

Contexte

Dans le monde et surtout en France les bananes ont une présence importante dans l'alimentation, c'est :

- le fruit le plus exporté dans le monde,
- 4ième produit alimentaire le plus produit.



Problématique

L'industrialisation a engendré une baisse de la variabilité génétique chez les bananiers. Cette absence de diversité génétique les rend particulièrement vulnérables face aux pathogènes et ravageurs. C'est ainsi qu'aujourd'hui on cherche à créer des plantes plus résistantes, malgré la barrière de la stérilité. La fusion de protoplastes semble être la solution. Cependant avant cela il faut maîtriser les protoplastes, c'est pour cela que nous allons vous présenter une méthode améliorée de la régénération des bananiers par les protoplastes.

Qu'est-ce qu'un protoplaste?

Les protoplastes sont des cellules végétales qui n'ont plus de paroi. Ils sont obtenus expérimentalement par digestion enzymatique de la paroi pectocellulosique.

Protoplaste de chou

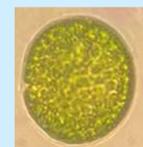
photo par AMY WYNN
G=x400



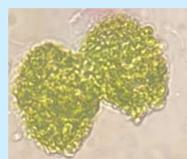
Afin de les obtenir et de les maintenir vivants, les protoplastes doivent être préparés et stockés dans un milieu hypertonique. Celui-ci les empêche de se rompre par pénétration d'eau en l'absence de parois.

Protoplaste de poireau

photo par EVA DESME
G=x400



N'ayant plus de parois, ces cellules permettent différents types d'expérimentations tels que : des fusions interspécifiques, l'introduction de matériel génétique étranger, des études électrophysiologiques de la membrane plasmique, etc.



Fusion de 2 Protoplaste de poireau

photo par PIERRE ALIX
G=x400

Etape 1 : Formation des protoplastes

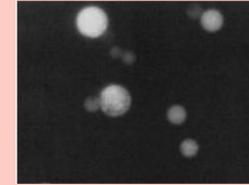
- Utilisation de différents matériaux pour l'obtention de protoplastes : suspensions cellulaires embryogènes, cals et feuilles de différents génotypes de bananiers.

- On place nos matériaux préparés différemment selon le type (filtre, tranche fines...), dans une solution enzymatique pour éliminer la paroi des cellules.

Etape 2 : Viabilité

- On effectue des prélèvements pour vérifier la présence de protoplaste par coloration. Leur qualité est observée par microscopie.

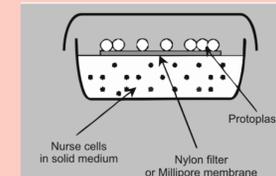
Expérimentation



Coloration au diacétate de fluorescéine d'un protoplaste de bananier(1)

Etape 3 : Développement

- On cultive nos protoplastes sur une couche nourricière constituée de cellule issue de suspensions cellulaires de bananier.



Culture de protoplastes de bananier sur une couche nourricière(2)

- 3 semaines après on observe des microcolonies nommées pro-embryons puis on les déplace dans un milieu de régénération.

- 4 semaines après, on observe une masse blanche lisse qui donne les embryons. Ils sont ensuite répliqués individuellement sur le même milieu (30 embryons par boîte).

- Les plantules formées à partir des embryons sont repiquées sur le milieu de multiplication des plantes in vitro.

Résultats

Tableau : Rendement et taux de viabilité des protoplastes selon la source d'isolement:

source d'isolement	suspension cellulaire	cals ou feuilles
rendement et taux de viabilité:	élevé	faible

D'après les résultats, l'évolution morphogène en plantes se fait seulement pour les protoplastes issus de suspensions cellulaires embryogènes.

Après quelques jours, on observe une reconstitution d'une paroi par les protoplastes.

Par la suite, l'entrée en division des cellules nécessite l'utilisation de cellules nourricières.

Génotype	Génome	Couche nourricière	Nombre de protoplastes/boîte de Pétri	Cellules en division/boîte de Pétri	Proembryons formés/boîte de Pétri
Grande Naine	AAA	Grande Naine	0,5.10 ⁶	80 000 (16 %)	18 000 (3,6 %)
Gros Michel	AAA	IRFA 903	0,5.10 ⁶	20 000 (4 %)	1 600 (0,3 %)
Michel	AAA	Grande Naine	0,5.10 ⁶	70 000 (14 %)	10 000 (2 %)
IRFA 903	AA	IRFA 903	0,5.10 ⁶	12 000 (2,4 %)	1 800 (0,4 %)
		Grande Naine	0,5.10 ⁶	60 000 (12 %)	15 000 (3 %)
		IRFA 903	0,5.10 ⁶	35 000 (7 %)	4 700 (0,9 %)

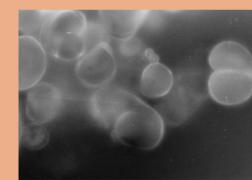
*Tableau 3 : Effet de la couche nourricière sur les premières divisions des cellules dérivées de protoplastes obtenus à partir des suspensions cellulaires de type acuminata et la formation des proembryons.

La couche nourricière la plus favorable pour la division est celle issue de Grande Naine (AAA) :

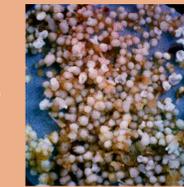
Les cellules nourricières ont un effet de blocage partiel sur l'évolution des microcolonies en proembryons.

Les microcolonies sont donc transférées sur un milieu de régénération afin d'obtenir des embryons.

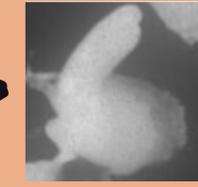
Etapes de régénération des bananiers



Première division d'une culture de protoplaste(3)



Formation d'embryons de bananier sur une couche nourricière(4)



Germination d'embryons de bananier sur un milieu de régénération(5)



Régénération du bananier à partir d'embryons dérivés de protoplastes(6)

Génotype	Génome	Nombre d'embryons	Nombre de plantules	Taux de régénération
Grande Naine (s)	AAA	273	200	73
Gros Michel (s)	AAA	140	43	31
Currane enano (s)	AAB	91	36	40
SF 265 (s)	AA	95	77	81
IRFA 903 (s)	AA	126	115	91
Col 49 (s)	AA	329	54	16
Colatino Ouro (c)	AA	0	0	0
Tani (f)	BB	0	0	0
Pisang Batu (c)	B	0	0	0
Pisang Klutuk (c/f)	B	0	0	0
Pisang Klutuk w. (c)	B	0	0	0
Σ		1 045	525	50

A : Génome acuminata
B : Génome balbisiana

*Tableau 4 : Evolution morphogène des protoplastes de divers origines (s=suspension cellulaire;c=cal;f=feuille)

Conclusion

Ces travaux ont permis de trouver de nouveaux génotypes de bananier capables de fournir des protoplastes, permettant de régénérer des plantes.

Ces recherches permettent également d'augmenter le rendement des taux de transformation de pro-embryons en plantes, en apportant des changements aux protocoles déjà développés pour cette expérience.

Cette méthode d'embryogénèse somatique, est une solution aux problèmes de stérilité dû aux croisements génétiques des bananes.

Références

Sources

-(pdf) Progrès réalisés dans la régénération des protoplastes de bananiers

-Progrès réalisés dans la régénération des protoplastes de bananiers (Musa spp.) - Agritrop. (s. d.). Archive ouverte du Cirad - Agritrop.

-Fusion de protoplastes : définition et explications - AquaPortail. (s. d.). AquaPortail.

Photos

[PDF] Protoplast isolation and culture for banana regeneration via somatic embryogenesis | Semantic Scholar. (s. d.). Semantic Scholar | AI-Powered Research Tool.

-(1)(3)(2)(5): Robert. Haïcour

Banana Improvement. (s. d.). Home | Food and Agriculture Organization of the United Nations.

-(4)(6): Robert. Haïcour

*Tableau 3 et 4 : (pdf) Progrès réalisés dans la régénération des protoplastes de bananiers

