

A photograph of a laboratory tray containing numerous glass jars, each with a white lid. The jars are filled with a clear liquid and contain green plant tissue cultures. The cultures appear to be in various stages of growth, with some showing more developed root and shoot systems. The jars are arranged in rows, and the background is slightly blurred, focusing attention on the foreground jars.

# **Cours: Haplo/diploïdisation**

## **Androgenèse, Gynogenèse**

**Par : GAOUAOUI Randa**

# L'haplodiploïdisation

## Définition:

- L'haplodiploïdisation désigne les techniques de production de plantes homozygotes en un seul cycle, à partir de cellules haploïdes ( $n$ ), suivies d'un doublement chromosomique pour obtenir des plantes diploïdes homozygotes ( $2n$ ).

# L'haplodiploïdisation

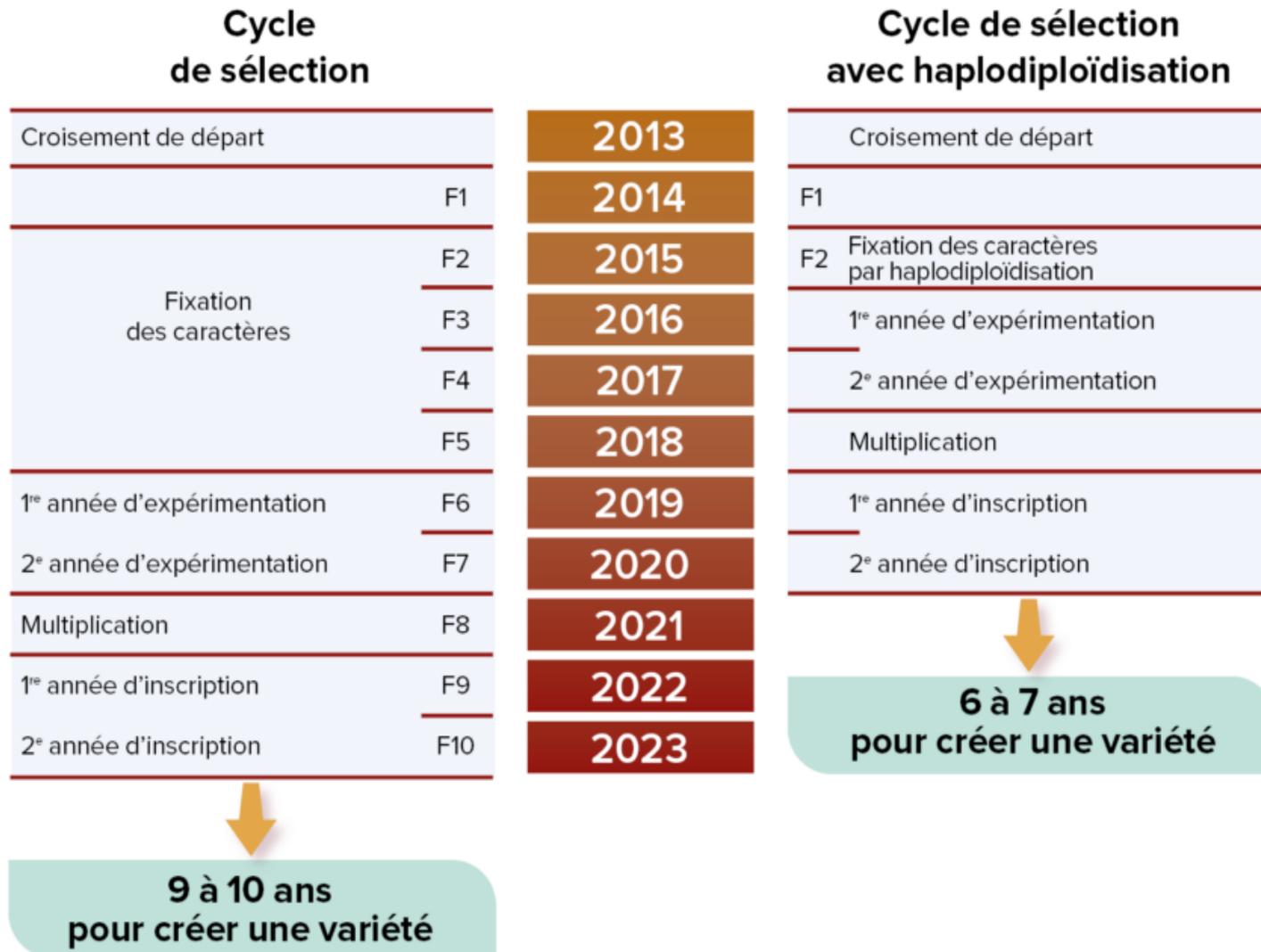
## Noté Bien:

- L'haplodiploïdisation est une méthode utilisée pour fixer plus rapidement le matériel génétique en cours de sélection.
- Elle repose sur la régénération de plantes haploïdes ( $n$ ) à partir de **cellules reproductrices mâles ou femelles**, suivie d'un doublement du stock chromosomique afin d'obtenir des individus diploïdes homozygotes.

# Objectifs et intérêt

Objectif	Avantage
Obtenir des <b>lignées pures homozygotes</b>	En <b>un seul cycle</b> au lieu de plusieurs générations
Accélérer les <b>programmes de sélection</b>	Gain de temps et de ressources
Réduire la <b>variabilité génétique intra-lignée</b>	Favorise la stabilité phénotypique
Produire des <b>variétés hybrides plus performantes</b>	Grâce à des parents bien caractérisés

# La fixation plus rapide du matériel génétique



# Principe

Le processus d'haplodiploïdisation comprend l'obtention de plantes haploïdes à partir des cellules produisant les gamètes mâles ou femelles, et le retour vers la phase diploïde.

Cette technique repose sur deux étapes essentielles:

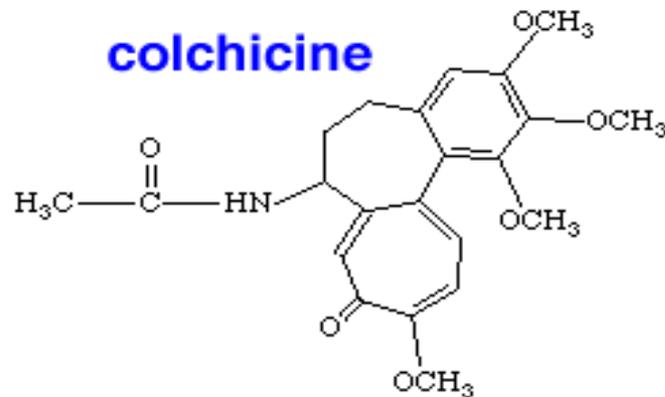
- 1. Production de plantes haploïdes (n).**
- 2. Doublement chromosomique.**

# Production de plantes haploïdes (n)

- La production de plantes haploïdes repose sur l'induction *in vitro* du développement embryonnaire à partir de cellules reproductrices immatures, qu'elles soient d'origine mâle (microspores/pollen) ou femelle (ovules non fécondés).
- Cette technique permet d'obtenir des individus ne possédant qu'un seul jeu chromosomique (n), étape clé dans les programmes de sélection végétale pour accélérer l'obtention de lignées pures.

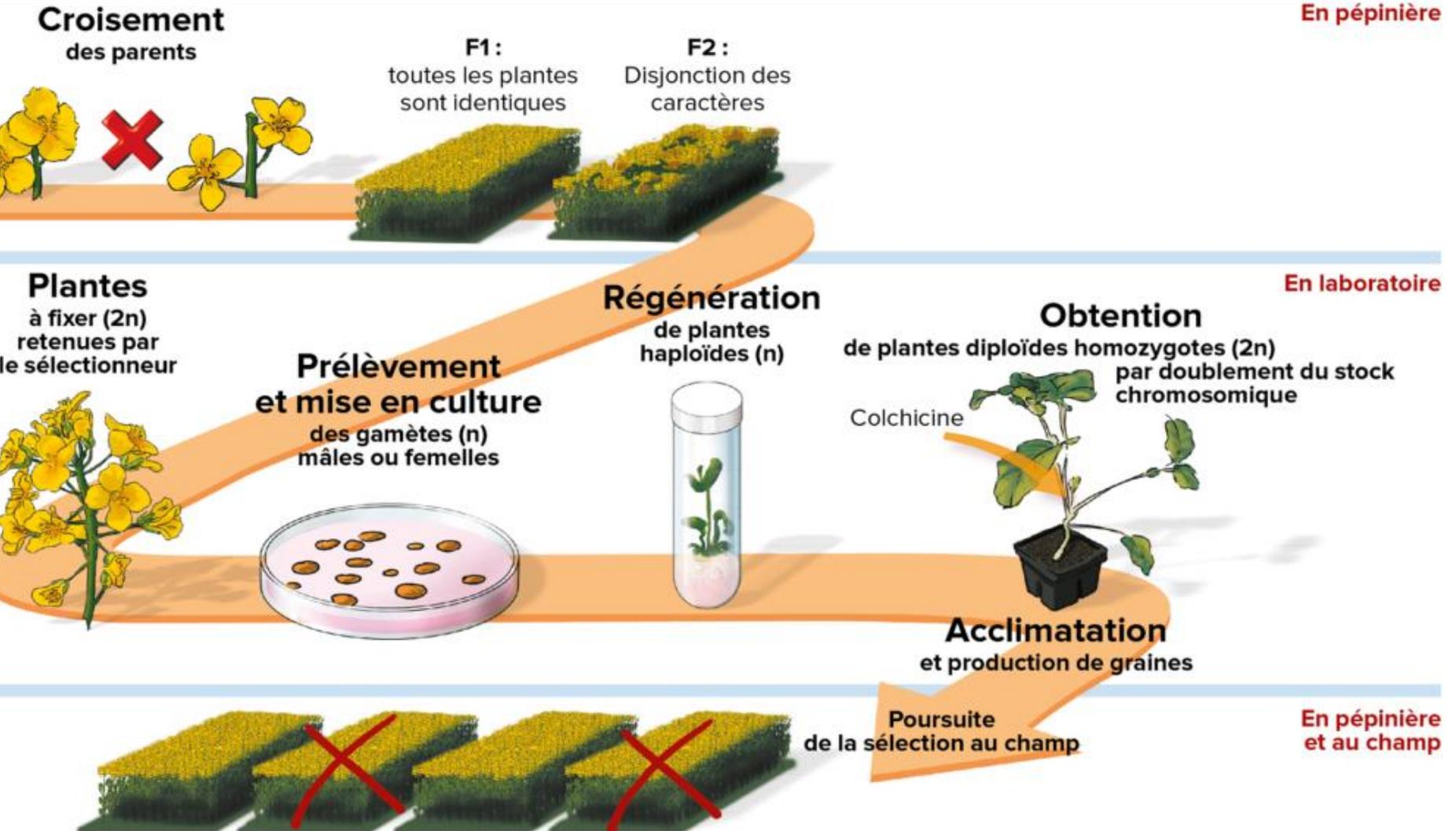
# Doublement des chromosomes

- Le doublement des chromosomes peut survenir spontanément ou être induit artificiellement à l'aide d'agents antimitotiques tels que la **colchicine** ou l'**oryzaline**. Cette étape permet d'obtenir des plantes **diploïdes homozygotes (2n)**, appelées **Doubled Haploids (DH)**, qui présentent une homozygotie complète sur l'ensemble du génome.



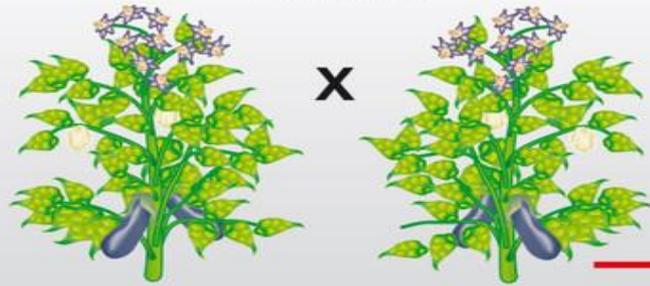
# Le principe de l'haplodiploïdisation

exemple du colza



**En serre**

Croisements  
des parents



**F1**  
Tous les plants  
sont identiques



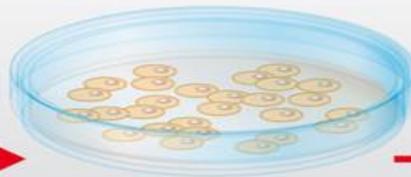
**F2**  
Disjonction  
des caractères



**En laboratoire**



Plant à fixer (2n)  
retenu par le sélectionneur



Prélèvement et mise en culture  
des gamétophytes (n)  
mâles ou femelles



Régénération de  
plantules haploïdes (n)



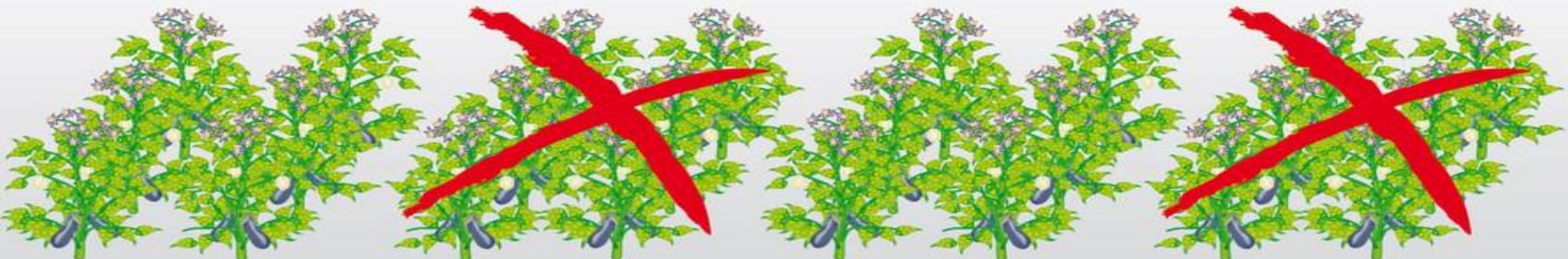
Obtention de plants diploïdes  
homozygotes (2n) par doublement  
du stock chromosomique

Colchicine

**En serre et au champ**

Acclimatation et production de graines

Retour au sélectionneur des plants fixés et poursuite de la sélection



# Production de plantes haploïdes (n)

Deux voies principales sont utilisées pour l'induction d'embryons haploïdes:

- **Androgénèse**
- **Gynogénèse**

Androgenèse

Gynogenèse

Culture  
d'anthère

Culture de  
microspore  
isolée

Gynogenèse  
*in situ*

Culture  
d'Ovule

Croisements  
interspécifiques

Pollinisation avec  
du pollen irradié

# Androgenèse

## Définition

- C'est la régénération de plantes entières à partir de culture de cellules sexuelles mâles: des grains de pollen immatures, soit par culture de pollen isolé, soit par culture d'anthères.

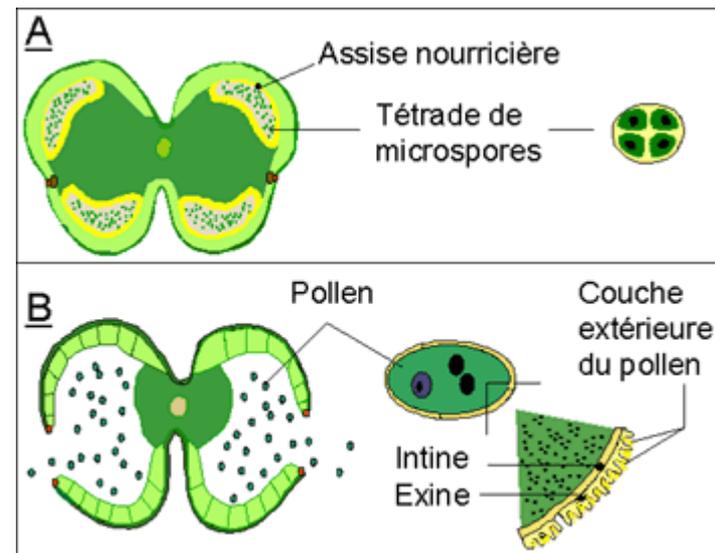
# Androgenèse

## Objectif

- Obtenir des plantes haploïdes doublées, (après doublement spontané ou artificiel par colchicine).
- Ainsi des lignées pures sont produites en quelques mois au lieu de 8 à 10 ans par technique classique d'autofécondations .
- L'obtention de lignées pures est une étape presque toujours nécessaire des programmes d'amélioration des plantes.

# Androgenèse

- Développement sporophytique (haploïde) par **culture de cellules sexuelles mâles**.
  - Cultures d'anthères
  - de microspores isolées



Source : CNRC-IBP-Canada

# L'obtention d'haploïdes à partir des organes mâles

## Exemple du blé

**Culture d'anthers =**  
(Étamines contenant les grains de pollen)



Mise en culture d'anthers



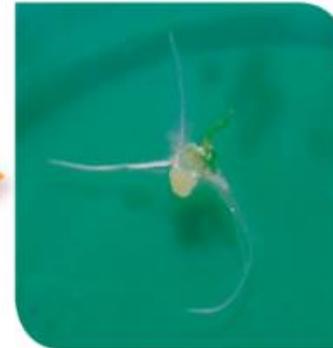
Mise en culture de microspores prélevées sur les boutons floraux



Formation d'embryons haploïdes



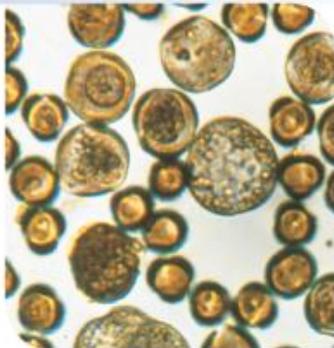
Repiquage des embryons



Obtention de plantes haploïdes

## Exemple du colza

**Culture de microspores =**  
(Grains de pollen)

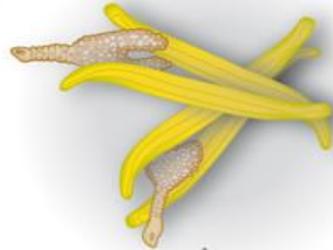




Mise en culture  
d'anthers

### Culture d'anthers

Exemple du blé  
(*Triticum aestivum*)



Formation d'embryons  
haploïdes



Repiquage  
des embryons

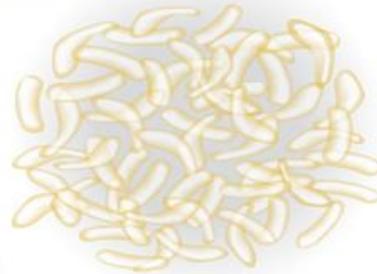


Obtention de  
plants haploïdes

### Culture de microspores

Exemple du colza  
(*Brassica napus*)

Mise en culture de  
microspores prélevées  
sur les boutons floraux



# Gynogenèse

## Définition

- C'est la régénération de plantes entières soit à partir de culture in vitro de cellules sexuelles femelles sur un milieu artificiel (ovules ou ovaires non fécondés, le plus souvent immatures).
- Soit in situ à partir des croisements interspécifiques ou des pollinisations avec du pollen irradié.
- On obtient des plantules ayant un seul stock de chromosomes (plantes haploïdes).

# Gynogenèse

- L'objectif est le même que pour l'androgenèse. Mais la gynogenèse est souvent utilisée chez les espèces qui sont récalcitrantes à l'androgenèse.

# Gynogenèse

Développement d'un embryon à partir de cellules sexuelles femelles → obtention de plants haploïdes.

Par:

- Culture *in vitro* d'ovaires ou d'ovules
  - Pollinisation croisée
  - Utilisation de pollen irradié
- } Parthénogenèse *in situ*

# L'obtention d'haploïdes par croisement interspécifique et à partir des organes femelles

## Gynogenèse

Culture *in vitro*  
d'ovules ou d'ovaires



## Croisement interspécifique

Orge  
sauvage  
bulbeuse

Développement d'embryons haploïdes *in situ*

Orge  
cultivée

## Utilisation de pollen d'une autre espèce

Pollen  
de maïs

Blé dur

## Utilisation de pollen dénaturé

Pollen  
dénaturé

Melon

Prélèvement des fleurs  
avant fécondation

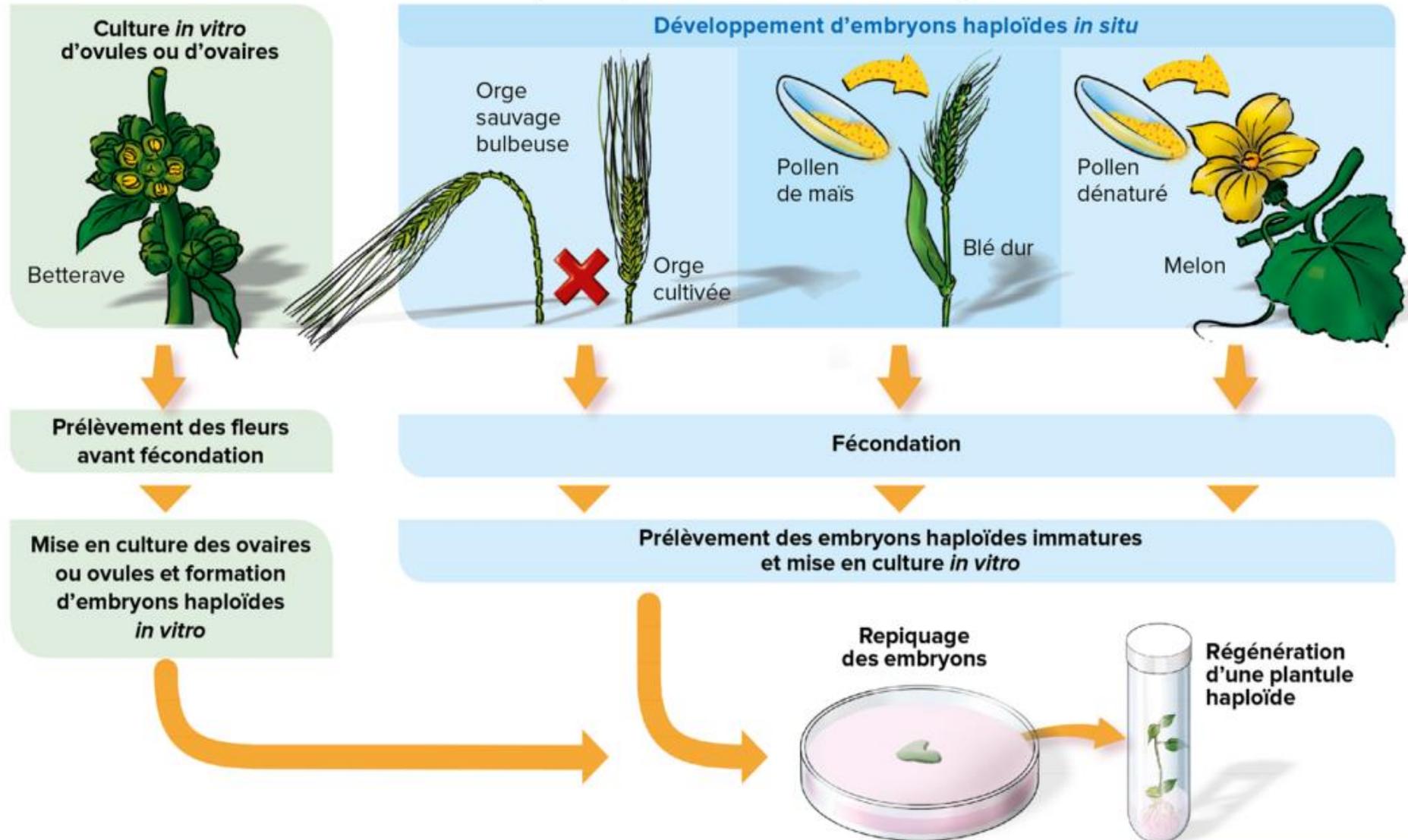
Fécondation

Mise en culture des ovaires  
ou ovules et formation  
d'embryons haploïdes  
*in vitro*

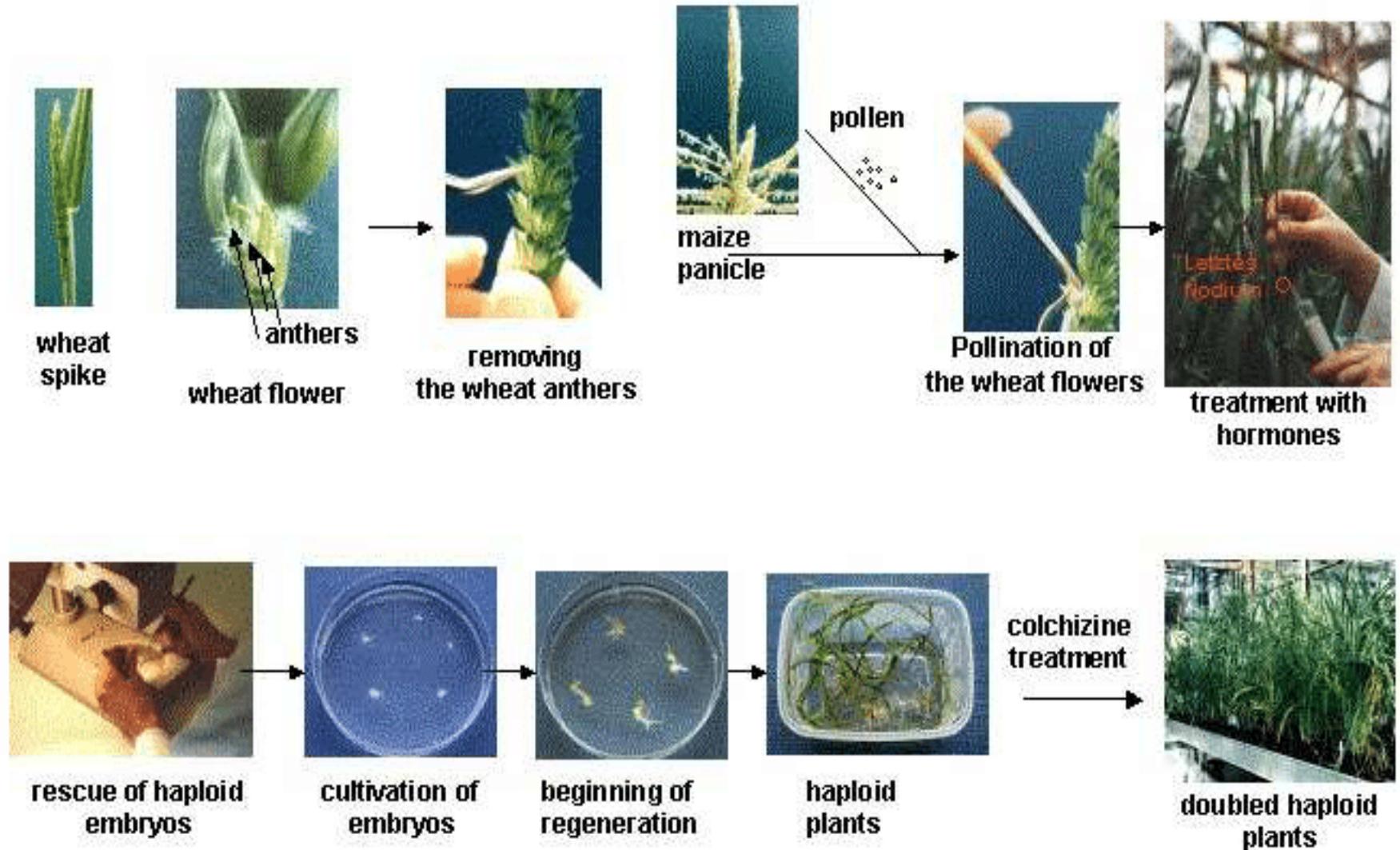
Prélèvement des embryons haploïdes immatures  
et mise en culture *in vitro*

Repiquage  
des embryons

Régénération  
d'une plantule  
haploïde



# Wheat x Maize - System



# Applications

- ✓ La culture d'anthères (1964): tabac.
- ✓ La culture de microspores isolées (1973): riz, colza, orge, blé, pomme de terre, maïs.
- ✓ La culture d'ovaires ou d'ovules (1976): orge, blé, tabac, riz, maïs, tournesol, betterave.
- ✓ La culture de pollen (1983): orge, blé, melon, carotte, concombre, chou.
- ✓ A partir de croisements interspécifiques (1964): pomme de terre, orge, melon, blé, luzerne.

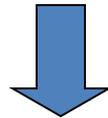
## Exemple: Obtention d'haploïdes de pommier

Le pommier : un matériel génétique difficile à étudier:

- Cycle reproductif lent (période juvénile 5-7 ans)
- Autostérilité



Impossible d'obtenir des lignées 100% homozygotes par la sélection classique



Obtention de lignées haploïdes

Doublement chromosomique



Agrobacterium  
A. tumefaciens

Agrobacterium  
A. tumefaciens

Agrobacterium  
A. tumefaciens

Agrobacterium  
A. tumefaciens

Agrobacterium  
A. tumefaciens