LES EFFETS CYTOPLASMIQUES ET L'AMELIORATION DES PLANTES

par

Y. DEMARLY

Laboratoire d'Amélioration des Plantes
Faculté des Sciences (ORSAY)

L'application de l'hérédité factorielle a donné de remarquables résultats pour la sélection des végétaux : l'introduction des résistances à une race parasitaire, la restauration de la fertilité, le déterminisme de caractéristiques morphologiques (couleur, nanisme), physiologiques (croissance déterminée) ou biochimiques (opaque 2, érucique zéro) notamment par des séries de back-cross en sont des démonstrations flagrantes.

Il n'en reste pas moins que nombre d'aspects d'intérêt primordial en amélioration des plantes échappent fortement à ces types d'analyse. Les hérédités complexes des adaptations climatiques, la compréhension des types de développement, les « stratégies » liées aux systèmes de reproduction : tolérance de la consanguinité, mécanismes de l'hétérosis et beaucoup des éléments qui définissent la vigueur ou le rendement, illustrent cette situation.

La génétique dite quantitative, qui, partant d'un raisonnement factoriel, tente d'interpréter des effets héréditaires globaux, en ajoutant à l'effet additif d'un allèle, l'effet de dominance qui le relie à son homologue et les effets d'épistasie qui le connectent à d'autres locus, a marqué un pas intéressant dans la compréhension de l'hérédité quantitative (croisements diallèles, variances génétiques, aptitudes à la combinaison). Les sélectionneurs d'espèces végétales en sentent néanmoins les imperfections et les limites (fig. 1).

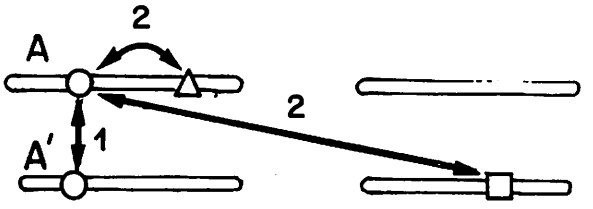
Ces faiblesses sont sans doute dues, en partie, à la distribution même des gènes sur les chromosomes des végétaux supérieurs et à l'organisation de leurs effets pour l'expression globale d'un caractère.

La série des faits expérimentaux et d'hypothèses illustrés par les schémas qui vont suivre constitue une tentative d'analyse du rôle du cytoplasme dans ces expressions.

SCHEMA (2)

Ce schéma illustre l'idée qu'on peut se faire de l'arrangement des gènes sur le chromosome. Les gènes sont représentés par les triangles. On appelle redondance, le fait qu'un caractère puisse être codé par plusieurs gènes en différents points parfois sur le même chromosome, parfois sur des chromosomes différents

Il est évident que, lorsque ce caractère se réalise, ce n'est pas tout l'ensemble de ces gènes qui est utilisé en même temps, mais certains d'entre eux et, dans un milieu donné, les autres sont neutralisés, mais, vraisemblablement, seraient disponibles pour fonctionner dans d'autres types de milieu afin de réaliser ce même caractère.

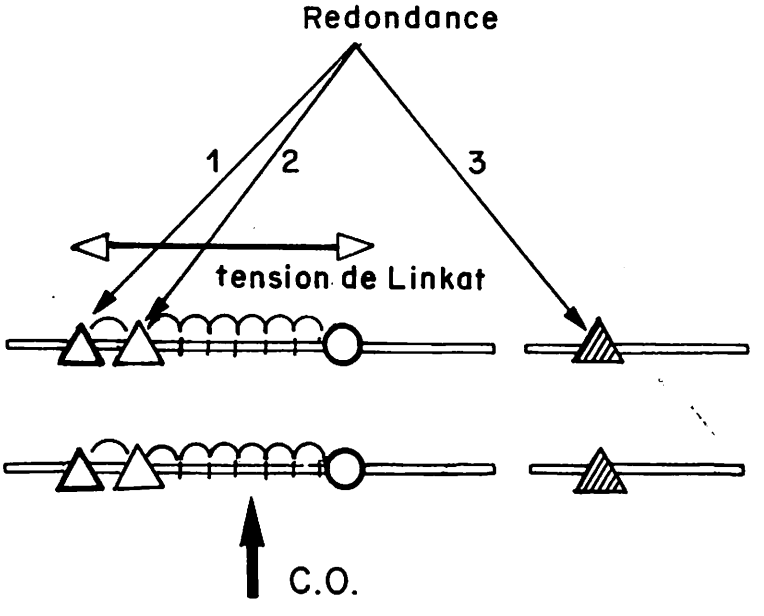


A+A′= Additivité

Interaction 1 = Dominance

Interactions 2 = Epistasies

SCHEMA 1



SCHEMA 2

Autrement dit, la situation dans laquelle se trouve le noyau à un instant donné interviendra pour choisir lesquels des gènes redondants seront déréprimés et fonctionnels.

Le deuxième aspect significatif, qui est désigné sous le nom de tension de linkat, représente l'effet de liaison qui peut exister entre des gènes qui codent pour des caractères différents. Cet effet de tension et de cohésion a une valeur globale : l'ensemble s'exprime à peu près comme une unité. C'est un effet qu'on appelle épistasie et cet effet de tension peut être consolidé par plusieurs gènes neutres qui n'ont pas d'effet propre, mais dont le rôle est simplement de rendre plus cohérent le linkage entre les facteurs majeurs.

Ces deux aspects caractéristiques de l'organisation des végétaux supérieurs donnent une vue plus complète que la simple hérédité mendélienne.

FIGURE (3)

Ici est schématisée une algue unicellulaire : *Acetabularia* sur laquelle je voudrais montrer quelques types de fonctionnement cytoplasmique. Son cycle est extrêmement simple. Il se déroule en quatre mois environ, et l'algue, bien qu'unicellulaire prend une forme relativement différenciée en ce sens qu'elle a une partie basale le rhizoïde, contenant le noyau et le chapeau.

FIGURE (4)

On connait chez cette algue deux types de mutation qui portent sur la forme du chapeau : le type *mediterranea* à chapeau peu crénelé, à rebord légèrement dentelé et le type *crenulata* où le chapeau, comme son nom l'indique est fortement crénelé. On peut faire des greffes et, dans l'expérience qui est représentée ici, on a greffé une partie basale, contenant un noyau *mediterranea* avec une partie terminale cytoplasmique de *crenulata*.

On peut se demander, lorsqu'on fait un tel type de greffe, quelle sera la forme du chapeau construit, étant donné que l'information génétique est de type *mediterranea* ? Le chapeau qui pousse est de type intermédiaire entre *crenulata* et *mediterranea*. Cela signifie que le cytoplasme greffé, *crenulata*, comportait déjà un déterminisme de la future forme à construire, mais que le noyau *mediterranea* a envoyé son propre message qui a particulièrement modifié la forme que pouvait construire *crenulata*.

Mais il existe un fait encore plus intéressant : si on coupe ce chapeau, la cellule en régénère un second et celui-ci est entièrement de type *mediterranea* comme si le cytoplasme avait été progressivement «lavé» de l'information *crenulata* et avait pris entièrement la nouvelle information du noyau *mediterranea*.

FIGURE (5)

Un deuxième exemple qu'on possède concernant le fonctionnement du cytoplasme, toujours chez cette algue *Acetabularia*, est donné par les travaux de Reuter et Schweiger.

Ils concernent deux enzymes particulières :

la malate déshydrogénase
et la lactate déshydrogénase

dont on connaît les spectres caractéristiques des génotypes *mediterranea* et *crenulata*.

Prenons une algue *mediterranea* et chassons-en le noyau pour lui injecter un noyau *crenulata*. Après 4 semaines, les enzymes produites par cette cellule sont de type *crenulata*, autrement dit, l'influence de

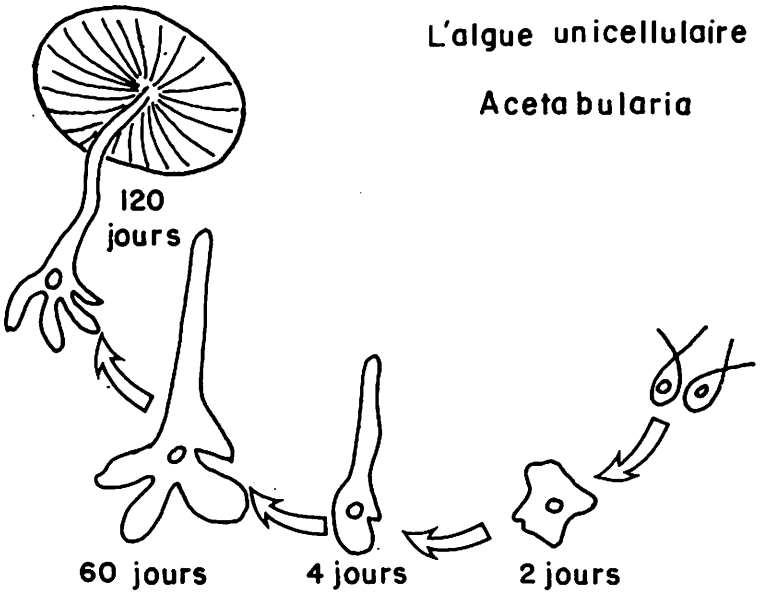


FIGURE 3

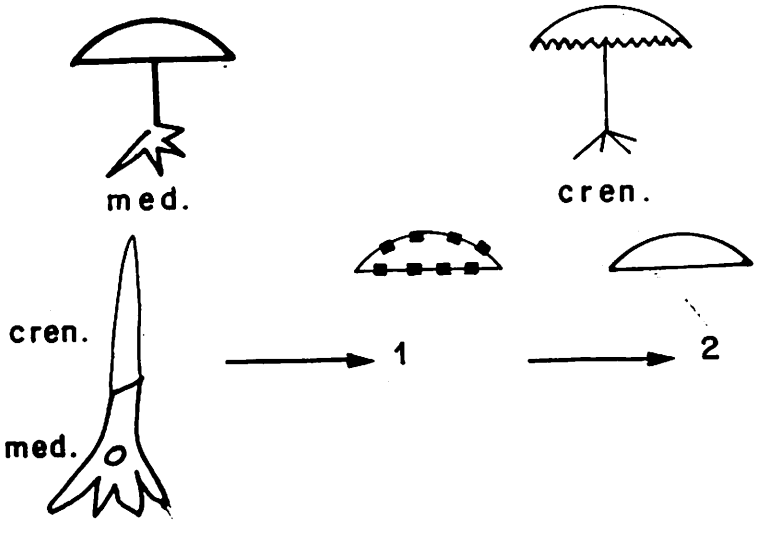


FIGURE 4

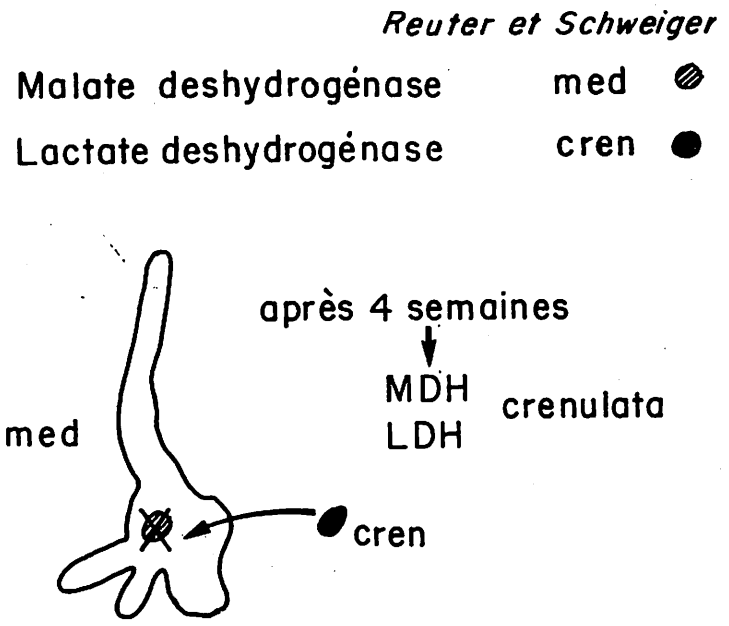
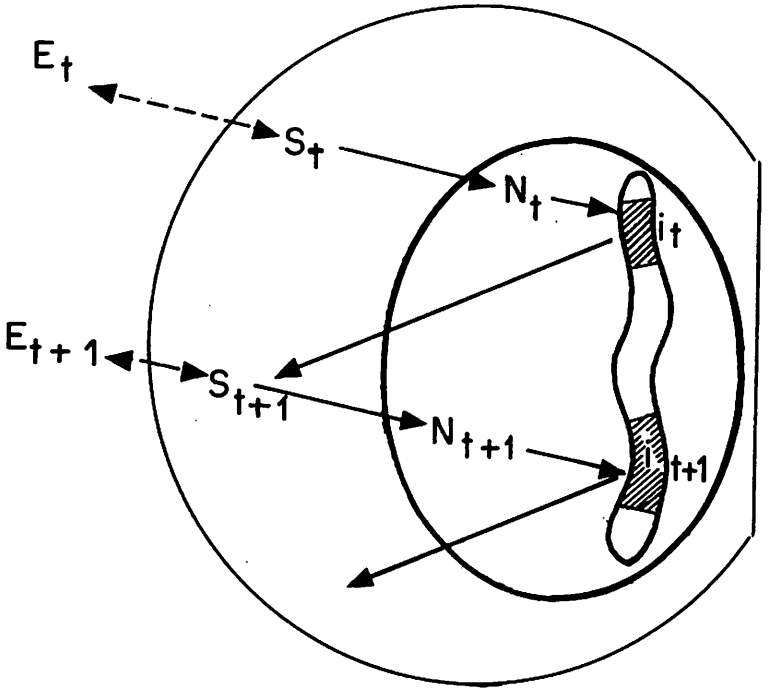
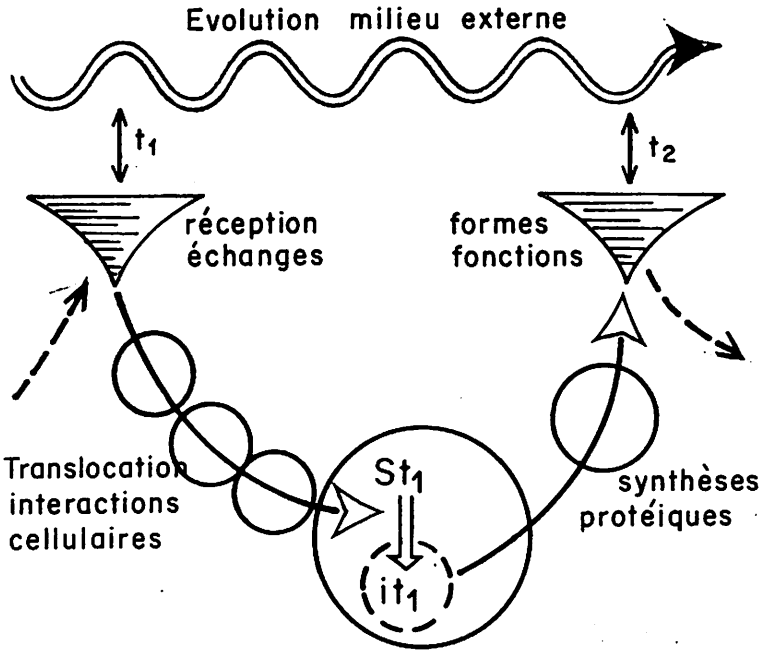


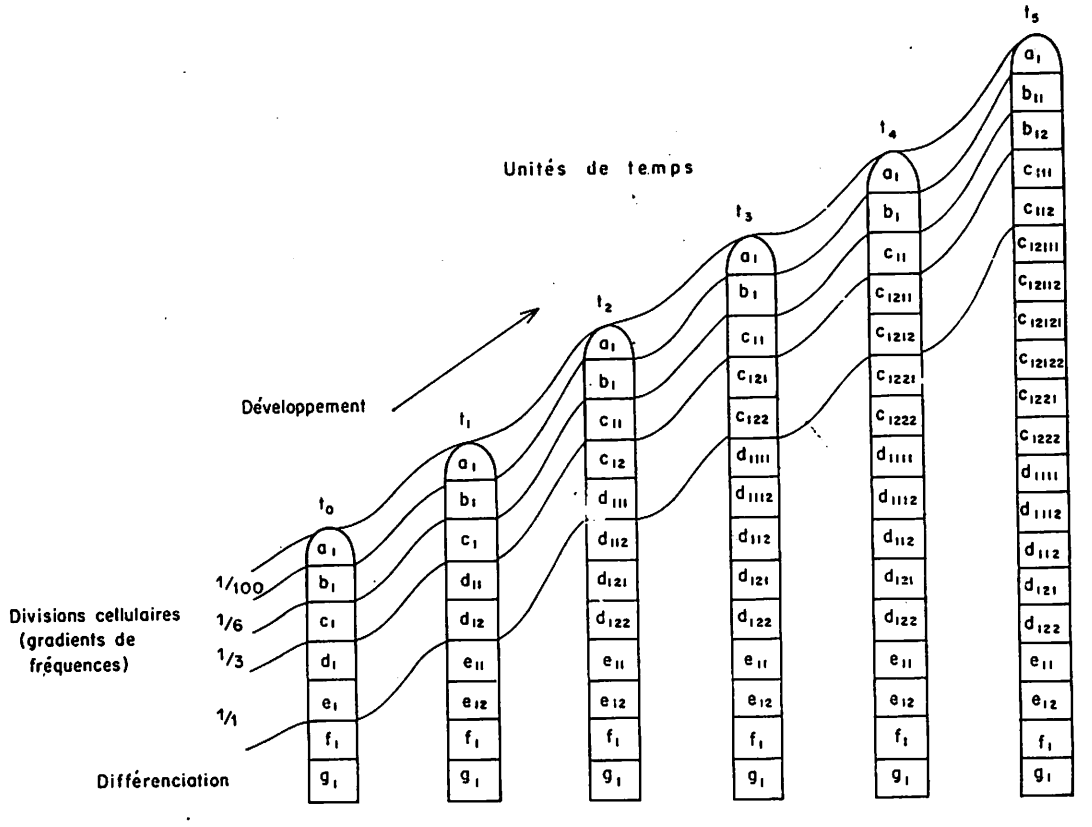
FIGURE 5



SCHEMA 6



SCHEMA 7



SCHEMA 8

l'information du noyau a mis 4 semaines à éliminer entièrement l'ancien marquage *mediterranea* et à donner la forme spécifique *crenulata* du nouveau noyau.

L'ensemble de ces expériences nous montre donc que le cytoplasme apparaît comme une zone de transmission de l'information génétique qui possède une certaine mémoire de l'effet d'un noyau et qui peut, progressivement, enregistrer une nouvelle influence d'un autre noyau apportant une nouvelle information génétique.

SCHEMA (6)

Ce schéma complète cette interprétation : E_t représente une nature d'environnement à l'instant t, S_t donne la nature d'une situation créée dans le cytoplasme à un moment t par le milieu extérieur et par les cellules. Cette situation du cytoplasme S_t interagit et donne une certaine situation épigénétique N_t dans le noyau et libère, dans l'information génétique une tranche i_t. Cet ensemble de loci i_t est spécifique de l'utilisation de l'information à l'instant t liée à une situation cytoplasmique S_t. Cette information i_t engendre la synthèse d'enzymes et déclenche un certain métabolisme et certaines synthèses dans le cytoplasme. Elle modifie donc la situation cytoplasmique S_t pour la transformer en une nouvelle situation S_{t+1} qui à nouveau, interagit avec les caractéristiques du milieu à l'instant $t + 1$. Il s'installe donc une nouvelle situation épigénique : N_{t+1} qui libère une nouvelle tranche d'information i_{t+1}, légèrement différente de i_t, déclenchant un fonctionnement progressif de l'information génétique contenue dans le noyau. Le système est ainsi autoentretenu par une suite d'échanges et de «dialogues» successifs entre le milieu, la situation cytoplasmique, la situation épigénique et la consommation d'une information.

SCHEMA (7)

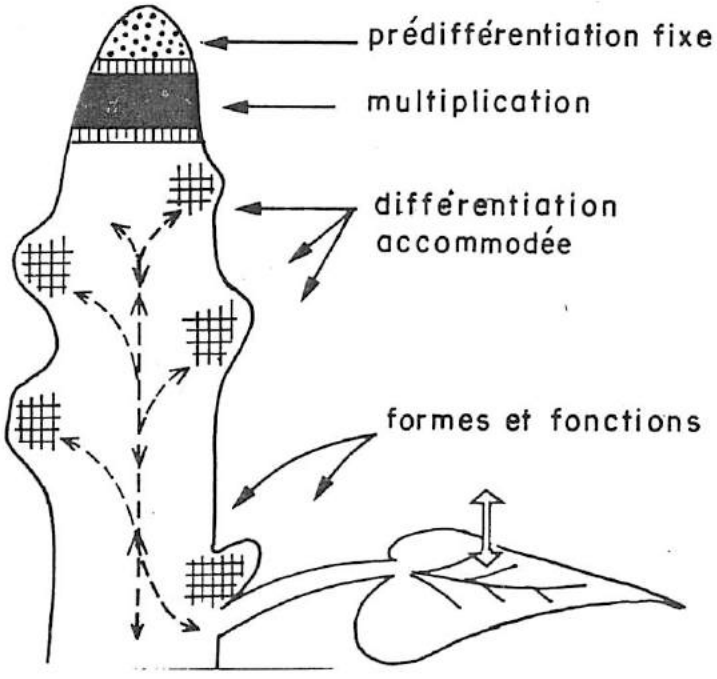
On peut traduire la même chose mais en l'intégrant dans l'ensemble de la morphologie de la plante. En haut, est schématisée l'évolution du milieu externe avec 2 types essentiels de périodicité dans son oscillation : une périodicité courte d'alternance jour/nuit (qui, pour un végétal, a une signification majeure) et une périodicité liée au cycle des saisons.

A un moment t_1 les organes réceptifs de la plante figurés par les triangles palpent l'état de l'environnement externe à la plante et servent de réception et de transmetteurs. Par une série de translocations et d'interactions cellulaires cet effet de l'environnement est progressivement transmis à un cytoplasme et crée donc la situation cytoplasmique S_{t1} que nous avons définie tout à l'heure, libérant une tranche d'information i_{t1}. Cette tranche d'information provoque chez le végétal un ensemble de synthèses protéiques et détermine, au niveau des organes, des constructions de formes nouvelles et de fonctions nouvelles caractéristiques. Ces nouveaux organes, à l'instant t_2, vont à nouveau être le lieu de réception et d'échanges. A la suite d'interactions cellulaires et de translocation, sera déterminé un nouvel état cytoplasmique S_{t2} etc...

SCHEMA (8)

L'ensemble de ce fonctionnement et de cette expression génétique est plus spécialement exprimé au niveau d'un méristème. Cette figure schématise, sous forme d'une seule file monocellulaire, ce qu'on peut penser du fonctionnement d'un méristème.

On a, dans cette «caricature» du fonctionnement d'un méristème, considéré qu'il y avait un gradient des taux de division cellulaire, la fréquence des mitoses s'accentuant en partant de l'extrémité terminale vers une zone de division intense située à une distance constante du sommet, appelée parfois l'anneau initial.

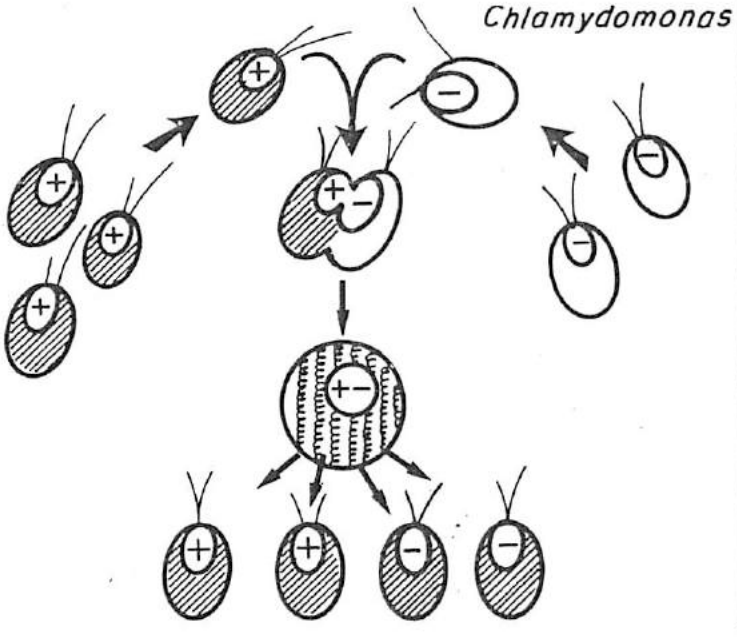


SCHEMA 9

Les membranes cytoplasmiques :

- chloroplastes
- mitochondries
- ergastoplasme
- dictyosomes
- parois (externe, nucléaire)
- etc ....

SCHEMA 10



SCHEMA 11

Chlamydomonas

- Hérédité nucléaire 2 : 2
- Hérédité cytoplasmique 4 : 0
- Hérédité cytoplasmique biparentale (u.v.) (cytohets, recombinaisons, cartes) x : y

SCHEMA 12

A titre d'exemple, on a supposé que les cellules les plus terminales se divisent avec une faible fréquence une fois toutes les 100 unités de temps, la cellule immédiatement en dessous se diviserait une fois toutes les 6 unités de temps, la 3ème cellule, ensuite, se diviserait 1 fois toutes les 3 unités de temps et les deux cellules qui sont dans la zone de division intense se diviseraient à chaque unité de temps.

Puisque la zone des divisions fréquentes se situe à une distance constante du sommet, il est intéressant de noter que tout se passe comme si l'extrémité apicale de cette plante construisait son augmentation en hauteur en injectant vers la base les cellules nouvelles formées dans la zone méristématique. Les cellules les plus basales, comme e_1 se divisent très tôt, donnant de tout petits massifs cellulaires ($e_{11} + e_{12}$). Pour la cellule d_1 légèrement plus apicale, le massif cellulaire dérivé des divisions successives est un peu plus important : 5 cellules. Ces phénomènes iront s'accentuant pour c_1 et surtout b_1 qui au temps t_0 ne sont pas encore entrées dans la zone de divisions fréquentes. Ceci signifie que dans la suite d'événements déterminant les situations cytoplasmiques il y a place, en dehors des zones de divisions intenses, pour une sorte de «maturation» des situations cytoplasmiques.Lorsque la cellule b_1 entrera dans cette zone elle aura un degré de «maturation» cytoplasmique plus avancé que celui de la cellule e_1. Il est donc normal que la tranche d'information consommée par le massif ($e_{11} + e_{12}$ 0 soit différente de celle qu'utilisera le tissu ($c_{1222} + c_{1221} + c_{12122} + ...$).

On comprend donc qu'à mesure qu'un végétal croît, il ne fonctionne plus de la même façon, et qu'en particulier à un moment donné, il passe de la phase croissance végétative à la phase floraison puis reproductrice.

On réalise bien, d'après ce schéma, qu'il puisse ne pas exister un méristème d'attente déclenchant la phase reproductrice mais simplement des cellules plus apicales qui, entrant dans la zone de division avec une maturité cytoplasmique plus poussée, aient un fonctionnement de type reproductif.

SCHEMA (9)

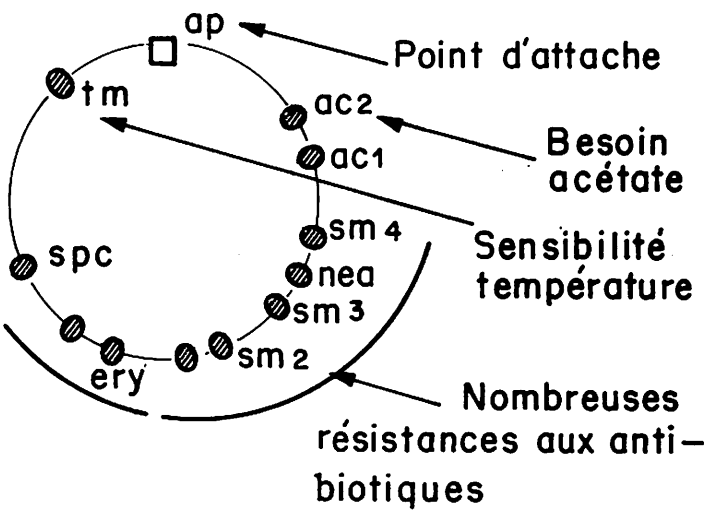
On retrouve ici l'apex un peu plus détaillé dans le fonctionnement de la plante. La zone placée au-dessus de l'anneau de division intense, donc la zone très apicale, pourrait comprendre une prédifférenciation définissant les grandes lignes d'un programme fixe. Dessous se trouverait une zone de multiplication cellulaire, puis dans la zone sous apicale, une zone de différenciation accommodée aux effets du milieu où s'établirait, à partir des organes de la plante, une correspondance avec l'état du milieu, avec les végétaux voisins et avec toutes les corrélations internes de la plante. On sait par exemple qu'un végétal ne se construit pas de la même façon dans des zones d'ombre ou dans des zones de lumière et on pourrait très bien supposer que cette accommodation se fasse dans la zone médullaire immédiatement sous apicale comme d'ailleurs cela a été souvent signalé par les physiologistes.

SCHEMA (10)

Cette première partie montre donc que le cytoplasme est un ensemble enregistrant une certaine «mémoire» avec une situation qui permet une libération d'une certaine dose d'informations génétiques évoluant dans le temps.

Le cytoplasme comprend aussi ses propres structures appelées membranes. (Le mot membrane devant être pris dans un sens très général) c'est-à-dire comprenant les organites tels que les chloroplastes, les mitochondries, l'ergastoplasme, les dictyosomes ou même des effets de parois externes ou nucléaires.

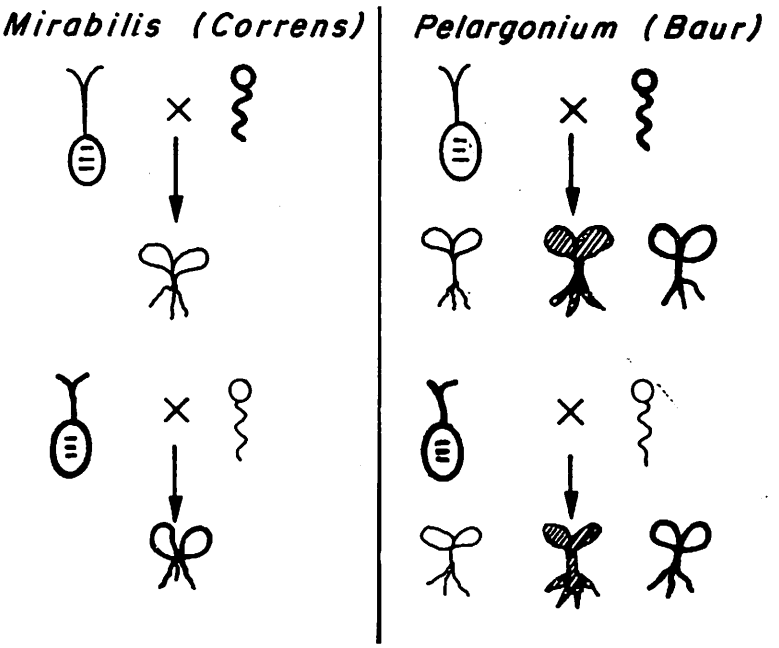
Nous allons maintenant analyser les effets que peuvent provoquer ces différents types de membranes.



Chlamydomonas

Chromosome chloroplastique

SCHEMA 13



SCHEMA 14

SCHEMA (11)

Les Chlamydomonas sont des algues unicellulaires étudiées depuis de nombreuses années par SAGER et son équipe, Cette algue dont le cycle est représenté ici après une sorte de conjugaison, donne un zygote qui est de signe diploïde + et - : les organes haploïdes + se conjuguant avec les organes haploïdes -. Le zygote possède les deux types de cytoplasme appartenant aux organes conjugués. Or les quatre produits gamétiques issus de ce zygote possèdent, comme l'a montré SAGER en ce qui concerne les chloroplastes, un seul type de cytoplasme.

Il semble donc que le cytoplasme du zygote joue un rôle sélectif vis-à-vis de certains éléments cytoplasmiques.

SCHEMA (12)

Lorsque l'hérédité nucléaire des signes + et - est tout à fait régulière dans les quatre produits nucléaires du zygote, on trouve la proportion 2 : 2.

Lorsqu'il y a hérédité totalement cytoplasmique, comme nous l'avons vu dans le schéma précédent, tous les produits gamétiques haploïdes sont identiques. On a donc une ségrégation 4 : 0.

SAGER a pu montrer qu'en irradiant avec les U.V. on peut avoir une hérédité cytoplasmique biparentale : autrement dit les types de cytoplasme des produits haploïdes ne sont pas uniformes, mais en proportion variable x : y. On peut donc fabriquer ce qu'on appelle des cytohets, c'est-à-dire des hétérozygotes cytoplasmiques, et à partir de là obtenir des recombinaisons entre des facteurs chloroplastiques et essayer de dresser la carte génétique du chloroplaste. La carte ainsi établie par SAGER est donnée figure (22).

SCHEMA (13)

Sur cette figure on voit que le chromosome du chloroplaste de Chlamydomonas est circulaire, et qu'il contient un point d'attache à peu près analogue au centromère d'un chromosome nucléaire. Sur ce chromosome, l'équipe de SAGER a pu localiser un certain nombre de gènes, en particulier des gènes assez nombreux de résistance aux antibiotiques. Grâce aux taux de recombinaison la distance entre ces gènes a pu être établie. C'est la première fois qu'on met en évidence la carte chromosomique d'un organite cytoplasmique de végétal supérieur. Cette carte a été obtenue en utilisant des agents mutagènes tels que la streptomycine, l'acriflavine, le bromure d'éthidium ou la rifamycine.

SCHEMA (14)

Cette étude qui a été faite sur un organisme unicellulaire peut aussi expliquer des situations connues chez des plantes. Dans cette figure est représentée une hérédité de type cytoplasmique sur *Mirabilis* étudiée par CORRENS où, lorsqu'on croise une plante femelle à tissu chlorophyllien fonctionnel par le pollen d'une plante déficiente en chlorophylle, on obtient, à la F_1 une plante entièrement verte de type maternel.

Lorsqu'au contraire la plante femelle est déficiente en chlorophylle, et qu'on la croise par un père «vert», la plante F_1 obtenue est encore entièrement du type maternel. On voit donc bien là l'élimination d'un des types de chloroplastes : celui du père.

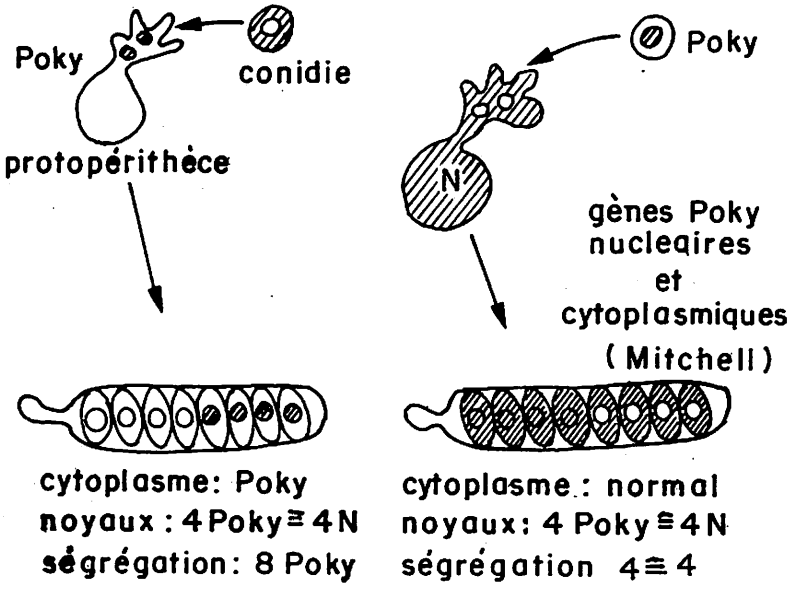
Au contraire, chez le *Pelargonium*, dans les études faites par BAUR, on rencontre un cas un peu plus complexe où, lorsqu'on croise une plante femelle verte par un pollen de plante jaune, on obtient

Tilney - Basset 1970 sur Pelargonium

- Le Parent ♀ (vert ou blanc) contrôle
- Ce ne peut être une dérive
- Le cytoplasme dirige la replication des premiers plastes
- Les premiers répliqués inhibent la replication des autres types.

SCHEMA 15

cf Renner sur Oenothères



SCHEMA 16

	Passage Normal → Mutant par micro injection mitochondriale			
Nombre de transferts	Types de croissance sur 50 colonies			
	Forte (sauvage)	Moyenne	Faible	Nulle
10	30	20		
12	28	17	5	
13	17	25	8	
14	5	1	29	15
15		3	15 (Diakumakos)	32

SCHEMA 17

trois types de descendants : soit des descendants verts, soit des descendants panachés, soit des descendants déficients et inversement les mêmes types de descendants si la plante femelle est jaune et le parent pollinisateur vert.

SCHEMA (15)

Ce sont les travaux de TILNEY-BASSET sur *Pelargonium* qui, en 1970, ont pu montrer que le parent femelle, qu'il soit vert ou blanc, contrôle les types de coloration des descendants. Chaque forme ne peut provenir d'une dérive, c'est-à-dire d'une perte de l'un des types de chloroplastes au cours des divisions cellulaires : il a démontré que le cytoplasme femelle dirigeait la replication des premiers plastes. Si les premiers repliqués sont des plastes normaux et verts, la plante sera verte, si les premiers plastes repliqués sont «déficients», la plante sera jaune, si, par hasard, en même temps, se repliquent un vert et un jaune, la plante sera panachée. On a pu montrer que les premiers plastes repliqués inhibaient la replication des autres types. C'est pourquoi la plante n'est jamais «en chimère».

SCHEMA (16)

Dans la figure 16 est présenté un autre type d'hérédité, lié, non plus aux chloroplastes, mais aux mitochondries. On connaît chez le *Neurospora*, un mutant de type cytoplasmique nommé «Poky» (Poky est un mutant qui pousse moins vite que la souche normale) dont l'hérédité est une hérédité cytoplasmique. On connaît aussi un gène nucléaire qui gouverne le même caractère Poky.

Lorsqu'on croise le protopérithèce (organe femelle) d"une plante à cytoplasme Poky mais à noyau normal par une conidie (qui a la valeur d'un organe mâle) à cytoplasme normal mais à noyau Poky, on trouve, dans les asques produites par cet individu hybride, des ascosporesdont tout le cytoplasme est de type Poky, mais dont les noyaux montrent une ségrégation : 4 Poky pour 4 normaux, Mais en fait, en tant qu'expression, toute la descendance est de type cytoplasmique Poky.

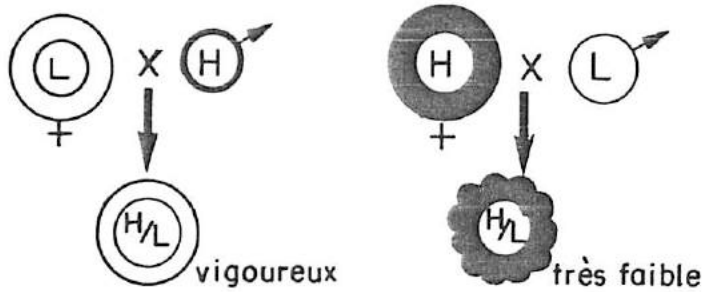
Inversement, si on croise un protopérithèce à cytoplasme normal mais à noyau Poky, par une conidie à cytoplasme Poky et à noyau normal, dans la descendance, tous les cytoplasmes sont normaux, mais il y a 4 noyaux Poky et 4 normaux.

Si bien que la ségrégation suit uniquement la loi génétique des noyaux et on obtient 4 normaux et 4 Poky. Ces expériences ont été faites par MITCHELL et démontrent aussi qu'il existe une hérédité mitochondriale de type cytoplasmique.

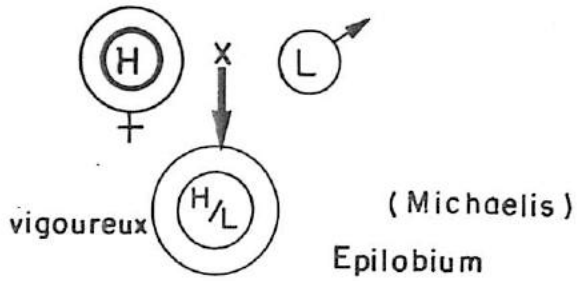
On a d'ailleurs pu mettre en évidence une certaine compétition entre les mitochondries normales et les mitochondries Poky.

SCHEMA (17)

Dans ses travaux DIAKUMAKOS a fait une micro-injection de mitochondries prises sur Poky dans un *Neurospora* normal. Au début, la croissance de la souche normale n'est pas affectée par cette micro-injection. Mais après un certain nombre de repiquages de cette souche (à partir de 10 transferts), la croissance de 50 colonies montre pour une vingtaine d'entre elles une croissance moins forte que le type sauvage. Au 12ème transfert, apparaissent quelques types à croissance faible, et à mesure qu'on continue à repiquer cette souche, apparaissent des croissances de moins en moins fortes, pour arriver, finalement, au 15ème repiquage à 32 colonies à croissance nulle et 15 à croissance faible, toutes étant donc de type Poky.



SCHEMA 18



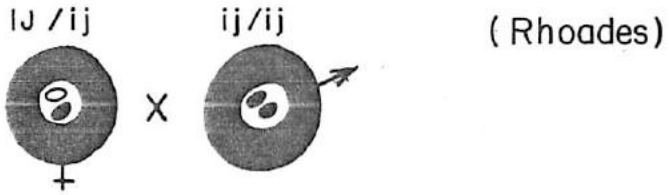
Autres hérédités

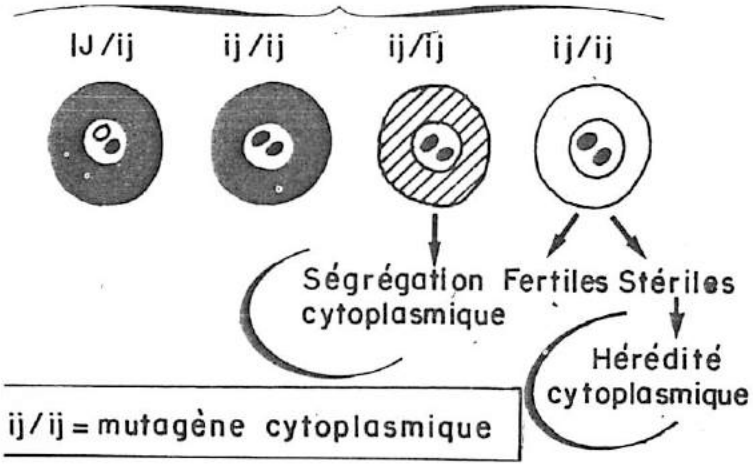
Podospora
- Barrage (Marcou)
- Senescence (Beisson)

Paramécie
- trichocystes (Sonnehorn, Beisson)

etc.....

SCHEMA 19





SCHEMA 20

Autrement dit, les mitochondries microinjectées portant le caractère Poky ont progressivement éliminé les mitochondries normales et créé un cytoplasme de type Poky qui va maintenant, s'hériter par voie cytoplasmique.

SCHEMA (18)

La figure 18 montre chez les plantes supérieures une hérédité qu'il est difficile de rattacher à un organite cytoplasmique particulier, mais dont la manifestation est assez voisine de ce phénomène de croissance faible «Poky» enregistrée sur *Neurospora*.

Il s'agit des hybrides entre *Epilobium* faits par MICHAELIS. Lorsqu'on croise *Epilobium luteum* comme femelle par *Epilobium hirsutum* comme mâle, on crée évidemment une plante hybride : *hirsutum* x *luteum*, mais dont le cytoplasme a été, en grande partie, transmis par la femelle *luteum*. Cette plante hybride manifeste une croissance vigoureuse. Par contre, si on prend *E. hirsutum* comme femelle et qu'on la croise par *E. luteum* comme mâle, on reconstitue le même noyau hybride : *hirsutum* x *luteum*, mais le cytoplasme est de type *hirsutum*. Dans cet hybride la croissance est très faible, la plante est à la limite de la viabilité.

Il semble donc, qu'un même noyau, mais avec un cytoplasme *hirsutum*, entraîne une interaction défavorable.

MICHAELIS a même pu aller plus loin. Il a pu, par une série de back-cross, créer une plante qui a un cytoplasme *luteum*, mais un noyau *hirsutum*. Lorsqu'il utilise cette plante, de cytoplasme *luteum*, comme femelle, et qu'il la croise avec un mâle *luteum*, il obtient un hybride exactement identique à l'hybride femelle *hirsutum*, en tant que constitution nucléaire, mais le cytoplasme est de type *luteum*, et, en ce cas, la croissance de l'hybride est parfaitement normale, vigoureuse. Autrement dit c'est vraiment un constituant localisé dans le cytoplasme qui entraîne la faiblesse de la croissance de l'Epilobe.

SCHEMA (19)

Dans la figure 19 sont énumérés d'autres types d'hérédité, chez des organismes inférieurs, dont on connaît moins bien le déterminisme mais qui sont de type cytoplasmique. Ce sont les phénomènes de barrage étudiés chez *Podospora* par MARCOU et les phénomènes de sénescence étudiés aussi chez *Podospora* par BEISSON.

Chez la Paramécie, BEISSON étudie une hérédité de paroi très intéressante : la Paramécie possède des trichocystes apparaissant comme des ornementations rangées dans un certain ordre bien précis sur la paroi de l'animal et on peut, par une microchirurgie, inverser une petite partie de cette membrane et mettre les trichocystes de ce petit lambeau dans l'autre sens. A partir de ce moment, la Paramécie, par multiplication végétative, se reproduit avec la «mémoire» de l'opération chirurgicale. Dans la descendance de la Paramécie opérée, on retrouve toujours l'inversion d'un lambeau de membrane. Autrement dit, il y a une sorte d'information héréditaire, avec hérédité de multiplication, de la paroi externe.

SCHEMA (20)

On peut encore signaler un cas intéressant **d'hérédité** cytoplasmique chez le Maïs, étudié par RHOADES, sur le gène lojap. On connaît un mutant *ij* (lojap) tel que lorsqu'on croise une plante hétérozygote *Ij* x *ij* par le récessif *ij. ij.* on obtient une descendance dont les hétérozygotes sont de couleur normale mais dont les récessifs *ij. ij.* peuvent prendre 3 formes : certaines des plantes de la descendance sont de coloration verte normale, certaines sont de coloration panachée, enfin certaines sont très déficientes et relativement faibles en vigueur.

- Il existe un D N A organisé en "gènes" cytoplasmiques

- Les lois de replication sont soumises à l'état cytoplasmique et à des compétitions

SCHEMA 21

- On peut atteindre ces "gènes" par des agents mutagènes

(acriflavine, Br. d'éthidium, strepto, rifamycine)

Conséquences dans la transmission :

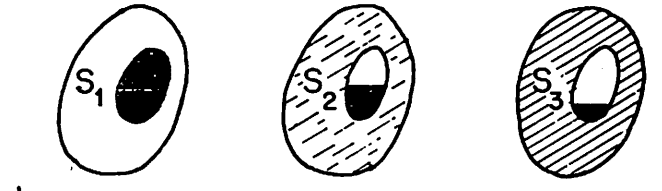
- Préférentielle par un parent
- Segregations pendant la croissance végétative ("mémoire")
- Passage rapide des cytohets aux homozygotes
- Indépendance de la meïose

SCHEMA 22

○ En vieillissant les situations cytoplasmiques "dégradent" l'information

$\Delta S > 0 \rightarrow \Delta I < 0$

○ "Adaptation aux allèles de la forme repressive des inducteurs"



Jeune hétérozygote Adulte Sénescent

SCHEMA 23

Si on s'intéresse à celles qui sont panachées ou totalement déficientes, on observe que la ségrégation de cette caractéristique est entièrement de type cytoplasmique alors qu'elle a été déterminée par un gène nucléaire à l'état récessif.

Si on prend certains types très déficients en chlorophylle, et qu'on les suit, on s'aperçoit qu'une partie d'entre eux ne forme pas de pollen et sont mâles stériles. Cette stérilité mâle a une hérédité cytoplasmique.

C'est-à-dire que, si on recroise l'un de ces déficients, *ij ij* à cytoplasme porteur d'un facteur de stérilité mâle, on obtient des descendants qui peuvent être, dans une certaine proportion de coloration ou complètement verte, mais qui sont tous 100 % stériles.

Autrement dit, le caractère génique *ij ij* est lié à un gène qui déclenche dans le cytoplasme soit des mutants de chloroplastes, soit des mutants d'un autre organite qu'on pense être les mitochondries, comme nous le verrons plus loin, et qui entraîne une stérilité mâle. Le fait qu'on puisse obtenir des mâles stériles non déficients en chlorophylle semble indiquer que les 2 mutations sont indépendantes l'une de l'autre. Le gène lojap se comporte un peu comme un « agent mutagène» pour le cytoplasme.

SCHEMA (21)

L'ensemble des expériences citées montre donc qu'en plus des fonctions de récepteur de l'information génétique et de transmetteur, avec une certaine mémoire, il existe au niveau du cytoplasme, une information de type acide desoxyribonucléique : DNA, organisé en véritable gène cytoplasmique et que les lois de replication de ces organites cytoplasmiques sont soumises à l'état du cytoplasme. Par ailleurs, comme l'a fait SAGERS sur *Chlamydomonas*, on peut atteindre ces gènes par des agents mutagènes comme l'acriflavine, le bromure d'éthidium, la streptomycine, la rifamycine.

SCHEMA (22)

Les conséquences dans la transmission de ces gènes cytoplasmiques sont multiples.

La transmission peut être préférentielle par l'un des parents. En général, c'est le cytoplasme femelle qui conditionne cette transmission.

Les ségrégations peuvent se faire, non plus pendant la méiose, mais au cours de la croissance végétative, car on peut avoir, comme on l'a vu pour le facteur Poky chez le *Neurospora*, des compétitions dans la multiplication des mitochondries, par exemple. Dans ce cas, on ne trouve plus une véritable hérédité mais ce qu'on pourrait appeler une mémoire.

On peut avoir un passage rapide, par élimination complète de l'un des types, de la forme cytohets (c'est-à-dire hétérozygote - cytoplasmique) à une forme homogène.

A la lumière de ces faits nous tenterons de proposer des explications de quelques phénomènes, très classiques en amélioration des plantes.

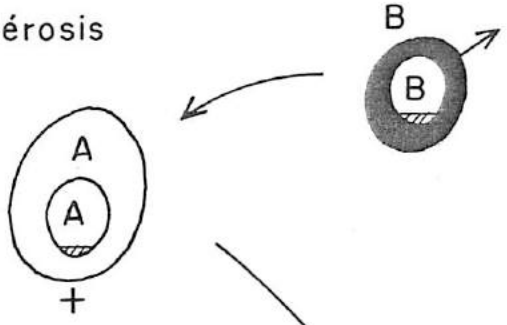
SCHEMA (23)

La situation du cytoplasme subit une évolution dans le temps. On peut parler de « maturation » du cytoplasme qui traduit le fait que le milieu extérieur et les interactions de corrélation et de régulation interne à la plante font évoluer les situations épigéniques. Celles-ci libèrent l'information nucléaire comme si se faisait une véritable consommation de cette information.On a une sorte d'augmentation

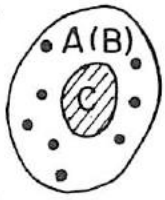
L'ovule vierge à maturité
et
le pollen sont des formes
sénescentes (réprimées)

SCHEMA 24

Hétérosis



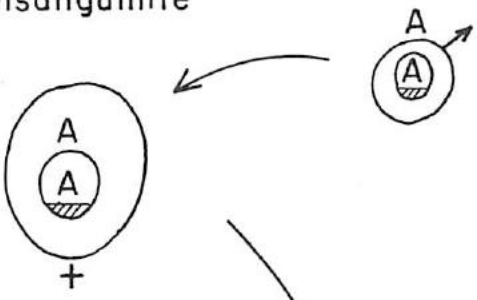
SCHEMA 25



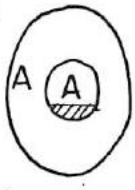
œuf hétérozygote

absence de répression

Consanguinité



SCHEMA 26



œuf
homozygote

très réprimé
(sénescent)

de l'entropie du cytoplasme Δ_S à mesure du vieillissement, et cette augmentation positive de l'entropie se fait au détriment d'une certaine utilisation de l'information génétique, si bien qu'on obtient l'équivalent d'une variation d'information Δ_i négative.

Cette loi est une loi générale de thermodynamique : l'information se dégrade et l'entropie s'accroît.

Si on veut examiner la sénescence, tout se passe comme si un individu vieux, sénescent, avait son information génétique entièrement inutilisable, réprimée par la situation du cytoplasme *S3*. Tout se passe comme s'il y avait une adaptation aux allèles nucléaires de la forme répressive des inducteurs à partir des situations cytoplasmiques. Dans le schéma est donc représentée une jeune plante hétérozygote avec une situation cytoplasmique *S1* qui ne réprime pas du tout l'information génétique, autrement dit le noyau est représenté comme s'il avait son «plein» d'informations. A mesure que cette plante vieillit et atteint l'état adulte, on passe à des situations cytoplasmiques différentes, l'une d'elles schématisée par *S2* réprime partiellement le noyau, comme si le niveau d'informations avait baissé. Finalement on arrive à une cellule d'une plante sénescente où plus rien de l'information génétique ne s'exprime : une plante sénescente ne se divise plus, les gènes de mitose sont évidemment bloqués et même à la limite, au moment de la mort, toutes les fonctions et toutes les constructions de formes sont réprimées, l'information génétique a un niveau nul.

SCHEMA (24)

A partir de cette notion on peut penser, mais ceci est une hypothèse, qu'un ovule, non fécondé, lorsqu'il a atteint la maturité, ou un grain de pollen mûr, sont des formes sénescentes, représentées sur le schéma 24 avec un niveau d'information génétique disponible très bas. En effet un ovule vierge, à maturité, s'il n'est pas fécondé dégénère : son information génétique est totalement inutilisable. De même si on cultive un grain de pollen *in vitro*, il émet un tube pollinique qui ne peut évoluer plus loin. Il ne subira aucune division et, une fois sa croissance achevée, il dégénèrera. On peut donc considérer que ces deux formes sont des formes sénescentes.

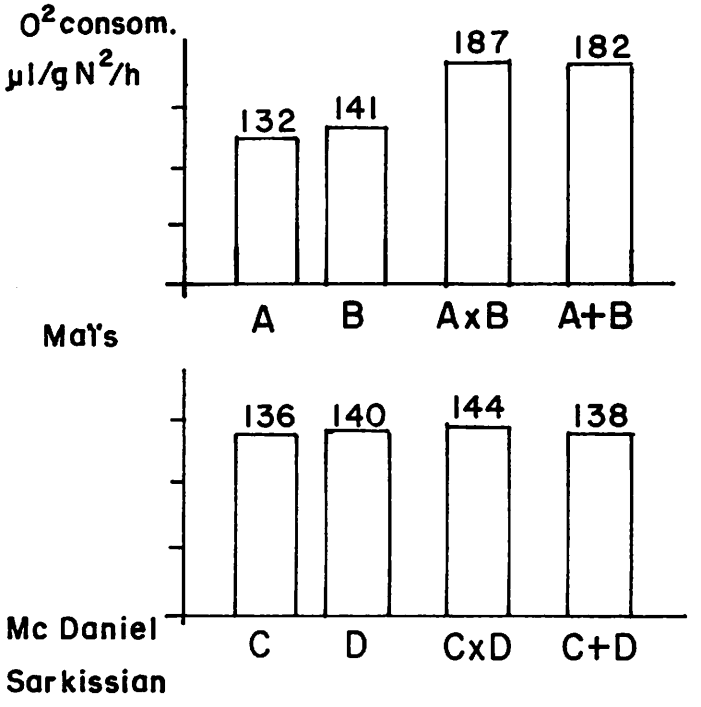
SCHEMA (25)

Dans la figure 25 est schématisé un croisement entre une femelle génétiquement *A*, et un mâle de constitution génétique très différente *B*. En ce cas, on peut penser que l'information génétique *B* introduite par le gamète mâle dans le noyau *A* va créer une information génétique hybride *C*, donc un noyau dont les allèles ne sont pas réprimés par le cytoplasme *A*. Autrement dit, un œuf hétérozygote créé par un croisement entre deux individus génétiquement différents manifeste une absence de répression et, au contraire, fonctionne intensément dès ses premières divisions.

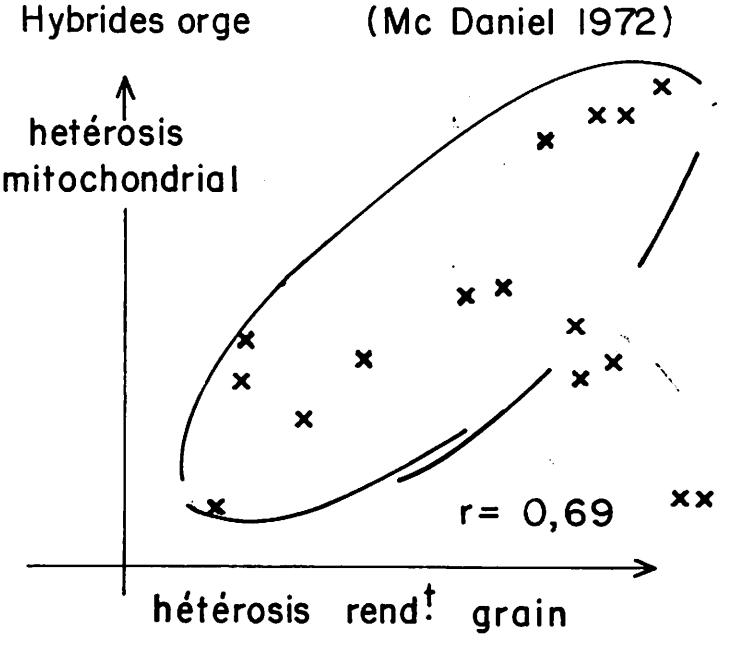
SCHEMA (26)

Lorsqu'on effectue un croisement consanguin par autofécondation, on introduit dans un ovule de cytoplasme *A* et d'information génétique *A* réprimée, une même information génétique *A* apportée par le gamète mâle. Ces deux informations génétiques appartenant d'une part à l'ovule à maturité, d'autre part au grain de pollen sont, comme on l'a montré plus haut, très réprimées. L'œuf homozygote, issu d'une autofécondation, est dès sa formation très réprimé, autrement dit un individu issu de croisement consanguin se comporte, dès sa naissance comme un individu âgé.

Ceci explique bien que la vigueur hybride, ou hétérosis soit très marquée au stade jeune et, en particulier, au stade embryonnaire chez les individus hétérozygotes, mais que, petit à petit, l'avantage de ces hybrides par rapport aux individus consanguins diminue à mesure que l'individu vieillit. Ce n'est évidemment que l'une des explications de l'hétérosis, mais elle semble assez cohérente et s'applique



SCHEMA 27



SCHEMA 28

à certains des faits observés, en particulier l'avantage très grand du stade jeune puis ensuite l'affaiblissement de cette vigueur hybride.

SCHEMA (27)

Si on en reste au problème de l'hétérosis, d'autres éléments semblent indiquer que la vigueur hybride peut être conditionnée en partie par le cytoplasme.

Deux chercheurs, aux Etats-Unis, MAC DANIEL et SARKISSIAN, ont réussi à extraire les mitochondries de différentes plantes et à mesurer l'énergie de ces mitochondries en quantité d'oxygène consommée par microlitre, par gramme d'azote et par heure dans les mitochondries extraites *in vitro.*

Ils ont obtenu ces mitochondries dans certaines lignées fortement homozygotes de Maïs : A. B. C. D. Ils ont, en particulier, pris deux lignées A et B qui donnent un effet de vigueur hybride très marqué chez l'hétérozygote A croisé par B. Si on compare les 4 types de mitochondries représentés dans la figure du haut, celles issues de la lignée pure A, celles issues de la lignée pure B, celles issues de l'hybride A B et celles qui seraient obtenues en mélangeant, en parties égales, des mitochondries de A et des mitochondries de B, on s'aperçoit que l'activité des mitochondries de l'hybride marque une très grande vigueur : elles font une consommation de 187 microlitres par rapport à environ 140 chez les lignées parentales. On observe donc là un véritable hétérosis des mitochondries. Mais ce qui est encore plus frappant c'est que le mélange, en proportion égale de deux types de mitochondries des parents, donne la même vigueur hybride comme si il y avait une complémentation entre les deux types.

Si maintenant nous examinons l'hybride C x D, issu du croisement entre la lignée C et la lignée D, lignées qui ne donnent, au niveau de la plante, aucun gain de vigueur hybride, nous nous apercevons qu'avec les mitochondries extraites de C, les mitochondries extraites de D, les mitochondries extraites de C x D, le mélange en proportion égale des mitochondries de C et des mitochondries de D, les consommations d'oxygène sont comparables. Ici encore d'une part l'hétérosis des mitochondries et l'hétérosis de la plante entière sont du même ordre de grandeur. Et, d'autre part, fait surprenant à nouveau, le mélange des mitochondries parentales donne un phénomène de complémentation exactement identique à celui de l'hybride.

SCHEMA (28)

Ces travaux ont été repris par Mac DANIEL sur des hybrides d'Orge et, il a pu montrer que l'hétérosis mitochondrial porté en ordonnée, mesuré par l'activité *in vitro* des mitochondries extraites, et l'hétérosis du rendement en grain chez ces Orges hybrides, porté en abcisse, sont en très bonne corrélation comme le montre la distribution des points sur le graphique, et le coefficient de corrélation + 0,69 très significatif. Donc cette particularité n'est pas spécifique du Maïs. Elle existe aussi chez les Orges hybrides.

SARKISSIAN, en 1971, a repris des travaux analogues sur les Blés. Il a réalisé des Blés hybrides, et il constate que l'activité cytochrome oxydase des mitochondries de l'hybride est supérieure à celle des parents.

SCHEMA (29 - 30)

Un chercheur anglais, DONEY, et son équipe en 1972, a fait le même type d'analyse chez la Betterave à sucre.

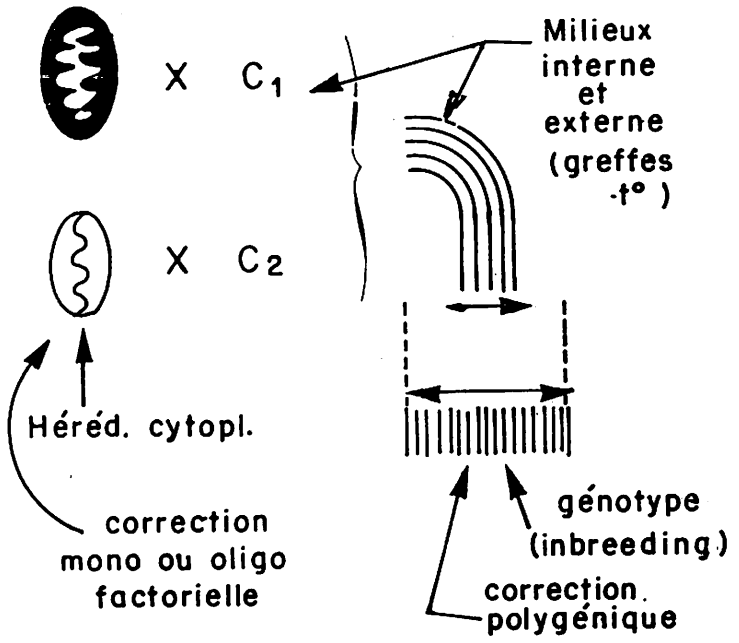
Les figures 29 et 30 présentent à la fois les activités respiratoires des mitochondries extraites chez les différents parents inbred 1 et 2, entre lesquels on a fait le croisement pour réaliser l'hybride.

Betterave à sucre (DL Doney et coll. 1972) Activités oxydative et phosphorylative des mitochondries			
Parent inbred 1	Parent inbred 2	Mélange 1 + 2	Héterosis Pds racines
1,20	1,08	1,46	+ + +
1,04	1,01	1,05	0
1,43	1,46	1,58	+
1,45	1,49	1,59	+
1,43	1,31	1,65	+

SCHEMA 29

Betterave à sucre (DL Doney et coll. 1972) Rapports respiratoires R/C				
Parents 1	Parents 2	Mélange 1 + 2	Hybride 1 × 2	Hétérosis Pds racines
1,41	1,63	1,85	1,89	moyen
1,41	1,44	1,64	1,63	moyen
1,41	1,68	1,59	1,55	Léger
1,41	1,54	1,35	-	nul
1,89	1,54	1,86	1,81	moyen

SCHEMA 30



SCHEMA 31

Dans le tableau 29, on voit que le mélange des mitochondries parentales 1 + 2 a une activité qui est en très bon accord avec l'hétérosis trouvé en poids de racine chez la plante. Dans la figure 30 le mélange est non seulement en très bon accord avec l'hétérosis, pour le poids de racines de betteraves, mais aussi il est très proche de l'activité des mitochondries extraites de cet hybride. La correspondance des valeurs est très surprenante.

Ceci signifie donc que, si on met au point une méthode simple d'extraction des mitochondries chez les parents et de mesure de leur activité respiratoire *in vitro*, il n'est plus nécessaire de faire des hybrides pour prévoir la vigueur du résultat du croisement, il suffit de mélanger les mitochondries de différents parents et de ne retenir que les mélanges ayant la plus forte activité respiratoire.

SCHEMA (31)

Passons maintenant à l'expression d'un autre caractère important en amélioration des plantes : la stérilité mâle cytoplasmique.

Nous avons déjà, à propos du gène lojap, signalé que cette hérédité était vraisemblablement due à des mitochondries.

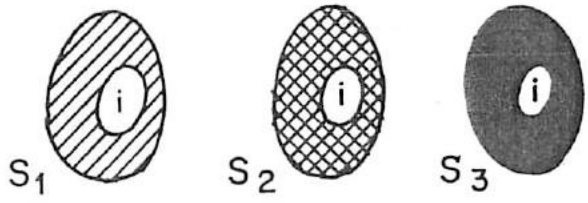
De nombreuses données et expériences faites en différents pays confirment l'hypothèse qu'un défaut des mitochondries est responsable de cette déficience. D'assez nombreux résultats contradictoires existent dans la littérature, mais cependant, notre laboratoire a pu proposer une théorie sur l'hérédité cytoplasmique, qui, pour l'instant, n'a été mise en contradiction par aucun des résultats publiés jusqu'ici, bien que tous soient très différents les uns des autres.

Comme on l'a vu dans le cas de la vigueur hybride liée aux types de mitochondries, il semblerait qu'une plante puisse posséder différents types de mitochondries, puisque chez l'hybride ceux-ci donneraient une complémentation (entre les deux populations parentales par exemple). On peut donc admettre que les plantes de type mâle-stérile possèdent des mitochondries fonctionnelles comme celle qui est représentée en haut du schéma, et des mitochondries déficientes, en une certaine proportion. Ces mitochondries, au cours de la croissance de la plante, auraient chacune leur cinétique propre : C_1 pour les mitochondries de type normal, C_2 pour les mitochondries de type déficient. Ceci expliquerait que l'hérédité soit de type cytoplasmique.

Au moment de la gamétogenèse mâle, chez les individus porteurs en assez grande proportion de mitochondries de type C_2, la quantité d'énergie disponible, en un temps donné serait insuffisante pour assurer une gamétogenèse normale, et l'ensemble des grains de pollen seraient donc déficients. Sur le schéma la quantité énergétique libérée est représentée par une sorte de flux, la grande flèche indique la quantité d'énergie exigée pour réaliser la gamétogenèse mâle satisfaisante. Un certain nombre de travaux montrent que des modifications du milieu externe c'est-à-dire de la température, ou du milieu interne, c'est-à-dire des expériences de greffe peuvent parfois donner des modifications de l'expression de la fertilité ou de la stérilité.

Ceci s'explique parfaitement puisqu'on sait que la température a une influence sur le métabolisme, donc sur le débit par unité de temps. On peut admettre que, dans certains cas, en chauffant à une température suffisante pour la croissance des plantes on réalise un débit suffisant pour la demande d'énergie et qu'à ce moment on passe d'une plante mâle stérile à une plante mâle fertile ou inversement. Mais cette transformation est artificielle, due au milieu, et l'hérédité est toujours du type mâle stérile.

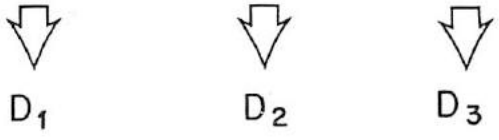
On peut admettre aussi que par la greffe le traumatisme du greffon est tel qu'il peut devenir moins exigeant en quantité énergétique, et donc avoir une restauration de fertilité.



Une même information nucléaire plongée

dans des situations différentes du cytoplasme

Peut suivre des chréodes différentes



SCHEMA 32

On peut perturber une situation cytoplasmique

Faiblement

Cultures de méristèmes

→ *dérepression*
Hétérosis

Profondément

Cultures in vitro *(variants)*
mutagènes cytoplasmiques

SCHEMA 33

Par ailleurs, il existe, dans le noyau, des gènes qui restaurent la fertilité. On les appelle restaurateurs et on sait que la correction de cette stérilité mâle, au point de vue génique, peut être de deux types. D'une part elle peut être monofactorielle ou oligofactorielle (peu de gènes en cause), d'autre part, la restauration de la fertilité est à commande polygénique et met en cause tout le génotype : ce schéma expliquerait aussi ces deux sortes d'action contradictoires, puisqu'on voit très bien qu'on peut arriver à une fertilité par deux types d'effet. Les premiers en corrigeant le défaut des mitochondries de type déficient, et en ce cas, la correction ne met en cause que quelques gènes (qui codent par exemple pour la membrane interne de la mitochondrie), la correction serait donc mono ou oligofactorielle. Les seconds en agissant sur la quantité d'énergie utilisée lors de la gamétogenèse mâle, ou parce qu'il y aura moins de pollen dans un génotype donné, donc moins d'exigence en un temps donné. En ce cas, la correction est liée à la vigueur de l'ensemble de la plante, aux dépressions d'inbreeding et au type de correction polygénique.

Ce schéma explique donc une grande partie des résultats trouvés et il est parfaitement cohérent avec les expériences telles que celle sur *Neurospora* «Poky» où, en microinjectant quelques mitochondries, deux types coexistent, et où il y a même avec l'âge envahissement du cytoplasme par un des types. Il est aussi cohérent vis-à-vis des compétitions d'organites cytoplasmiques étudiées précédemment.

SCHEMA (32)

Quittons la stérilité mâle pour aborder un autre type de manifestation, très intéressante en amélioration des plantes, qui concerne ce qu'on peut appeler les variants phénotypiques.

On a vu, et le schéma 32 le montre, qu'une même information génétique i, lorsqu'elle est en face de situations cytoplasmiques différentes, peut aboutir à des constructions de formes ou à des fonctions différentes. On dit qu'elle peut suivre des **chréodes** différentes. La chréode étant l'un des cheminements de la morphogenèse et la fonction (terme créé par WADDINGTON).

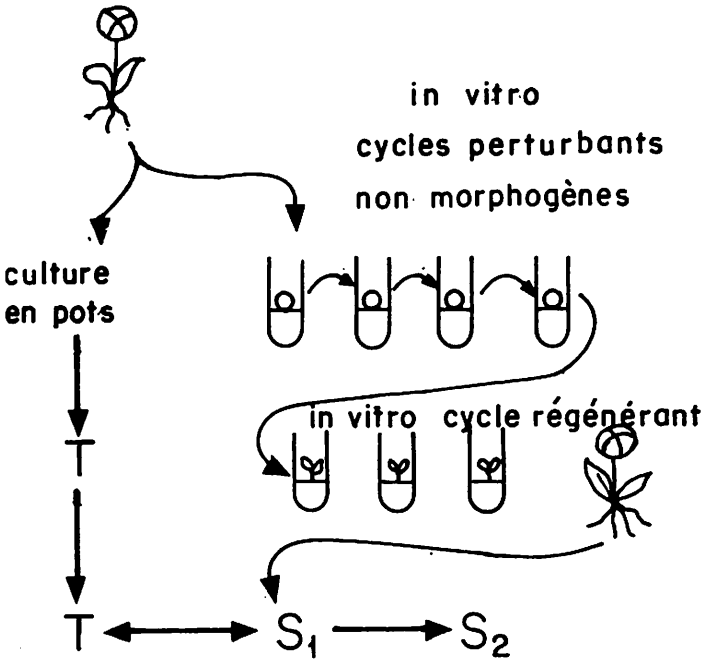
Dans ce schéma on a donc supposé qu'une même information génétique, à la suite de situations cytoplasmiques S_1 S_2 S_3, donnait des chréodes différentes D_1 D_2 D_3.

SCHEMA (33)

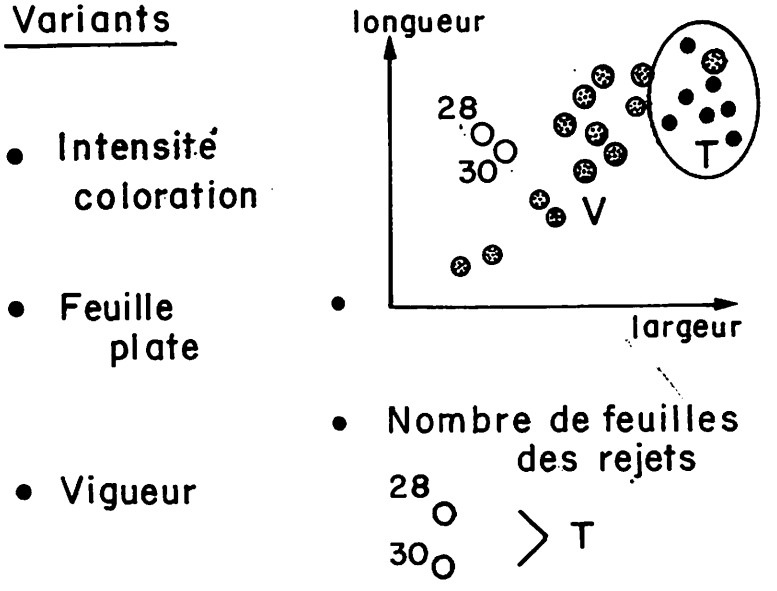
Nous avons émis l'hypothèse qu'on pouvait perturber une situation cytoplasmique de différentes façons, comme le montre la figure 33, soit faiblement en faisant des cultures de méristèmes puisqu'on change la canalisation normale d'évolution des situations cytoplasmiques liées à la morphogenèse et à la culture dans les conditions habituelles qui donneraient une croissance et une forme du végétal normal, soit profondément en réalisant des cultures *in vitro* ou de la mutagenèse cytoplasmique.

Or on sait très bien que, lorsqu'on fait des cultures de méristèmes, on régénère des plantes qui, indépendemment de la correction des virus qu'on constate à la suite de ces cultures de méristèmes, manifestent une sorte de vigueur propre, sensiblement du même type que la vigueur hybride. L'explication que nous avions donnée de l'hétérosis, qui est une sorte d'adaptation de la situation cytoplasmique au noyau (contrairement à l'effet d'inbreeding et du vieillissement) peut très bien être perturbée par la culture de méristèmes qui provoque un véritable rajeunissement et donc un hétérosis.

D'autre part, par culture *in vitro*, nous avons essayé de produire des déviations des situations cytoplasmiques, donc des chréodes nouvelles, appelées «variants» phénotypiques. Pour réaliser ceci nous avons travaillé sur la Laitue.



SCHEMA 34



SCHEMA 35

SCHEMA(34)

Une plante de lignée pure homozygote de Laitue a été autofécondée, comme l'indique le schéma en haut, à gauche. A partir des semences issues de cette autofécondation on a fait, en pots, des cultures de témoins (file de gauche *T* sur le schéma). On a constaté que la lignée était bien fixée et ne donnait pas de ségrégation. Une autre partie des graines a été stérilisée et mise à germer *in vitro*. On a cultivé les cotylédons de ces graines sur milieu approprié pour fabriquer un cal et on a multiplié ce cal, issu d'un cotylédon, sous une forme amorphe, sans qu'il donne de morphogenèse. On s'est arrangé pour que, dans ce milieu, le cal fasse le maximum de mitoses, en espérant que des divisions rapides et intenses bouleverseraient les situations cytoplasmiques, pour cette raison ce cycle a été appelé le **cycle perturbant**. Après un certain nombre de cycles de repiquages dont l'ensemble a duré environ 6 mois, on a remis ces cals *in vitro*, dans un autre milieu permettant la régénération de plantes en faisant l'hypothèse qu'on avait modifié les situations cytoplasmiques donc que les plantes régénérées devraient prendre des chréodes différentes et donner des formes et des fonctions différentes. En réalité, ceci est d'observation banale et les plantes obtenues possèdent une très grande variation de formes, la plupart d'entre elles sont non viables tant elles sont déformées, les autres donnent des types de feuilles ressemblant autant à des algues, à des fougères qu'à des laitues. Parmi les plantes viables qu'on a pu récupérer et cultiver en pots, certaines ont fleuri et ont subi une autofécondation. Leur descendance inbred a été étudiée en comparaison avec le témoin. Nous avons bien vérifié que ces plantes ne présentaient aucune perturbation en ce qui concerne le nombre des chromosomes de leur noyau.

Parmi les plantes issues d'autofécondation de plantes régénérées, nous avons observé quelques mutations mendéliennes, mais surtout des variants nombreux et, en particulier des types de variants donnés par le tableau (35).

SCHEMA (35)

Ces variants portent sur l'intensité de coloration, sur l'aspect des feuilles plus ou moins lisses ou gaufrées par rapport au témoin, sur la vigueur des plantes différentes de celle du témoin, sur le nombre de feuilles de rejet nettement plus grand chez les variants que chez le témoin, enfin, comme le montre le diagramme, les longueurs et les largeurs des feuilles des variants sont toutes nettement différentes de celles des feuilles des témoins.

Autrement dit il existe une possibilité de variants créés par cette culture perturbante *in vitro* et ces variants se transmettent après un cycle d'autofécondation.

Une des caractéristiques de ces variants est qu'ils ne se ségrègent pas, donc qu'ils ne concernent pas des types chromosomiques ou géniques, puisque nous avons constaté que quand il y avait des variants toute la descendance de l'autofécondation était homogène et variante.

On ne peut donc faire qu'une seule hypothèse, c'est que ce variant est de type cytoplasmique et que cette mémoire variante du cytoplasme traverse un cycle de reproduction sexuée.

Pour étudier la durée de cette mémoire, nous avons refait un second cycle d'autofécondation et réalisé un essai comparatif entre les variants et le témoin (Essai - Bloc). A nouveau on retrouve ces variants. Il semble donc que l'hypothèse faite soit vérifiée par ces résultats.

Néanmoins actuellement, pour en avoir une preuve plus nette nous faisons les croisements réciproques entre les variants et les témoins, le variant étant tantôt femelle, tantôt mâle pour vérifier si cette «mémoire cytoplasmique» se transmet uniquement par voie femelle.

Par ailleurs nous croisons entre eux tous les variants pour voir si la perturbation cytoplasmique peut être cumulative, et si nous obtenons des variants encore plus déviés que ceux réalisés jusqu'ici.

Quelles que soient les conclusions auxquelles on arriverait, il semble important de pouvoir, sans changer le génotype, produire, autour d'une variété, une gamme de types légèrement différents. Pour une plante florale tous ces variants autour d'une forme seraient très intéressants. Pour certains légumes on pourrait espérer obtenir des variations intéressantes pour le consommateur.

Actuellement nous reprenons le même type de travail sur le Rosier, sur la Vesce et sur l'Arabidopsis : l'Arabidopsis car il y a des cycles de génération rapides et nous pourrons très vite savoir jusqu'où va la mémoire de ces perturbations au cours des générations, la Vesce car elle a des chromosomes facilement reconnaissables permettant de vérifier qu'il n'y a pas de remaniements chromosomiques (mais le fait qu'il n'y ait pas de ségrégation semble indiquer que cela n'est pas l'origine des variants), le Rosier car économiquement la production de variants autour d'un type de rose est très intéressante.

CONCLUSION :

Il ne faut pas perdre de vue que les faits expérimentaux relatés ci-dessus ne constituent qu'une faible part de l'ensemble des multiples données variées recueillies surtout au cours d'expériences de culture cellulaire de tissus *in vitro* qui ont permis d'oser présenter certains schémas hypothétiques. Il est sûr que des résultats ultérieurs viendront détruire certaines des hypothèses : elles ont donc uniquement été proposées dans le but d'élargir et de renouveler certains points de vue et avec l'espoir de conséquences fertiles pour la recherche d'autres méthodes.

Pourquoi, par exemple, ne pas penser à un hétérosis cytoplasmique accompagnant un génotype homozygote ce qui entraînerait une « vigueur hybride fixée » ?

Pourquoi ne pas envisager une prédiction des meilleurs hybrides par la confrontation des mélanges mitochondriaux d'une grande série de parents ?

Pourquoi par les compétitions entre les cinétiques des mitochondries ne pas rêver à une stérilité mâle induite et corrigée à volonté ?

Pourquoi encore n'analyserait-on pas plus à fond les « mémoires » (et non l'hérédité) des perturbations cytoplasmiques acquises ?