

Université IBN KHALDOUN de Tiaret Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie Département d'écologie et environnement et biotechnologie	Master 2 – Biodiversité et écologie végétale Semestre 3 2023 / 2024
Corrigé de l'examen : Biotechnologie végétale	

Partie I

Étude 1 : Lazrek *et al.*, (2008), ont utilisés la forme, la couleur, les tâches, et le crantage des feuilles, le port des plantes et la date de floraison pour analyser la diversité génétique des populations naturelles tunisiennes de *Medicago truncatula* en Tunisie et en France.

Étude 2 : Chtourou-Ghorbel *et al.*, (2004), ont utilisé les marqueurs RFLP et RAPD pour évaluer la variabilité génétique des populations de cinq espèce appartenant au genre *Lathyrus* (*L. sativus*, *L. cicera*, *L. ochrus*, *L. latifolius* et *L. sylvestris*) en Tunisie.

Questions

1. Les deux études sont réalisées en utilisant des marqueurs génétiques. Définir les marqueurs génétiques. **1pts**

Les marqueurs génétiques sont des caractères héritable, polymorphes, facilement discernables qui doivent permettre la caractérisation du génotype et ceci, de préférence, à tout moment et indépendamment des facteurs environnementaux.

2. Quels types de marqueurs génétiques sont-t-ils utilisés dans les deux études ? **04pts**

Étude 1 : marqueurs génétiques morphologiques

Étude 2 : marqueurs moléculaires

3. Les marqueurs utilisés dans la première étude sont des marqueurs génétiques classiques. Citer autres marqueurs génétiques classiques. **02pts**

Marqueurs biochimiques

4. Expliquer brièvement le protocole des techniques RFLP ou RAPD.

Citer les principales étapes d'une technique au choix (voir le support de cours) 01pts

-
- (1) Lazrek F. 2008. Analyse de la diversité génétique et symbiotique des populations naturelles tunisiennes de *Medicago truncatula* et recherche de QTL liés au stress salin. Thèse de doctorat, université de Toulouse.
- (2) Chtourou-Ghorbel N., Marrakchi M., Lauga B., Combes D. Utilisation des marqueurs moléculaires (RFLP et RAPD) pour l'estimation de la variabilité génétique au sein et entre des populations cultivées et spontanées des espèces du genre *Lathyrus*. In : Ferchichi A. (comp.), Ferchichi A. (collab.). Réhabilitation des pâturages et des parcours en milieux méditerranéens . Zaragoza : CIHEAM, 2004. p. 77-80.

Partie II

- Le gène CspA issu de la bactérie *E. coli* permet de maintenir la photosynthèse et donc la croissance lorsque les plantes sont soumises à un déficit hydrique.
- Ce gène a été isolé, intégré dans une construction génétique, multiplié et transféré dans le maïs.
- Une variété de maïs présentant un meilleur comportement vis-à-vis du déficit hydrique est commercialisée (Gaufichon *et al.*, 2010) grâce à l'intégration du gène CspA.

Questions

1. Quelle est la technique qui a permis de transférer le gène CspA de la bactérie au maïs ? **01pts**
.....**La transgénèse végétale**.....
2. Citer les outils de génie génétique et les techniques permettant de **04pts**
 - Isoler le gène CspA de la bactérie :**Enzymes de restriction**.....
 - Intégrer le gène CspA dans une construction génétique : ...**Enzymes de ligation + Vecteurs de clonage**.....
 - Multiplier le gène CspA :**Clonage**.....
 - Transférer le gène CspA à la plante : **Transfert direct : biolistique - microinjection - transfert sur protoplastes**.....**Transfert indirect : par *Agrobacterium tumefaciens***.....
3. Comment elle est appelé la variété de maïs contenant le gène CspA? **01pts**
.....**Maïs transgénique - Maïs génétiquement modifié**.....

- Les séquences d'ADN de deux plantes A et B, correspondant à un gène de résistance R et d'autre de sensibilité S, sont partiellement reportées ci-dessous

L'allèle R : GCTGATCCCTGGAGAGTATACGGTCAGTG

L'allèle S : GCTGATCCCTGGAGAGTATACGATCAGTG

- Soient les enzymes de restriction EcoR I, Xho I et Mbo I dont les sites reconnus sont : EcoR I : 5'-GAATTC-3' ; Xho I : 5' CTCGAG 3' ; Mbo I ; 5' GATC 3'.

5. Encadrer les sites de restriction dans les deux séquences d'ADN en précisant l'enzyme qui peut cliver les deux séquences. **02,5pts**

L'allèle R : GCT**GATC**CTGGAGAGTATACGGTCAGTG : **Mbo I.**

L'allèle S : GCT**GATC**CTGGAGAGTATAC**GATC**AGTG : **Mbo I.**

6. Combien de fragments de restriction sont produits dans chaque séquence ? **01pts**

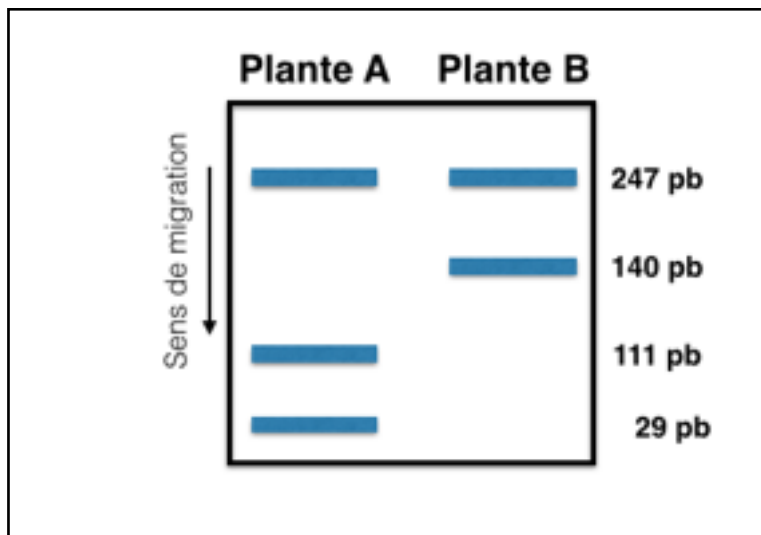
Allèle R : 2 fragments de restriction.

Allèle S : 3 fragments de restriction.

3. Expliquer la nomenclature de l'enzyme EcoR I. **01,5pts**

EcoRI : Enzyme de restriction d'Escherichia (genre) coli (espèce) souche RY317 la première enzyme isolée de cette souche.

- La séparation des deux séquences (extraites des deux plantes et digérées avec la même enzyme de restriction) par électrophorèse a permis d'obtenir le profil suivant



7. D'après ce profil, laquelle des deux plantes est la sensible et laquelle est la résistante ? **01pts**

Plante A : plante sensible.

Plante B : plante résistante.