



PHOTO 3 : EN SERRE,
PLANTULE VERTE HAPLOÏDE
(R) À LEVÉE TARDIVE, AU
MILIEU DE PLANTULES
DIPLOÏDES ROUGES (RR)
© Y. LESPINASSE - INRA

PLANTES HAPLOÏDES DE POMMIER ET DE POIRIER UN MYSTÈRE DÉVOILÉ

Par Yves Lespinasse

La majorité des variétés de pommier et de poirier sont diploïdes, le noyau de chaque cellule contient 34 chromosomes. Cette propriété des variétés diploïdes se traduit par la formule $2x = 34$ chromosomes – x étant le nombre de base chromosomique du pommier et du poirier ou le nombre haploïde de chromosomes de ces 2 espèces : $x = 17$ chromosomes. Ce nombre de base ou nombre haploïde est caractéristique de chaque espèce du règne végétal ou animal.

Il n'existe pas dans la nature de plantes haploïdes de pommier ou de poirier ; la reproduction sexuée qui a permis depuis les origines de propager plantes et animaux exige la présence de paires de chromosomes homologues qui seront nécessaires pour assurer la reproduction. En effet, après recombinaison génétique et production de gamètes à x chromosomes, la fécondation produira un

embryon $2x$, diploïde et fonctionnel pour se développer et se reproduire. Les plantes haploïdes (x), triploïdes ($3x$), voire pentaploïdes ($5x$) sont stériles et ne peuvent pas se perpétuer par voie sexuée. Il existe pourtant des variétés triploïdes de pommier telles que 'Reinette du Canada' ou 'Belle de Boskoop'. Les variétés triploïdes sont multipliées végétativement par greffage, comme les variétés diploïdes, pour assurer une reproduction à l'identique, conforme au génotype* de la variété.

— POUR CARACTÉRISER MORPHOLOGIQUEMENT LES CHROMOSOMES —

Le pommier, comme le poirier, est une plante dont le régime de reproduction sexuée est allogame* ; il en résulte une forte hétérozygotie*. Ainsi, les descendants d'une variété diploïde présenteront des phénotypes* différents, résultant de la recombinaison génétique. Les plantes haploïdes

sont en fait des outils génétiques permettant de créer, après doublement chromosomique, des plantes diploïdes parfaitement homozygotes* ; ces plantes homozygotes présentent un énorme avantage par rapport aux variétés hétérozygotes, pour approfondir les connaissances concernant la constitution du génome et son fonctionnement.

Les plantes haploïdes permettent de caractériser morphologiquement les chromosomes en établissant le caryotype* ; les plantes haploïdes doublés homozygotes ($2x = 34$) sont utilisées pour connaître de façon précise la séquence du génome*, voire pour produire des plantes F1 en hybridant 2 haploïdes doublés.

— UNE MÉTHODE POUR OBTENIR DES PLANTES HAPLOÏDES —



PHOTO 1 : GÉNOTYPE RR : FEUILLES ET FLEURS DE COULEUR ROUGE
© Y. LESPINASSE - INRA

PHOTO 2 : GÉNOTYPE RR : CHAIR DE LA POMME PARTIELLEMENT ROUGE
© Y. LESPINASSE - INRA

Les méthodes employées sont identiques chez le pommier et le poirier. Dans la suite de cet article, on se limitera au pommier et à une seule méthode, celle utilisée à l'origine par le laboratoire de l'INRA à Angers. Cette méthode postule que, si un embryon haploïde existe, il a forcément échappé au processus de fusion des gamètes et qu'il est d'origine uniquement maternelle. Mais comment reconnaître cette plante haploïde dans un semis de pépins de pomme ? Une hybridation contrôlée a été réalisée entre une variété de phénotype 'feuilles de couleur verte' (génotype rr) avec une variété de phénotype 'feuilles de couleur rouge' (génotype RR*)¹ – photo 1 et 2. Le gène R codant

pour la couleur rouge étant dominant, les jeunes plantules de la descendance seront donc de phénotype 'feuilles de couleur rouge' (Rr) sauf les haploïdes (r). Et en effet, à une fréquence très faible (de l'ordre de 1 p. 1000 au sein de certaines descendance), des plantules de phénotype 'feuilles de couleur verte' ont été repérées – photo 3. Certaines de ces plantules, confirmées haploïdes ($x = 17$) après dénombrement chromosomique, ont survécu et ont été les premières plantes haploïdes de pommier obtenues dans le monde (Lespinasse et Godicheau, 1980).

— LE CARACTÈRE CHÉTIF DES PLANTES HAPLOÏDES —



PHOTO 4 : EN PÉPINIÈRE, PHÉNOTYPE DU PLANT HAPLOÏDE (R) VERT CLAIR, À CÔTÉ DE PLANTS DIPLOÏDES (RR) VERT FONCÉ -
© Y. LESPINASSE - INRA



PHOTO 5 : FEUILLES PETITES ET ÉTROITES DU PLANT HAPLOÏDE (R) COMPARÉES À LA FEUILLE D'UN PLANT DIPLOÏDE (RR) - © Y. LESPINASSE - INRA

Ces plantes haploïdes sont très chétives, sans dominance apicale affirmée, présentent une écorce crevassée, des rameaux grêles, des feuilles très allongées (Photo 4 et 5). Elles ont pu être conservées après greffage pendant plusieurs années. L'une d'entre elle a été étudiée plus particulièrement quant à sa croissance et son développement ainsi que sa morphologie foliaire (Lespinasse et Noiton, 1986 – Noiton, Coquen et Lespinasse, 1986). Les chromosomes ont été caractérisés morphologiquement à partir de cellules en division sur pointes racinaires – photo 6 – permettant ainsi de mieux connaître le caryotype du pommier.

— DOUBLEMENT CHROMOSOMIQUE DES PLANTES HAPLOÏDES —

Le doublement chromosomique des plantes haploïdes peut se produire naturellement, soit lors de la croissance

¹ Le gène dominant R contrôle la présence d'anthocyanes dans tous les organes : bois, feuilles, fleurs fruits – identifié chez *Malus pumila* 'Niedzwetzkyana' - un clone homozygote RR a été créé par hybridation.

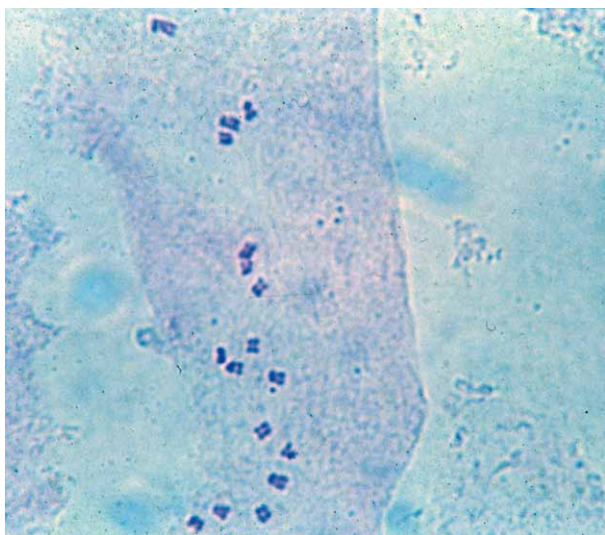


PHOTO 6: CELLULE HAPLOÏDE D'UN APEX RACINAIRE AVEC SES 17 CHROMOSOMES - © Y. LESPINASSE - INRA

en serre, au champ ou in vitro. La division cellulaire, ou mitose, peut être perturbée et conduire à des cellules diploïdes; les files cellulaires diploïdes prennent progressivement l'avantage sur les tissus haploïdes. Le doublement chromosomique peut être aussi obtenu artificiellement par application d'une substance mitoclasique, la colchicine, ayant pour effet le blocage de la mitose. L'une de ces plantes haploïdes doublées, issue à l'origine de la variété 'Golden Delicious', est utilisée actuellement pour pré-

ser finement la séquence du génome du pommier et pour conduire des études sur l'épigénome*, études permettant d'approfondir le rôle de facteurs, tels que l'âge ou l'environnement, qui modulent l'expression des gènes sans aucune altération de la molécule ADN.

Ainsi, les plantes haploïdes, véritables outils génétiques sont à la base de progrès dans la connaissance du génome du pommier et de son fonctionnement. Ces connaissances vont permettre une accélération des recherches génétiques et par conséquent, une création de nouvelles variétés plus efficace, pour mieux répondre aux défis que sont la réduction de l'emploi des pesticides et les changements climatiques. ■

À lire...

- Lespinasse Y., Godicheau M., 1980. Création et description d'une plante haploïde de pommier (*Malus pumila* Mill.) Ann. Amélior. Plantes, 30 (1): 39-44.
- Lespinasse Y., Noiton D., 1986. Contribution à l'étude d'une plante haploïde de pommier (*Malus pumila* Mill.). Étude descriptive et comparaison avec des clones de ploïdie différente. I. Caractères végétatifs: entre-nœuds, feuilles et stomates. Agronomie, 6 (7): 659-664
- Noiton D., Coquen C., Lespinasse Y., 1986. Contribution à l'étude d'une plante haploïde de pommier (*Malus pumila* Mill.). Étude descriptive et comparaison avec des clones de ploïdie différente. II. Aptitude à la reprise au greffage. Agronomie, 6 (7): 665-674.

LEXIQUE

Allogamie (plante allogame): système de reproduction à fécondation croisée (entre 2 individus différents).

Caryotype: représentation morphologique (nombre et structure) des chromosomes

Épigénome: l'épigénome à la différence du patrimoine génétique (molécule ADN) est variable; il dépend de facteurs tels que l'âge de la plante ou l'environnement; il va pouvoir moduler l'expression de gènes sans altérer la molécule ADN.

Génome: ensemble des gènes d'une espèce

Génotype: ensemble des gènes d'un individu.

Hétérozygote: état d'un génotype portant des allèles différents à un ou plusieurs locus (par exemple Rr au locus R); les variétés diploïdes de pommier et leurs descendants sont hétérozygotes sur la grande majorité des locus de chacun des génotypes.

Homozygote: état d'un génotype portant le même allèle à un ou plusieurs locus (par exemple RR ou rr au locus R); la plante haploïde doublée est homozygote à tous les locus du génotype.

Phénotype: le phénotype d'un individu correspond à ce qui est vu, ses caractères visibles.