effets extrachromosomiques, qu'ils soient d'origine nucléaire ou cytoplasmique :

*y •• effets différentiels extrachromosomiques ou épigéniques*

(3a- [Epignq](#), 3b-[Epignq](#))

*x •• sélection gamétique*

Cette situation doit être associée à une composition en gènes nucléaires, ou à une expression spécifique du gamète, selon qu'il est mâle ou femelle.

Elle implique :

- soit, des facteurs sélectifs directs,
  - soit, des phénomènes de correction, par réparation différentielle systématique des ADN (Holliday et Pugh, 1975; Holliday, 1987), effets complétés d'une inhibition des recombinaisons, par empêchement de l'appariement entre homologues (Nagylaki et Petes, 1982; Sugawara et Szosták, 1983),
  - ou encore, des effets de post-transcription différentielle,
- pour donner naissance, dans chacun des cas, à des gamètes mâles d'un unique type, et des gamètes femelles d'un autre type.

(2- [SélGmtq](#))

En phase de test, par autofécondation, l'intervention de tels mécanismes pourrait expliquer, par complémentarité gamétique directe, la conservation homogène pour toute la descendance, du phénotype de chaque parent hétérozygote.

Mais lors des croisements, ces **caractéristiques parentales** doivent alors être définitivement **perdues** pour donner, soit des formes intermédiaires par hérédité additive, soit des types nouveaux, dans le cas d'effets d'interaction.

Ajoutons que dans ce cas, les variances de chacun des croisements réciproques, tout comme les performances moyennes, peuvent être significativement différentes. Quant aux descendance d'autofécondation du couple de produits de croisements, elles demeurent chacune identique à leur géniteur.

Toutefois, l'**extinction du phénomène** devrait entraîner des ségrégations mendéliennes **comprenant les catégories parentales**, car on reviendrait au cas des mutations simples.

### *y •• effets différentiels extrachromosomiques ou épigéniques*

Dans cette hypothèse, le **génom**e **non modifié** s'exprime de manières différentes, selon les structures cellulaires agissant sur le fonctionnement de l'ADN codant.

Elles peuvent aussi bien faire partie des systèmes cytoplasmiques que des structures nucléaires, **autres que** les séquences mendéliennes exprimées. Cet ensemble biologique sera regroupé sous le terme : **“épigénique”**.

Les croisements réciproques proviennent d'un même couple de parents d'entrée ; le phénotype des « pleins frères », produits d'un même sens de croisement est donc uniforme et la variance intra-descendance est homogène.

Les expressions dissymétriques obtenues pour les couples de produits réciproques, peuvent être imprimées à la fécondation, mais il peut aussi y avoir une évolution individuelle ultérieure, des apports parentaux, telle l'amplification de certains des éléments, par l'intermédiaire de cinétiques autonomes de réplication, ou par l'intervention spécifique d'éléments régulateurs.

Il peut aussi apparaître des effets synergiques, après la rencontre d'entités parentales complémentaires, ou induisant la création d'interactions, soit au sein du cytoplasme, ou encore avec le noyau.

#### **(3a-Epignq, 3b-Epignq)**

Ainsi, au-delà des effets dits “maternels” -ici, comportement analogue à celui du parent femelle-, il peut apparaître des comportements plus inattendus, comme les effets “paternels” -analogie avec le père-, ou même quelquefois, des effets de “transgression” -pseudo-hétérosis, ou performances se démarquant de celles des 2 parents-. On parlera, en l'occurrence, de “transgression” car cet effet, analogue à de la “vigueur”, ne peut être relié, comme normalement, à une hétérozygotie nucléaire.

Du fait du maintien inchangé des gènes codants nucléaires, **l'expression des parents**, **“variants”** ou **“témoin”**, peut toujours réapparaître au travers des effets « maternels » ou « paternels ».

Dans la mesure où les systèmes extrachromosomiques concernés ne ségrègent pas après la méiose (Birky, 1983), les descendances de l'autofécondation des produits de croisements restent homogènes et, elles peuvent présenter des performances et comportements identiques à ceux de la génération précédente.

## V- PRÉSENTATION D'EXEMPLES CONCRETS

### V A- VITROVARIANTS DE TISSUS SOMATIQUES OU GAMÉTOPHYTIQUES

#### — avant-propos

Les résultats qui suivent sont une synthèse relative principalement aux vitrovariants provenant de tissus, tant somatiques (sur laitue et tomate, Sibi, 1971 à 1990) que gamétophytiques (sur orge, San Nœum et Ahmadi, 1982; Yean San, 1987; Sibi et Kandil, 1991, 1993; Sibi et Fakiri, 1994 ; Fakiri, 1995 ; sur blé dur, Shékafandeh, 1998 ; Kobaissi, 2001 ; Sibi *et al.*, 2001).

Quel que soit le processus suivi, régénération sur cals de tissus somatiques, ou lors de l'haplodiploïdisation, les qualités biologiques du matériel correspondent à celles définies au paragraphe "préalables à une analyse cohérente" ([IV Aa](#) (p.17)), et plus particulièrement, l'homozygotie des génotypes de départ a été vérifiée avant l'utilisation en culture *in vitro*.

Les vitrovariants de tissus somatiques des deux espèces, laitue (*Lactuca sativa*,  $2n = 18$ ) et tomate (*Lycopersicon esculentum*,  $2n = 24$ ), sont issus de cotylédons.

([Prgrm1](#), [Prgrm2](#)) ([planche 1](#) ; [planche 2](#) ; [planche 3](#))

Les régénérants d'orge (*Hordeum vulgare*,  $2n = 14$ ) proviennent de la culture de gamétophytes, soit mâles (androgénèse), soit femelles (gynogénèse).

Dans les deux cas, ils sont haploïdes et ne possèdent donc, à ce stade, que la moitié du stock chromosomique. Un traitement par de la colchicine (agent mitoclasique) rétablit la diploïdie, mais entraîne aussi une copie à l'identique des éventuelles modifications. Le matériel est donc homozygote, fait qui doit être pris en considération dans les analyses héréditaires et les conclusions.

([Prgrm3](#))

### V Aa- régénération de vitrovariants

#### 1— description des régénérants

Nous ne prendrons en exemple que les éléments viables et fertiles, qui ont pu s'acclimater aux conditions de culture en sol.

Le descriptif est délicat pour les plantes dont la taille est faible ou dont le développement semble particulièrement perturbé par la phase *in vitro*. Ainsi en est-il des haploïdes d'orge et de leur réplique après doublement des chromosomes. En effet, les régénérants androgénétiques d'orge, se montrent généralement moins vigoureux que les gynogénétiques ou le témoin, et, lorsque le doublement chromosomique n'est pas spontané, les deux types de vitroplants sont stériles. Dans les deux cas, il est alors nécessaire de doubler les chromosomes pour en maintenir la viabilité et restaurer la fertilité.

([planche h1](#), [planche h2](#), [planche h3](#), [planche h4](#), [planche h5](#))

Le phénotype de chaque plante régénérée se distingue des plantes obtenues par graine.

Les régénérants de laitue ou de tomate peuvent présenter un développement de la hampe florale, alors que leur taille est encore faible ; il apparaît nombreuses aberrations quant à la forme des feuilles ou l'organisation même de la plante, etc. Les régénérants de tomate se développent, jusqu'à atteindre une taille équivalente à celle du témoin, mais comme dans le cas précédent, des anomalies multiples peuvent s'exprimer, telles des modifications de la position des ramifications ou des bouquets floraux, ou dans l'organisation des feuilles, etc.

#### **(RégTomate) (planche 4)**

Dans la majorité des cas, après reprise en terre, ces plantes sont à même de donner une descendance, et l'on s'est attaché, pour ce type d'étude, à obtenir des autofécondations contrôlées sous sachet.

### **2— dénombrements chromosomiques**

Les comptages chromosomiques ont été effectués dans tous les cas, et pour l'orge, le processus d'obtention (androgenèse ou gynogenèse) qui a amené à s'assurer de l'origine haploïde des plantes régénérées doit être renouvelé, après doublement des chromosomes, pour vérifier que le nombre n'est pas aberrant.

Les dénombrements réalisés sur les cultures de tissus et les vitrovariants de laitue et de tomate, montrent que pour la première espèce, la phase *in vitro* n'est jamais génératrice de caryotypes modifiés, aussi bien dans les cellules des cals que dans les pointes racinaires des plantes régénérées ou de leur descendance par autofécondation ( $2n=18$ ).

En revanche, pour la tomate ( $2n=24$ ), la variabilité des nombres chromosomiques est largement exprimée dans les cals, et parfois même, pour les régénérants; ainsi, sur 70 individus, 7 sont aneuploïdes ( $2n<24$ ) et 1 est tétraploïde. Des caryotypes normaux sont cependant observés sur les 62 autres plantes, et restent stables dans les descendance d'autofécondation.

#### **(RégTomate)**

Chez les haploïdes doublés d'orge, après traitement par la colchicine ou après doublement spontané, les dénombrements révèlent des caryotypes réguliers de  $2n=14$  chromosomes, comme attendu, puisqu'il s'agit de la duplication du potentiel haploïde régénéré.

## V Ab- vitrovariation chez les descendance

### — remarque

Les observations effectuées sur les descendance successive des régénérants, puis les analyses statistiques des données, sont effectuées pour les critères qualitatifs (couleurs, aspect, forme, etc.), quantitatifs (taille, nombre de feuilles, poids, hauteur de plante, longueur de feuilles, etc.), et en plus, chez l'orge, pour des caractéristiques biochimiques (analyse des taux protéiques et  $\beta$  amylases des grains matures,  $\alpha$  amylases après maltage, etc.).

### 1— descendance d'autofécondation

Ces comparaisons incluent uniquement la descendance des individus dont le caryotype est normal.

Ceci correspond à l'analyse des 22 descendance provenant de l'autofécondation de 15 variants et de 7 témoins pour la laitue, de 30 descendance issues de 25 variants et de 5 témoins pour la tomate, et enfin de 6 descendance dont 3 androgénétiques, 2 gynogénétiques et 1 témoin pour l'orge.

Les situations de ségrégation, conduisant à conclure à des mutations, sont trouvées pour 2 descendance parmi les 15 de la laitue, pour 17 parmi les 25 de la tomate, et aucune pour l'orge.

Mais on constate aussi 13 cas d'**homogénéité** pour la laitue, et 8 pour la tomate, bien que les critères qualitatifs ou/et biométriques de ces familles permettent de les distinguer du témoin.

**(AF-TomateDuncan) (planche 5)**

L'homogénéité ou uniformité de toutes les séries de l'orge n'est guère étonnante puisque tel que dit précédemment, ce sont des haploïdes doublés, donc, homozygotes et, ce type d'analyse ne peut révéler les modifications nucléaires qui auraient pu être imprimées lors de la régénération *in vitro*.

On constate cependant, que les critères biométriques des séries androgénétiques manifestent un comportement très éloigné du témoin, tandis que les gynogénétiques en sont plus proches ; inversement, l'analyse des données biochimiques montre, pour les gynogénétiques, un éclatement des potentialités, entraînant des distinctions marquées vis-à-vis du témoin et, une proximité plus grande de ce dernier et des androgénétiques.

Pour les caractéristiques tant qualitatives que quantitatives, les descendance d'autofécondations uniformes des régénérants somatiques, de même que celles issues d'haplodiploïdisation, ont pu être observées pendant un minimum de deux générations (**planche 6**), et se révèlent être parfaitement stables (plus de 10 générations ont été suivies pour les critères qualitatifs de la laitue), permettant de conclure, avec une très haute probabilité, à leur homozygotie.

Ceci se rattache donc au cas du "**phénotype variant homogène pour toute la descendance**", et les analyses en croisements réciproques doivent être effectuées.

## 2— analyses des produits de croisements diallèles

Dans le processus concernant les tissus somatiques, un témoin et les variants les plus typés (3 pour la laitue et 4 pour la tomate), sont seuls choisis comme parents des croisements diallèles. (croisements laitue : [planche 7](#) ; [planche 8](#))  
Pour l'analyse des hérédités en croisement des vitrovariants obtenus au cours de l'haplodiploïdisation de l'orge, sont confrontés 3 séries androgénétiques, 2 gynogénétiques, ainsi qu'un témoin.

Pour les descendances de croisements, la plupart des caractères qualitatifs des variants de la laitue, de même qu'un certain nombre de traits quantitatifs de la tomate, présentent une **hérédité maternelle**. Plus curieusement une fréquente **hérédité paternelle** est observée chez la tomate.

Pour la laitue aussi bien que pour la tomate, relativement à certains critères, se comportent statistiquement comme le témoin, et peuvent cependant, pour d'autres caractéristiques, manifester des **effets transgressifs** tout à fait nets.

De plus, selon le partenaire du croisement, un **même parent** peut exprimer dans la descendance, soit des effets transgressifs, soit une similitude ou conformité avec parents, conférant alors le maintien de l'**intégrité parentale**.

[\(Dial Tomate H Duncan ; CompProdDial\)](#)

De même, chez l'orge, les expressions dissymétriques (effets maternels et surtout paternels), de même que les transgressions sont extrêmement fréquentes.

Selon le stade de développement, la dynamique de comportement peut se modifier, conférant une autonomie propre à chaque unité.

Dans cet ensemble, un point reste à souligner :  
**toutes les variances intra-descendances restent inchangées.**

## 3— autofécondation des produits de croisements

Ce test n'a été effectué que sur les descendances du diallèle de tomate, et d'orge. L'autofécondation a été menée sur des séries de « 'ligne-colonne' symétriques », ou « cases réciproques » du dispositif diallèle, présentant quelquefois des effets transgressifs asymétriques, ainsi que sur les parents respectifs.

Ces analyses ont mis en évidence la **transmission héréditaire des potentialités** des produits de croisements, tels les fréquents effets paternels, et aussi les effets de transgressions, qui peuvent apparaître pour un seul sens de croisement du couple de réciproques, ou s'exprimer avec une intensité significativement différente, toujours **sans aucune augmentation de la variance intra-descendance**.

[\(Dial-AfD Tomate Htr\)](#)

## V B- SYNTHÈSE DES RÉSULTATS ET PROPOSITION D'HYPOTHÈSES

### Ba— résultats

Rappelons que les premières observations et analyses statistiques présentées ici relativement aux descendance successives ont été effectuées sur des critères tant qualitatifs (couleurs, aspect, forme, etc.) que quantitatifs (biométrie de la plante, ou caractéristiques biochimiques, etc.).

Elles ont amené au traitement d'un minimum de 42.000 données quantitatives pour la laitue, et de 24.000 pour la tomate ; chez l'orge, les grains issus d'autofécondation (grains frères des orges de San Nœum, 1987), puis les croisements diallèles, ont permis dans ces premiers travaux de traiter environ 10.000 données.

Le point essentiel est la convergence des résultats de ces différentes recherches qui, de plus, ont été ultérieurement complétés par une quantité considérable d'autres données (plus de 100.000 dans nos analyses des C.O. pour la tomate) soit, près de 166.000 pour nos propres travaux, de même que des apports d'autres auteurs (San Nœum et Ahmadi, 1982 ; Picard *et al.*, 1986 ; Rode *et al.*, 1987 ; Compton et Veilleux, 1991 ; Bertin *et al.*, 1995 ; etc.).

Pour les régénérants de tissus somatiques, les résultats, concernant la dernière étape, autrement dit, les autofécondations des produits de croisements, sont d'importance capitale, puisque l'homogénéité intra-descendance (variance non modifiée, donc identique à celle du témoin) **infirme** l'hypothèse d'**éléments transposables** et de **doubles mutations**, tandis que la possibilité d'expression des catégories parentales **élimine** celle de la **sélection gamétique** et des **prions**.

Ces éléments confirment le maintien inchangé du génome nucléaire de départ. Les phénomènes de **transgressions** (qui plus est, **dissymétriques** quelquefois), observés chez les produits de croisement réciproques, **ne peuvent donc pas être expliqués par** des hypothèses d'**hétérozygotie résiduelle**.

**(1-dble-mut, 2-SélGmtq, 3a-Epignq, 3b-Epignq)**

### Bb— hypothèses

Étant donné la fréquence élevée de ces **transgressions dissymétriques** au sein des couples de croisements réciproques, d'**effets non strictement maternels**, et aussi, ce qui est tout à fait inusité, d'**effets paternels**, ces expressions ne peuvent être imputées au hasard, mais plutôt à des **modifications extrachromosomiques** dont l'hérédité serait stabilisée. **(PptésVv)**

La multiplicité des réactions d'un parent donné, engagé dans divers croisements, évoque une multiplicité de processus qui pourraient jouer simultanément. Parmi ceux-ci, on pourrait impliquer des rythmes oscillatoires héréditaires, au niveau des populations d'organites, ou des interactions entre ADN nucléaires et cytoplasmiques, au travers de molécules comme les **petits ARN non-codants** (ou **interférents**) ARNnc ou ARNi.

Et, du fait de la transmissibilité par voie sexuée de ces mécanismes, ils ont été regroupés par Sibi (1981) et par Demarly (1985) sous l'expression :  
“**modifications épigéniques**”

“**modifications épigéniques**”, c'est-à-dire qui concernent des structures biologiques ou des systèmes dynamiques, ne donnant pas de ségrégations mendélienne dans la descendance, et n'impliquant pas directement les ADN nucléaires codants, ou traduits.

Actuellement, le terme « **épigénétique** » a été adopté par les chercheurs, malgré les biais évidents d'interprétation, de par la transmission héréditaire, donc **génétique**, des caractéristiques.

## VI- UTILISATIONS POUR LA DIVERSIFICATION EN CRÉATION VARIÉTALE

### VIA- CONDITIONS STRESSANTES ET VITROVARIANTS ORIENTÉS

#### VI Aa- milieu de culture et agents stressants

##### 1— impact du milieu de culture

Le milieu de culture *in vitro* conduit à un développement des tissus, ou à des divisions cellulaires, en conditions artificielles de survie. Mis à part le rôle de l'organe, du tissu ou des cellules concernées, le programme d'expression du génome semble d'ailleurs étroitement lié à la composition du milieu synthétique, et entre autres, au choix, à la quantité et à l'équilibre des substances de croissance qu'il contient.

Alors, peut-on considérer que ce contexte n'aura d'impact, ni par sa composition chimique ou biochimique, ni par la présence de ces « hormones » ou « substances de croissance » dont les effets à certaines doses, ou à certains stades de développement, sont connus, même *in situ*? Rien n'est moins sûr, et les évidences ne vont pas dans ce sens.

Les effets des modifications enregistrées au sein des cellules a déjà été abordé dans le chapitre impliquant la « plasticité du génome » ([chap. II](#) (p.8)), et les différences de retentissement entre les traitements *in situ* et *in vitro*.

([DériveContag](#), [Polymorphisme](#))

([OrgStabl](#), [FctInSituVitro](#), [EffetsCV](#))

##### 2— agents stressants

Les agents stressants peuvent être de diverse nature :

- agents chimiques : sels, métaux, pesticides, etc.;
- molécules biochimiques : acides aminés à des doses toxiques, protéines, ou substances plus complexes, telles les toxines de pathogènes brutes ou, plus ou moins purifiées ;
- contraintes physiques, telle la température (haute ou basse), etc.

De plus, l'application du stress peut être effectuée, soit brutalement, soit de façon progressive. Dans tous les cas, c'est l'augmentation de la tolérance à la toxicité, ou la résistance (sans létalité, donc la sublétalité) devant la situation, qui est recherchée.

Ce volet prolonge les moyens d'imprimer de nouveaux comportements cellulaires, au-delà de ceux présentés précédemment.

([FctInSituVitro](#))

## VI Ab- modalités d'application du stress

### 1— stress brutal

L'utilisation dans le milieu de culture *in vitro*, de doses létales d'un agent chimique (Bouharmont, 1991 ; Van Sint Jan, 1992 ; Piri *et al.*, 1994 ; Bertin *et al.*, 1996 ; Barakat *et al.*, 1996), ou biochimique, donc, l'action d'un stress brutal entraîne un criblage, autrement dit, la destruction des cellules inadaptés, tout en permettant la multiplication des cellules mutantes, et ceci d'autant plus aisément que le stress est quelquefois associé à des traitements mutagènes.

La morphogenèse à partir des tissus comprenant ces zones cellulaires aboutira vraisemblablement à la régénération de plantes mutantes, pour lesquelles la tolérance ou la résistance devrait dépendre d'un faible nombre de gènes, et dont la réversion est possible.

### 2— stress progressif

L'application graduelle d'un **stress d'intensité croissante** ( **\*\*** ) et proche de la létalité, à mesure des repiquages (Gengenbach et Green, 1975), donc en préservant toujours la survie d'une partie des cellules, doit permettre une adaptation progressive du fonctionnement et des potentialités cellulaires (Sibi *et al.* 1995 ; Shekafandeh, 1998 ; Kobaissi, 2001).

Au lieu d'une élimination totale des cellules sensibles (sélection), il peut alors y avoir évolution cellulaire et cumul d'éléments nouveaux adaptés, donc l'apparition d'une variabilité orientée, comme peut le laisser prévoir le phénomène, déjà cité, de contagion. (**Dérive-Contag**)

À chaque étape, si les conditions ne lui conviennent pas, la cellule concernée a sa division bloquée (elle pourra peut-être évoluer ultérieurement). Dans le cas où elle est adaptée, elle se multiplie et génère un groupe cellulaire possédant les potentialités convenables correspondantes. La fréquence relative de telles cellules augmente donc, et la tolérance devrait pouvoir s'intensifier à mesure des étapes, jusqu'au seuil maximal de survie et de tolérance.

Ce processus progressif fait vraisemblablement appel à un grand nombre d'éléments biologiques.

Alors, soit les modifications sont transitoires et disparaissent à la génération suivante, ou bien les nombreux éléments impliqués ont des bases héréditaires stables ou complexes, peu aisément réversibles.

## VI Ac- augmentation de la tolérance aux stress

Les premières expériences incluant des pressions sélectives et effectuées par Carlson sur le tabac (1973) ont donné des résultats positifs, mais à cette époque, ces expérimentations difficiles à interpréter furent controversées.

L'application, au cours des cultures *in vitro*, de tous types de stress a ainsi été entreprise par de plus en plus d'auteurs de façon à obtenir des variants orientés.

Des régénérants exprimant les potentialités les plus diverses ont été décrits, telle la résistance ou la tolérance :

- à des maladies (Sacristàn, 1986) ;
  - à des herbicides (Chaleff, 1983, 1986; Crocomo et Ochoa-Alejo, 1983; Hugues, 1983) ;
  - à des métaux ou à des sels minéraux (Rains *et al.*, 1986 ; Van Sint Jan, 1992 ; Béloualy et Bouharmont, 1993 ; Piri *et al.*, 1994 ; Barakat *et al.*, 1996) ;
  - au froid (Chen et Gusta, 1986 ; Bertin *et al.*, 1996) ;
  - aux traumatismes (Tal, 1983), etc. ;
- ou encore, l'obtention de qualités spécifiques (Yamada et Sato, 1983), etc.

De même ont été entreprises des cultures de souches cellulaires en fermenteurs pour la biosynthèse de substances pharmaceutiques :

- antimétabolites, alcaloïdes, colorants, antibiotiques, etc.

Leur production *in vitro* se révèle être plus élevée qu'*in situ*, et le spectre de variabilité peut **différer** de celui de la plante cultivée. Il peut même être constaté l'apparition de substances entièrement **originales**, méconnues chez l'espèce concernée, ou encore, complètement **inconnues au préalable**.

## VI B- INTÉGRATION EN AMÉLIORATION VARIÉTALE

### VI Ba- vitrovariants recherchés ou indésirables

La culture *in vitro* des tissus végétaux peut donner naissance à un large spectre de variabilité. Lors de la régénération de plantes, ce fait est d'autant plus marqué qu'un cal intermédiaire a pu se développer ou qu'un relâchement des régulations a pu intervenir.

([TblList69-80](#), [TblOrgVv](#), [OrgStabl](#))

Qu'il s'agisse de souches cellulaires, ou de plantes régénérées, les nouveaux phénotypes observés, ou vitrovariants, peuvent être considérés comme des éléments originaux de **diversification**, mais ils peuvent aussi constituer des **déviations** indésirables vis-à-vis du standard ou du but à atteindre.

Ainsi la vitrovariabilité sera soit recherchée, ou bien elle créera un handicap lors de l'utilisation des cultures *in vitro*. Ce n'est qu'au travers d'un approfondissement du phénomène et de la détermination des **conditions requises pour son apparition ou pour l'éviter**, donc de sa **maîtrise**, que les inconvénients en seront supprimés.

La vitrovariation présente des ouvertures aussi bien appliquées que fondamentales ; dans le cadre des utilisations pratiques, nous avons pu voir la fréquente apparition de caractéristiques originales peu obtenues par d'autres voies :

- variabilité explosive, effets de transgression en croisement sur le même génome, variants orientés, ou modifications des taux de recombines grâce auxquels il serait permis de dissocier des gènes à potentialités antagonistes, et fortement liés génétiquement.

- sous l'angle fondamental, les comportements héréditaires particuliers associés à certains vitrovariants, entraînent une réflexion quant aux bases même de l'hérédité, aux modifications directement « fixées » constatées dans les autofécondations, aux expressions dissymétriques selon le sens du croisement de deux parents, quant aux éléments intervenant dans les effets d'hétérosis ou de pseudo-hétérosis (transgressions), et aussi dans l'analyse du mécanisme de recombinaison, ou de l'autoincompatibilité, etc.

[\(PptésVv, EffetsCV\)](#)

## **VI Bb- vitrovariants et sélection**

Des caractéristiques nouvelles peuvent être obtenues, ainsi que déjà présenté, comme la rediversification (phénotypique, biochimique, etc.), des variants orientés (pour la tolérance au froid, au sel, à certaines toxines, etc.), des effets de transgression, de même que la possibilité d'augmenter les taux de recombines et, par le fait, de dissocier des gènes à intérêts antagonistes, et fortement liés.

Cet ensemble offre donc une large palette d'utilisation de ce phénomène dans le cadre de l'amélioration des végétaux.

À une époque où les OGM paraissent rejetés, malgré leurs possibilités, les vitrovariants qui vraisemblablement réutilisent le potentiel propre à l'espèce d'une manière originale, devraient apporter des solutions à une diversité naturelle quelquefois insuffisante ou perdue.

Pour les espèces autogames, les variants d'un individu d'élite, au génome maintenu, mais présentant des fonctionnements nouveaux, pourraient être croisés entre eux ou sur le standard, créant des effets de transgressions basés sur des interactions alloplasmiques (noyau/cytoplasme, gènes/épigénique) mimant l'hétérosis, en apportant un gain, ou un comportement avantageux.

De même, pour les allogames, ou pour les plantes vivaces, ce gain relatif à une meilleure relation alloplasmique pourrait être exploité, ou encore, les vitroplants pourraient retrouver un gain de vigueur au travers de la régénération et de l'élimination de virus.

multiples résultats prometteurs ont déjà été obtenus, ainsi, chez le blé tendre (Picard *et al.*, 1986 ; 1994) pour lequel un variant androgénétique « César bis » présente un épi 1/3 plus long que le génotype de départ, avec l'implication probable de l'ARN ribosomique (Rode *et al.*, 1987). Mais aussi, à partir de tissus somatiques, du riz, pour la tolérance au froid (Bertin *et al.*, 1995, 96), et du blé tendre, pour la tolérance au chlorure de sodium (Barakat *et al.*, 1996).

Ajoutons que chez l'orge, des lignées résistantes au mildiou, et dont le rendement dépasse la lignée de départ, ont été créées par régénération de cals ; leur inscription, sous le nom de « AC Malone », a été effectuée le 30/04/1999 (Choo *et al.*, 2000), constituant la première variété officiellement reconnue, par la « Canadian Food Inspection Agency » (équivalent du Catalogue Officiel).

## VII- DISCUSSION ET CONCLUSIONS

La discussion et les conclusions sont essentiellement tirées de nos travaux effectués sur les régénérants somatiques de laitue et de tomate, ceux issus de gamétophytes d'orge, mais ils proviennent également de données de la bibliographie.

Un résumé des résultats et intérêts essentiels sera fait ; de même, des déductions seront présentées sous l'angle des applications pratiques, mais aussi des singularités, des aspects novateurs, et des problèmes fondamentaux soulevés.

### A- DISCUSSION

#### 1- des exemples dans tous les domaines sont présentés dans la bibliographie

Il est à remarquer que la bibliographie, tout comme la littérature journalistique des années 2000 (cf. Bibliographie « Références journalistiques, et électroniques ») compile un nombre croissant de données qui évoquent une hérédité incompatible avec les lois de Mendel ou directement « cytoplasmique ».

Ce qui est alors dénommé « épigénétique » par les auteurs apparaît dans tous les règnes (Jablonka et Lamb, 1995, 2008 ; Jablonka et Raz, 2009), depuis les animaux comme le rat ou le renard, aux nématodes ou aux bactéries, en passant par l'homme (Heard, 2012) et les végétaux.

Un inventaire des nombreux résultats pourrait être fait de façon analytique, à l'instar de Jablonka et Raz (2009) ou, plus pragmatique comme Mæ-Wan Ho (2009). Mais nous ne citerons ici que l'exemple de quelques uns des travaux effectués chez l'Homme.

Après l'étude des archives sur deux siècles, d'une population suédoise isolée (300 habitants), Pembrey constate que la nutrition de la mère, à la conception et pendant sa grossesse, a un impact sur la survie de ses filles.

Dès 1991-92, avec son équipe, Pembrey a mis en place un grand programme de 15 ans d'études épidémiologiques intitulé : « Avon Longitudinal Study of Parents and Children » (ALSPAC, U.K.), où plus de 14.000 mères furent impliquées, programme ensuite repris et étendu à d'autres pays. Celui-ci confirmant les résultats observés en Suède (Pembrey 2002), il en découle multiples autres conclusions.

Ainsi, le tabagisme précoce des pères (5.400 individus) paraît avoir un rôle sur l'obésité des fils, et le retentissement peut se maintenir jusqu'aux petits-fils ; mais aussi, les excès alimentaires des grands-pères impactent l'apparition de diabète chez les petits-fils, et peuvent même avoir encore des conséquences chez les arrière-petits-fils ;

Pembrey conclue donc que des facteurs intervenant à une génération (à des stades précis de la vie : puberté, fécondation, grossesse, etc.), ont des répercussions sur l'apparition de différents caractères aux générations ultérieures, et il implique des effets « épigénétiques » différentiels, fonction du

sexe (modification de la lignée paternelle ou maternelle). Autrement dit, le comportement des grands-parents peut impacter les petits-enfants de façon spécifique selon qu'ils sont « garçon » ou « fille ». Il suppose des modifications spécifiques, apportées au chromosome X (voie maternelle) ou Y (voie paternelle), par des facteurs externes au chromosome (aliment ou autre), sans effet directement mutationnel.

## 2- variabilité des régénérants issus de culture *in vitro* chez les végétaux :

Globalement, l'ensemble des travaux montre que la multiplication végétative, par culture *in vitro* des végétaux, permet diverses formes de **clonage** qui, dans certaines conditions (développement de bourgeons préformés), peut maintenir la conformité et donner des répliques à l'identique ; mais, dans d'autres cas, elle peut entraîner l'expression d'une large variabilité : la « **vitrovariation** ».

Ce dernier phénomène paraissant associé à la **régénération** provenant d'un cal intermédiaire, ou lors de divisions cellulaires mal contrôlées. Ceci, aussi bien pour la culture de tissus somatiques (dont l'embryogenèse somatique) que gamétophytiques.

Ainsi, en embryogenèse somatique, il a été constaté que les tissus floraux diploïdes femelles génèrent des plantules principalement conformes, tandis que les parois des anthères (tissus 2n) entraînent une large vitrovariation ; comme si, lors de leur mise en place, les territoires mâles et femelles se distinguaient dans leur état et dans le rôle régulateur de leurs potentialités.

Ajoutons que lors de la régénération au cours de l'haplodiploïdisation de l'orge, les vitrovariations qui apparaissent (en conditions adéquates) portent aussi bien sur le phénotype externe, que sur les caractéristiques biochimiques. Lorsqu'elles proviennent d'androgenèse, les modifications du phénotype externe paraissent les plus marquantes, tandis qu'en gynogenèse ce sont les caractéristiques biochimiques qui montrent un éclatement.

Rappelons aussi que, dès 1970-71, après culture *in vitro* de laitue homozygote, une variabilité inattendue des régénérants issus de cals s'est manifestée ; ce qui, à l'époque, a paru inconcevable à la communauté scientifique.

Cependant, d'autres auteurs signalèrent alors aussi cette variabilité et la répétition de ces travaux sur la tomate a reproduit et précisé les résultats.

Les confirmations, et surtout les analyses héréditaires additionnelles, ont ouvert un vaste domaine révélant des processus génétiques originaux, mais posant aussi beaucoup de questions.

## 3- les études montrant les spécificités héréditaires des vitrovariants :

Mis à part les descendance P1 identiques à celles du témoin (aucune, pour la laitue, 27% pour la tomate), d'autres comportements sont constatés (**AFrésult**). Alors, une grande part de la vitrovariation exprimée chez les régénérants, présente la particularité d'avoir une empreinte héréditaire chez les descendance

d'autofécondation, et l'on constate que l'analyse génétique des caractéristiques place ces variants essentiellement dans deux catégories :

- des mutants très fréquents (10% pour la laitue, 56% pour la tomate), dont les potentialités ségrègent selon les lois classiques de la génétique mendélienne ;

- mais aussi, des variants particuliers (90% pour la laitue, 17% pour la tomate), pour lesquels l'hérédité des caractères semble être gérée différemment, et elle s'est longtemps montrée déconcertante, aux yeux de la communauté scientifique, pour ne pas dire incongrue! ([Afrésult](#))

Les spécificités, ou particularités comportementales, de cette variation apparue après culture *in vitro*, peuvent se résumer comme suit :

([PptésVv](#))

= en autofécondation :

- directement fixée, autrement dit, s'exprimant en tant qu'homozygote, elle laisse supposer que le génome nucléaire n'a pas été modifié dans sa constitution génique (séquences d'ADN maintenues), ou encore, ce qui serait hautement improbable, aurait subi des doubles mutations (aux mêmes locus, sur chacun des chromosomes de la même paire) ;

= en croisement diallèle sur le témoin et avec les autres variants au comportement équivalent, les produits peuvent générer, parmi d'autres, les situations suivantes ([CompProdDial](#)) :

- des effets maternels ;
- des effets paternels (expression tout à fait inattendue chez les végétaux) ;
- des effets de « transgression » mimant la vigueur (habituellement associée à l'hétérozygotie), alors que les gènes nucléaires sont supposés non modifiés ; ces transgressions peuvent même s'exprimer de façon dissymétrique, selon que l'un des parents est utilisé en tant que père, ou mère, vis-à-vis de l'autre partenaire ;

= les descendances d'autofécondation des croisements, maintiennent les comportements constatés à la génération précédente, tels les effets présentés ci-dessus, comme les transgressions dissymétriques.

#### 4- nomenclatures adoptées et particularités de l'hérédité :

Les particularités héréditaires et du fonctionnement génétique ont majoritairement été qualifiées, au cours des années 1990, « d'**épigénétiques** » par la communauté scientifique internationale ; ceci, en correspondance avec la terminologie proposée par Waddington (1905-1975) entre les années 1940 et 1977 qui reprend celle d'Aristote (384-322 av. J.-C.) en embryogenèse (Van Speybroeck, 2002 a et b).

Le terme « épigénétique » a généralement été utilisé par les scientifiques pour qualifier les modifications réversibles dépendant directement d'un facteur extérieur (tel l'environnement) et pouvant s'effacer à la disparition de ce dernier, ou après la méiose c'est-à-dire, à la génération suivante.

Ainsi, les chercheurs observant les effets particuliers mentionnés ci-dessus conviennent, pour la plupart, du biais introduit par un terme qui tend à évoquer la fugacité ou l'instabilité, pour ne pas dire une manifestation « transitoire » des modifications, au vu du maintien héréditaire lors des générations successives.

De plus, il est à noter que « l'épigénétique », telle que décrite dans la plupart de ces études référencées, ne distingue que rarement hérédité « maternelle », « cytoplasmique », « liée au sexe », « sélection gamétique », ou « environnementale ». Ceci, d'autant que les analyses héréditaires complètes sont rares ou inexistantes, car longues, difficiles ou impossibles à effectuer.

Cependant, à la suite de nos travaux (1970-2005) et des caractéristiques de transmissibilité héréditaire constatées depuis les années 1971 à 81 chez les vitrovariants singuliers, nous avons choisi le terme « épigénique » pour dénommer et évoquer ces potentialités, qui impliquent la modification d'éléments pouvant même faire partie de la zone nucléaire, mais autres que l'ADN codant.

Les points majeurs à cadrer, inventoriés précédemment, étant :

- la fixité des caractères en autofécondation donc, concernant des éléments qui ne suivent pas les ségrégations mendéliennes (marqueurs de la méiose) ;
- de plus, en croisements réciproques, pouvant engendrer des dissymétries de comportement, dont des effets maternels, plus étonnamment, des effets paternels, et surtout, des transgressions, malgré les croisements sur un même génome (puisque l'ADN ne paraît pas modifié) ;
- et avec aussi l'expression héréditaire de ces dissymétries. ([PptésVv](#))

### 5- intérêt et qualité du matériel végétal pour cette étude :

Il ne faut pas oublier que les végétaux supérieurs, tout comme les animaux, ont des chromosomes qui contiennent un ADN similaire.

De plus, l'utilisation de végétaux a offert, dès la moitié du 20<sup>ème</sup> siècle, l'avantage de **potentialités techniques** :

- la possibilité d'établir la régénération de bourgeons à partir des tissus, qui a permis, comme nous l'avons dit, de transférer les modifications cellulaires révélées ou enregistrées *in vitro*, au niveau d'une plante entière ;

Mais aussi, nous avons pu retenir un matériel de départ hermaphrodite, aux **qualités biologiques** précises :

- autofécondable, présentant une fixité génétique (homozygotie), possédant un petit nombre de chromosomes (donc aisés à dénombrer et à vérifier) ;

Ce matériel a permis des **analyses génétiques** complexes et fiables, avec la possibilité :

- de suivre les autofécondations successives (plus de 10 pour la laitue), mais aussi, des croisements réciproques et l'autofécondation des produits de croisements.

### **6- variabilité révélée ou induite ? rapidité d'apparition :**

Les travaux sur la laitue, puis la tomate, ont donc été effectués avec un matériel de départ génétiquement homogène.

Après avoir établi les techniques de culture et régénération *in vitro*, nous avons pu voir, comme déjà décrit et confirmé par d'autres auteurs, que plus longue est la phase callogène, ou grand le nombre de repiquages, et plus la probabilité d'apparition de variants est élevée.

Cependant, ceux que nous avons qualifiés « **d'épigéniques** », ont été générés presque immédiatement, donc dès les premières divisions cellulaires, au sein du tissu mis en culture et, dès le troisième ou quatrième repiquage, la fréquence en reste constante au cours du temps. On peut alors se demander si cette variabilité a été "**induite**" au cours / "**révélée**" au travers de la vitroculture.

### **7- quelles cibles et mécanismes biologiques des vitrovariants sont concernés ou modifiés ?**

Les modifications peuvent en fait toucher tous les niveaux biologiques du régénérant, tel le phénotype externe, le nombre de chromosomes (1% chez la tomate), les composantes biochimiques ( $\alpha$  et  $\beta$  amylases de l'orge), etc.

Elles permettent, entre autres, d'envisager :

- de générer des résistances vis-à-vis de divers facteurs qu'ils soient chimiques, physiques, pathogènes, etc. , ou d'améliorer la tolérance à la sécheresse, qui semble liée à celle au sel (NaCl) ;
- d'induire, de créer, d'intensifier ou d'empêcher la biosynthèse de substances (pharmaceutiques, cosmétiques, protéines, acides aminés, etc.) ;
- de provoquer des interactions avantageuses, telles « les transgressions », mimant des effets de vigueur malgré l'homozygotie du génome nucléaire ;
- d'agir sur des processus fondamentaux, telle la régulation de certains phénomènes comme les recombinaisons chromosomiques qui ont lieu au cours de la méiose ;
- ou encore d'induire des conversions du phénomène d'autoincompatibilité comme le système gamétophytique vers le sporophytique et réciproquement, ainsi que présenté par De Nettancourt *et al.*, sur les solanées (1977).

## 8- aboutissement de ces observations et ces analyses

L'ensemble de ces études amène à déterminer les conditions d'obtention de répliques à l'identique, ou de l'apparition de variants. Ainsi, aura-t-on les moyens d'en contrôler l'expression, donc, de les éviter si ces variations s'avèrent gênantes, ou de les obtenir, et même de les « orienter » si nécessaire.

On a vu l'impact potentiel sur la vigueur, mais aussi sur le système reproducteur, au travers des modifications de l'autoincompatibilité ; de même la possibilité d'une augmentation du taux de recombinaisons (C.O.) dans un secteur chromosomique qui peut être compensée par une diminution dans une autre partie du génome nucléaire, ceci en concordance avec Pandey (1972), qui propose une régulation locale, entraînant un taux moyen global constant. Ce phénomène permettant d'envisager la rupture entre deux gènes antagonistes et génétiquement liés, qu'il aurait été difficile, voire impossible à séparer. Mais s'agit-il de modifications de la longueur physique de secteurs chromosomiques, ou d'une régulation spécifique du phénomène ?

Se pourrait-il aussi que d'autres systèmes ou éléments biologiques, telle la stérilité mâle cytoplasmique, puisse être concernés ?

Au-delà de toutes ces innovations utilisables en amélioration végétale, sont soulevées des questions fondamentales quant aux bases et supports biologiques impliqués, dans tous ces phénomènes, dans cette vitrovariation, et quant aux processus intervenant dans l'hérédité épigénique.

Par ailleurs, l'analyse des transgressions, associées aux effets épigéniques, ne pourrait-elle apporter des explications sur l'origine de la vigueur résultant des croisements interspécifiques ou entre parents génétiquement éloignés.

Ceci suggère donc l'ouverture de domaines qui, il y a peu de temps, n'étaient pas envisagés et intégrés dans les mécanismes de l'hérédité et de l'expression du génome.

## 9- quels supports pourraient expliquer les hérédités singulières :

Le terme « **épigénique** » proposé en 1981 (Sibi, et Demarly) et discuté dans ce document, sous-entend une hérédité que l'on ne peut directement attribuer à des modifications de séquences des gènes codants, mais plutôt à un nouvel état génique, ou fonctionnement génétique, impliquant des effets régulateurs extra-chromosomiques qui vont au-delà d'une cause strictement cytoplasmique. Surtout, ils se perpétuent ou se réamorcent, de génération en génération, et peuvent être source d'interactions exprimées chez les produits de croisement d'individus de même génome nucléaire.

Les supports biologiques, en adéquation avec les comportements observés, jouent donc, à distance quelquefois, un rôle sur l'expression des gènes nucléaires, sans modification de la séquence d'ADN de ces derniers, comme souligné par nombreux chercheurs dans leurs travaux ; on parle même « d'**épigénome** » et « d'**épigénotype** » pour en suggérer la spécificité.

Rappelons que les histones, faisant partie de la structure de la chromatine, pourraient être impliquées. Mais, après l'intérêt porté sur ces protéines, dont l'état (méthylé/acétylé ; etc.) « bloque » ou « libère » l'expression des gènes, depuis la fin des années 1980, nombreuses études ont été centrées sur des ARN, autres que les ARN messagers (ARNm), de transferts (ARNt), ou ribosomiques (ARNr) (voir : Picard *et al.*, 1986 ; Rode *et al.*, 1987) déjà connus et dont le rôle sur la traduction des protéines a depuis longtemps été décrit.

Une nouvelle classe d'éléments moléculaires encore constitués d'ARN a ainsi été décelée. Ce sont d'une part, les ribozymes, ARN aux propriétés catalytiques (ribonucléases, riboswitchs, etc.), mais surtout, les ARN dits « interférents » qui sont des petits ARN (ARNi) ayant un rôle régulateur post-transcriptionnel sur l'expression de l'ADN.

Ces ARN interférents, regroupent les « small interferent » ARN (siARN), et les « micro » ARN (miARN) ; comprenant une vingtaine de nucléotides (21 ou 24), leur caractéristique essentielle est d'être « non-codants » (ARNnc, ou ncRNA), autrement dit, d'inhiber la traduction à un niveau plus ou moins proche de l'ADN chromosomique. Selon leur type, ils peuvent agir en cis donc de façon proche, ou en trans sur un ADN autre que celui qui l'a généré.  
(\* [Vaucheret](#), 2007)

Il serait important de s'intéresser à de tels éléments, dans le cadre de l'expression du génome, et dans celui de leur impact sur une hérédité épigénique (ou épigénétique) plus prégnante qu'il pourrait y paraître.

Par ailleurs, des éléments cellulaires protéiques ne pourraient-ils se comporter comme des prions, ainsi que déjà suggéré au cours des paragraphes qui ont précédé, avec des états ou configurations déterminant un comportement spécifique, autocatalytiques et indépendants de l'information génétique classique (Wiessmann, 2005 ; Halfmann *et al.*, 2012).

Cependant, leur transmission héréditaire n'est pas encore confirmée, et ils n'ont pas été mis en évidence chez les végétaux ; les cas de retour aux types parentaux, observés lors de certaines de nos expérimentations, seraient alors difficiles à expliquer, vu la non-réversibilité des états associés aux prions.

Ne pourrait-on aussi supposer une organisation intragénique redondante (avec des variantes cryptiques), pour laquelle un seul exemplaire fonctionnel serait lisible tandis que les autres demeureraient masqués au sein d'une structure génique en bloc ou linkat, ainsi que proposé par Demarly, mais pourraient s'exprimer, en fonction de régulations trans, selon des variants protéiques de la forme standard comme dans le cas d'isoenzymes ou par des ARN interférents.

Il faut alors prendre en considération la non-ségrégation des descendances d'autofécondation, et supposer des agencements particuliers à la méiose. Chacune de ces hypothèses n'exclut pas obligatoirement les autres, et l'on peut supposer la complexité et la multiplicité des mécanismes que recouvre l'épigénique qui intervient vraisemblablement dans la plasticité du génome.

## B- CONCLUSIONS

Cette présentation, décrit et décrypte le phénomène de « vitrovariation » dont le suivi héréditaire de certaines des unités a amené, par leur particularité, à la nécessité d'ouvrir un nouveau domaine : « l'**épigénique** » (ou épigénétique? quoi que héréditaire, rappelons-le, donc génétique).

Émergeant des travaux de culture *in vitro* chez les végétaux, il est à constater, qu'après une période de contestation d'une trentaine d'années de l'existence de ces phénomènes (1969 à près de 2000) par la communauté scientifique, de plus en plus de chercheurs ont montré que les conclusions sur les premières phases de ces études pouvaient être retrouvées par analyses moléculaires, et qu'un faisceau de données, dans différents domaines, soutenaient les hypothèses avancées. Ainsi, la vitrovariabilité et l'épigénique (ou épigénétique), décriées il fut un temps, sont-elles devenues un lieu commun.

Rappelons que ces recherches effectuées chez les végétaux ont permis d'anticiper, dès les années 1970, la plupart des points proposés ci-avant, en réalisant des analyses génétiques contrôlées, comme les autofécondations récurrentes sur un grand nombre de générations, les croisements réciproques et leur autofécondation. L'ensemble a donné des indications de tous ordres, et permis de tirer des interprétations sur la localisation cellulaire des modifications.

Au-delà de l'apparition d'une variabilité explosive et des hérédités maternelles, les questions qui demeurent sans réponses portent sur des effets inattendus, préalablement considérés comme inconcevables, telles les hérédités paternelles et les effets de transgression (sur un génome homozygote), qui se maintiennent en autofécondation.

De même peut-on être surpris par l'impact sur les taux de recombinaisons observés chez les régénérants (offrant aussi des applications), ou encore par les changements de spécificité de l'autoincompatibilité.

Les nouveaux comportements ne pourraient-ils apporter des informations et participer à la compréhension des mécanismes concernés ? Ne pourraient-ils aussi ouvrir des réflexions sur les analyses et interprétations dans d'autres domaines, ou dans les autres règnes ?

Nous avons vu les multiples intérêts pratiques dans le cadre de la création variétale et de l'innovation, tels ceux déjà présentés sur les transgressions, etc., la rediversification au sein d'un génotype, l'obtention avantageuse de résistances, ou encore la biosynthèse de substances originales. On peut voir aussi les intérêts fondamentaux soulevés, entre autres, quant aux supports biologiques des nouvelles expressions observées, quant à leurs processus de fonctionnement et leur transmission héréditaire.

Comment un évènement externe intervenant à une génération peut, sans modification de l'ADN nucléaire codant, avoir un impact sur l'apparition et même le maintien d'un phénotype particulier aux générations ultérieures successives (plus de 10, chez la laitue) ?

Rappelons que, ces hérédités singulières, la plasticité du génome, et le maintien héréditaire de modifications associées à des facteurs externes inopinés qui ne se comportent pas comme des mutants (ne suivent donc pas les hérédités mendéliennes) sont observés, aussi bien dans le cas des cultures des tissus végétaux (somatiques, gamétophytiques, cellules isolées, etc.), que dans les autres règnes du vivant : monocellulaires (bactéries, nématodes), animaux supérieurs tels les mammifères (renard, rat, etc), dont l'Homme.

Nous avons effectivement vu, chez l'Homme, les effets du comportement des grands-parents, sur au moins 2 générations ; de même en est-il chez le rat, pour lequel les effets du manque de maternage à la naissance ont un retentissement direct (stress des nouveaux-nés), mais porte aussi sur les 2 générations d'après.

Le nombre d'exemples de cet ordre est considérable et amène à devoir garder ces faits en mémoire pour comprendre et interpréter certains évènements insolites dans le domaine médical (cas d'obésité, ou de diabète, etc.).

On constate désormais, que depuis l'intérêt de la médecine à ce domaine de l'épigénique (ou épigénétique), une profusion de références émerge, faisant même apparaître cette notion « d'épigénome ».

Les réflexions multiples sur ces phénomènes laissent aussi entrevoir un rôle de leurs effets dans le cadre de l'évolution. Doit-on y associer des ARN codants, et surtout non-codants tels les miARN, ou encore les siARN, les prions, les méthylations, ou d'autres éléments et systèmes biologiques ?

Quoi qu'il en soit, ce secteur n'est qu'à l'aube de son épanouissement, et tout reste à faire quant à son impact sur l'expression du génome et son rôle sur l'hérédité ou dans l'évolution. Le point essentiel que l'on peut déjà en retirer porte sur la complexité des éléments biologiques qui peuvent être impliqués, et sur l'importance des évènements extérieurs, à une génération, agissant sur l'expression aux générations ultérieures, et peut-être même de façon définitive. Les travaux traitant de toutes les questions soulevées offrent des ouvertures qui devraient apporter un renouveau à la biologie et plus particulièrement aux bases biologiques et aux lois de l'hérédité.

### RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES DES AUTEURS CITÉS ET COMPLÉMENTAIRES

Ahloowalia B.S. (1986) Limitations of the use of somaclonal variation in crop improvement. *In* : Semal J. (eds). Somaclonal variation and crop improvement. C.R. CEC Symposium, Gembloux Belgique pp. 14-17.

Barakat M.N., Abdel-Latif T.H. (1995) *In vitro* selection for salt-tolerant lines in wheat. II. *In vitro* characterization of cell lines and plant regeneration. *Alex. J. Agric. Res.* 40 (3) : 139-165.

Barakat M.N., Abdel-Latif T.H. (1996) *In vitro* selection of wheat callus tolerant to high level of salt and plant regeneration. *Euphytica* 91 : 127-140.

Barakat M.N., El-Haris M.K. (1998) *In vitro* selection for salt-tolerant lines in wheat. III. Agronomic evaluation of the progeny under salt stress conditions. *Alex. J. Agric. Res.* 43 (2) : 21-32.

Béloualy N., Bouharmont J. (1992) NaCl-tolerant plants of *Poncirus trifoliata* regenerated from tolerant cell lines. *Theor. Appl. Genet.* 83 : 509-514.

Béloualy N., Bouharmont J. (1993) Amélioration de la tolérance à la salinité par sélection *in vitro* chez deux portes-greffes de *Citrus*. *In* : AUPELF-UREF (eds). Le progrès génétique passe-t-il par le repérage et l'inventaire des gènes? John Libbey Eurotext pp. 301-304.

Bergounioux C. (1974) Déclenchement des phénomènes de régénération sur des pétales de *Petunia hybrida*. *Ann. Amélior. Pl.* 24 (1) : 55-62.

Bertin P., Kinet J.M., Bourharmont J. (1995) Heritable chilling tolerance improvement in rice through somaclonal variation and cell line selection. *Aust. J. Bot.* 44 : 91-105.

Bertin P., Busogoro J.-P., Tilquin J.-P., Kinet J.-M., Bouharmont J. (1996) Field evaluation and selection of rice somaclonal variants at different altitudes. *Plant Breeding* 115 : 183-188.

Binns A., Meins F. (1973) Evidence that habituation of tobacco pith cells for factors promoting cell division is heritable and potentially reversible. *Proc.Natl. Acad. Sci. USA* 70 : 2660-2662.

Bouharmont J. (1989) Utilisation de la variation somaclonale et de la sélection *in vitro* à l'amélioration du riz. *In* : AUPELF-UREF (eds). L'amélioration des plantes pour l'adaptation aux milieux arides. Paris, John Libbey Eurotext pp.1-8.

Bouharmont J. (1991) Utilisation de la variation somaclonale et de la sélection *in vitro* à l'amélioration du riz. *In* : Eurotext John Libbey (eds). L'amélioration des plantes pour l'adaptation aux milieux arides. Paris, AUPELF-UREF pp.1-18.

Bouharmont J. (1995) L'amélioration du riz en Afrique. *In* : AUPELF-UREF (eds). « Quel avenir pour l'amélioration des plantes? » Paris, John Libbey Eurotext pp. 15-21.

Brettel R.I.S., Thomas E., Ingram D.S. (1980) Reversion of Texas male-sterile cytoplasm maize in culture to give fertile T-toxin resistant plants. *Theor. Appl. Genet.* 58 : 55-58.

Brink R.A., Styles E.D., Axtell J.D. (1968) Paramutation: directed genetic change. *Science* 159 : 159-161.

Buiatti M. (1977) DNA amplification and tissue culture. *In* : Reinert J., Bajaj Y.P.S. (eds). Applied and fundamental aspects of plant cell, tissue and organ culture. Berlin, Springer Verlag pp. 358-374.

Buiatti M., Marcheschi C., Tognoni F., Lipucci di Paola M., Collina Greci F., Martini C. (1985) Genetic variability induced by tissue culture in the tomato *Lycopersicon esculentum*. *Z. Pflanzenzücht.* 94 : 162-165.

Burk L.G., Matzinger D.F. (1976) Variation among anther-derived doubled haploids from an inbred line of tobacco. *J. Hered.* 67 : 381-384.

Butcher D.N., Connolly J.D. (1971) An investigation of factors which influence the production of abnormal terpenoids by callus cultures of *Andrographis paniculata* Nees. *J. Exp. Bot.* 22 : 314-322.

Cameron J.W., Soost R., Olson F. (1964) Chimeral basis for color pink and red grapefruit. *J. Hered.* 55 (1) : 23-28.

Carlson P.S., Chaleff R.S. (1974) Heterogenous associations of cells formed *in vitro*. *In* : L. Ledoux (eds). Genetic manipulations with plant materials. New York, Plenum pp. 245-261.

Chen T.H.H., Gusta L.V. (1986) Isolation and characterisation of mutant cell lines and plants: cold tolerance. *In* : I.K. Vasil (eds). Plant regeneration and genetic variability. New York, London, Academic Press pp. 527-547.

Choo T.M., Li J.C., Martin R.A., Ho K.M. (2000) AC Malone barley. *Canad. J. Pl. Sci.* 80 : 597-598.

Clauhs R.P., Grun P. (1977) Changes in plastid and mitochondrion content during maturation of generative cells of *Solanum* (solanaceae). *Amer. J. Bot.* 64 (4) : 377-383.

Compton M.E., Veilleux R.E. (1991) Variation for genetic recombination among tomato plants regenerated from three tissue culture systems. *Genome* 34 : 810-817.

Conner A.J., Meredith C.P. (1985) Large scale selection of aluminium resistant from plant cell culture; expression and inheritance in seedlings. *Theor. Appl. Genet.* 71 : 159-165.

Crocomo O.J., Ochoa-Alejo N. (1983) Herbicide tolerance in regenerated plants. *In* : Evans D.A. Sharp N.R. Ammirato P.V., Yamada Y. (eds). *Handbook of plant cell culture. Techniques for propagation and breeding.* Macmillan, New York pp. 770-781.

Cullis C.A., Cleary W. (1986) DNA variation in flax tissue culture. *Can. J. Gen. Cyt.* 28 : 247-251.

Dagnélie P. (1970) *Théorie et méthodes statistiques.* Vol. 2, Gembloux, Presses Agron. 451 p.

De Mars R. (1974) Resistance of cultured human fibroblasts and other cells, to purine and pyrimidine analogues in relation to mutagenesis detection. *Mutation Res.* 24 : 335-364.

De Nettancourt D., Devreux M. (1977) Incompatibility and *in vitro* cultures. *In* : Reinert J. , Y.P.S. Bajaj (eds). *Applied and fundamental aspects of plant cell, tissue and organ culture.* Berlin, Springer Verlag pp. pp. 426-464.

Demarly Y. (1972) Régulation et hétérosis. *Ann. Amélior. Pl.* 22 : 143-166.

Demarly Y. (1977) *Génétique et Amélioration des Plantes.* Paris, Masson, Sc. Agro. 287 p.

Demarly Y. (1985) L'épigénique. *Bull. Soc. bot. Fr.* 132 (3/4) : 79-94.

Demarly Y. (1994) Les biotechnologies et l'amélioration des plantes. *Bull. Rech. Agron. Gembloux* 29 : 5-21.

Demarly Y., Sibi M. (1996) Amélioration des plantes et biotechnologies. (2<sup>ème</sup> édition mise à jour). John Libbey Eurotext, Londres, Paris 152p.

Dermen H., Stewart R.N. (1973) Ontogenic study of floral organs of peach utilizing cytochimeral plants. Amer. J. Bot. 60 (3) : 283-291.

Deshayes A. (1976) Effets de cycles successifs de néoformation de bourgeons *in vitro* sur l'aptitude à la variation somatique chez un mutant chlorophyllien de *Nicotiana tabacum* var. *samsun*. Mutation Res. 35 : 231-246.

Dix P.J., Street H.E. (1976) Selection of plant cell lines with enhanced chilling resistance. Ann. Bot. 40 : 903-910.

Dixon L.K., Leaver C.J., Brettell R.I.S., Gengenbach B.G. (1982) Mitochondrial sensitivity to *Drechslera maydis* T-toxin and the synthesis of a variant mitochondrial polypeptide in plant derived from maize tissue culture with male-sterile cytoplasm. Theor. Appl. Genet. 63 : 75-80.

Dossou-Yovo S., Prioul J.L., Demarly Y. (1982) Croissance et photosynthèse de phénovariants de riz. Effet de l'ombrage. Agronomie 2 : 493-502.

Duncan R.R., Waskom R.M., Nabors M.W. (1995) *In vitro* screening and field evaluation of tissue-culture-regenerated sorghum (*Sorghum bicolor* (L.) Moench) for soil stress tolerance. Euphytica 85 : 373-380.

Duncan R.R. (1997) Tissue Culture induced variation and crop improvement. Adv. in Agro. 58 : 201-239.

Durrant A. (1962) The environmental induction of heritable change in *Linum*. Heredity 17 : 27-61.

Ekiz H., Konzak C.F. (1991) Nuclear and cytoplasmic control of anther culture response in wheat : I. Analyses of alloplasmic lines. Crop Sci. 31 : 1421-1427.

Evans D.A., Sharp W.R. (1983) Single gene mutations in tomato plants regenerated from tissue culture. Science 221 : 949-951.

Evans D.A., Sharp W.R., Medina-Filho H.P. (1984) Somaclonal and gametoclonal variation. Amer. J. Bot. 71 : 759-774.

Evans D.A., Sharp W.R. (1986) Applications of somaclonal variations. Bio/Tech. 4 : 525-532.

Evans J.M., Batty N.P. (1994) Ethylene precursors and antagonists increase embryogenesis of *Hordeum vulgare* L. anther culture. Plant Cell Rep. 13 : 676-678.

Fakiri M. (1995) Obtention chez l'orge (*Hordeum vulgare*) de régénération par androgenèse et gynogenèse *in vitro* en condition de stress salin. Application à trois géotypes marocains. Doct INPL, Spéc. Sc. Agro., Option Génét. et Biotechno. 54505 Vandœuvre, 147 p.

Filner P. (1980) Possible origins of heritable variations in plant cell cultures. In : (eds). J. Tissue Culture Assoc. "In Vitro" (abstracts). pp. 232.

Fire, A., Xu, S., Montgomery, M.K., Kostas, S.A., Driver, S.E., Mello, C.C. (1998). Potent and specific genetic interference by double-stranded RNA in *Caenorhabditis elegans*. Nature 391, 806–811.

Flanagan, J.M., Wild, L. 2007 An epigenetic role for noncoding RNAs and intragenic DNA methylation. Genome Biology, 8 :307 (3p) Meeting report

Francois L.E., Maas E.V., Donovan T.J., Youngs V.L. (1986) Effect of salinity on grain yield and quality, vegetative growth, and germination of semi-dwarf and durum wheat. Agron. J. 78 : 1053-1058.

Frankel R., Scowcroft W.R., Whitfeld P.R. (1979) Chloroplast DNA variation in isonuclear male-sterile lines of *Nicotiana*. Mol. Gen. Genet. 169 : 129-135.

Fujita Y., Maeda Y., Suga C., Morimoto T. (1983) Production of shikonin derivatives by cell suspension cultures of *Lithospermum erythrorhizon*. Plant Cell Rep. 2 : 192-193.

Galiba G., Yamada Y. (1988) A novel method for increasing the frequency of somatic embryogenesis in wheat tissue culture by NaCl and KCl supplementation. Plant Cell Rep. 7 : 55-58.

Gautheret R.J. (1954) Catalogue des tissus végétaux. Rev. Gén. Bot. 61:672-702

Gautheret R.J. (1959) La culture des tissus végétaux. Paris, Masson et Cie.

Gendrel A-V, Heard E. (2014) Noncoding RNAs and Epigenetic Mechanisms During X-Chromosome Inactivation. Ann. Rev of Cell and Dev. Biol. 30:561-580

Gengenbach B.G., Green C.E. (1975) Selection of T-cytoplasm maize callus cultures resistant to *Helminthosporium maydis* race T pathotoxin. Crop Sci. 15 : 645-649.

Gengenbach B.G., Green C.E., Donovan C.M. (1977) Inheritance of selected pathotoxin in maize plants regenerated from cell cultures. Proc.Natl. Acad. Sci. USA 74 : 5113-5117.

Gray M.W. (1982) Mitochondrial genome diversity and the evolution of mitochondrial DNA. Can. J. Biochem. 60 : 157-171.

Griffing B. (1956) Concept of general and specific combining ability in relation to diallel crossing systems. Austr. J. of Biol. Sci. 9 : 463-493.

Haberlandt (1902) non référencé.

Halfmann R., Jarosz D.F., Jones S.K., Chang A., Lancaster A.K. , Lindquist S. (2012) Prions are a common mechanism for phenotypic inheritance in wild yeasts. Nature 482, 363–368

Halperin W., Wetherell D.F. (1964) Adventive embryony in tissue cultures of the wild carrot, *Daucus carota*. Amer. J. Bot. 51 (3) : 274-283.

Heinz D.J., Mee G.W.P. (1971) Morphologic, cytogenetic and enzymatic variation in *Saccharum* species hybrid clones derived from callus tissue. Amer. J. Bot. 58 : 257-262.

Holliday R. (1987) The inheritance of epigenetic defects. Science 238 : 163-170.

Holliday R., Pugh J.E. (1975) DNA modification mechanisms and gene activity during development. Developmental clocks may depend on the enzymatic modification of specific bases in repeated DNA sequences. Science 187 : 226-232.

Hugues K.W. (1983) Selection for herbicide resistance. *In* : Evans D.A. Sharp N.R. Ammirato P.V., Yamada Y. (eds). Handbook of plant cell culture. Techniques for propagation and breeding. Macmillan, New York pp. 442-460.

Jablonka E., Lamb M. J. (1995) Epigenetic Inheritance and Evolution: The Lamarckian Dimension. Oxford (UK): Oxford University Press.

Jablonka E., Lamb M. J. (2008) The epigenome in evolution: beyond the modern synthesis. VOGis Herald 12:242–254.

Jablonka E., Raz G. (2009) Transgenerational epigenetic inheritance prevalence mechanisms and implications for the study of heredity and evolution. *The Quarterly Review of Biology*, 84 (2) :131-176

Jain S.M. (2001) Tissue culture-derived variation in crop improvement. *Euphytica* 118 : 153-166.

Karadimova M., Djambova G. (1993) Increased NaCl-tolerance in wheat (*Triticum aestivum* L. and *T. durum* Desf.) through in vitro selection. *In Vitro Cell Dev. Biol.* 29P : 180-182.

Keyes G.J., Collins G.B., Taylor N.L. (1980) Genetic variation in tissue cultures of red clover. *Theor. Appl. Genet.* 58 : 265-271.

Kobaissi A. (2001) Gynogénèse en conditions de stress salin, source de vitrovariation orientée, pour la création de tolérance à la salinité chez l'orge (*Hordeum vulgare*) et le blé dur (*Triticum durum*). Doct INPL, Spéc. Sc. Agro., Option Génét. et Biotechno. INPL/ENSAIA, 2, ave. de la forêt de Haye, 54505 Vandœuvre, 190 p.

Kouadio K., Crèche J., Chénieux J.C., Rideau M., Viel C. (1985) Alkaloid of *Ochrosia elliptica* cell suspension cultures. *J. Plant Physiol.* 118 : 277-283.

Kouadio Y.S. (1979) Analyse génétique de la variabilité observée dans une descendance de lignée pure de riz (*Oryza sativa* L. var. Cigalon) traitée par androgenèse *in vitro*. Thèse Docteur-Ingénieur, Amélioration des Plantes. Université Paris-Sud, 91405 Orsay, 161 p.

Lacoste N., Côté J. (2003) Le code épigénétique des histones. *Médecine/Sciences* 19 : 955-959

Lansman R.A., Avise J.C., Huettel M.D. (1983) Critical experimental test of the possibility of "paternal leakage" of mitochondrial DNA. *Science* 80 : 1969-1971.

Larkin P.J., Scowcroft W.R. (1981) Somaclonal variation - a novel source of variability from cell cultures for plant improvement. *Theoretical and Applied Genetics.* 60 : 197-214.

Lee M. (1984) Cytogenetic analysis and progeny evaluation of maize (*Zea mays* L.) plants regenerated from organogenic callus cultures. MS Thesis, Univ. Minnesota. Minneapolis.

Li J.C., Choo T.M., Ho K.M., Falk D.E., Blatt R. (2001) Barley somaclones associated with high yield or resistance to powdery mildew. *Euphytica* 121 : 349-356.

Lutz A. (1969) Etude des aptitudes morphogénétiques des cultures de tissus. Analyse par la méthode des clones d'origine unicellulaire. *Rev. Gén. Bot.* 76 : 309-359.

Mandal A.B., Pramanik S.C., Chowdhury B., Bandyopadhyay A.K. (1999) Salt-tolerant Pokkali somaclones: performance under normal and saline soils in Bay Islands. *In* : Elsevier (eds). *Field Crops Research*. pp. 13-21.

Mc Clintock B. (1956) Intranuclear systems controlling gene action and mutation. *Brookhaven Symp. Biol.* 8 : 58.

Mc. Coy T.J., Phillips R.L. (1982) Chromosome stability in maize (*Zea mays* L.) tissue cultures and sectoring in some regenerated plants. *Can. J. Gen. Cyt.* 24 : 559-565.

Martienssen R.A., Colot V. (2001) DNA methylation and epigenetic inheritance in plants and filamentous fungi. *Science* 293:1070-1074.

Meins F., Lutz J. (1980) The induction of cytokinin habituation in primary pith explants of tobacco. *Planta* 149 : 402-407.

Meins F. (1983) Heritable variation in plant cell culture. *Proc.Natl. Acad. Sci. USA* 74 : 2928-2932.

Meynet J. (1990) Culture *in vitro* de la renoncule des fleuristes (*Ranunculus asiaticus* L.). III Étude des plantes produites par embryogenèse somatique à partir des tissus superficiels de l'anthère. *Agronomie* 10 : 285-290.

Mousseau J. (1970) Fluctuation induite par la néoformation de bourgeons *in vitro*. *In*: Les cultures de tissus de plantes. C.R. Colloque Intern. CNRS (1969) Strasbourg. pp. 235-239.

Murashige T., Skoog F. (1962) A revised medium for rapid growth and bioassay with tobacco tissue cultures. *Physiol. Plant.* 15 : 473-497.

Nagl W. (1972) Evidence of DNA amplification in the orchid *Cymbidium in vitro*. *Cytobiology* 5 : 145-154.

Nagl W., Hendon J., Rucker W. (1972) DNA amplification in *Cymbidium* protocorms *in vitro* as it relates to cytodifferentiation and hormone treatment. *Cell Diff.* 1 : 229-237.

Nagylaki Y., Petes T.D. (1982) Intrachromosomal gene conversion and the maintenance of sequence homogeneity among repeated genes. *Genetics* 100 : 315-337.

Nielsen M.T., Collins G.B. (1989) Variation among among androgenic and gynogenic doubled haploids of tobacco (*Nicotiana tabacum* L.). *Euphytica* 43 : 263-267.

Nobécourt P. (1946) Productions de nature caulinaire et foliaire sur des cultures de racines de carotte en milieu synthétique. *C. R. Soc. Biol.* 140 : 944-953.

Novàk F.J., Maskovà I. (1979) Apical shoot tip culture of tomato. *Sci. Hort.* 10 : 337-344.

Nuti Ronchi V. (1971) Amplificazione genetica in cellule differenziate di cotiledoni di *Lactuca sativa in vitro*. *Atti Ass Genet Ital* 16 : 47-50.

Nuti Ronchi V. (1990) Organogenesis and embryogenesis : genetic and physiological approaches. *Acta Horticulturae* 280 : 1-10.

Oinuma T., Yoshida I. (1975) Genetic variations among douled haploid lines of burley tobacco varieties. *Japan Journal of Breeding* 24 : 211-216.

Orton T.J. (1980) Chromosomal variability in tissue cultures and regenerated plants of *Hordeum*. *Theor. Appl. Genet.* 56 : 101-112.

Orton T.J. (1984) Somaclonal variation: theoretical and practical considerations. *In* : Gutafson J.P. (eds). *Gene Manipulation in Plant Improvement*. New York, Plenum pp. 427-468.

Otha T. (1980) Two-locus problems in transmission genetics of mitochondria and chloroplasts. *Genetics* 96 : 543-555.

Ouyang T.M., Hu H., Tseng C.C. (1973) Induction of pollen plants from anthers of *Triticum aestivum* L. cultured *in vitro*. *Sci. Sinica* 16 : 79-95.

Pandey K.K. (1972) Origin of genetic variation: regulation of genetic recombination in the higher organisms. A theory. *Theor. Appl. Genet.* 42 : 250-260.

Pembrey ME. (2002) Time to take epigenetic inheritance seriously. *European Journal of Human Genetics*. **10**:669–671.

Péreau-Leroy P. (1975) Recherches radiobiologiques sur des chimères d'oeillet, *Dianthus caryophyllus* L. Thèse de Doctorat ès-Sciences. Université de Clermont-Ferrand, 169 p.

Pétiard V. (1974) Cultures de cellules végétales sur des milieux hydrocarbonés. ANVAR Brevet n° 74 2604.

Pétiard V., Courtois D. (1983) Recent advances of research for novel alkaloid in *Apocynaceæ* tissue cultures. *Physiol. Vég.* 21 : 217-222.

Pétiard V., Babault C., Bariaud A., Hutin M., Courtois D. (1985) Studies on variability of plant tissue cultures for alkaloid production in *Catharanthus roseus* and *Papaver somniferum* callus cultures. *In* : (eds). Primary and secondary metabolism of plant cell cultures. Berlin, New York, Springer-Verlag pp. 133-142.

Picard E., De Buyser J. (1973) Obtention de plantes haploïdes de *Triticum aestivum* L. à partir de culture d'anthères *in vitro*. *C. R. Acad. Sci. Série D* : 277.

Picard E. (1984) Contribution à l'étude de l'hérédité et de l'utilisation en sélection de l'haploïdisation par androgenèse *in vitro* chez une céréale autogame *Triticum aestivum* L. Thèse de Doctorat ès-Sciences, Univ. Paris-Sud 91405 Orsay 292 p.

Picard E., Rode A., Benslimane A., Parisi L. (1986) Gametoclonal variations in doubled haploids of wheat : biometrical and molecular aspects. *In* : Somaclonal variation and crop improvement. Sept. 3-6 1985. Gembloux (Belgique). Ed. J. Semal : 136-147.

Picard E., Crambes É., Mihamou-Ziyyat A. (1994) L'haplodiploïdisation: un outil multi-usage pour la génétique et l'amélioration des céréales. *In* : AUPELF-UREF (eds). « Quel avenir pour l'amélioration des plantes? » Paris, John Libbey Eurotext pp. 355-369.

Piri K., Anceau S., El Jaafari S., Lepoivre P., Semal J. (1994) Sélection *in vitro* de plantes androgénétiques de blé tendre résistantes à la salinité. *In* : AUPELF-UREF (eds). « Quel avenir pour l'amélioration des plantes? » Paris, John Libbey Eurotext pp. 311-320.

Preer J.R.J. (1971) Extrachromosomal inheritance: hereditary symbionts, mitochondria, chloroplasts. *Annu. Rev. Genet.* 5 : 361-406.

Reisch B., Bingham E.T. (1981) Plants from ethionine-resistant alfalfa tissue cultures: variation in growth and morphological characteristics. *Crop Sci.* 21 : 783-788.

Reisch B. (1983) Genetic variability in regenerated plants. *In* : Evans D.A. Sharp N.R. Ammirato P.V., Yamada Y. (eds). *Handbook of plant cell culture. Techniques for propagation and breeding.* New York, Macmillan pp. 748-769.

Robbins W.J. (1922) Cultivation of excised root tips and stem tips under sterile conditions. *Bot. Gaz.* 73 : 376-390.

Rode A., Hartmann C., Benslimane A., Picard E., Quétier F., (1987) Gametoclonal variation detected in the nuclear ribosomal DNA from doubled haploid lines of a spring wheat (*Triticum aestivum* L., cv. Cesar). *Theor. Appl. Genet.*, 74 : 31-37.

Rohlf J.F., Sokal R.R. (1969) *Statistical Tables.* San Francisco, California, Sacristàn M.D. (1986) Isolation and characterisation of mutant cell lines and plants: disease resistance. *In* : I.K. Vasil (eds). *Plant regeneration and genetic variability.* New York, London, Academic Press pp. 513-525.

Sagawa Y., Melhquist G.A.L. (1957) The mechanism responsible for some X-ray induced changes in flower color of the carnation, *Dianthus caryophyllus*. *Amer. J. Bot.* 44 : 397-403.

Sager R., Grabowy C. (1983) Differential methylation of chloroplast DNA regulates maternal inheritance in a methylated mutant of *Chlamydomonas*. *Proc.Natl. Acad. Sci. USA* 80 : 3025-3029.

Sager R., Kitchin R. (1975) Selective silencing of eukaryotic DNA. *Science* 189: 426-433.

San Nøum H., Ahmadi N. (1982) Variability of doubled haploids from *in vitro* androgenesis and gynogenesis in *Hordeum vulgare* L. *In* : E.D. Earle, Demarly Y. (eds). *Variability in Plants Regenerated From Tissue Culture.* New York, Praeger pp. 273-283.

Sarrafi A., Ghaemi M., Amrani N., Alibert G. (1994) Contrôle nucléaire et cytoplasmique de la régénération haploïde chez les blés tétraploïdes. *In* : AUPELF-UREF (eds). « Quel avenir pour l'amélioration des plantes? » Paris, John Libbey Eurotext pp. 299-303.

Satina S., Blakeslee A.F., Avery A.G. (1940) Demonstration of the three germ layers in the shoot apex of *Datura* by means of induced polyploidy in periclinal chimeras. *Amer. J. Bot.* 27 : 895-905.

Sato F., Yamada Y. (1984) High berberin producing cultures of *Coptis japonica* cells. *Phytochem.* 23 : 281-285.

Saupe S.J., Supattapone S. (2006) What makes a good prion ? *EMBO reports*, 7 : 3, 254-258

Schaeffer G.W. (1982) Recovery of heritable variability in anther-derived doubled haploid rice. *Crop Sci.* 22 : 1160-1164.

Schaeffer G.W., Sharpe F.T.J., Cregan P.B. (1984) Variation for improved protein and yield from rice anther culture. *Theor. Appl. Genet.* 67 : 383-389.

Schimke R.T., Kaufman R.J., Alt F.W., Fellems R. (1978) Gene amplification and drug resistance in cultured murine cells. *Science* 202 : 1051-1055.

Shannon M.C. (1997) Adaptation of Plants to Salinity. *Advances in Agronomy* 60 : 76-119.

Shekafandeh A. (1998) Régénération par gynogenèse *in vitro* chez le blé dur (*Triticum durum*) et l'orge (*Hordeum vulgare*); obtention de plantes selon diverses modalités d'applications de stress salins. Doctorat de l'INPL, Option Génétique et Biotechnologies. INPL/ENSAIA 2, ave. de la forêt de Haye, 54505 Vandœuvre, 218 p.

Shorter J., Lindquist S (2005) Prions as adaptive conduits of memory and inheritance. *Nat Rev Genet* 6: 435–450

Sibi M. (1971) Création de variabilité par culture de tissus *in vitro* chez *Lactuca sativa*. DEA. Amélior. Plantes. Univ Paris-Sud, 91405 Orsay.

Sibi M. (1974) Création de variabilité par culture de tissus *in vitro* chez *Lactuca sativa*. Thèse spéc. Amélior. Pl. Univ Paris-Sud, Orsay, 142 p.

Sibi M. (1976) La notion de programme génétique chez les végétaux supérieurs II- Aspect expérimental- Obtention de variants par culture de tissus sur *Lactuca sativa* L. Apparition de vigueur chez les croisements. Ann. Amélior. Pl. 26 ( 4) : 523-547.

Sibi M. (1978) Multiplication conforme, non-conforme. Sélectionneur Français 26 : 9-18.

Sibi M. (1979) Expression of cryptic genetic factors *in vivo* and *in vitro*. In : Zeven, Van Harten (eds). Broadening genetic base crop. Wageningen, Pudoc pp. 339-340.

Sibi M. (1981) Hérité de variants épigéniques obtenus par culture *in vitro* chez les végétaux supérieurs. Thèse de Doctorat és-Sciences 17 Déc. Université Paris-Sud, Orsay, 280 p.

Sibi M., Branchard M. (1982) Les variants peuvent-ils être orientés? In : (eds). Les cellules végétales *in vitro*. Réalités agricoles et industrielles. C.R. Colloque Apria, Paris, pp. 27-52.

Sibi M., Biglary M., Demarly Y. (1984) Increase in the rate of recombinants in tomato (*Lycopersicon esculentum*) after *in vitro* regeneration. Theor. Appl. Genet. 68 : 317-321.

Sibi M. (1986) Non-mendelian heredity. Genetic analysis of variant plants regenerated from *in vitro* culture : Epigenetics and Epigenics. In : J. Semal (eds). Somaclonal variation and crop improvement. C.R. CEC Symposium, 1985. Gembloux Belgique. Dordrecht, Boston, Lancaster, Martinus Nijhof pp. 53-83.

Sibi M. (1989) Vitrovariations ou variations somaclonales? In : AUPELF-UREF (eds). Amélioration et protection des Plantes vivrières tropicales. Paris, John Libbey Eurotext pp. 27-49.

Sibi M. (1990) Genetic bases of variation from *in vitro* tissue culture. In : Bajaj Y.P.S. (eds). Somaclonal variation in crop improvement. Berlin, Heidelberg, Springer-Verlag pp. 112-133.

Sibi M., Kandil M. (1993) Marqueurs biochimiques de la vitrovariation chez des haplodiploïdes d'orge (*H. vulgare*). In : AUPELF-UREF (eds). « Le progrès génétique passe-t-il par le repérage et l'inventaire des gènes? » Paris, John Libbey Eurotext pp. 283-299.

Sibi M., Fakiri M. (1994) Vitrovariation chez des orges (*Hordeum vulgare*) issues d'haplodiploïdisation. Analyse des  $\beta$  amylases chez les croisements diallèles. *In* : AUPELF-UREF (eds). « Quel avenir pour l'amélioration des plantes? » Paris, John Libbey Eurotext pp. 345- 353.

Sibi M.L. (1996) Vitrovariation, potentialités nouvelles et sélection *in vitro*. *In* : CNED-AUPELF/UREF (eds). Biotechnologies Végétales. Rennes, pp. 7-54.

Sibi M.L., Fakiri M. (2000) Androgenèse et gynogenèse *in vitro*, sources de vitrovariation et de tolérance à l'aridité chez l'orge *Hordeum vulgare*? *Sécheresse* 2 (11) : 125-132.

Sibi M.L., Kobaissi A., Machlab H., Fakiri M. (2000) Analyse de la tolérance à la salinité chez les descendances de plantes d'orge *Hordeum vulgare* régénérées en condition de stress salins. *In* : AUPELF-UREF (eds). C.R. Journées Sci. du Réseau Biotechnologies -Génie Génétique des Plantes-1999, Des modèles biologiques à l'Amélioration des Plantes. John Libbey Eurotext, Montpellier pp. 520-521.

Siminovitch L. (1976) On the nature of hereditary variation in cultured somatic cells. *Cell* 7 : 1-11.

Singh R.J. (1986) Chromosomal variation in immature embryo derived calluses of barley (*Hordeum vulgare* L.). *Theor. Appl. Genet.* 72 : 710-716.

Singsit C., Veilleux R.E., Sterrett S.B. (1990) Enhanced seed set and crossover frequency in regenerated potato plants following anther and callus culture. *Genome* 33 : 50-56.

Skirvin R.M., Janick J. (1976) Tissue culture-induced variation in scented *Pelargonium* spp. *Hort. Sci.* 101 : 281-290.

Skirvin R.M. (1977) Separation of phenotypes in a periclinal chimera. *J. College Science Teaching* 7 : 33-35.

Skirvin R.M., Carlson C.L., Gorske S. (1982) Natural and tissue cultured-induced variation in *Portulaca* hybrid. *In* : Earle E.D. Demarly Y. (eds). Variability in plants regenerated from tissue culture. New York, Praeger pp. 245-267.

Skokut T.A., Filner P. (1980) Slow adaptative changes in urease levels of tobacco cells cultured on urea and other nitrogen sources. *Plant Physiol.* 65 : 995-1003.

Sokal R.R., Rohlf J.F. (1969) *Biometry: the Principles and Practice of Statistics in Biological Research.* San Francisco, California.

Springer W.D., Green C.E., Kohn K.A. (1979) A histological examination of tissue cultures initiated from immature embryos of maize. *Protopl.* 101 : 269-281.

Sree Ramulu K., Devreux M., De Martinis P. (1976) Origin and genetic analysis of plants regenerated *in vitro* from periclinal chimeras of *Lycopersicon esculentum*. *Z. Pflanzenzücht.* 77 : 112-120.

Sree Ramulu K. (1982) Genetic instability at the S-locus of *Lycopersicon peruvianum* plants regenerated from *in vitro* culture of anthers: generation of new S-specificities and S-allele reversions. *Heredity* 49 : 319-330.

Storz, G., Altuvia S., Wassarman, K.M., 2005 An abundance of RNA regulators. *Ann. Rev. Biochem.* 74 :199-217

Sugawara N., Szostàk J.W. (1983) Recombination between sequences in nonhomologous position. *Proc.Natl. Acad. Sci. USA* 80 : 5675-5679.

Swanson E.B., Coumans M.P., Brown G.L., Patel J.D., Beversdorf W.D. (1988) The characterization of herbicide-tolerant plants in *Brassica napus* L after *in vitro* selection of microspores and protoplasts. *Plant Cell Reports* 7 : 83-87.

Tal M. (1983) Selection for stress tolerance. *In*: Evans D.A. Sharp N.R. Ammirato P.V., Yammada Y. (eds). *Handbook of plant cell culture. Techniques for propagation and breeding.* New York, Macmillan pp. 461-488.

Tanaka M., Collins S.R., Toyama B.H., Weissman J.S. (2006) The physical basis of how prion conformations determine strain phenotypes. *Nature (letters)* 442 :3, 585-589

Tartof K.D. (1973) Unequal mitotic sister chromatid exchange and disproportionate replication as mechanisms regulating ribosomal RNA-gene redundancy. *Cold Spring Harbor Symp. of Quant. Biol.* 38 : 491-500.

Templeton-Sommers K.M., Sharp W.R., Pfister R.M. (1981) Selection of cold-resistant cell lines of carrot. *Z. F. Pflanzenphysiologie* 103 : 139-148.

Tilney-Basset R.A.E., Abdel-Wahab O.A.L. (1973) Irregular segregation at the Pr locus controlling plastid inheritance in *Pelargonium*: gametophytic lethal or incompatibility system? *Theor. Appl. Genet.* 62 : 185-191.

Trivedi S., Galiba G., Sankhla N., Erdei L. (1991) Responses to osmotic and NaCl stress of wheat varieties differing in drought and salt tolerance in callus cultures. *Plant Sci.* 73 : 227-232.

Truong-André I. (1977) Variabilité des plantes issues d'androgenèse *in vitro* et tentative d'application directe, en sélection, de cette variabilité et de la mutagenèse par voie haploïde chez le riz *Oryza sativa* L. Thèse Spécialité Amélioration des Plantes. Université Paris-Sud, 91405 Orsay, 188 p.

Vajrabhaya M., Thanapaisal T., Vajrabhaya T. (1989) Development of salt tolerant lines of KDML and LPT rice cultivars through tissue culture. *Plant Cell Rep.* 8 : 411-414.

Van Sint Jan V. (1992) Sélection *in vitro* et caractérisation de lignées de cellules et de plantes d'*Oryza sativa* L. tolérantes à l'aluminium. Doctorat de l'Université Catholique de Louvain. Laboratoire de Cytogénétique, Faculté des Sciences, Louvain-la-Neuve, 269 p.

Van Sint Jan V., Costa de Macedo C., Kinet J.M., Bouharmont J. (1997) Selection of Al-resistant plants from sensitive rice cultivar, using somaclonal variation, *in vitro* and hydroponic cultures. *Euphytica* 97 : 303-310.

Van Speybroeck L. (2002, a) From Epigenesis to epigenetics The case of C. H. Waddington. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 981: 61–81

Van Speybroeck L. (2002, b) “Philosophers and biologists exploring epigenetics”. *Biology and Philosophy* 17: 743–746

Vaucheret H. (2007) Variété des ribo-régulateurs et de leurs rôles. Académie d'Agriculture de France 1-3

Wang C.C., Chu C.C., Sun C.S., Wu S.H., Yin K.C., Hsü C. (1973) The androgenesis in wheat (*Triticum aestivum*) from anthers cultured *in vitro*. *Sci. Sinica* 16 (2) : 218-222.

Weissmann C. (2005) Birth of a prion: spontaneous generation revisited. *Cell*, 122:2, 165–168

White P.R. (1931) Plant tissue cultures. The history and present status of the problem. *Arch. for exp. Zelforsch.* 10 : 501-518.

White P.R. (1932 a) Influence of some environmental conditions on growth of excised root tips of wheat seedlings in liquid media. *Plant Physiol.* 7 : 613-628.

White P.R. (1932 b) Plant tissue cultures. A preliminary report of results obtained in the culturing of certain plant meristems. *Arch. for exp. Zelforsch.* 12: 602-620.

White P.R. (1933) Plant tissue cultures. Results of preliminary experiments on the culturing of isolated stem-tips of *Stellaria media*. *Protoplasma* 19 : 97-116.

Yamada Y., Sato F. (1983) Selection for photoautotrophic cells. *In* : Evans D.A. Sharp N.R. Ammirato P.V., Yamada Y. (eds). *Handbook of plant cell culture. Techniques for propagation and breeding.* New York, Macmillan pp. 489-500.

Ye J.M., Kao K.N., Harvey B.L., Rosnagel B.G. (1987) Screening salt-tolerant barley genotype via F1 anthers culture in salt stress media. *Theor. Appl. Genet.* 74 : 426-429.

Yean San L.H. (1987) Gynogenèse *in vitro*. Variabilité des haploïdes doublés issus d'androgenèse, de gynogenèse *in vitro* et de croisements interspécifiques chez *Hordeum vulgare* L. Thèse Doctorat ès-Sciences. Université Paris-Sud, 91405 Orsay, 153 p.

## Références journalistiques de 2005

Cress overturns textbook genetics

Helen Pearson

Surprise finding shows that plants rewrite genetic code. *Arabidopsis* plants may possess a genetic backup to deal with faulty parental DNA.

Revue de Presse Quotidienne. Mission Agrobiosciences (24.03.2005)

« L'Arabette des Dames : la plante qui pourrait révolutionner la génétique mendélienne ». Corinne Bensimon, Libération, Le Figaro, AFP et AP

Un mutant végétal violerait les lois de l'hérédité

Le Monde 24.03.05 Hervé Morin

## Références électroniques

Clarke T. (2001) « Prion pair pictured » (Nature News )

Published online 28 August | Nature | doi:10.1038/news010830-6

Mæ-Wan Ho (2006) « What genes remember » 12.01.09,

<[www.isis.org.uk/epigeneticInheritance.php](http://www.isis.org.uk/epigeneticInheritance.php)>

Lolle S. J., Victor J. L., Young J. M. & Pruitt R. E. (2004)

published online, doi:10.1038/nature03380.

Heard E. (2012) "l'esprit au-delà des gènes". Le Monde Science et Techno:

<http://www.lemonde.fr/sciences/article/2012/12/06/edith-heard...>

## RESSOURCES ILLUSTRATIVES

\*ps : les ARNnc (ou, ncRNA)

selon Vaucheret (2007) :

- les micro ARN (miARN) dérivent de molécules d'ARN simple brin capable d'autorepliement ; ils agissent en « trans » et régulent, par clivage des messagers, l'expression de gènes distincts de ceux dont ils dérivent ;
- les petits ARN interférents (siARN, small interferent) dérivent d'ARN double brin, résultant de l'activité d'enzymes cellulaires (ARN polymérase) ; ils agissent en « cis », et régulent l'expression des gènes dont ils dérivent par clivage du messager ;
- une autre catégorie de siARN s'observe aussi chez les végétaux ; ils agissent en « cis » et sont essentiellement impliqués dans le maintien des structures de l'hétérochromatine et dans le contrôle d'éléments transposables.

Retour à : [VII A9](#) (p. 43)

**\*\* exemple du maïs Texas :**

Dans les années 1970, le maïs « Texas » couvrait les États-Unis en monoculture, car il présentait une particularité importante, il était « mâle stérile cytoplasmique », permettant l'obtention d'hybrides simples, sans castration.

En contrepartie, un problème grave fût découvert : sa sensibilité à un champignon pathogène (*Helminthosporium maydis*) ; ce défaut entraîna la perte de toutes les cultures pendant plusieurs années.

C'est ainsi que Gengenbach et Green mirent en place des cultures *in vitro*, en introduisant progressivement la toxine purifiée du pathogène dans les milieux. Des régénérants résistants ont ainsi été initiés (Gengenbach et Green, 1975). Malheureusement, ces plantes avaient perdu leur « autre » qualité de base indispensable : la stérilité mâle, qui s'est révélée, à mesure des nombreux travaux, être associée à la même base biologique (les mitochondries) que la sensibilité (Dixon *et al.*, 1982).

Retour à : [VIAb2](#) (p. 33)

**TblOrgVv**

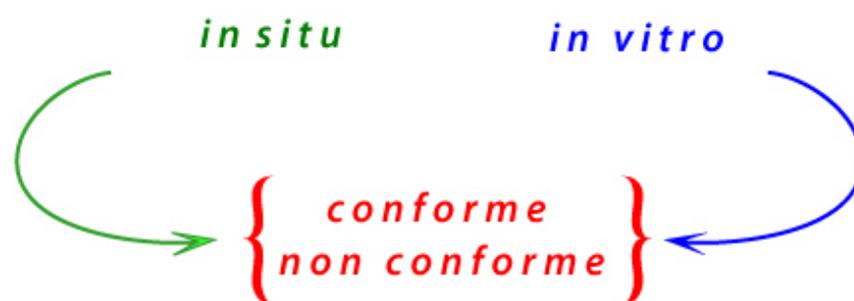
Implant	Conformité	Vitrovariation	
		Modifications extrachromosomiques Variants épigéniques	Modifications au niveau des gènes codants
<p><b>Tissus somatiques</b></p> <p>Embryons immatures </p> <p>Bourgeons </p> <p>Méristèmes </p> <p>Apex </p> <p>Tissus </p> <p>Cals </p>	<p>embryons somatiques (clonage)</p> <p>développement (clonage)</p> <p>élimination de virus ou micropropagation (clonage)</p> <p>embryogenèse ou régénération (clonage)</p>	<p>expression d'une variabilité des embryons, selon l'origine mâle ou femelle des tissus somatiques dont ils proviennent</p> <p>croisements interspécifiques inviables (sauvetage <i>in vitro</i> des embryons)</p> <p>phénotypes nouveaux des régénérants, résistances aux maladies, froid, etc.</p> <p><b>Analyses génétiques précises</b></p>	
<p>Cellules </p> <p>Protoplastes et fusion, etc. </p>	<p><i>biosynthèse de substances biochimiques identiques ou différant quantitativement ou qualitativement</i></p>	<p>* introduction de nouvelles potentialités (stérilité mâle cytoplasmique, résistances aux insectes, etc.) par utilisation de deux espèces ou dans la même espèce</p> <p>* introduction d'organites ou de fragments d'ADN</p>	
<p><b>Gaméophytes</b></p> <p>Mâle </p> <p>Femelle </p>	<p>* fixité génétique directe (immédiate)</p> <p>* sélection de parents</p> <p>* sélection de variétés</p>	<p><b>Haplodiploïdisation</b></p> <p>♂ * large spectre de variabilité</p> <p>♀ * variation ténue ou très marquée</p> <p>* expressions de types sauvages</p> <p>* fixation des produits de croisements interspécifiques</p> <p>* stabilisation d'aneuploïdes</p>	

Expression d'une vitrovariation, selon l'origine, la taille, le degré d'organisation de l'implant, et selon la technique de culture *in vitro* utilisée.

Retour à : [I Ab](#) (p. 3); [II Bc1](#) (p. 9) ; [II Ab2](#) (p. 11); [VI Ba](#) (p. 34)

**ConfNConf**

*diverses modalités de  
multiplication du végétal  
sans amphimixie*



- multiplication végétative
- apomixie

- développement de bourgeons
- culture { d'apex  
de méristèmes
- régénération { sur tissus  
sur cals
- embryons immatures
- embryogenèse somatique
- culture de gamétophytes
- (cultures cellulaires,  
et fusions de protoplastes)

Retour à : [IAb1](#) (p. 3)

**TablList69-80**

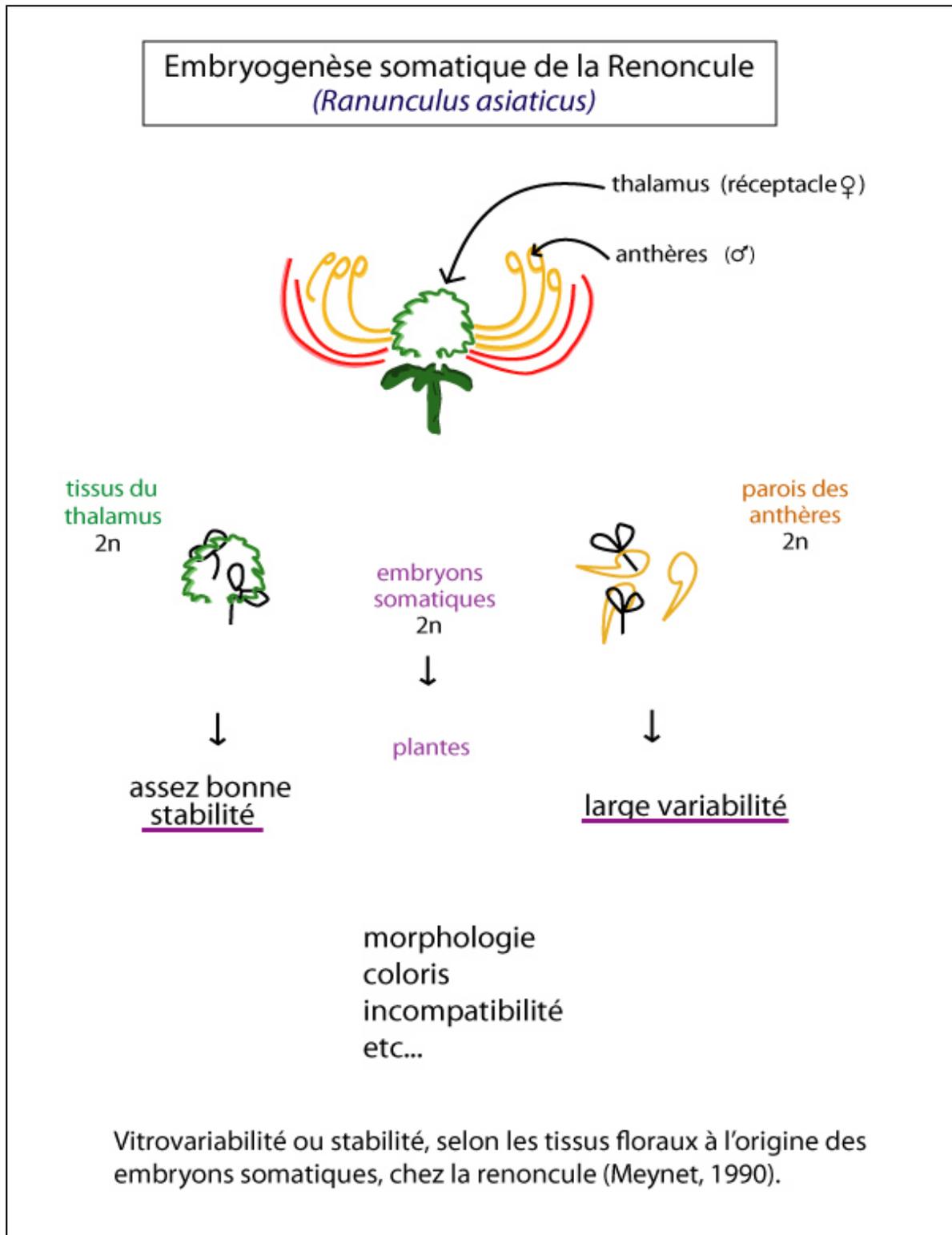
<b>Matériel</b>	<b>Auteurs</b>	<b>Plantes régénérées</b>	<b>Conclusions</b>
Tomate	KARTHA et CHAMPOUX (1977)	Directement sur tissus	Pas de différence
Ananas	WASAKA (1979)	Directement sur tissus (?)	Variabilité
Canne à sucre	HEINZ et MEE (1969)	Sur cals repiqués	Variabilité
Tabac	LUTZ (1969)	Cals issus de clones Unicellulaires	Variabilité
Tabac	MOUSSEAU (1970)	Sur cals repiqués	Variabilité
Laitue	SIBI (1971 à 1976)	Sur cals repiqués	Variabilité
Maïs	GENGENBACH et GREEN (1975)	Scutellum repiqués sur milieux sélectifs	Variants orientés
Maïs	BRETTELL et INGRAM (1980)	Scutellum repiqués sur milieux sélectifs	Variants orientés
Tomate	de LANGHE et de BRUUNE (1976)	Sur cals repiqués	Peu de différence cependant forte activité végétative
Tabac	DESHAYES (1976)	Sur cals repiqués	Variabilité qui augmente dès le 2 <sup>e</sup> transfert des cals
Tomate	SIBI (1978 à 1990)	Sur cals repiqués	Variabilité dès la mise en culture
Trèfle violet	KEYES <i>et al.</i> (1980)	Sur cals repiqués	Variabilité
Canne à sucre	BONNEL (1980)* CHAGVARDIEFF (1980)* ORTIZ (1980)*	Sur cals repiqués	Variabilité étudiée au niveau phénotypique, cytologique, enzymatique
Tomate	MIKOKO et SIBI (1981)	Sur cals repiqués	Variabilité
Tomate	BIGLARY et SIBI (1981 et 1984)	Sur cals repiqués	Variabilité
Choux de Bruxelles	CLARE et COLLIN (1974)	Graines et méristèmes	Les deux types de lots différent
Pelargonium	SKIRVIN et JANICK (1976)	Méristèmes et cals d'âge variable	Il y a différence des deux lots et évolution avec l'âge des cals
Fraisier	BOXUS (1976-1977)*	Apex	Quelque fois variabilité
Oeillet	SILVY (1978)*	Apex	Quelque fois variabilité
Gerbera	MEYNET (1980)*	Apex	Quelque fois variabilité

\* Communication personnelle

**Inventaire des 1ers cas de vitrovariation chez les régénérants issus de tissus somatiques, selon le type d'implant cultivé *in vitro*, entre les années 1969 et 1980.**

Retour à : [IAb1](#)(p. 3) ; à [IIBc1](#) (p. 11); à [VIBa](#) (p. 34)

**EmbSRenoncule**



Retour à : [I Ab1](#) (p. 3) ; [II Ab](#) (p. 9)

## NomenclVv

Mise en évidence de la  
variabilité des régénérants  
1969, 70, 71

{ Lutz } tabac  
{ Mousseau }  
Heinz & Mee canne à sucre  
Sibi laitue

### "Vitrovariation" (Sibi, 1981)

(variation somaclonale, Larkin & Scowcroft, 1981)  
(variation gamétoclonale, Evans *et. al*, 1984)

#### Travaux relatifs au concept de vitrovariation (Sibi *et al.*, 1970-2005):

laitue 70 à 76 → apparition et lois d'hérédité (1974)  
tomate 76 à 81 → théorie de l'épigénique (1981)

dès  
1974

- expression d'une mutabilité exacerbée
- modifications à hérédité particulière:
  - par  $A\emptyset$  = sans ségrégation
  - par  $X^t$  = dissymétries { effets maternels  
= transgressions { effets paternels

depuis  
1982

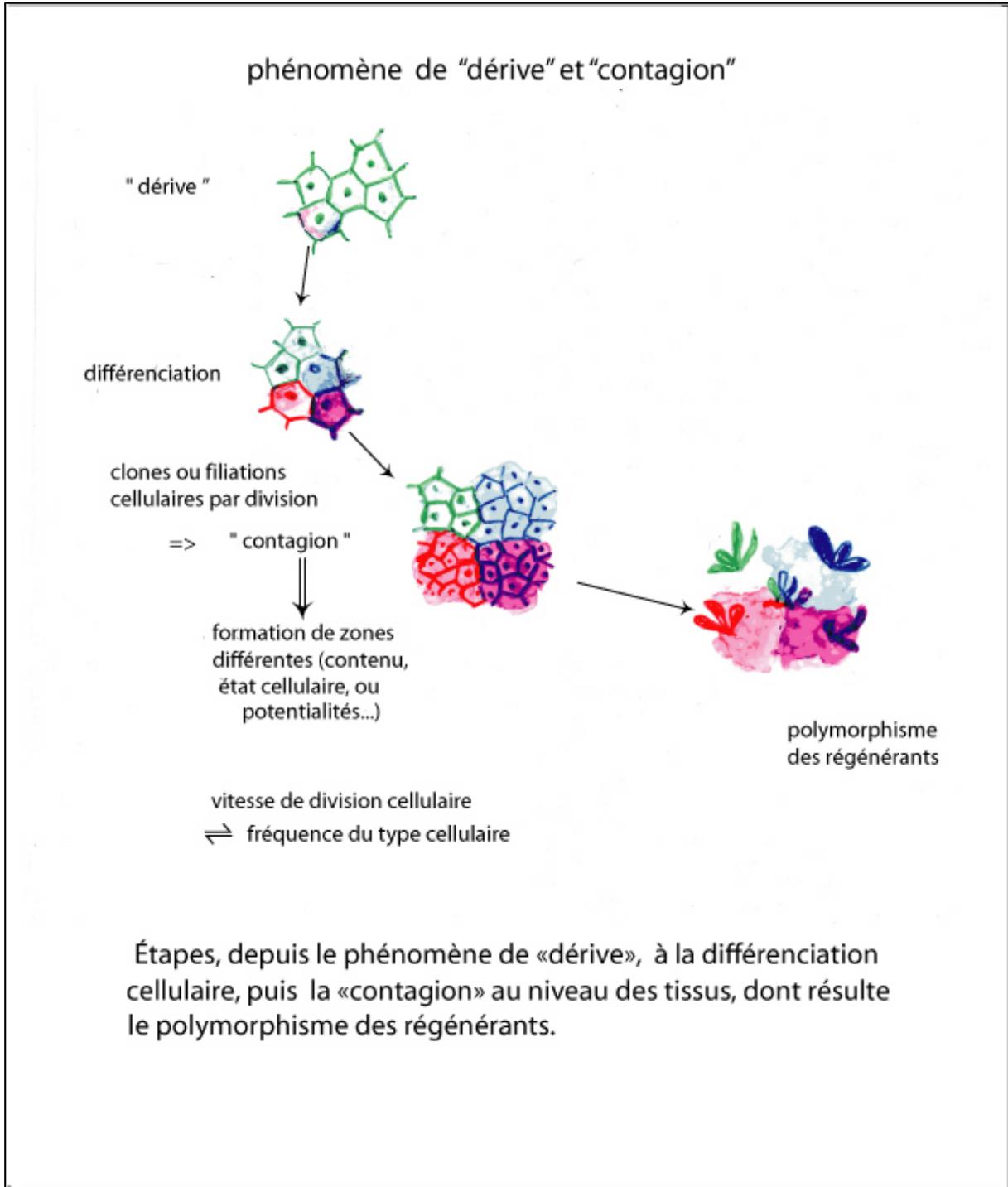
- impact sur le phénomène de C.O. (tomate, 1982-84)
- sur le type d'autoincompatibilité (De Nettancourt, 1982)
- vitrovariation après haplodiploïdisation chez l'orge par androgenèse ou gynogenèse (San Nøeum, 1982-87)
- vitrovariation et tolérance au sel {orge (1985-95)  
{blé dur (1995-2005)
- embryogenèse somatique et vitrovariations des régénérants issus des parties florales (Meynet, 1991)

Symboles:  $A\emptyset$ : autofécondation  
 $X^t$ : croisement

Historique des évidences de la vitrovariation (1969-1971) et de l'analyse de ses particularités, publiées depuis 1970; la nomenclature, selon les auteurs, montre que le terme de "vitrovariation" (Sibi, 1981) en globalise l'acception, quelle que soit l'origine des régénérants.

Retour à : [IBcl](#) (p. 6)

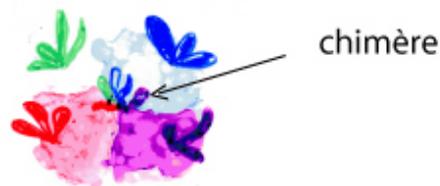
## DériveContag



Retour à : [II Ba](#) (p. 9); [III Ab](#) (p. 15); [VI Aa](#) (p. 32); [A b2](#) (p. 32)

## Polymorphisme

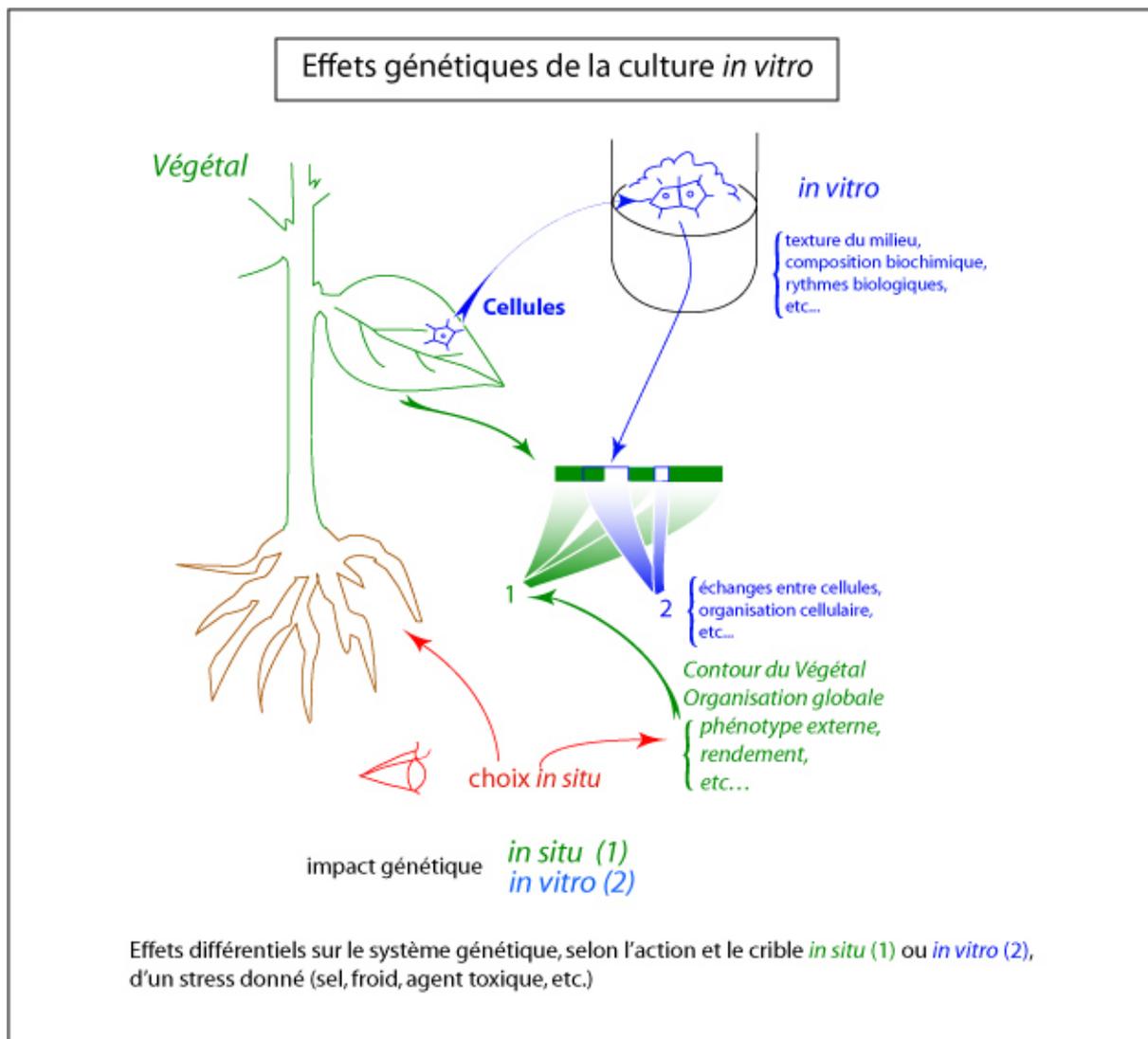
### Polymorphisme des régénérants et apparition de chimères



En plus de la variabilité des régénérants provenant de tissus potentiellement différents, on peut voir apparaître des plantes en "chimères", soit issues de l'association de plusieurs cellules aux caractéristiques génétiques différentes.

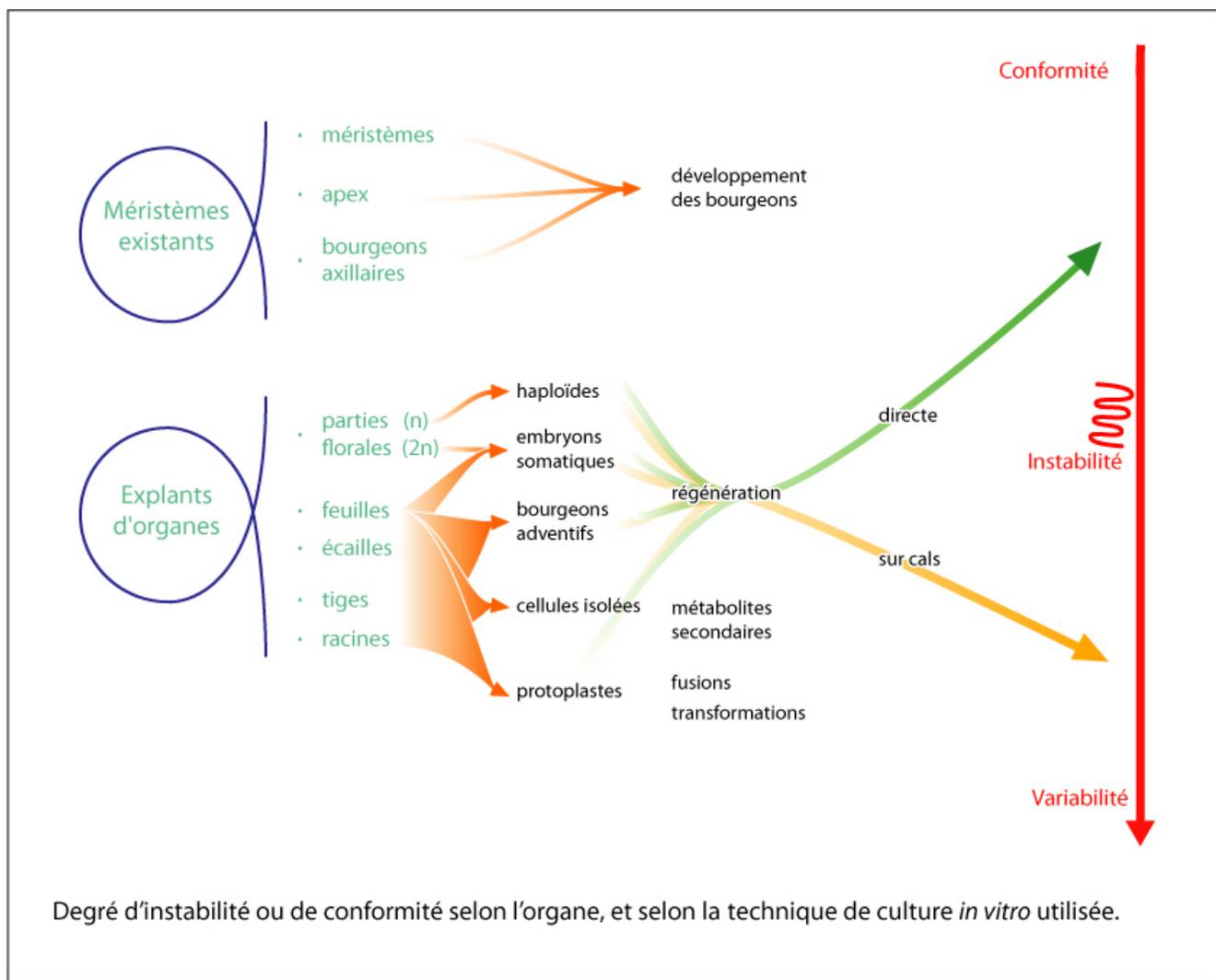
Retour à : [II Ba](#) (p. 10); [III Ab](#) (p. 15); [VI Aa](#) (p. 32)

**FctInSituVitro**



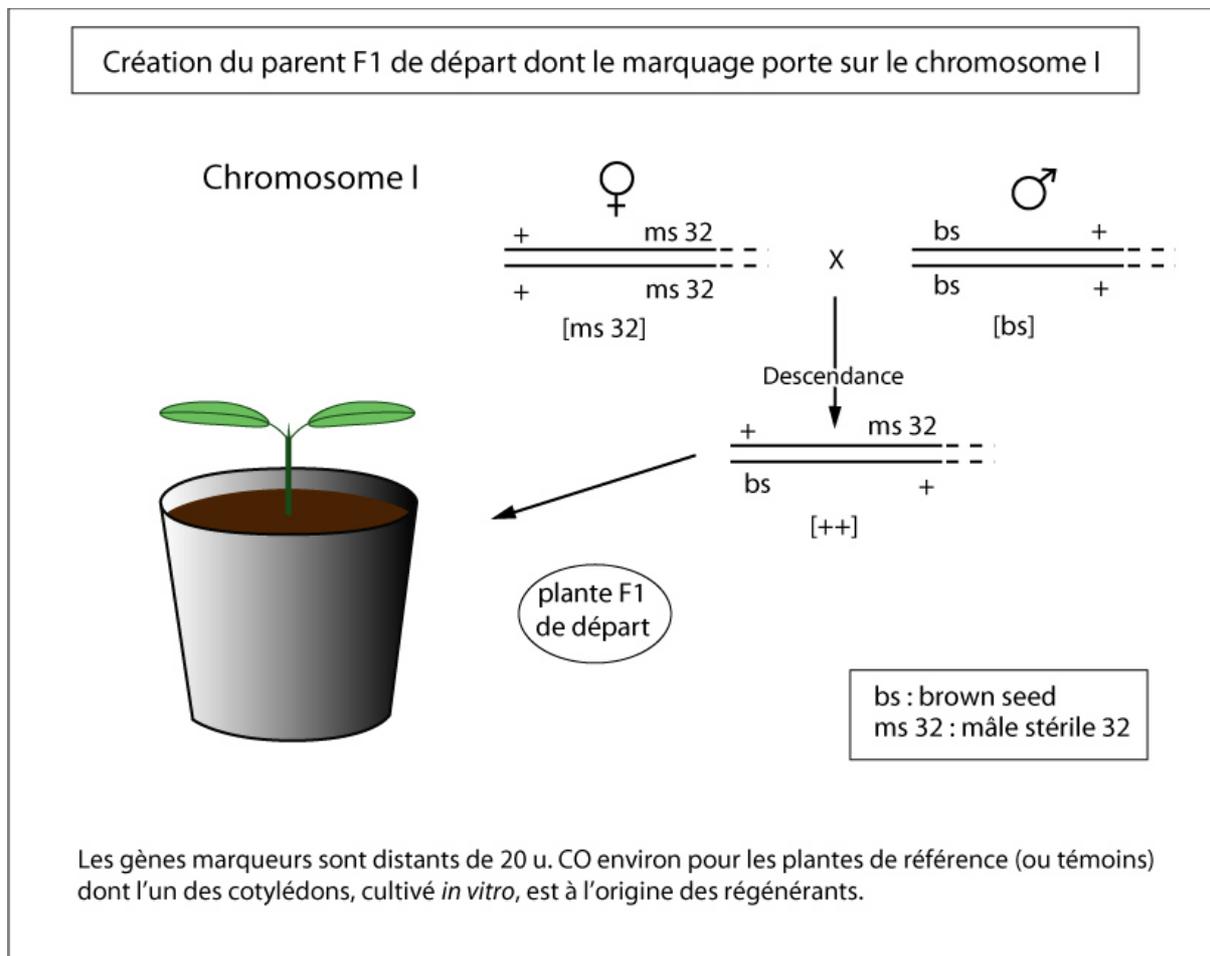
Retour à : [II Aa 1 et 2](#) (p. 8); [VI Aa1](#) (p. 32); [VI Ab](#) (p. 32-33)

### OrgStabl



Retour à : [II Ab](#) (p. 9); [II Bd](#) (p. 13); [VI Ba](#) (p. 32); [VI Ba](#) (p. 34)

**CréatTomt**



Retour à : [2II Bc](#) (p. 12);

**Marq-CO**

Obtention de matériel marqué sur les chromosomes I et II de la tomate

I

$$\begin{array}{c}
 \frac{+}{+} \frac{ms\ 32}{ms\ 32} \text{ ♀} \quad \times \quad \frac{bs}{bs} \frac{+}{+} \text{ ♂} \\
 \\
 \frac{+}{bs} \frac{ms\ 32}{+} \text{ F1}
 \end{array}$$

II

$$\begin{array}{c}
 \frac{+}{+} \frac{d}{d} \text{ ♀} \quad \times \quad \frac{aa}{aa} \frac{+}{+} \text{ ♂} \\
 \\
 \frac{+}{aa} \frac{d}{d} \text{ F1}
 \end{array}$$

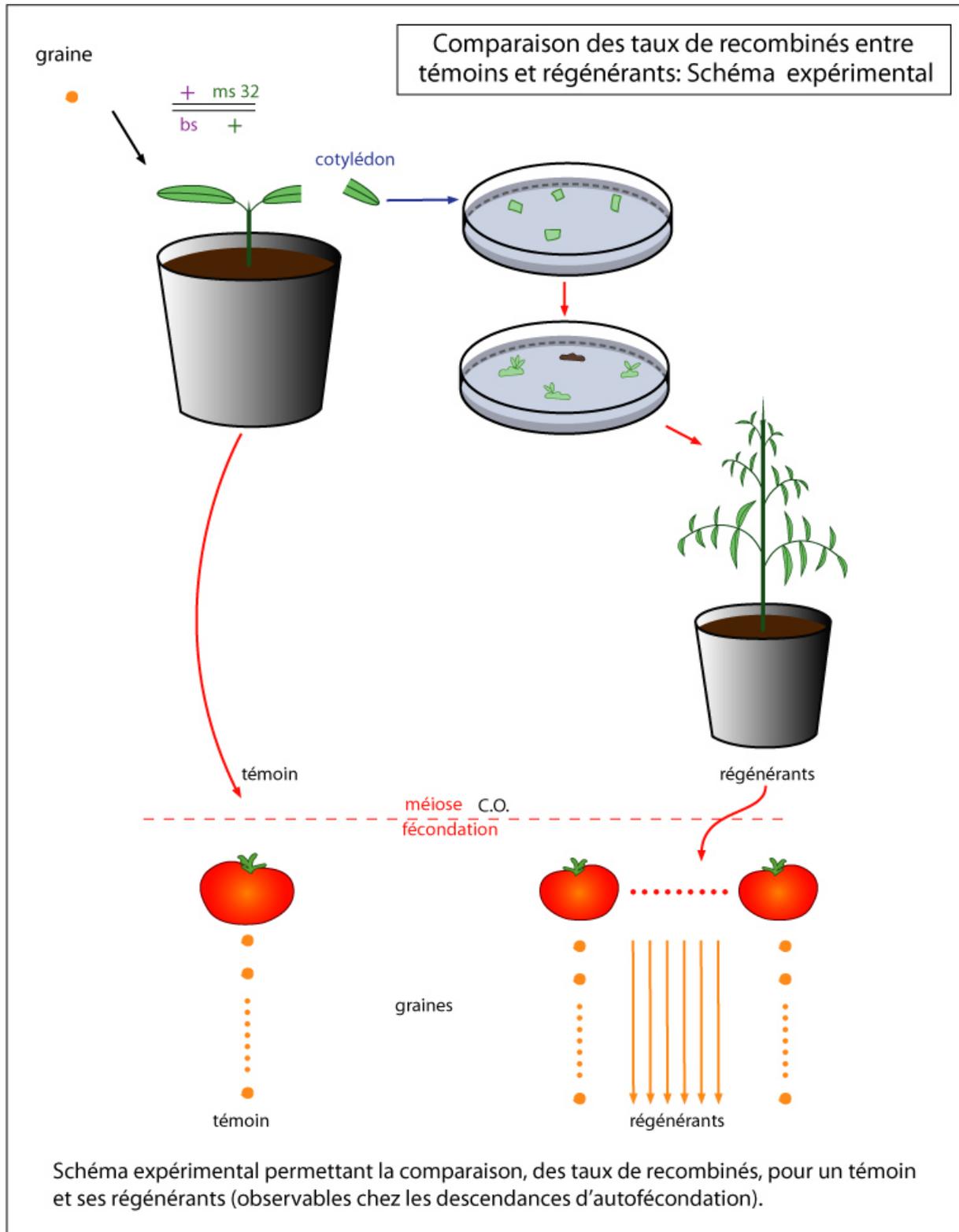
Présentation schématique du marquage des génotypes, utilisés pour la comparaison des taux de recombinés, chez les descendances d'autofécondation, entre chaque témoin et ses régénérants.

Deux couples de marqueurs, portant indépendamment sur les chromosomes I et II, ont fait l'objet des analyses:

ms32= "male sterility", bs= "brown seed" (ms-bs de 19 à 21 uCO)  
d= "dwarf", aa= "anthocyanin absent" (d-aa de 25 à 27 uCO)

Retour à : [II Bc2](#) (p. 12);

CO-Tomt



Retour à : [II Bc2](#) (p. 12);

**TauxCO**

**Régénération et modification de la fréquence de recombinaison**

Distances de départ entre gènes marqueurs, chez la tomate

**1 er secteur marqué (chromosome I)**

\* bs - ms                                      bs : brown seed  
19 --> 21 u. C.O.                              ms : male sterility (ms 32)

**2 nd secteur marqué (chromosome II)**

\* aa - d    aa : anthocyanin absent  
25 --> 27 u. C.O.                              d : dwarf

<i>Résultats : taux de recombinés des descendance du témoin et des régénérants</i>					
secteur	nombre d'éléments	témoins L u. C.O.	régénérants L u. C.O.	$\lambda$ u. C.O.	$\lambda/L$ témoin %
bs - ms	59 000	~19 --> 21	~24,5 --> 27,5	6 --> 7	~30,59 --> 35%
aa - d	11 000	~25 --> 27	~30,0 --> 32,6	5 --> 6	~19,60 --> 23%
			 au seuil 5%		

L : distance entre marqueurs      ~ : approximativement       $\lambda = L$  régénérants - L témoin  
u. C.O. : unités de Crossing Over, en centimorgans (cM)                              (allongement théorique)

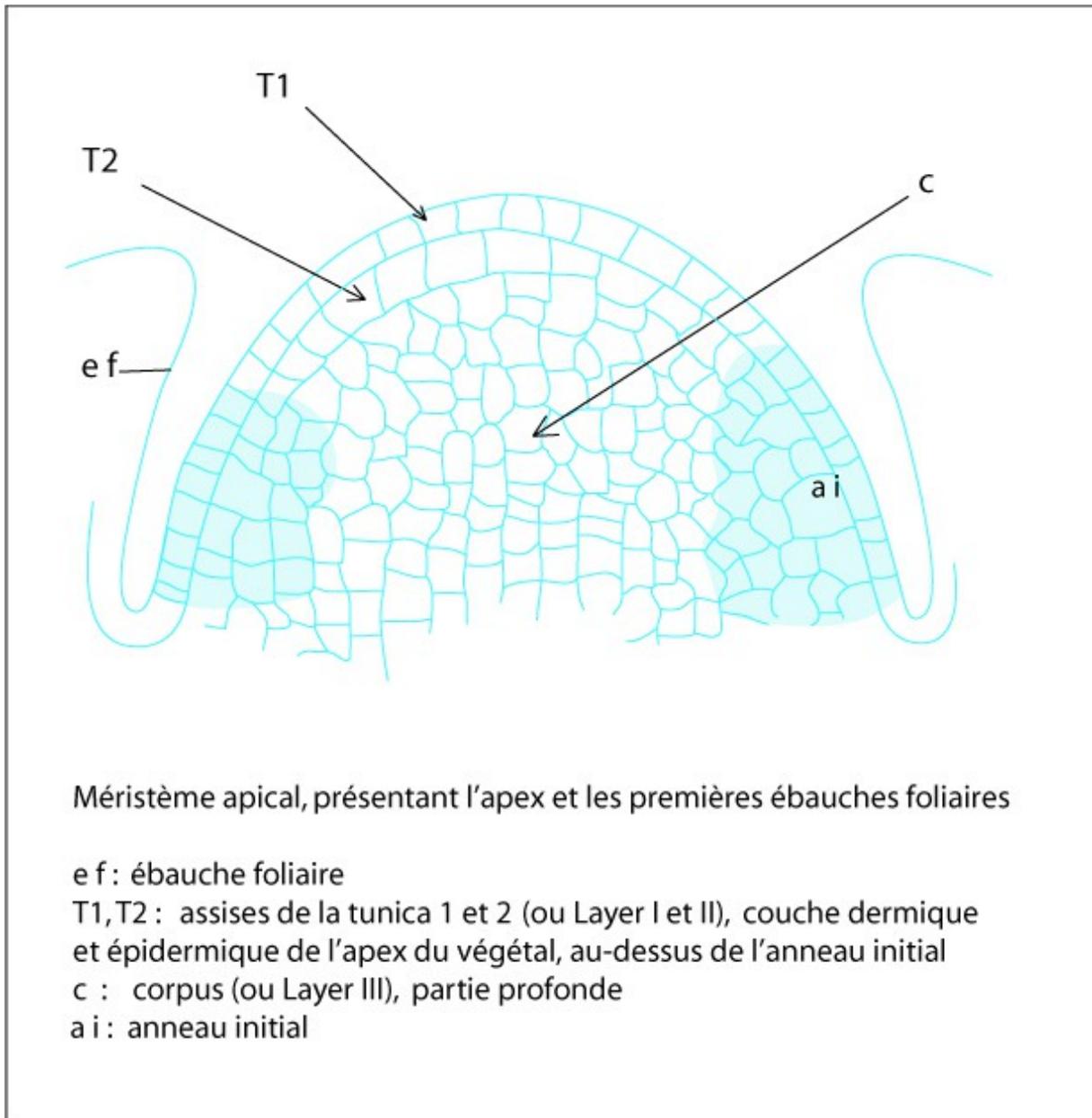
19 --> 21: la longueur du secteur **s'étend de 19 à 21 cM** (selon l'individu de la catégorie)  
rappel : 1 cM : 1% de recombinaison (ou 1 C.O. sur le secteur, pour 100 méioses)

Comparaison des taux de recombinés, pour les descendance d'autofécondation de chaque témoin et ses régénérants :

On constate ici une augmentation des valeurs issues des régénérants, soit un allongement de la zone génétique concernée, allant jusqu'à 35% de la "longueur témoin" (Sibi *et al.*, 1984); des diminutions ont aussi pu être observées (Compton et Veilleux, 1991).

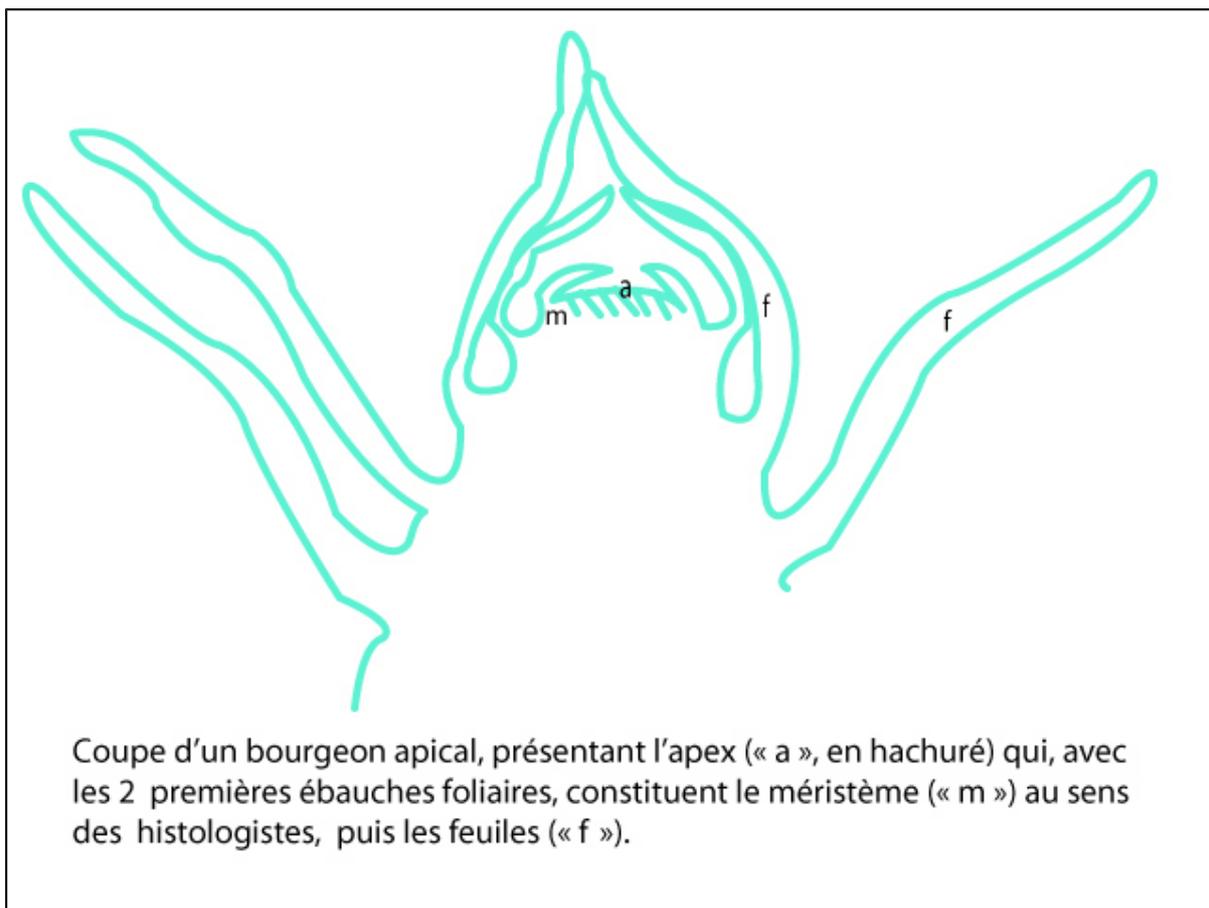
Retour à : [II Bc2](#) (p. 12)

### ApexMéristM



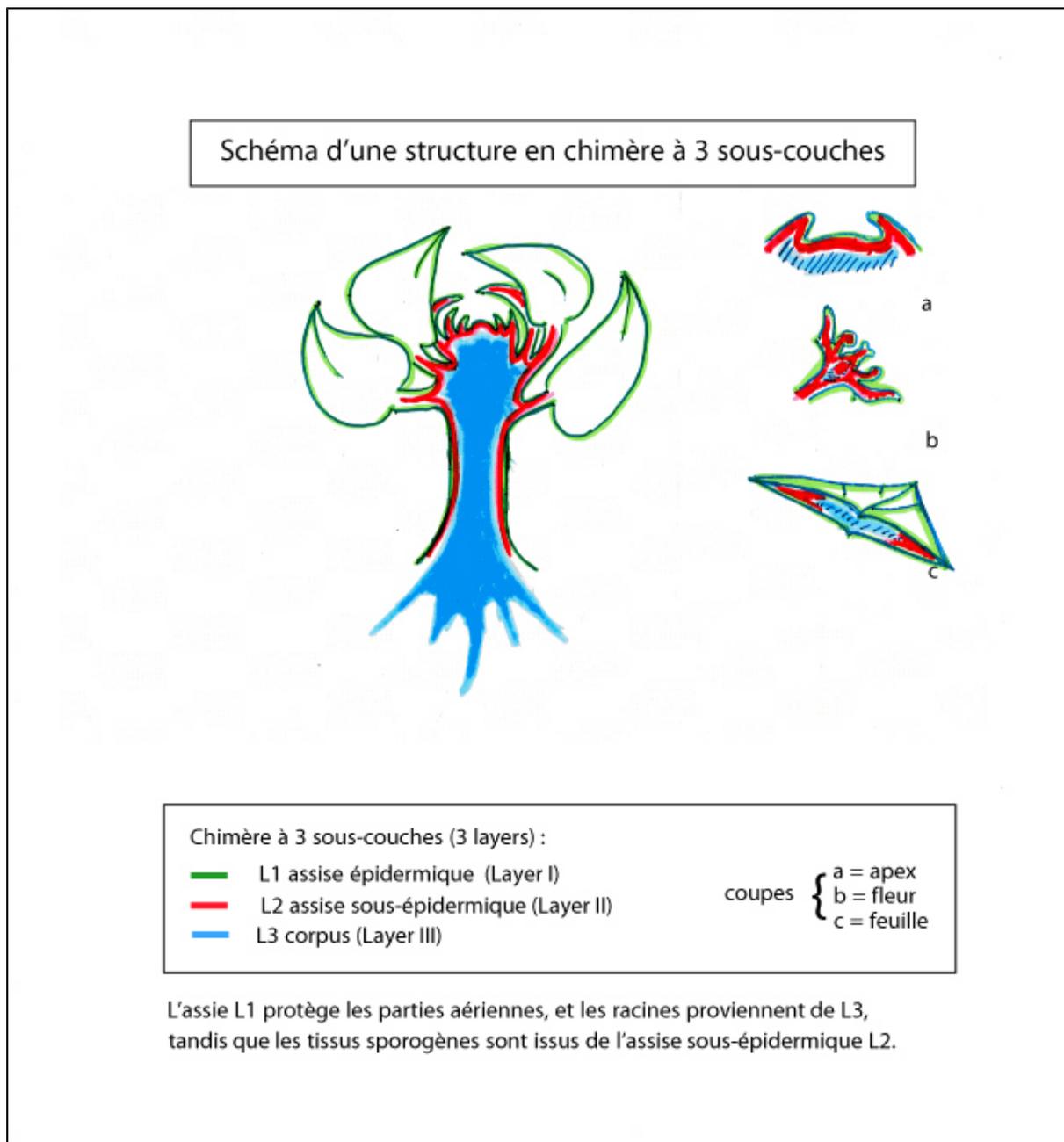
Retour à : [III Aa](#) (p. 14); [IV Ba](#) (p. 18)

### Bourgeon



Retour à : [III Aa](#) (p. 14)

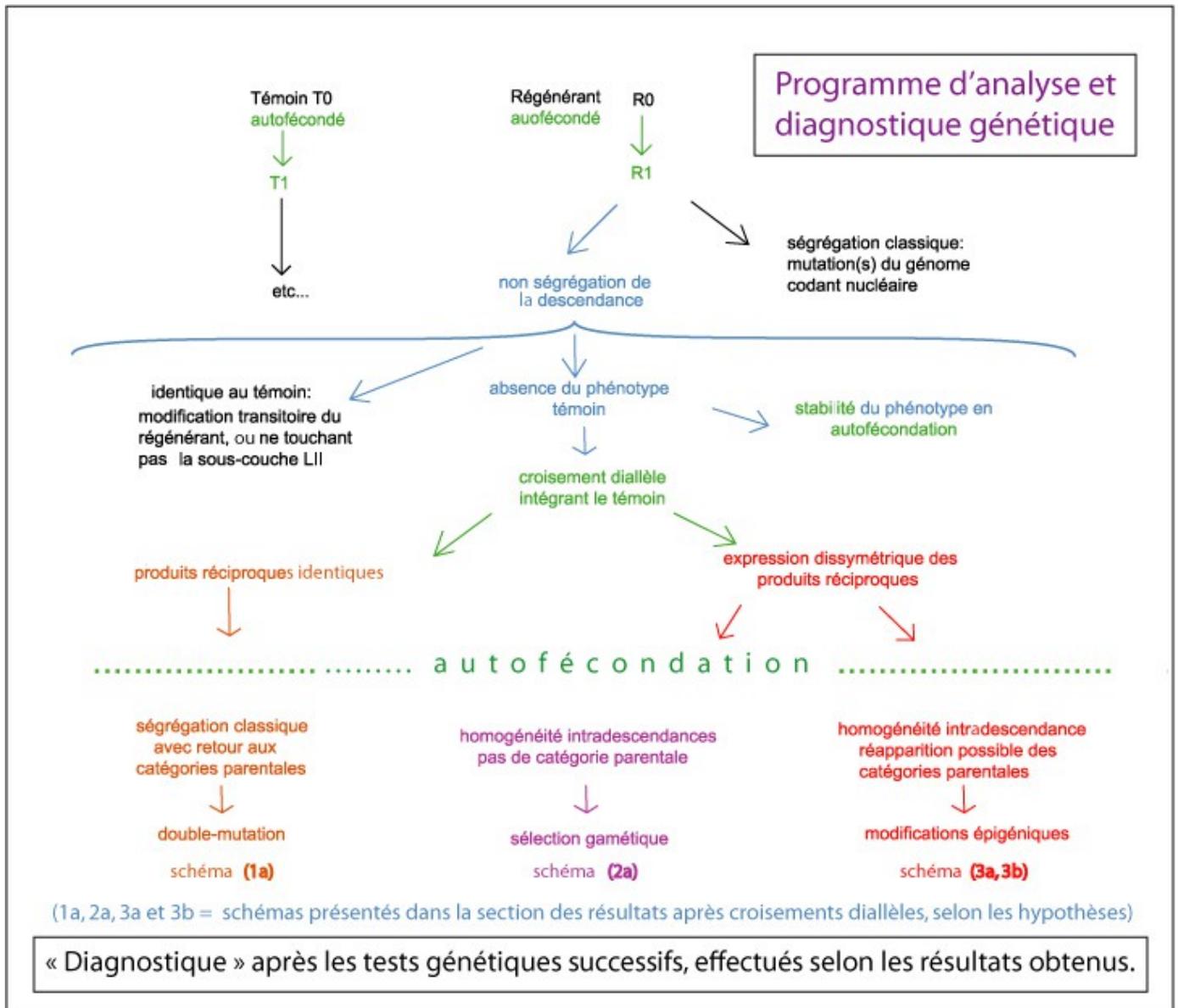
**SsCches**



Remarque : Le nombre des sous-couches peut atteindre la dizaine.

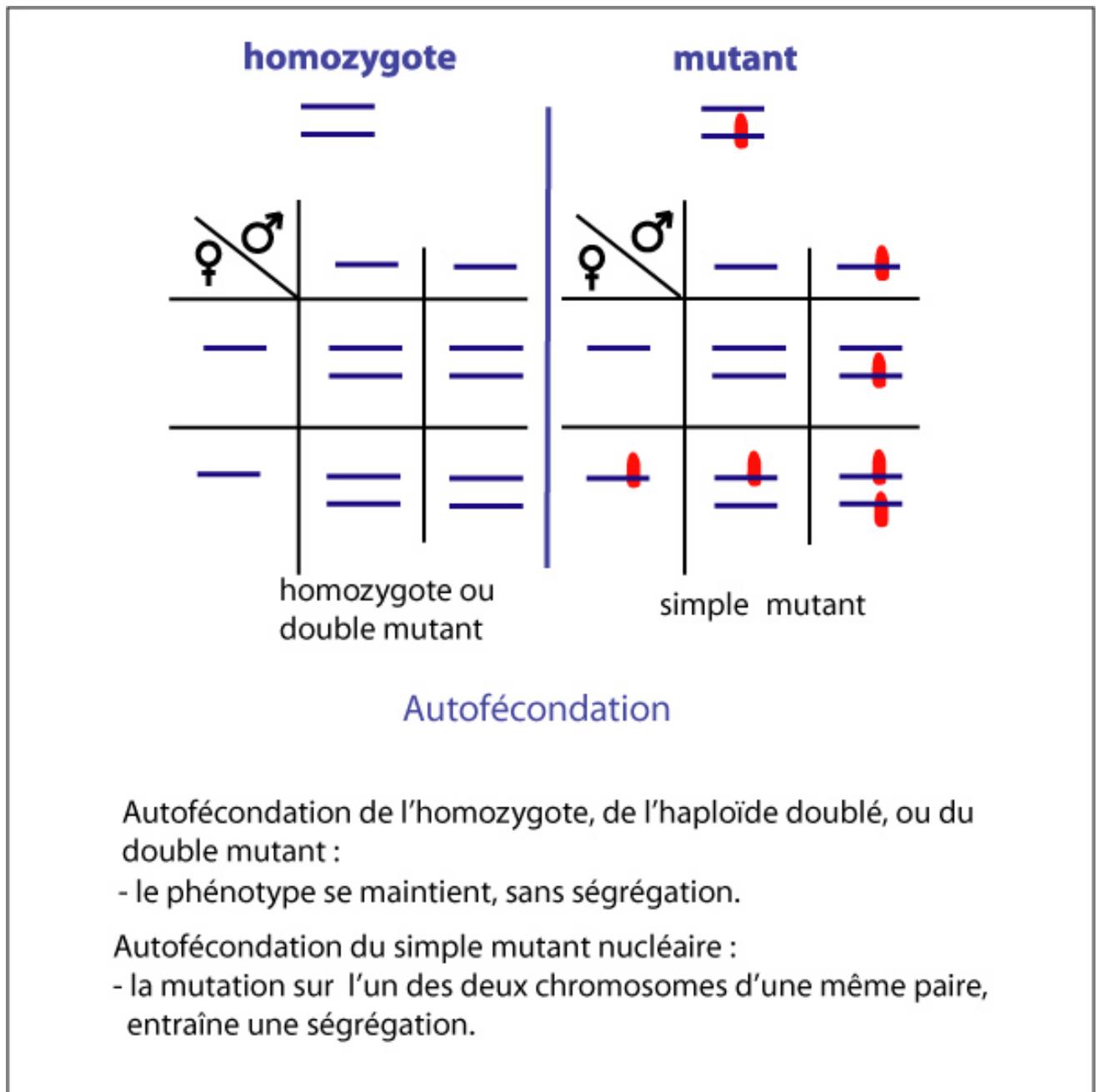
Retour à : [III Aa](#) (p. 14); [III Bb](#) (p. 16); [IV Ba](#) (p. 18); [IV Bb](#) (p. 19)

Diagnostiq



Retour à : [IV B](#) (p. 18); ajout : [sch. 1a](#) ; [sch. 2a](#) ; [sch. 3a](#) , [3b](#) (p. 87 à 90)

TestsAF



Retour à : [IV Bb2](#) (p. 19)

**TblDénom**

**Tableau Diallèle**

Parent ♂ Parent ♀	1	2	...	<i>i</i>	...	<i>j</i>	...	<i>p</i>	Total
1	$y_{11}$	$y_{12}$		$y_{1i}$		$y_{1j}$		$y_{1p}$	$Y_{1.}$
2	$y_{21}$	$y_{22}$		$y_{2i}$		$y_{2j}$		$y_{2p}$	$Y_{2.}$
⋮									
<i>i</i>	$y_{i1}$	$y_{i2}$		$y_{ii}$		$y_{ij}$		$y_{ip}$	$Y_{i.}$
⋮									
<i>j</i>	$y_{j1}$	$y_{j2}$		$y_{ji}$		$y_{jj}$		$y_{jp}$	$Y_{j.}$
⋮									
<i>p</i>	$y_{p1}$	$y_{p2}$		$y_{pi}$		$y_{pj}$		$y_{pp}$	$Y_{p.}$
Total	$Y_{.1}$	$Y_{.2}$		$Y_{.i}$		$Y_{.j}$		$Y_{.p}$	$Y_{..}$

Tableau de croisements diallèles comprenant  $p$  parents; analyse selon le modèle de Griffing (1956) -méthode 3, modèle I : tableau complet sans les autofécondtions-

$y_{ij}$  = valeur moyenne des  $b.n$  individus ( $b$  blocs .  $n$  effectif) du croisement  $i♀ \times j♂$  pour le critère analysé.

$Y_{i.}$  = total des mesures où  $i$  est ♀

$Y_{.i}$  = total des mesures où  $i$  est ♂

$Y_{..}$  = total général

$y_{ii}$  = autofécondations, non comptabilisées dans l'analyse

Retour à : [IV Bc](#) (p. 21); ajout : [modèle](#) (p. 84); [tabl SomDiff](#) (p. 85); [SC dial](#) (p. 86)

**ModGriffing**

**Modèle de Griffing (1956)**

1 - Le modèle (méthode 3, modèle I - tableau complet, sans les autofécondations-)

La valeur d'un croisement  $i \times j$  s'écrit :

$$y_{ij} = \mu + a_i + b_j + s_{ij} + r_{ij}$$

$\mu$  : valeur moyenne (issue des cases de croisements)  
 $a_i$  : apport de  $i$  comme femelle ( $a = \text{voie } \text{♀}$ )  
 $b_j$  : apport de  $j$  comme mâle ( $b = \text{voie } \text{♂}$ )  
 $s_{ij}$  : résiduelle avec  $s_{ji} = +s_{ji}$  (croisements réciproques)  
 $r_{ij}$  : résiduelle avec  $r_{ji} = -r_{ij}$  et  $r_{ii} = 0$  (déviations par rapport aux effets principaux)

Les sommes marginales :

$$\begin{cases} Y_{i.} = \text{le total de tous les croisements où } i \text{ est considéré comme } \text{♀} \\ Y_{.i} = \text{la somme de ceux où } i \text{ est } \text{♂} \end{cases}$$

S'il y a  $p$  parents et si on ne prend pas en compte les autofécondations (qui introduiraient une hétérogénéité dans les variances) nous avons :

$$\begin{cases} p-1 \text{ valeurs } Y_{i.} \\ p-1 \text{ valeurs } Y_{.i} \end{cases}$$

On a donc :

$$\begin{cases} p^2 \text{ cases totales} \\ p(p-1) \text{ cases de croisements} \\ p \text{ cases d'autofécondations} \end{cases}$$

Ceci pour deux parents  $i$  et  $j$  que l'on utilise chacun, d'une part en tant que femelle ( $a = i$ , ou  $j$ ), d'autre part en tant que mâle ( $b = j$ , ou  $i$ ), pour obtenir les produits de croisements réciproques:  $ij$  et  $ji$ .  
Le premier indice représente toujours la femelle (symbolisée par la voie  $a$ ) utilisée lors du croisement, le second représente celui du mâle (voie  $b$ ).

Retour à : [IV Bc](#) (p. 21); [TbIDénom](#) (p. 83); [tabl SomDiff](#) (p. 85); [SC dial](#) (p. 86)

**TablSomDif**

Croisements Diallèles

♀	A	B	C	D	E	F	$\Sigma \varphi$	
A				A <sup>D</sup>				
B				B <sup>D</sup>				
C				C <sup>D</sup>				
D	D <sup>A</sup>	D <sup>B</sup>	D <sup>C</sup>		D <sup>E</sup>	D <sup>F</sup>	♀ <sup>o</sup>	
E				E <sup>D</sup>				
F				F <sup>D</sup>				
$\Sigma \sigma$				♂ <sup>o</sup>			$\gamma_{..}$	

Sommes

$\Sigma$  (ligne + colonne symétrique) → Aptitude Générale à la Combinaison (AGC)  
 $\Sigma$  (somme cases symétriques) - (AGC) → Aptitude Spécifique à la Combinaison (ASC)

Différences

$\Sigma$  (ligne - colonne) symétriques → Aptitude Réciproque Générale (ARG)  
 Effet Epigénétique Général (EEG)

$\Sigma$  (différence cases symétriques) - (ARG) → Aptitude Réciproque Spécifique (ARS)  
 Effet Epigénétique Spécifique (EES)

Tout ceci se traite, en fait, en terme de variance

Retour à : [IV Bc](#) (p. 21); [TblDénom](#) (p. 82); [modèle](#) (p. 83); [SC dial](#) (p. 86)

SCdiallèle

2- Expression des «Sommes des Carrés des Écarts» (SCE) :

Pour les croisements réciproques  $i \times j$  et  $j \times i$ , le modèle s'écrit :

$$\begin{cases} i\text{♀} \times j\text{♂} & y_{ij} = \mu + a_i + b_j + s_{ij} + r_{ij} \\ j\text{♀} \times i\text{♂} & y_{ji} = \mu + a_j + b_i + s_{ji} + r_{ji} \end{cases} \quad \text{avec} \quad \begin{cases} r_{ij} = -r_{ji} \\ s_{ij} = +s_{ji} \end{cases}$$

- Variation générale :  $\sum_{i,j} y_{ij}^2 - \frac{Y_{..}^2}{p(p-1)}$

- Modèle "somme" :  $(y_{ij} + y_{ji})$  et  $(Y_{i.} + Y_{.i})$

	SCE Sommes valeur moyenne de chaque parent qu'il soit ♂ ou ♀	$S_1 = \frac{1}{2} \left[ \sum_{i < j} (y_{ij} + y_{ji})^2 - \frac{2(Y_{..}^2)}{p(p-1)} \right]$
var	SCE Aptitude Générale à la Combinaison (A.G.C.)	$S_3 = \frac{1}{2(p-2)} \sum_i (Y_{i.} + Y_{.i})^2 - \frac{2(Y_{..}^2)}{p(p-2)}$
	SCE Aptitude Spécifique à la Combinaison (A.S.C.)	$S_4 = S_1 - S_3$

- Modèle "différence" :  $(y_{ij} - y_{ji})$  et  $(Y_{i.} - Y_{.i})$

	SCE Différences écart d'expression entre les voies ♀ et ♂	$S_2 = \frac{1}{2} \sum_{i < j} (y_{ij} - y_{ji})^2$
var	SCE Aptitude Réciproque Générale (A.R.G.) (Effet Epigénique Générale)	$S_5 = \frac{1}{2p} \sum_i (y_{i.} - y_{.i})^2$
	SCE Aptitude Réciproque Spécifique (A.R.S.) (Effet Epigénique Spécifique)	$S_6 = S_2 - S_5$

(les variances sont obtenues en pondérant la valeur des SCE par le nombre de degrés de liberté)

\* modèle aléatoire : les variances sont comparées à la variance aléatoire (difficile à mesurer)  
\* modèle fixe (parents définis): on teste les variances par rapport à la variance résiduelle, on peut aussi comparer les différentes variances entre elles.

Retour à : [IV Bc](#) (p. 22); [TbIDénom](#) (p. 83); [tabl SomDiff](#) (p. 85); [modèle](#) (p. 84)

1-a dble-mut

## Doubles - mutants

			}	[A] =	Témoin =	AA
<b>[A]</b>	<b>[B]</b>	<b>[C]</b>		[B] =	Variant parental	
				[C] =	Variant parental	

**Tableau diallèle**

	♂			
♀				
		 AA	 AB	 AC
		 BA	 BB	 BC
		 CA	 CB	 CC

Autofécondation

$\Phi \text{ CB} = \Phi \text{ BC}$

1/4	BB	}
1/2	B/C	
1/4	CC	

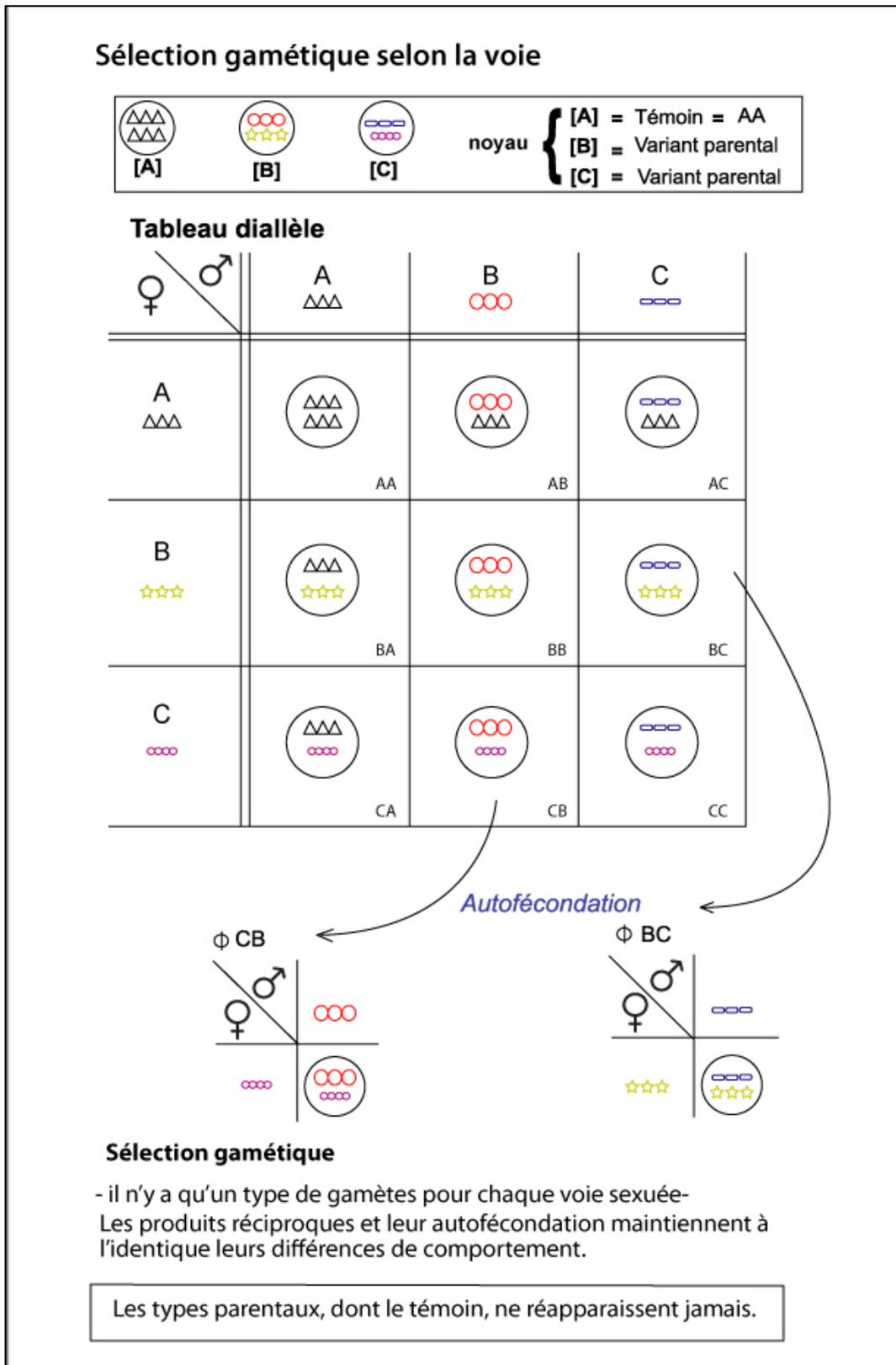
**Double-mutant**

- les 2 chromosomes sont touchés par la même modification -
- Les phénotypes (ou les comportements) des deux produits réciproques sont identiques; leur autofécondation donne la même ségrégation.

L'apparition des types parentaux (témoin ou variants) reste possible.

Retour à : [IV Bc1](#) (p. 22); [V Bb](#) (p. 30); retour à : [Diagnostq](#) (p. 81)

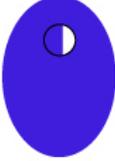
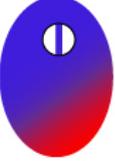
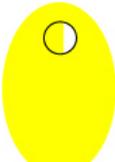
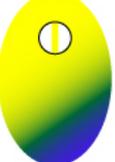
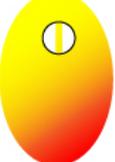
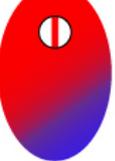
2-a SélGmtq



Retour à : [IV Bc x](#) (2, encadré) (p. 24); [V Bb](#) (p. 30); [Diagnostq](#) (p. 81)

3a-Epignq

**Modifications épigéniques:**

♀ ♂	 A	 B	 C
 A	AA	 AB	 AC
 B	 BA	BB	 BC
 C	 CA	 CB	CC

**Modifications extrachromosomiques ou épigéniques**

-les gènes codants du noyau ne sont pas modifiés (symbolisés en blanc), et sont identiques au témoin homozygote de départ-

Les situations représentées sont celles des zygotes lors de la fécondation. Pour les gamètes d'entrée, comme pour les zygotes, le matériel génétique cellulaire restant (comprenant des zones nucléaires) est en couleur primaire. Les produits réciproques ont une expression distincte; il peut apparaître des interactions (symbolisées par le mélange de couleurs) qui peuvent générer des effets inattendus.

Le maintien inchangé du génome nucléaire permet la réapparition des phénotypes parentaux

Retour à : [IV B2 y](#) (3 a, encadré) (p. 24); [IV Bc](#) (p. 25) ; [V Bb](#) (p. 30);

Retour à : [Diagnostq](#) (p. 81); ajout : [sch.3b](#) (p. 90)

3b-Epignq

## Modifications épigéniques

 [A]	 [B]	 [C]	}	<p>△△△ = gènes nucléaires a, b, c = éléments épigéniques [A] = Témoin [B] [C] = Variants parentaux</p>
---------	---------	---------	---	--

### Tableau diallèle

♀ \ ♂		A aa	B bb	C cc
A a a a		a aa a a  AA	a ab a a  AB	a ac a a  AC
B b b b		b ba b b  BA	b bb b b  BB	b bc b b  BC
C c c c		c ca c c  CA	c cb c c  CB	c cc c c  CC

*Autofécondation*

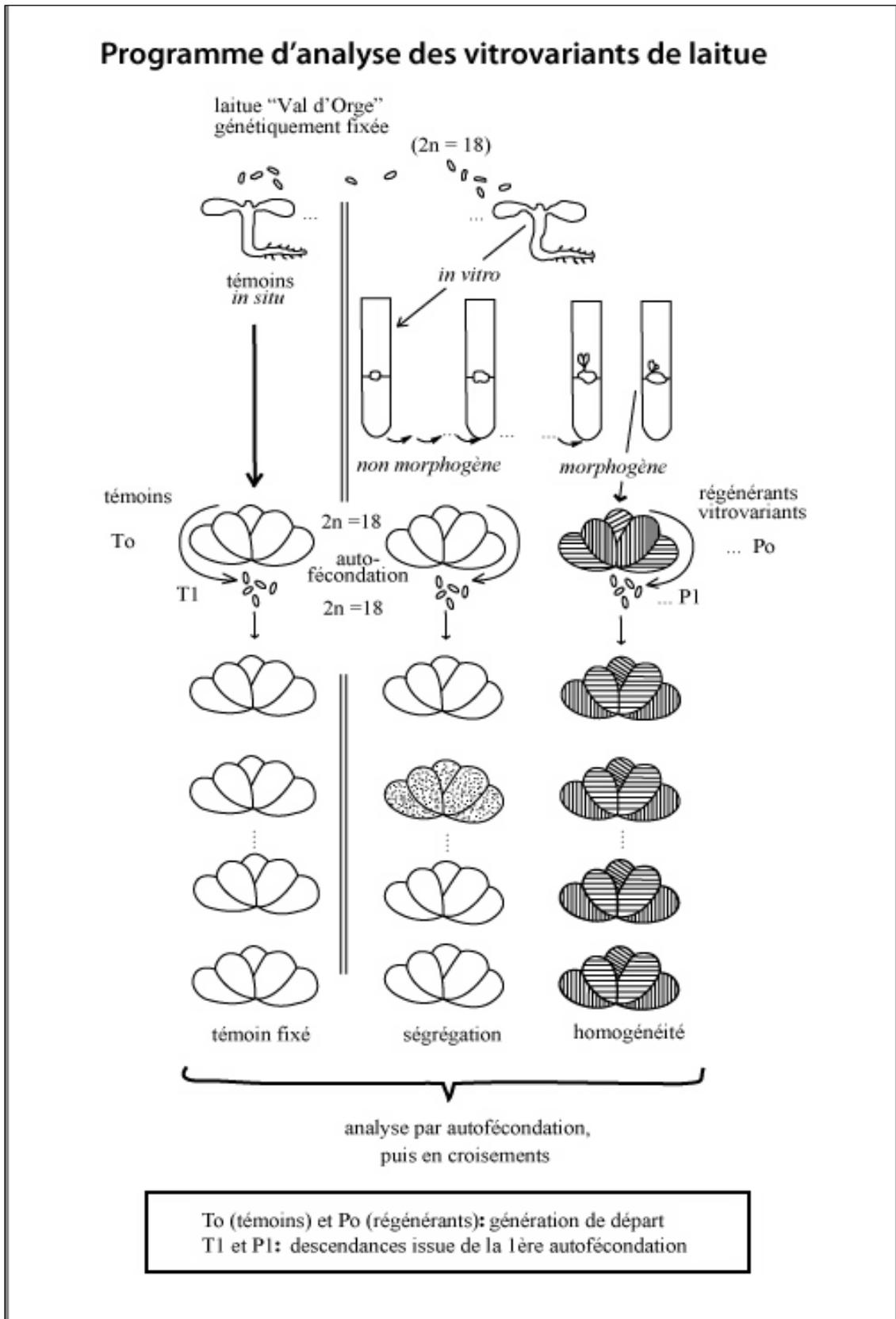
**Modifications épigéniques ou extrachromosomiques**  
- les gènes codants du noyau ne sont pas modifiés -  
Les produits réciproques ont une expression distincte qui peut se maintenir chez l'autofécondation de ces produits.

Les types parentaux, dont le témoin, peuvent réapparaître.

Retour à : [IV B2 y](#) (3b encadré) (p. 25); [IV Bc](#) (p. 25) ; [V Bb](#) (p. 30);

Retour à : [Diagnostq](#) (p. 81); ajout : [sch. 3a](#) (p. 89)

**Pgrm1 Lt-Smtq**



Retour à : [VA](#) (p. 26) (Laitue)

**Prgm2 Tom-Smtq**

## Etapes suivies pour l'analyse des régénérants de tomate

**I- Régénérants (P<sub>0</sub>)**

Dénombrements des chromosomes, observations, autofécondation sous sachets... pour 70 unités provenant de la régénération des cotylédons de témoins fixés.

**II- Descendances (P<sub>1</sub>) d'autofécondation** de 30 de ces vitrovariants et de 5 témoins

30 descendances P<sub>1</sub> comparées à celles de 5 témoins

A, B, C, D, E

T1→T5

sont 5 descendances  
homogènes particulières  
dont 4 feront partie des  
analyses en croisement

**III- Croisements diallèles** dont les parents d'entrée sont présentés dans le tableau suivant:

♀ ♂	T	A	C	D	E
T					
A					
C					
D					
E					

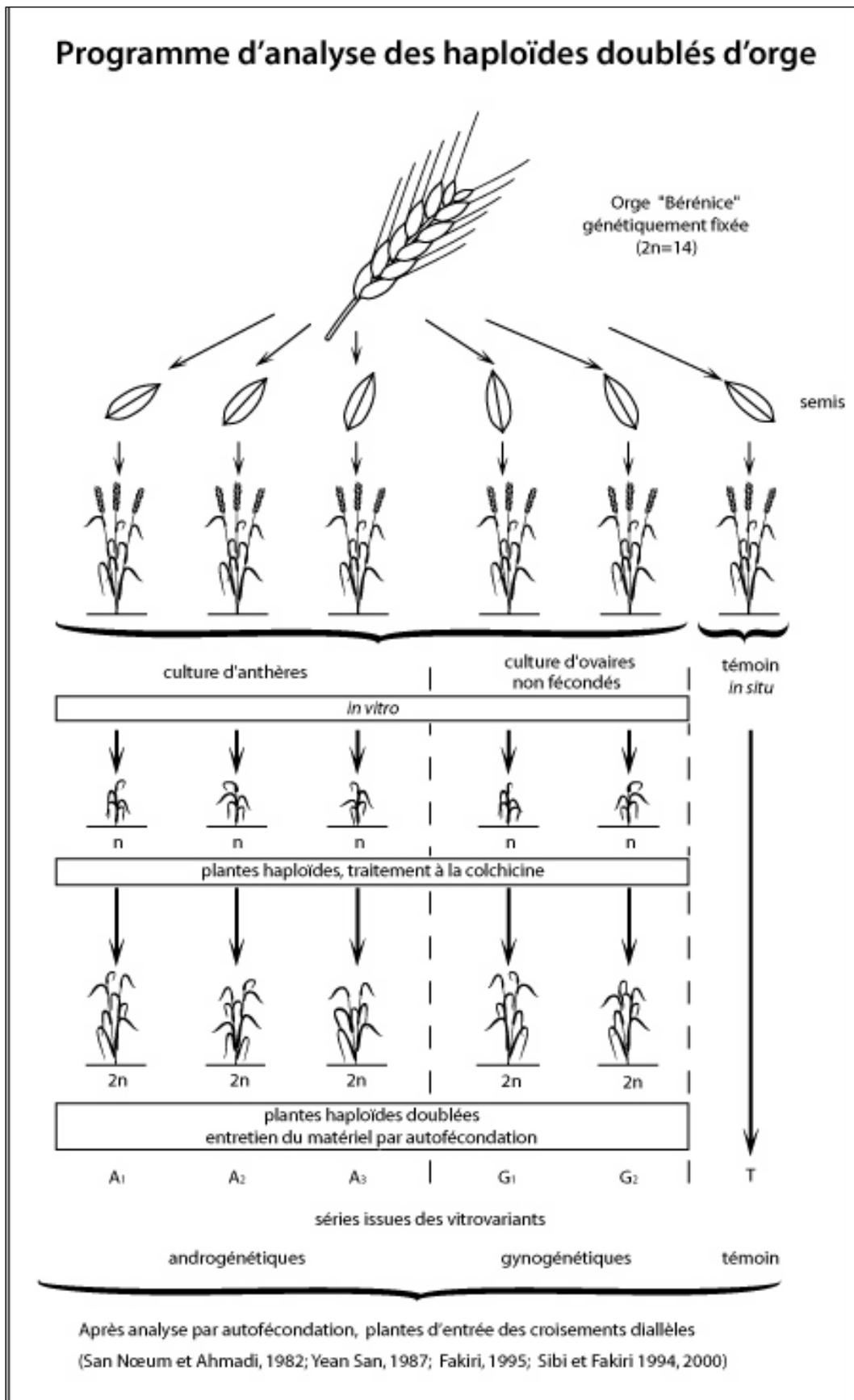
Analyse des **produits de croisements réciproques** et des **autofécondations** des parents dont le témoin

**IV- Autofécondation des produits de croisements** issus de E, des croisements réciproques du couple C x D, et de l'ensemble des parents (**diagonale du tableau**).

♀ ♂	T	A	C	D	E
T					
A					
C					
D					
E					

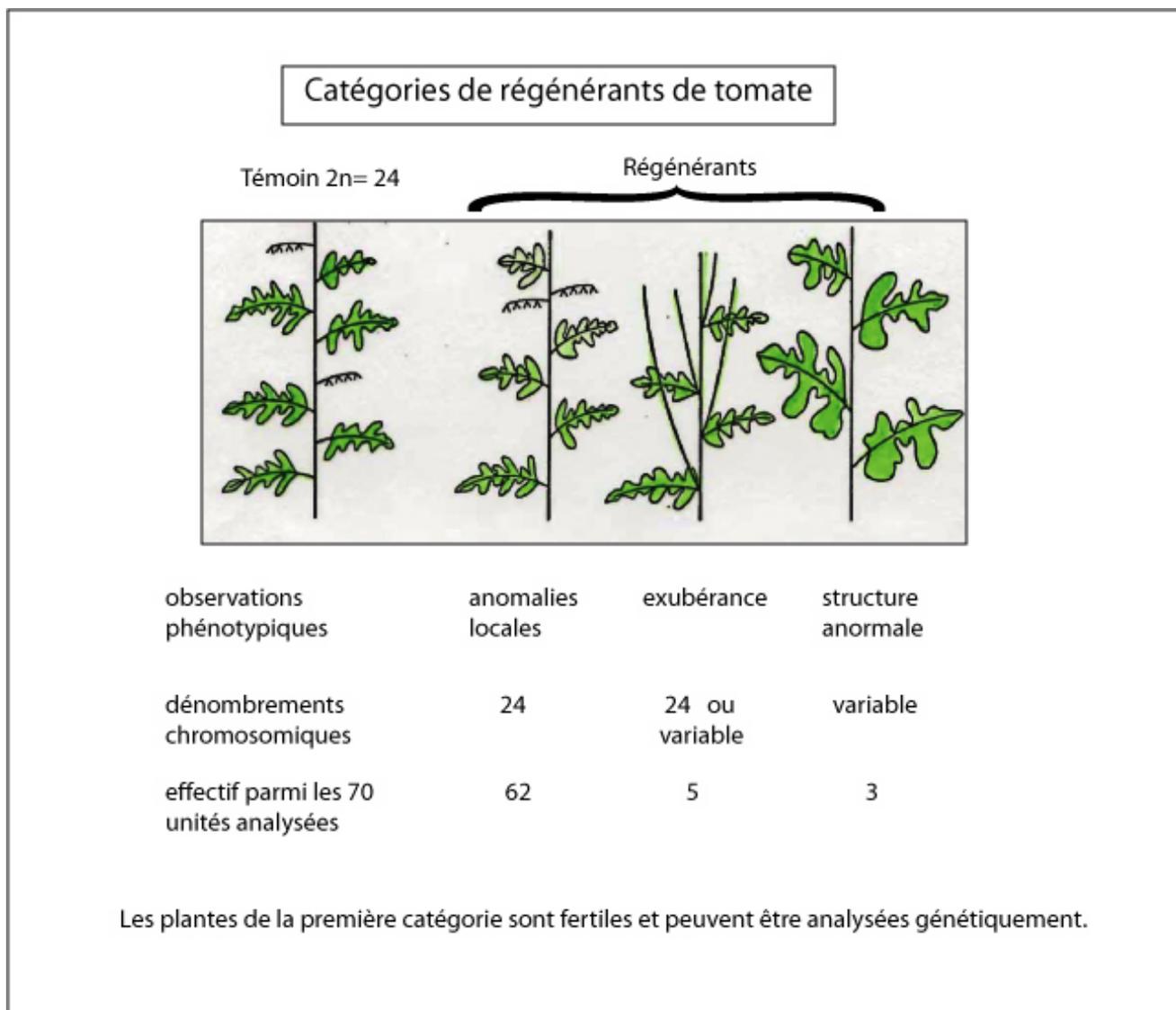
Retour à : [VA](#) (p. 26) (Tomate)

**Prgm3 Org-Gmtq**



Retour à : [VA](#) (p. 26) (Orge)

## RégTomate

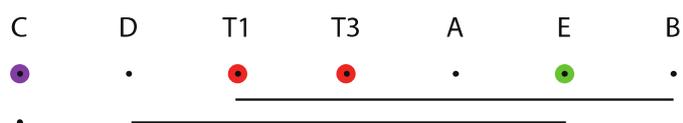


Retour à : [V Aa1](#) (p. 27); [V Aa2](#) (p. 27)

## AF-TomateDuncan

Comparaison multiple des moyennes  
par le test de Duncan pour les descendances  
d'autofécondation des régénérants

Aire foliaire (F3)



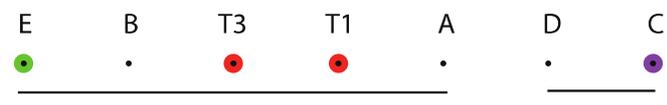
F= 6,84\*\*\*

Longueur de feuille (F1)



F= 5,75\*\*\*

Cinétique foliaire (NF)



F= 3,13\*\*\*

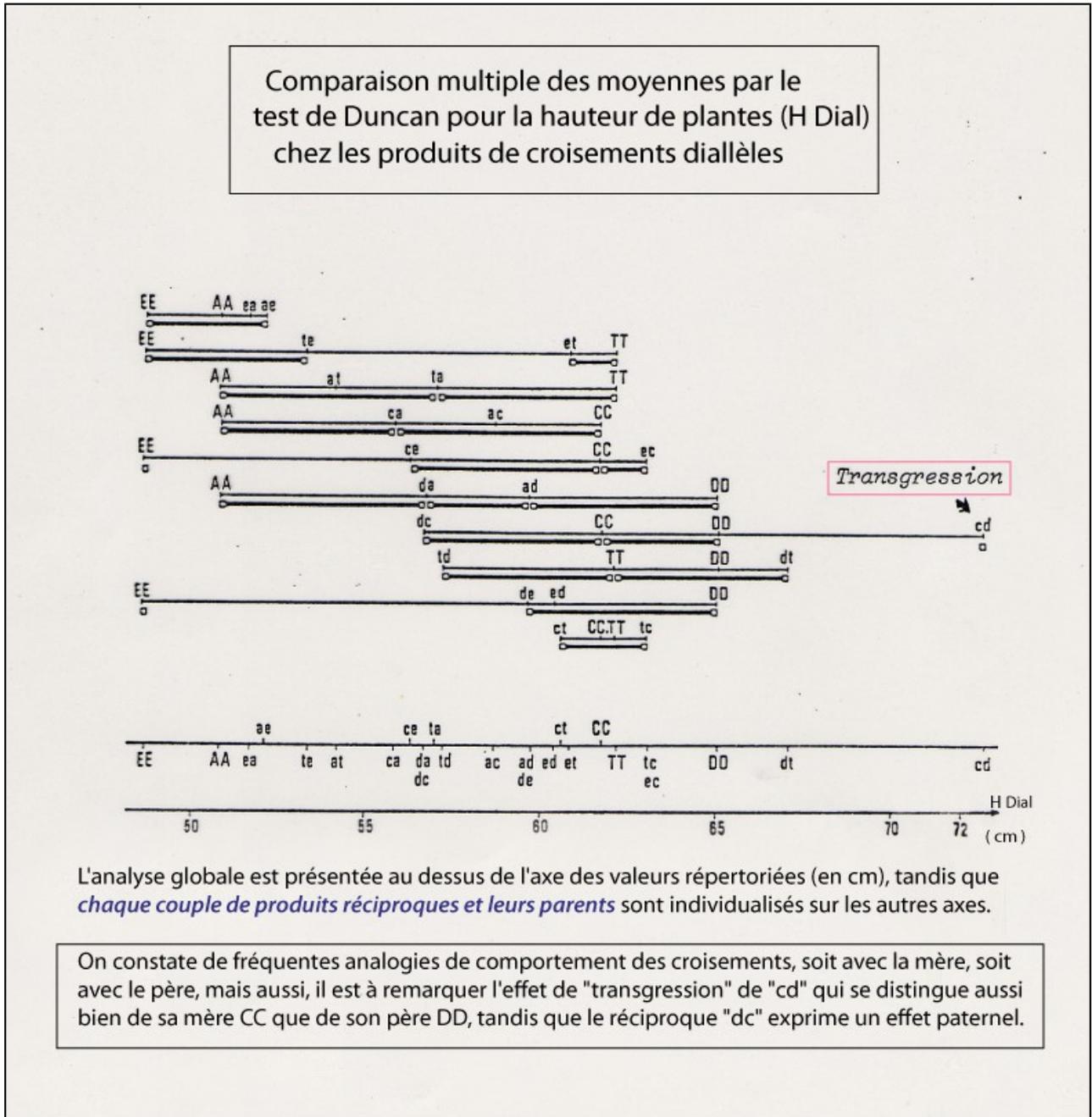
Seules les analyses des trois marqueurs aux F (Fisher) les plus élevés sont présentées.  
Les séries non significativement différentes sont regroupées par le même trait.

Pour "l'Aire foliaire" (F3) la catégorie "C" se distingue de toutes les autres, dont les témoins (T1 et T3), de même que "E", pour la "Longueur" de la première feuille (F1).

Les Majuscules symbolisent les descendances d'autofécondation des régénérants (de A à E) et des 2 témoins (T1 et T3).

Retour à : [V Ab1](#) (p. 28)

**Dial Tomate H Duncan**



Majuscules : Parents ou produits d'Autofécondations ; minuscules : produits de croisements.  
La 1ère lettre : la mère, la 2nd : le père.

Retour à : [V Ab2](#) (encadré) (p. 29)

## CompProdDial

### Comportement des produits de croisements réciproques du diallèle, en comparaison avec leurs parents

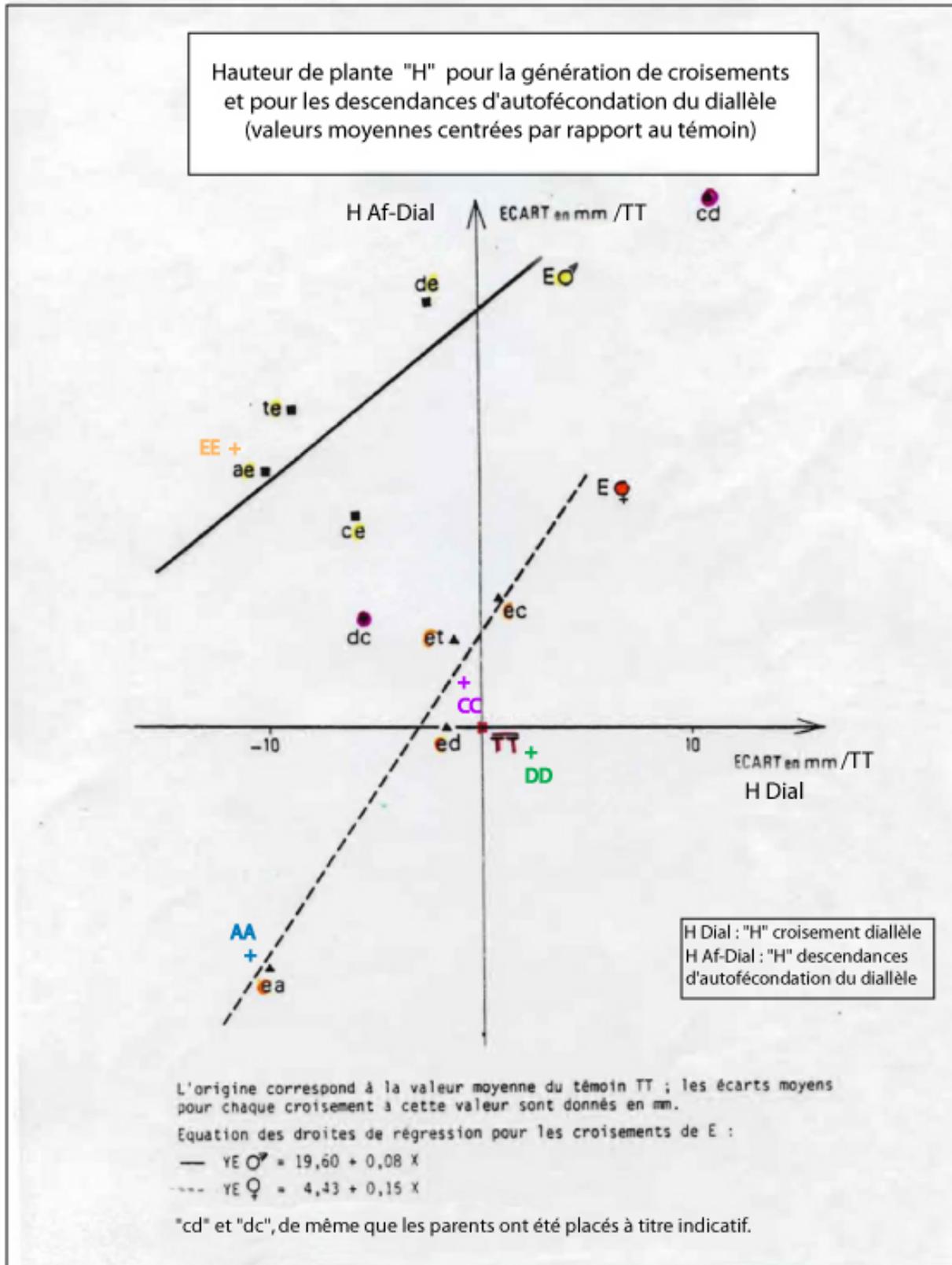
code	signification	particularité	nb de cas
(1)	identique aux deux parents	*	26
(2)	identique uniquement à la mère	*	8
(3)	identique uniquement au père	* * *	20
(4)	différent des deux parents : transgression (vigueur ou dépression)	* * *	6

N : note de vigueur  
H<sub>dial</sub> : hauteur de plante  
LF1 : longueur de la 1ère feuille

Résultats relatifs aux 3 critères N, H<sub>dial</sub>, LF1 (les plus marquants) pour 5 parents, soit 20 cases de croisements (donc 60 cas): on constate l'apparition d'effets maternels, mais aussi des comportements inusités comme des effets paternels ou de transgression.

Retour à : [VAb2 encadré](#) (p. 29); [VII A3](#) (p. 39);

**Dial-AfD Tomate H**



Majuscules : Parents ou produits d'Autofécondations ; minuscules : produits de croisements, ou descendance d'autofécondation des croisements. La 1ère lettre : la mère, la 2nd : le père.

Retour à : [V Ab3](#) (p. 29-30)

**PptésVv**

## Synthèse des comportements génétiques du phénomène analysé chez la laitue et la tomate

### \* chez les autofécondations des vitrovariants

- mutabilité exacerbée avec :
- éclatement de la variance **inter**famille  
mais aussi, quelque fois :
- descendance au **phénotype nouveau** et **homogène** avec stabilité de la variance **intra**famille, marquant la **fixité**
- **transmission héréditaire** de ces caractéristiques -testée sur plus de 10 générations chez la laitue, 3 chez la tomate-

### \* croisements réciproques

- à comportements dissymétriques quelque fois, pouvant aussi exprimer des effets de **transgression** -laitue, tomate-  
et :
- 1/ des effets **maternels** -laitue, tomate-
- 2/ des effets **paternels (!)** -tomate-

### \* chez les autofécondations des produits de croisements

- **hérédité** et **fixité** de ces effets, et des **transgressions** -laitue, tomate-

Retour à : [V Bb](#) (p. 30-31) ; [VI Ba](#) (p. 35); [VII Ab3](#) (p. 38); [VII Ab4](#) (p. 39-40)

EffetsCV

## *Impacts de la culture in vitro sur le génome des régénérants*

*La régénération par culture in vitro peut entraîner des effets aux divers niveaux :*

- { mécanismes de réparation des ADN*
  - { perturbation des fuseaux à la méiose et lors des mitoses, avec:*
    - anomalies génétiques locales*
    - variations des nombres chromosomiques*
- soit, une augmentation des taux de mutants*

*On constate aussi un éclatement des potentialités, par:*

- { une **destabilisation** du génome*
- { un **relâchement** des régulations*
- { une modification des interactions "gènes-épigénique", avec*
  - perte d'identité, impliquant la **plasticité du génome***

*Ainsi, il y a :*

- expression de vitrovariants de tous ordres, et*
- action sur le taux de recombinaison (C.O.)*
- modifications des autoincompatibilités*
- etc.*

Retour à : [VIAa1](#) (p. 32); [VIBa](#) (p. 35)

## AFrésult

Comportement des descendance P <sub>1</sub> d'autofécondation des régénérants		
descendance d'autofécondation	laitue	tomate
★ identiques au témoin	aucune	27%
★ ségrégation des marqueurs	10%	56%
★ différentes du témoin mais fixées	90%	17%

et stables au cours des générations successives d'autofécondation (jusqu'en P<sub>12</sub> pour la laitue).  
Variance intra-descendance identique à celle du témoin: même homogénéité.

mutabilité exacerbée

Retour à : [VII Ab3](#) (p. 38)

**Planche 1**

Aspects de la culture *in vitro* chez la tomate  
*Lycopersicon esculentum*



Présentation d'un cal amorphe (ci-dessus) et d'un cal régénérant dont émerge une plantule qui se développe dans la gélose (diapo. de droite).



Retour à : [VA](#) (p. 26); [suivante](#)

**Planche 2**

Vitrovariation des régénérants de laitue (*Lactuca sativa*)

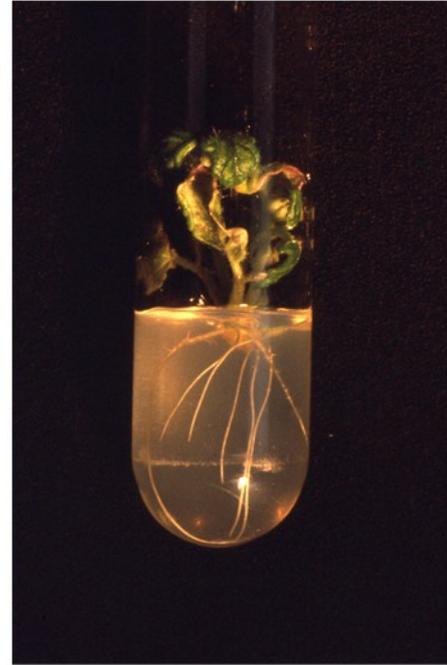


Gamme de variabilité observée chez les régénérants de laitue (*Lactuca sativa*), issus de culture *in vitro* des tissus de cotylédons, après formation de cals intermédiaires.

Retour à : [VA](#) (p. 26); [suivante](#)

**Planche 3**

Enracinement des régénérants



Les régénérants prélevés sont placés dans un milieu permettant d'initier le développement racinaire:  
- laitue (à gauche)  
- tomate (ci-dessus)

Retour à : [VA](#) (p. 26)

#### Planche 4

Aspect des plantes régénérées (génération P<sub>0</sub>) chez la  
Tomate (*Lycopersicon esculentum*)

Floraison d'une plante P<sub>0</sub> dès la  
reprise en terre



Anomalies locales d'une plante P<sub>0</sub>,  
où l'on constate le raccourcissement  
d'un entre-nœud et le développement  
précoce des bourgeons axillaires issus  
des feuilles supérieures.

Retour à : [V Aa1](#) (p. 27)

**Planche h1**



Cals et plantules androgénétiques d'orge

Retour à : [V Aa1](#) (p. 26-27); [suivante](#)

**Planche h2**



Retour à : [VAa1](#) (p. 26-27); [suivante](#)

**Planche h3**



On constate une meilleure vigueur des régénérants gynogénétiques d'orge, comparés aux androgénétiques.

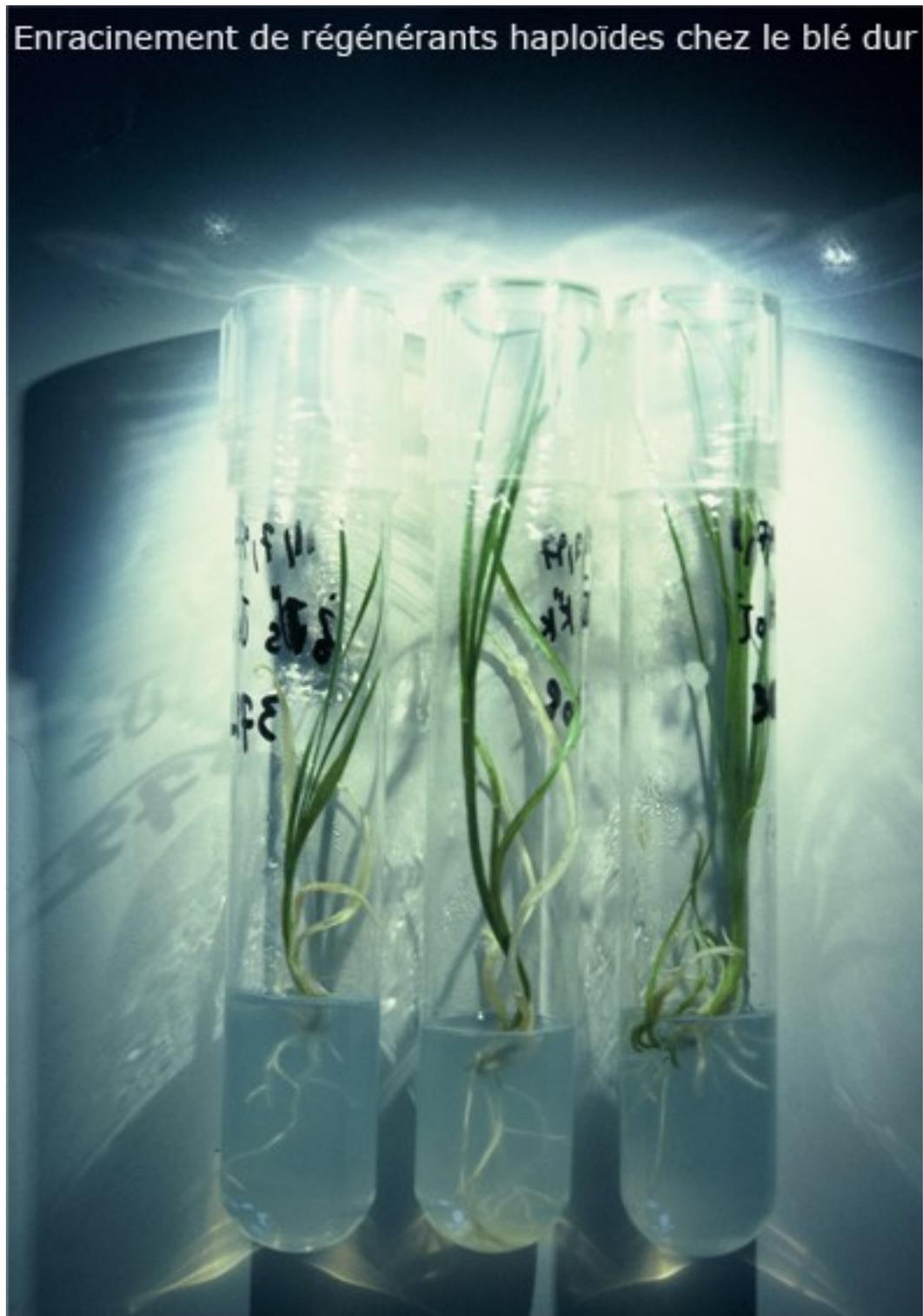
Retour à : [V Aa1](#) (p. 26-27); [suivante](#)

**Planche h4**



Retour à : [V Aa1](#) (p. 26-27); [suivante](#)

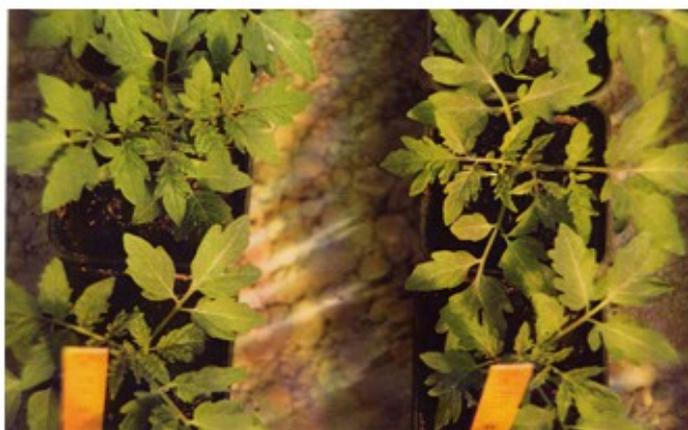
**Planche h5**



Retour à : [V Aa1](#) (p. 26-27)

**Planche 5**

Descendance P1 d'autofécondation  
des régénérants chez la tomate  
(*Lycopersicon esculentum*)



témoin

variant C: feuillage  
plus "aéré" au centre



Homogénéité des parcelles

Retour à : [VAb1](#) (p. 28)

**Planche 6**

Comparaison des générations P1 et P2 pour le variant C  
et le témoin, chez la tomate (*Lycopersicon esculentum*)



Témoin



Variant C à la génération P1



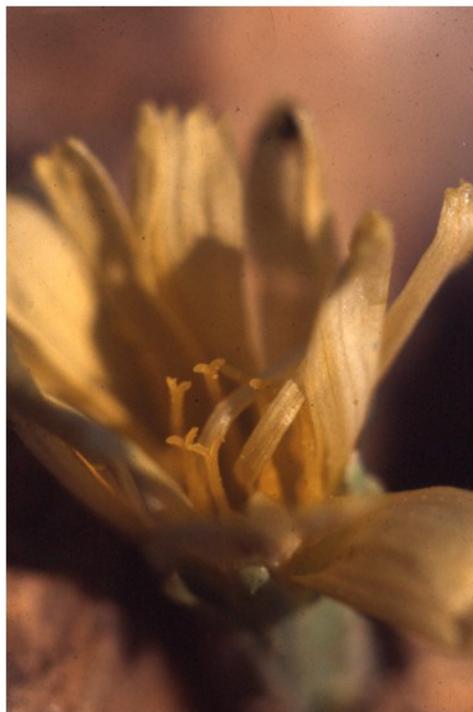
Variant C à la génération P2

On constate le maintien du port plus "aéré" au centre de la plante, en  
comparaison avec le témoin.

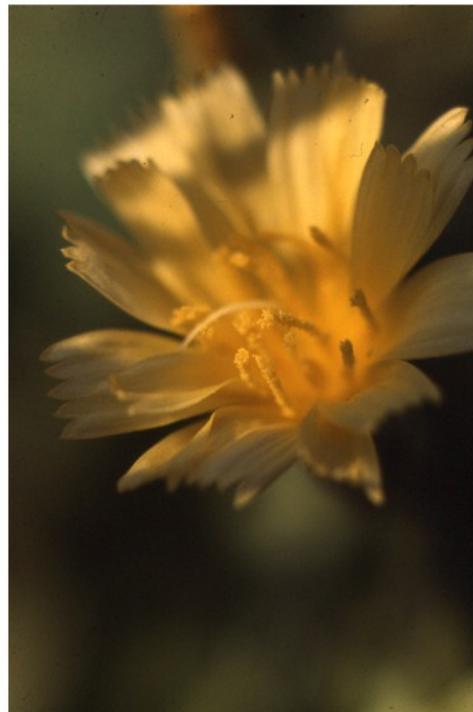
Retour à : [VAb1](#) (p. 28-29)

## Planche 7

Réalisation des croisements chez la laitue (*Lactuca sativa*)



Après avoir ôté le manchon d'étamines, les styles sont rincés pour éliminer tout grain de pollen.



(longueur du bouton: 12 à 15 mm environ)

La pollinisation à lieu lorsque les styles ont séché et se sont dressés.

Ces croisements s'effectuent juste avant le lever du soleil.

Retour à : [V Ab2](#) (p. 29); [suivante](#)

**Planche 8**

Croisements réciproques chez la laitue (*Lactuca sativa*)



Fleur castrée, avant (au-dessus) et après (au-dessous) pollinisation.



Chaque étiquette accrochée à la base du capitule, spécifie le croisement.

Retour à : [V Ab2](#) (p. 29)