

## TD génétique 4 CRÉATION VARIÉTALE -CORRECTION

### Création d'une variété par croisements

**Question :** Comment obtenir une lignée pure « C » présentant les caractères « jointless » et « maturation ralentie » ?

Réponse :

notation des allèles : jointless = j ; non jointless = nj ; maturation normale = Mn ; maturation ralentie = Mr  
 $A \times B \Rightarrow F1$  hétérozygote [maturation ralentie, non jointless] indiquent que les allèles Mr codant la maturation ralentie et nj codant le caractère non jointless sont dominants.

On cherche à obtenir une lignée pure (Mr/Mr, j/j). Pour cela, on procède en trois étapes :

**1-on croise  $F1 \times F1 \Rightarrow F2$**  avec 4 phénotypes dont [maturation ralentie ; jointless]. F1 produit des gamètes (Mr/ ; j+/) et (Mn/ ; J+/) La rencontre aléatoire de ces gamètes aboutit à plusieurs génotypes dont deux possédant le phénotype attendu [Maturation ralentie ; jointless] : ces individus sont bien homozygotes (j/j) mais sont soit homozygotes (Mr/Mr) soit hétérozygotes (Mr/Mn). Ils ne forment donc pas la lignée pure souhaitée.

2- pour identifier les individus homozygotes dans cette F2, on réalise sur une partie des fleurs du plant F2 : un **test cross avec le parent récessif A** :  $F2 \times A \Rightarrow F3$ .

\* Si F3 est hétérogène avec des plants à maturation ralentie et des plants à maturation homogène, cela signifie que F2 était hétérozygote et ne nous intéresse pas.

\* Si F3 est homogène à maturation ralentie, cela signifie que F2 était homozygote (Mr/Mr).

3- Avec les fleur restantes d'une F2 homozygote, on réalise **des autofécondations** pour obtenir la lignée pure souhaitée.

### Création d'une variété par rétro-croisements

**Questions :**

1 Justifier l'intérêt de la création de la variété Garance

Cette variété présente des qualités visuelles et gustative favorables à la vente, une résistance aux pathogènes limitant l'emploi de pesticides, des qualités nutritives favorables pour la santé du consommateur.

2. expliquer l'évolution du chromosome portant le gène Z au cours de ces rétro-croisements dans le document 2

A chaque croisement, il y a au moment de la première division de méiose des **recombinaisons homologues** (crossing over) qui ré associent des portions des chromosomes homologues venant des deux variétés. Comme les croisements se font systématiquement avec la variété N, le % du chromosome de cette variété augmente. Comme on sélectionne à chaque croisement les caractères de la variété M, on conserve les allèles (ou même gènes) associés à ces caractères. On obtient ainsi après plusieurs croisements un chromosome de la variété N avec les locus sélectionnés de la variété M.

3. Expliquer concrètement comment a pu être obtenu la variété Garance

La variété garance possède des caractères agronomiques proches de la variété Coeur de bœuf (taille, couleur,...) avec de plus quelques caractères présents dans la variété sauvage (résistance, sucré). On peut donc suggérer que la variété garance a été obtenue en **croisant ces deux variétés puis en réalisant une série de rétrocroisement avec la variété agronomique Coeur de bœuf**, au cours desquels on a veillé à ne conserver que les descendants résistants aux pathogènes, très sucrés et riches en vitamines C.

### CREATION D'UNE VARIETE OGM

**Question :** proposez une stratégie pour produire la variété *Lycopersicon esculentum-1345-4*

On pourrait produire une variété **Knock Out** pour le gène codant l'ACC-oxydase, donc incapable de produire l'éthylène responsable de la maturation des fruits. Pour cela on peut :

**1-cloner le gène codant l'ACC oxydase.** Il faut extraire l'ADN, le fragmenter. Sélectionner avec une sonde spécifique le fragment contenant le gène codant l'ACC oxydase. Insérer ce fragment dans un plasmide de clonage, introduire ce plasmide dans des bactéries et sélectionner la population bactérienne ayant intégré le plasmide contenant le gène cloné (avec les gènes rapporteurs présents sur le plasmide, puis avec un southern blot final).

**2-produire une version non fonctionnelle de ce gène** (en utilisant par exemple la technique Crisp-Cas9) mais possédant toujours en amont et en aval des séquences bordant ce gène. Le gène peut avoir été éventuellement remplacé par un gène rapporteur (comme le gène codant la GFP) ce qui facilitera la sélection lors des étapes ultérieures.

**3-introduire par transgénèse cette version modifiée dans une cellule de tomate** (par exemple en utilisant le vecteur agrobactérium tumefaciens, ou un canon à particule). Le transgène peut alors soit être détruit, soit s'intégrer dans le génome soit remplacer par recombinaison homologue un des 2 allèles fonctionnels du gène codant l'ACC oxydase. C'est cette dernière option qu'il faudra sélectionner (grâce à un gène rapporteur co-introduit puis un southern blot avec une sonde spécifique du gène codant l'ACC oxydase).

**4-régénérer in vitro un plan de tomate A** à partir de cette cellule possédant un allèle non fonctionnel.

**5-produire un plan homozygote B par autofécondation de A** et vérifier qu'il ne produit plus d'éthylène.

**6-produire une lignée KO par autofécondation de B.** On obtient ainsi la variété recherchée.