

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université A.MIRA-BEJAIA



Faculté Sciences de la Nature et de la Vie
Département Sciences Biologiques de l'Environnement

COURS DE CYTOGENETIQUE

Préparé par DJAFRI-BOUALLAG Linda

Destiné aux étudiants de :

- Deuxième année de Master Biodiversité et Sécurité Alimentaire
- Deuxième année de Master Biotechnologie et Valorisation des Plantes

Année académique 2025-2026

PREAMBULE

Public cible : Ce cours est destiné aux étudiants de :

- Deuxième année de Master Biodiversité et Sécurité Alimentaire
- Deuxième année de Master Biotechnologie et Valorisation des Plantes
- Tout étudiant dont le cursus intègre la cytogénétique (filières de génétique, médecine, et formations apparentées)

Volume horaire globale : 45 heures de cours et 22 heures de travaux pratique

Prérequis : Connaissances de base en génétique générale, biologie cellulaire (mitose, méiose) et biologie moléculaire (structure de l'ADN, réplication). Une familiarité avec les techniques de base de microscopie est recommandée.

Objectifs du cours :

À l'issue de cet enseignement, l'étudiant sera capable de :

- Maîtriser les principales techniques d'analyse chromosomique (caryotypage, banding, FISH)
- Identifier les différents types d'aberrations chromosomiques et leurs conséquences
- Comprendre le rôle des remaniements chromosomiques dans l'évolution et la diversification des espèces végétales

CYTOGENETIQUE

CONTENU DU COURS

Introduction

1/ Structure et ultrastructure des chromosomes

2/ Méthodes d'étude des chromosomes

2.1/ En mitose (caryotype, caryogramme)

2.2/ En méiose (comportement et irrégularités méiotiques)

2.3/ Banding (euchromatine, hétérochromatine, bandes C, R, G)

2.4/ Cytophotométrie

2.5/ Hybridation moléculaire (sonde et leur marquage, techniques FISH et GISH).

3/ Variation chromosomique

3.1/ Nombre chromosomique

- Euploïdie (autopolyploïdie, allopolyploïdie, amphiploïdie, pseudoploïdie)

- Aneuploïdie (polysomie, monosomie...)

3.2/ Morphologie des chromosomes

- Isochromosomes, chromosomes en anneau, translocations robertsoniennes

(fusion centrique), cycle pont-rupture- liaison- pont.

3.3/ Taille des chromosomes

3.4/ Structure des chromosomes (translocations, inversions, délétions, duplications)

4/ Cytogénétique et évolution

4.1/ Variation de la quantité d'ADN et la duplication des gènes, éléments transposables.

4.2/ Restructurations chromosomiques et évolution

4.3/ Polyploïdie et évolution.

Introduction

La cytogénétique est une discipline à l'interface de la biologie cellulaire et de la génétique, qui étudie la structure, le comportement et les anomalies des chromosomes dans les cellules. Elle permet de comprendre leur rôle dans l'hérédité, les maladies génétiques, l'amélioration des cultures et sur un plan fondamental, l'évolution des espèces. Fondée au début du XX^e siècle par Walter Sutton et Théodor Boveri, elle combine des techniques moléculaires et de microscopie pour analyser les chromosomes. Il y a deux grandes approches en cytogénétique. La **cytogénétique conventionnelle** dite également **classique** analyse le caryotype (nombre et morphologie des chromosomes) et les techniques de banding (bandes G, C, N) qui identifient des régions chromosomiques spécifiques. La **cytogénétique moléculaire** qui, elle utilise des techniques plus avancées comme la *FISH* (Hybridation Fluorescente *In Situ*) et la *GISH* (Hybridation Génomique *In Situ*) pour localiser des séquences d'ADN ou étudier des génomes hybrides.

Domaines d'application

- **Domaine Médical** : elles sont impliquées dans le diagnostic des anomalies chromosomiques telles que les Aneuploïdies (Trisomie 21, monosomie X) et les altérations structurales (Translocations, ex. Philadelphie dans la LMC). Elles sont également utilisées en oncologie pour identifier des marqueurs tumoraux. Dans la reproduction, elles sont utilisées pour l'analyse des spermatozoïdes dans le cas d'infertilité masculine et dans les diagnostics prénataux (amniocentèse, *DPNI*).

- **Amélioration des Plantes (Agronomie)** : elles utilisent la polyploïdisation pour créer des variétés résistantes (blé, banane), l'hybridation interspécifique (triticale entre le blé et le seigle) et la cartographie génétique pour localiser des gènes d'intérêt par la *FISH*.

- **Biologie Évolutive** : dans l'étude des mécanismes de spéciation, elles sont utilisées pour déterminer l'origine des polyploïdes (autopolyploïdie vs allopolyploïdie), pour montrer l'impact des réarrangements chromosomiques (inversions, translocations), pour retracer l'histoire des espèces (phylogénie).

- **Conservation des espèces** : elles sont utilisées pour la détection de la consanguinité et la gestion des populations menacées (Analyse des flux génétiques).

- **Recherche fondamentale** : elles étudient les erreurs de méiose (non-disjonction) et la structure de la chromatine (rôle de l'hétérochromatine dans la régulation génique).

Chapitre I : Structure et ultrastructure des chromosomes

1. Qu'est-ce qu'un chromosome ?

Le terme « chromosome », du grec *khroma* (couleur) et *soma* (corps), a été introduit par W. Waldeyer en 1888. Il l'utilise pour décrire les structures en forme de bâtonnets qui deviennent visibles dans la cellule après la disparition de l'enveloppe nucléaire lors de la division cellulaire, et qui se colorent intensément.

À l'origine, le terme « chromosome » était réservé aux cellules eucaryotes. Après la Seconde Guerre mondiale, avec les avancées de la biologie moléculaire, son usage a été étendu pour décrire également le matériel génétique des bactéries et même des virus.

La structure et le nombre de chromosomes varient considérablement entre les procaryotes et les eucaryotes. Chez les procaryotes (bactéries et archées), le génome ne compte qu'un seul chromosome circulaire, libre dans le cytoplasme. À l'inverse, les cellules eucaryotes possèdent plusieurs chromosomes linéaires, toujours contenus dans le noyau. Le nombre est caractéristique de chaque espèce ; ainsi, l'être humain en compte 46, la drosophile 8, et le riz 24.

Fonctionnellement, un chromosome est une unité du génome qui porte un ensemble de gènes disposés dans un ordre linéaire et spécifique (groupe de liaison ou linkage). Chacun de ces groupes de gènes est transmis intact de la cellule mère aux cellules filles au cours de la division cellulaire.

2. Morphologie des chromosomes en microscopie optique

Au cours de la vie d'une cellule, le matériel génétique change d'aspect de façon remarquable, passant par deux états distincts selon les besoins cellulaires.

Pendant les phases de croissance et de fonctionnement (interphase), le génome existe sous une forme décondensée, appelée **chromatine**, qui permet à la cellule d'exprimer ses gènes et d'assurer ses activités.

Lors de la division cellulaire, la chromatine adopte une forme compacte et condensée, formant des **chromosomes** qui deviennent visibles au microscope. Cette transformation

temporaire assure la répartition précise du matériel génétique entre les deux cellules filles. C'est au stade métaphase que le chromosome atteint son maximum de condensation.

Le chromosome métaphasique est constitué de quatre éléments structuraux principaux (Fig. 1) :

- **Deux chromatides sœurs** : Chacune est constituée d'une molécule d'ADN condensé. Elles sont identiques, ayant été produites par la réplication de l'ADN en phase S. Elles sont reliées entre elles au niveau du centromère.
- **Le centromère (ou constriction primaire)** : C'est la région où les deux chromatides sœurs sont jointes. C'est également le site de fixation des fibres du fuseau mitotique, essentiel pour la ségrégation des chromosomes. Le centromère divise le chromosome en deux bras : un bras court (p) (par convention situé au-dessus du centromère) et un bras long (q) (en-dessous du centromère).
- **Les télomères** : Ce sont des structures spécialisées situées à l'extrémité de chaque bras chromosomique (un sur le bras p, un sur le bras q). Leur fonction est de protéger l'extrémité de l'ADN et d'empêcher la dégradation du chromosome.
- **La constriction secondaire et le satellite** : Seulement présents sur certains chromosomes (comme les chromosomes acrocentriques), il s'agit d'un rétrécissement situé sur un bras chromosomique. La région qui le suit forme une petite masse appelée **satellite**. Cette zone est souvent le siège des **organiseurs nucléolaires**, où sont localisés les gènes codant pour l'ARN ribosomique.

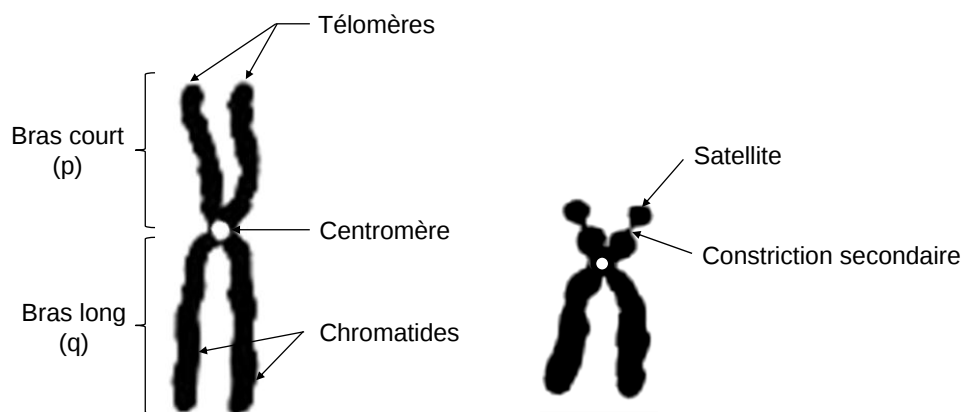


Fig. 1 : Morphologie d'un chromosome métaphasique

3. Structure du chromosome métaphasique

Les chromosomes sont constitués d'ADN, de protéines histones et de protéines non histones en proportions à peu près équivalentes. *In vivo*, l'ADN n'est pas libre dans le noyau mais associé à diverses protéines pour former la chromatine. Celle-ci va s'organiser en structures secondaires et tertiaires pour aboutir à une compaction variable au cours du cycle cellulaire. Cette compaction est moins importante pendant l'interphase pour permettre la transcription des gènes et maximale pendant la mitose pour faciliter la séparation des chromatides entre les cellules filles.

- 1^{er} niveau d'organisation : Le nucléofilament de 11 nm de diamètre

La structure de base de la chromatine est le nucléosome. Un nucléosome est composé d'un cœur protéique formé d'un octamère d'histones (2H2A, 2H2B, 2H3 et 2H4). Autour de ce cœur s'enroule un segment d'ADN d'environ 146 paires de bases formant environ 1,65 tour. Cette structure est ensuite stabilisée et verrouillée par une histone de liaison, H1, qui se fixe à l'extérieur (**Fig. 2**). Les nucléosomes sont reliés entre eux par des segments d'ADN « linker », de longueur variable (environ 200 paires de bases chez les mammifères).

Observable en microscopie électronique, cette organisation répétitive ressemble à un « collier de perles » (des nucléosomes régulièrement espacés, tels des perles enfilées sur un fil d'ADN). Cette fibre de chromatine a un diamètre caractéristique de 11 nm et représente le premier niveau de compaction de l'ADN (**Fig. 3**).

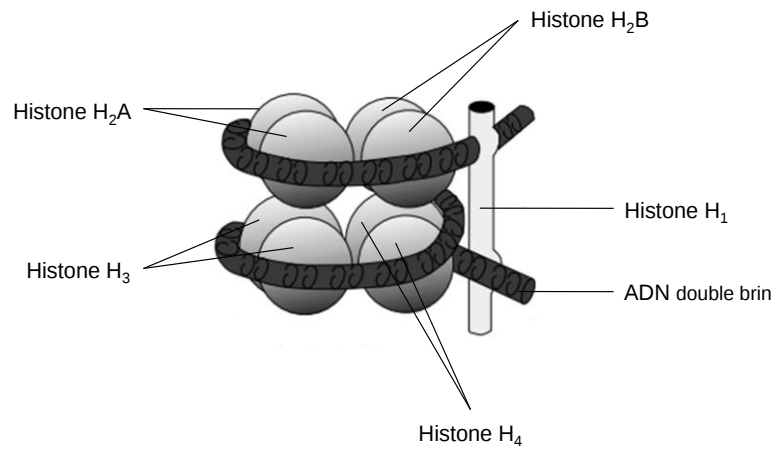


Fig. 2 : La structure d'un nucléosome (Griffiths *et al.* 2002)

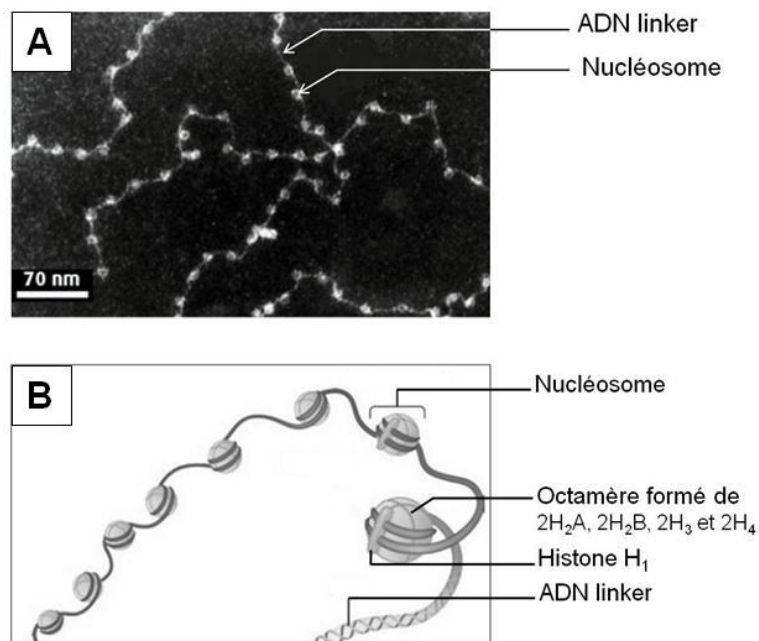


Fig. 3 : La structure « de base » d'une fibre de chromatine ;
 A- vue au microscope électronique à transmission (MET), B- schéma. (Griffiths *et al.* 2002)

- **2^{ème} niveau d'organisation : La fibre de 30 nm de diamètre**

Le niveau de compaction supérieur de la chromatine est la fibre de 30 nm, qui résulte de l'enroulement du "collier de perles" nucléosomique. Deux modèles principaux sont proposés pour décrire sa structure : le modèle solénoïde (une hélice serrée) et le modèle zigzag (une hélice plus lâche).

➤ **Le modèle de solénoïde :**

Ce modèle décrit la fibre de 30 nm comme une hélice serrée et régulière, au sein de laquelle les nucléosomes successifs s'enroulent les uns sur les autres autour d'un axe virtuel central, formant environ 6 nucléosomes par tour d'hélice. Cette architecture compacte est stabilisée par l'histone de liaison H1 (**Fig. 4, 6**). Elle représente un niveau de compaction élevé de la chromatine, caractéristique des régions condensées et transcriptionnellement inactives que l'on trouve dans l'hétérochromatine.

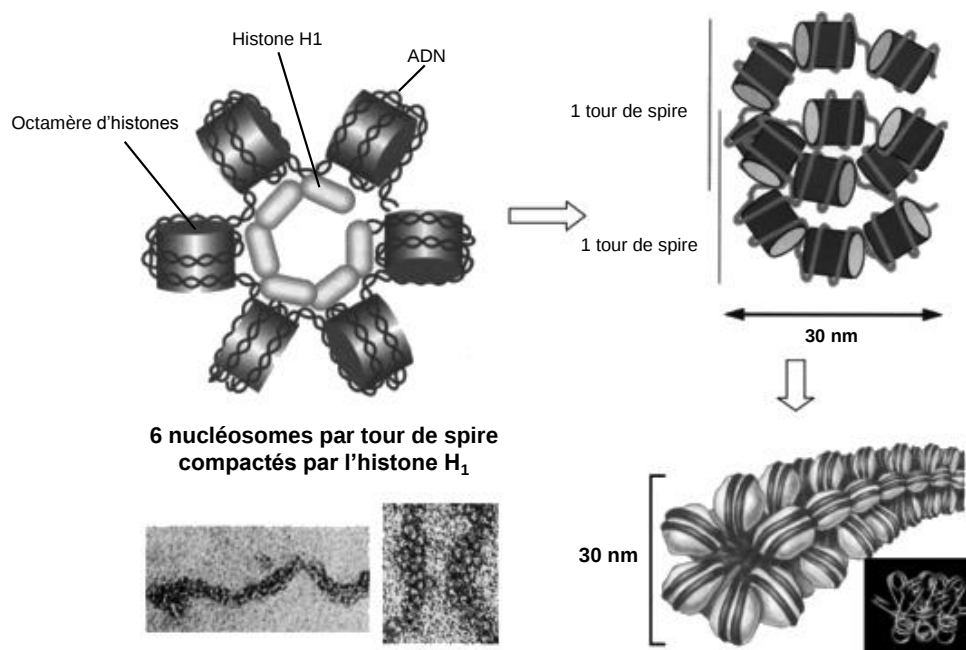


Fig. 4 : Le modèle de solénoïde (Griffiths *et al.* 2002)

➤ **Le modèle en zigzag :**

Contrairement au modèle solénoïde qui propose un enroulement serré et régulier, le modèle en zigzag (ou "hélicoïdal irrégulier") décrit une structure plus lâche et ouverte. Sa caractéristique principale est que l'ADN linker traverse l'axe central d'enroulement de la fibre entre chaque nucléosome successif (**Fig. 5**). Cela crée un tracé anguleux où les nucléosomes alternent de part et d'autre de l'axe, formant une structure en "zigzag" plutôt qu'une hélice serrée.

Cette organisation résulte d'interactions entre nucléosomes non adjacents sur la séquence d'ADN (par exemple, le nucléosome N°1 interagit avec le N°3, etc.). La longueur et la flexibilité de l'ADN Linker sont donc cruciales. Ce modèle est majoritairement soutenu par des données structurales de haute résolution (cristallographie, biophysique).

Contrairement au solénoïde compact et verrouillé par l'histone H1, le modèle en zigzag représente un état de compaction dynamique et flexible. C'est précisément cette structure plus ouverte qui caractérise l'euchromatine, où l'ADN doit rester accessible pour la transcription des gènes. Il illustre parfaitement comment la structure chromatinienne (zigzag vs solénoïde) est directement liée à sa fonction (expression vs silence des gènes).

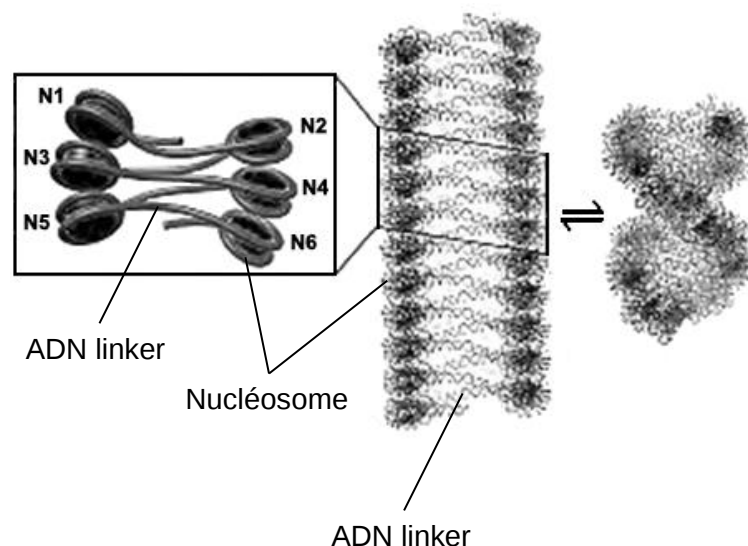


Fig. 5 : Le modèle en zigzag (Robinson et Rhodes 2006)

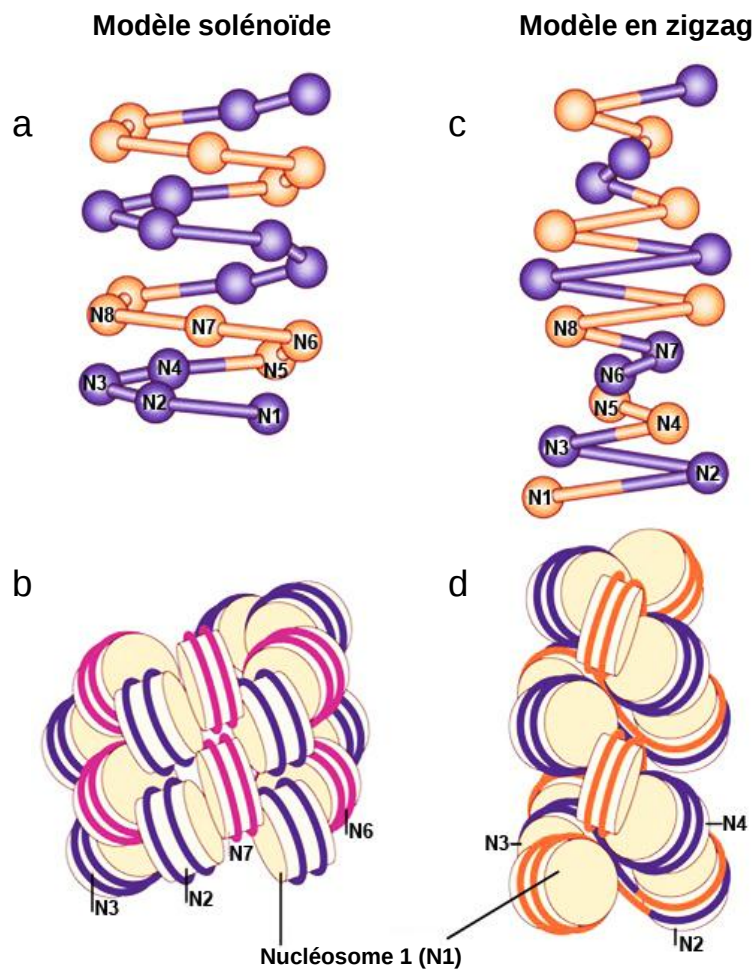


Fig. 6 : Organisation de la chromatine en nucléofilament de 30 nm de diamètre selon le modèle solénoïde (a-b) dans l'hétérochromatine et selon le modèle en zigzag (c-d) dans l'euchromatine (Robinson et Rhodes 2006)

- 3^{ème} niveau d'organisation : La fibre de 300 nm de diamètre

La fibre de 300 nm représente le troisième niveau de compaction de la chromatine. Elle se forme par le repliement de la fibre de 30 nm en grandes boucles d'ADN de 50 000 à 100 000 paires de bases, ancrées par leur base à un échafaudage protéique central appelé scaffold. Cet ancrage est médié par des séquences spécifiques nommées SAR (Scaffold Attachment Regions) (**Fig. 7**).

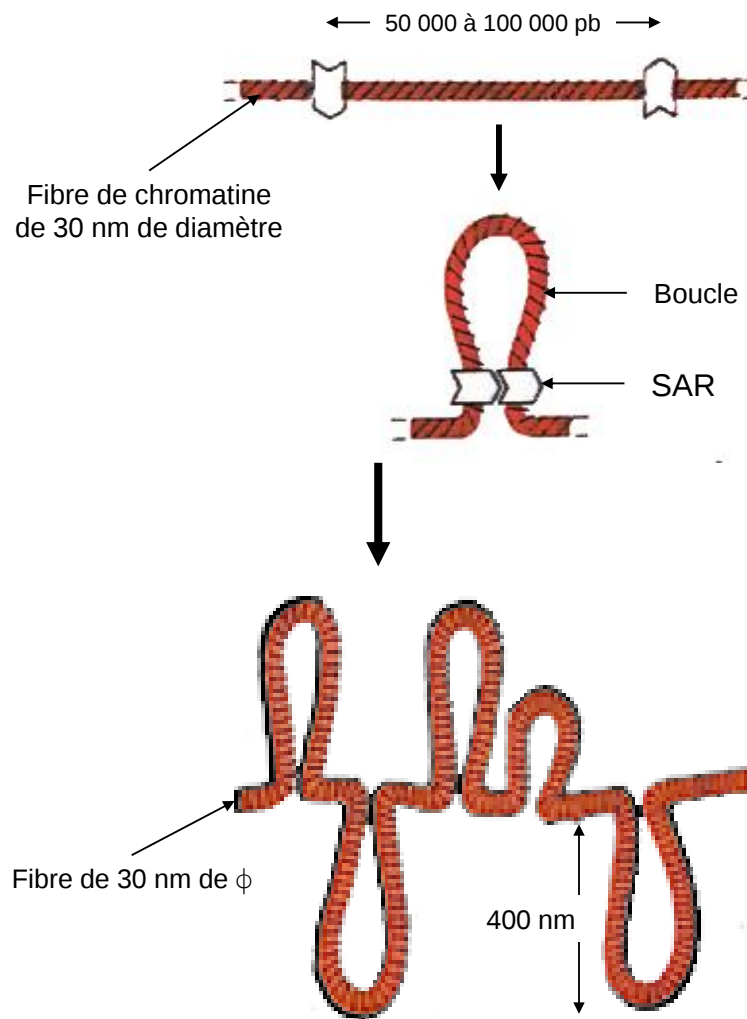


Fig. 7 : Repliement d'une région de la fibre de chromatine de 30 nm pour former une boucle
SAR: Scaffold Attachment Regions (Alberts *et al.* 1986)

Des protéines architecturales comme les condensines compriment et stabilisent activement ces boucles. Cette organisation permet une compaction extrême tout en maintenant une modularité fonctionnelle : chaque boucle forme un domaine génétique indépendant, facilitant une régulation ciblée de l'expression des gènes. Cette structure est une étape clé vers la formation des chromosomes hautement condensés observés durant la mitose.

Ces boucles ne fonctionnent pas indépendamment mais s'organisent en rosettes, où plusieurs boucles (typiquement 6 à 8) convergent vers un point d'ancrage commun sur la matrice nucléaire. Les rosettes se regroupent ensuite pour former des domaines chromosomiques de plus grande taille, pouvant atteindre 1 mégabase (**Fig. 8**).

Cette organisation hiérarchique - des boucles aux rosettes, puis des rosettes aux domaines - est stabilisée par des protéines architecturales comme les condensines, qui compriment et maintiennent activement la structure. Cette configuration permet une compaction extrême tout en préservant une modularité fonctionnelle : chaque domaine correspond généralement à une unité de régulation génique cohérente, où les gènes peuvent être co-exprimés ou soumis à une même régulation épigénétique. Ainsi, la fibre de 300 nm représente une étape cruciale vers la formation des chromosomes métaphasiques, tout en permettant une régulation fine de l'expression des gènes grâce à son organisation spatiale caractéristique.

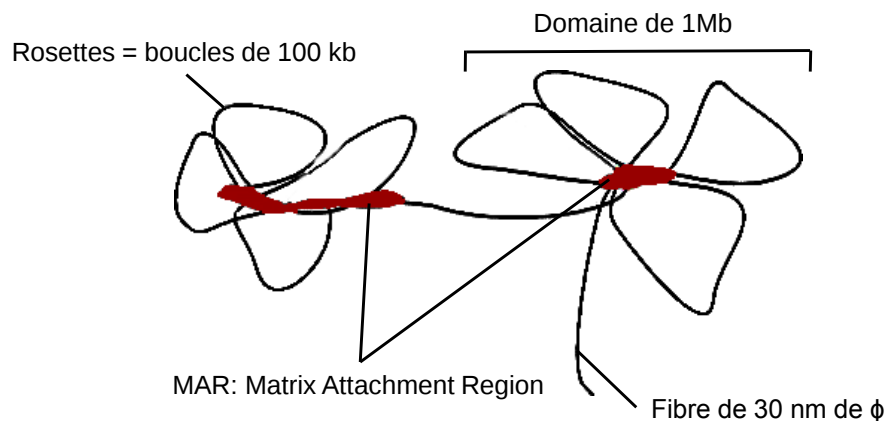


Fig. 8 : Le 3^{ème} niveau d'organisation de la chromatine

- 4^{ème} niveau d'organisation : La chromatide de 700 nm de diamètre

La chromatide de 700 nm constitue le niveau de compaction ultime précédant la formation des chromosomes métaphasiques. Elle résulte du repliement hélicoïdal de la fibre de 300 nm qui s'enroule autour d'un axe central protéique pour former une structure en spirale caractéristique. Cet axe central est composé principalement de topoisomérase II et de protéines SMC (Structural Maintenance of Chromosomes), qui forment une charpente rigide permettant l'organisation spatiale de la chromatine.

Cette organisation présente plusieurs particularités structurales remarquables : la fibre de 300 nm génère des spires régulières d'environ 700 nm de diamètre autour de cet axe central. Les deux chromatides sœurs présentent une symétrie miroir avec des sens d'enroulement opposés. Cette architecture est stabilisée par des protéines structurales spécialisées, notamment les condensines (qui compriment la chromatine) et les cohésines (qui maintiennent la cohésion des chromatides sœurs) (**Fig. 9**).

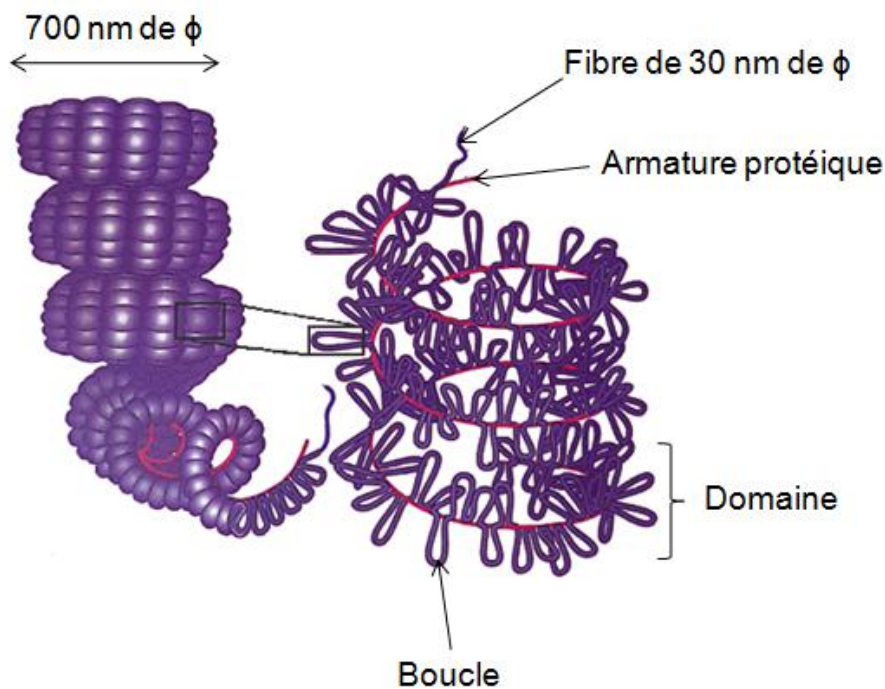


Fig. 9 : Le 4^{ième} niveau d'organisation de la chromatine (Griffiths *et al.* 2002)

Sur le plan fonctionnel, cette organisation permet une compaction extrême, réduisant le volume chromosomique d'un facteur 10 000 par rapport à l'ADN décondensé. Elle assure également une organisation en bandes chromosomiques distinctes, où chaque spire correspond approximativement à une bande observable en métaphase. Enfin, cette structure hautement ordonnée est essentielle pour garantir une ségrégation fidèle des chromatides durant l'anaphase, représentant ainsi l'aboutissement du processus de compaction nécessaire à la division cellulaire.

La figure 10 résume le processus de compaction de la fibre de chromatine

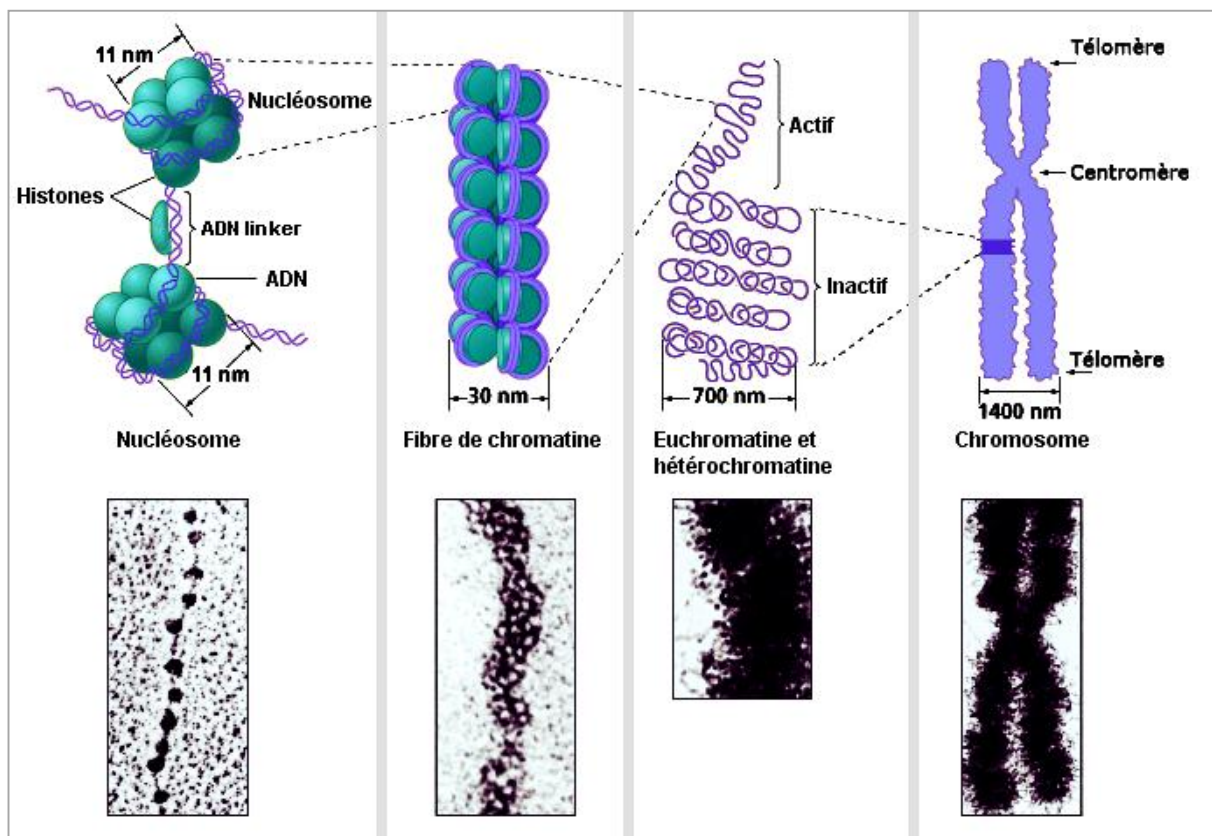


Fig. 10 : La compaction de la chromatine en chromosome métaphasique (Campbell and Reece 2004)

Chapitre II : Méthodes d'étude des chromosomes

Les chromosomes ne sont visibles au microscope optique que durant la division cellulaire, lorsqu'ils atteignent leur état condensé. Leur étude repose donc nécessairement sur l'analyse des cellules en cours de division, principalement en mitose ou en méiose.

Pour les analyser, un ensemble de techniques complémentaires a été développé :

- Les techniques cytogénétiques classiques permettent d'observer les chromosomes dans leur globalité (nombre, forme, taille...) ;
- Les techniques moléculaires permettent d'étudier des régions spécifiques de l'ADN.

Ces méthodes sont fondamentales pour :

- Établir et caractériser le caryotype d'un individu et réaliser un caryogramme d'une population ;
- Mettre en évidence des variations chromosomiques (nombre, structure....) ;
- Analyser le comportement chromosomique durant la méiose et identifier des irrégularités méiotiques
- Réaliser la cartographie physique des gènes sur les chromosomes

1. La mitose (caryotype, caryogramme) :

Tous les êtres vivants à reproduction sexuée se développent à partir d'une seule cellule initiale, l'œuf fécondé (ou zygote). La multiplication de cette cellule pour former un organisme complexe est assurée par un processus strictement contrôlé : le cycle cellulaire. Ce cycle a pour but de produire, à partir d'une cellule mère, deux cellules filles génétiquement identiques.

Le cycle cellulaire est divisé en deux phases principales : l'interphase, période de préparation et de croissance, et la phase M (Mitose), période de division active.

- L'Interphase : La Phase de Préparation

L'interphase, qui représente la majeure partie de la vie de la cellule, est une phase de croissance et de préparation intense (**Fig. 13A**). Elle est elle-même divisée en trois étapes (**Fig. 11**) :

- **Phase G1 (Gap 1) :** C'est une phase de croissance cellulaire, de synthèse protéique et d'activité métabolique intense. La cellule accomplit sa fonction spécifique.
- **Phase S (Synthèse) :** C'est l'étape clé de la réplication. Chaque molécule d'ADN (chaque chromosome) est dupliquée. À la fin de cette phase, chaque chromosome est constitué de deux copies identiques, appelées chromatides sœurs, attachées par un centromère (**Fig. 12**).
- **Phase G2 (Gap 2) :** La cellule poursuit sa croissance et synthétise les structures nécessaires à la division, comme les protéines du fuseau mitotique. Elle vérifie également que la réplication de l'ADN s'est déroulée sans erreur.
- **La Phase G0 : La Sortie du Cycle**

Les cellules peuvent quitter le cycle cellulaire pour entrer en phase G0, un état de repos où elles sont métaboliquement actives mais non prolifératives. Le devenir de ces cellules dépend de leur degré de différenciation : les cellules peu différenciées, comme les hépatocytes ou les cellules du parenchyme végétal, peuvent généralement retourner dans le cycle cellulaire, tandis que les cellules hautement spécialisées, telles que les neurones ou les cellules du sclérenchyme chez les végétaux, y restent définitivement. Par ailleurs, une cellule engagée dans le cycle qui a franchi le point de restriction en fin de phase G1 doit impérativement achever les étapes S, G2 et M avant de pouvoir éventuellement entrer à nouveau en quiescence.

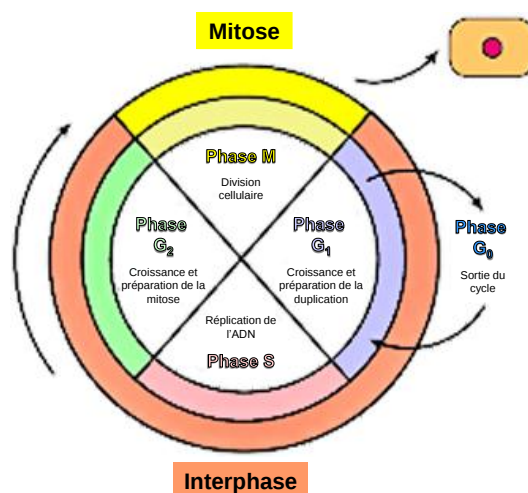


Fig. 11 : Les phases du cycle cellulaire et la phase G0

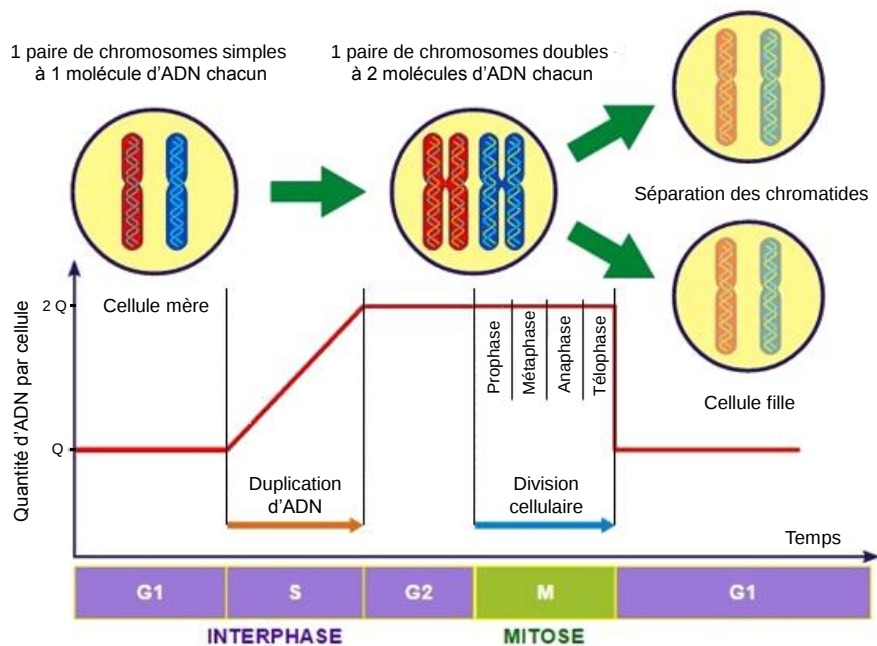


Fig. 12 : Evolution de la quantité d'ADN et état des chromosomes durant le cycle cellulaire

- La Phase M ou Mitose :

La mitose est le processus qui permet de répartir équitablement les chromosomes dupliqués dans les deux cellules filles. C'est la phase la plus courte du cycle. Elle se déroule en quatre étapes continues :

➤ La Prophase :

La prophase (**Fig. 13B**) marque le début de la division du noyau (caryocinèse) et se caractérise par trois événements majeurs et simultanés :

- Condensation de la chromatine : La chromatine, forme diffuse de l'ADN pendant l'interphase, subit un processus de compaction extrême. Elle s'enroule et se super-enroule pour former des chromosomes distincts, chacun composé de deux chromatides sœurs reliées par un centromère.
- Formation de l'appareil mitotique (fuseau achromatique) : c'est la structure qui guide la séparation des chromosomes. Sa formation diffère entre animaux et végétaux :

- ✓ Dans la cellule animale : Les centrosomes (contenant des centrioles) dirigent l'opération, ils se dupliquent et migrent vers les pôles opposés où ils vont servir de "points d'ancrage" pour construire le fuseau
- ✓ Dans la cellule végétale : en absence du centrosome et des centrioles, les microtubules s'auto-organisent pour former le fuseau.

Bien que les stratégies soient distinctes, le résultat final est identique : la formation d'un fuseau fonctionnel capable d'assurer la répartition égale du matériel génétique.

- Désintégration de l'enveloppe nucléaire : La membrane nucléaire se fragmente en vésicules, ce qui a pour effet de mélanger le nucléoplasme et le cytoplasme. Cette désorganisation est essentielle car elle permet aux microtubules du fuseau d'accéder aux chromosomes et de s'y fixer.

➤ **La métaphase :**

Pendant la métaphase (**Fig. 13C**), les microtubules du fuseau, attachés aux kinétochores de part et d'autre du chromosome, exercent des forces de traction opposées sur les chromatides sœurs. Ces forces antagonistes amènent et alignent chaque chromosome dans le plan équatorial de la cellule, formant la plaque métaphasique. Les chromosomes sont maintenus en équilibre dans cette position par la tension symétrique des microtubules provenant des pôles opposés du fuseau.

➤ **L'anaphase :**

Pendant l'anaphase (**Fig. 13D**), les chromatides sœurs se séparent au niveau de leur centromère et migrent vers les pôles opposés de la cellule. Chaque chromatide est activement tiré vers un pôle par les microtubules du fuseau, qui sont rattachés à son centromère via le kinétochore. Cette traction centrée fait que les bras chromatidiens traînent passivement dans le cytosol, conférant aux chromatides une forme caractéristique lors de leur déplacement : les chromosomes métacentriques (centromère central) forment un "V", les submétacentriques (centromère décentré) un "J", et les télocentriques (centromère en position terminale) une forme de "bâtonnet ou I".

➤ **La télophase :**

Lors de la télophase (**Fig. 13E**), les chromosomes fils (anciennes chromatides) sont répartis en deux lots génétiquement identiques à chaque pôle de la cellule. Ils commencent alors à se décondenser pour retrouver leur état de chromatine fonctionnelle, caractéristique de l'interphase. Le fuseau mitotique se dépolymérise, les membranes nucléaires se reforment autour de chaque lot chromosomique, et le cytoplasme se divise lors de la cytokinèse. Chez les animaux, cette dernière étape est réalisée par un étranglement de la membrane plasmique, qui scinde la cellule mère en deux. Chez les végétaux, la cytokinèse débute par la formation d'une structure centrale, la plaque cellulaire, qui évolue en lamelle moyenne ; les parois primaires des cellules filles sont ensuite synthétisées de part et d'autre de cette lamelle (**Fig. 13F**).

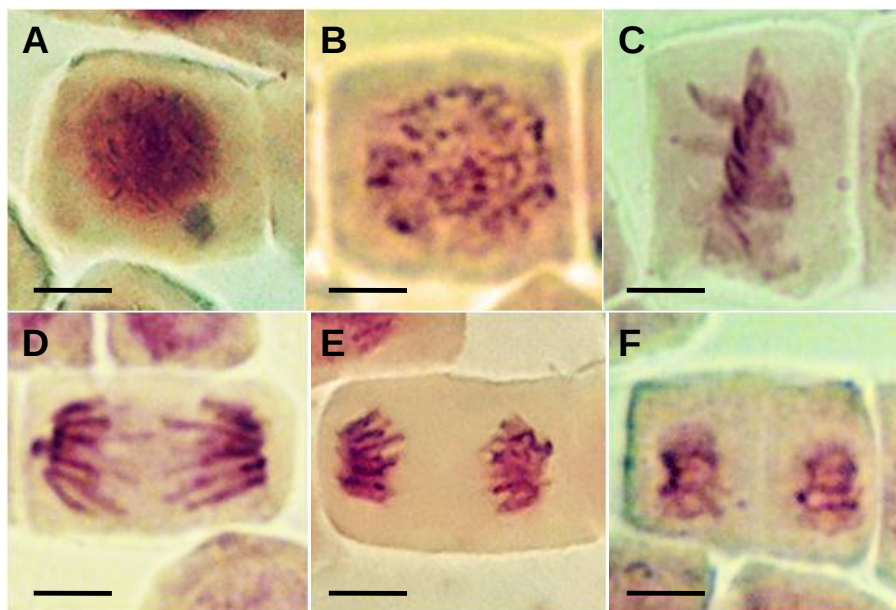


Fig. 13 : Différentes stades de la division mitotique au niveau des méristèmes racinaires d'oignon *Allium cepa* (coloration au carmin acétique). A- Interphase ; B- Prophase ; C- Métaphase ; D- Anaphase ; E- Télophase, F- Deux cellules filles. (Photos Djafri-Bouallag L.)

- **Le caryotype et le caryogramme :**

✓ **Le caryotype :**

Un caryotype est une représentation standardisée et organisée des chromosomes d'une cellule en métaphase mitotique (**Fig. 14 a-b**). Il permet d'analyser le nombre, la forme, la taille, la position du centromère et la présence de constriction secondaires pour chaque chromosome. Pour l'établir, on utilise une cellule dont les chromosomes sont au stade de leur contraction maximale et parfaitement individualisés, typiquement en fin de prophase ou en métaphase, et disposés sur un même plan pour permettre une photographie et une analyse fidèles.

Les chromosomes métaphasiques sont constitués d'un bras court (noté "p") et d'un bras long (noté "q"), reliés par le centromère. Dans un caryotype, les chromosomes homologues sont appariés et classés selon des critères précis :

- **La taille décroissante :** par convention, les paires de chromosomes sont classées de la plus grande à la plus petite.
- **La position du centromère :** définie par l'index centromérique ($IC = \text{longueur du bras p} / \text{longueur totale du chromosome}$). Selon la nomenclature de Levan *et al.* (1964), cet index permet de distinguer quatre types morphologiques principaux :
 - Les chromosomes métacentriques ($IC = 0,50 - 0,37$)
 - Les chromosomes submétacentriques ($IC = 0,37 - 0,25$)
 - Les chromosomes acrocentriques ($IC = 0,25 - 0,12$)
 - Les chromosomes télocentriques ($IC \approx 0,00$)
- **La Présence de Constrictions Secondaires :** Au-delà du centromère (constriction primaire), certains chromosomes présentent des rétrécissements secondaires constants. Ces régions, souvent associées aux organisateurs nucléolaires (zones contenant les gènes de l'ARN ribosomique), sont des marqueurs d'identification importants pour des chromosomes spécifiques.
- **Le profil de bandes :** caractéristique de chaque paire chromosomique, obtenu par techniques de coloration spécifiques.

✓ **Le caryogramme :**

Le caryogramme (ou idiogramme) est une représentation schématique et standardisée des chromosomes d'une population (espèce), constituant son génome de référence (**Fig. 14 c**). Contrairement au caryotype qui est une photographie des chromosomes d'un individu, le caryogramme est élaboré en synthétisant les données observées sur un grand nombre de caryotypes différents. Cette généralisation permet d'établir une carte consensus pour chaque chromosome, indiquant sa taille caractéristique, la position moyenne de son centromère et son motif de bandes spécifique. Il est important de noter que le caryogramme représente le génome haploïde, c'est-à-dire un exemplaire de chaque paire de chromosomes homologues, offrant ainsi une vision essentielle de l'ensemble des structures chromosomiques caractéristiques de l'espèce.

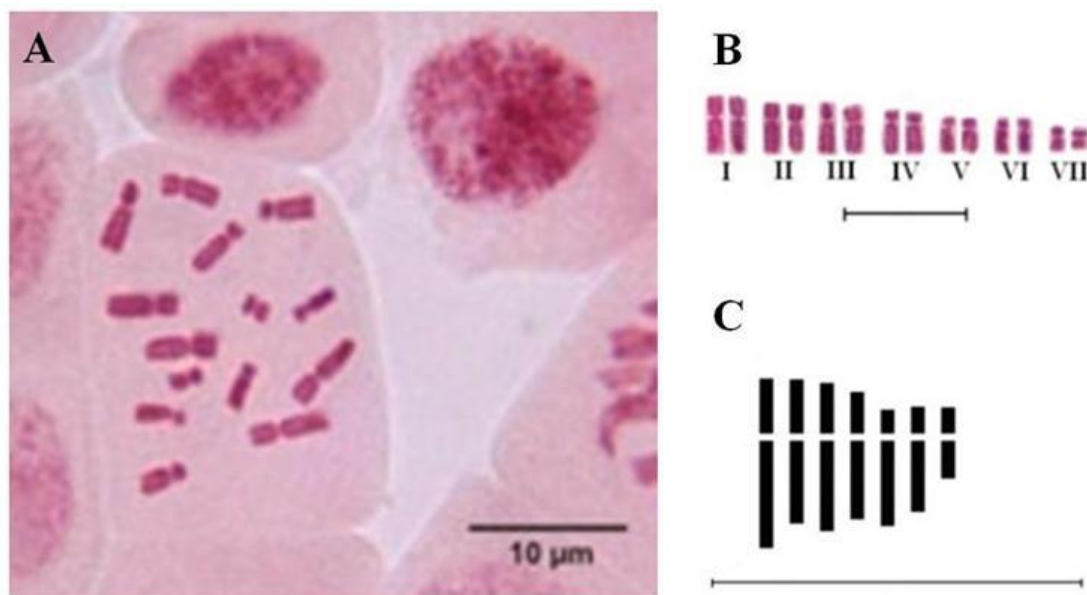


Fig. 14 : Métaphase somatique, caryotype et caryogramme de *Ornithogalum montanum* ($2n = 2x = 14$). A- plaque métaphasique ; B- caryotype ; C- Caryogramme (Öztürk et al. 2014).

3.2. La méiose (comportement et irrégularités méiotiques)

La méiose est un processus de division cellulaire spécialisé, constitué de deux divisions successives, qui réduit le nombre de chromosomes de la cellule mère. Ainsi, une cellule diploïde ($2n$) donne naissance à quatre cellules filles haploïdes (n). Ce mécanisme est fondamental lors de la gamétogenèse (ou sporogenèse chez les plantes), car il permet de produire des gamètes ne contenant qu'un seul exemplaire de chaque paire de chromosomes homologues. Cette réduction est essentielle pour maintenir constant le nombre de chromosome de l'espèce après la fécondation.

Le cycle méiotique est caractérisé par une seule réplication de l'ADN, qui se produit durant l'interphase précédant la première division, suivie de deux divisions cytoplasmiques. La méiose I, dite réductionnelle, sépare les chromosomes homologues. Elle produit ainsi deux cellules filles haploïdes, chacune possédant un chromosome de chaque paire, encore constitué de deux chromatides sœurs. La méiose II, dite équationnelle, est semblable à une mitose et a pour rôle de séparer les chromatides sœurs dans chacune de ces deux cellules haploïdes.

Chacune de ces divisions se déroule en quatre étapes principales : pour la méiose I, il s'agit de la prophase I, métaphase I, anaphase I et télophase I ; pour la méiose II, de la prophase II, métaphase II, anaphase II et télophase II. Il est important de noter qu'**aucune réplication de l'ADN n'a lieu** entre ces deux divisions.

3.2.1. Méiose I : Division Réductionnelle :

- **Prophase I** : Phase de recombinaison génétique, divisée en 5 stades :
 - *Leptotène (stade du filament fin)* : Début de la condensation chromosomique (**Fig. 15 A et A'**)

Cette première étape de la prophase I marque le début visible de la méiose. Les chromosomes, déjà dupliqués, commencent à se condenser et deviennent progressivement discernables au microscope sous forme de longs filaments fins. Chaque chromosome est déjà constitué de deux chromatides sœurs, mais celles-ci ne sont pas encore distinguables. Un autre événement clé de ce stade est l'ancrage des extrémités des chromosomes à l'enveloppe nucléaire, ce qui prépare et organise le noyau pour l'appariement des chromosomes homologues qui aura lieu au stade suivant.

- *Zygotène (stade des filaments joints)* : Appariement des chromosomes homologues (*synapsis*) formant des bivalents, via le complexe synaptonémal (**Fig. 15 B et B'**).

L'événement central de cette étape est l'initiation de la *synapsis*, un appariement parfait et précis des chromosomes homologues (maternel et paternel). Cet alignement est médié par la formation d'une structure protéique complexe, le complexe synaptonémal, qui agit comme une échelle moléculaire entre les deux homologues pour les maintenir étroitement associés. Chaque paire appariée, maintenant appelée un bivalent, est constituée de quatre chromatides (deux par chromosome homologue). Ce stade jette les bases physiques indispensables pour le crossing-over qui se produira ensuite.

- *Pachytène (stade du filament épais)* : Crossing-over entre chromatides non-sœurs : échange de segments d'ADN matérialisé par des chiasmata (**Fig. 15 C et C'**).

Ce stade est crucial pour le brassage génétique. La *synapsis* est achevée et le crossing-over, ou enjambement, a lieu : des chromatides non-sœurs (appartenant chacune à un chromosome homologue) rompent et échangent des segments d'ADN de manière réciproque. Ces points d'échange, visibles au microscope, sont matérialisés par des chiasmata. Ce processus de recombinaison crée de nouvelles combinaisons d'allèles sur les chromosomes, ce qui est une source majeure de variabilité génétique parmi les gamètes.

- *Diplotène (stade des filaments doubles)* : Les homologues se repoussent mais restent liés par les chiasmata (**Fig. 15 D et D'**).

Le complexe synaptonémal se désassemble, ce qui entraîne une séparation partielle des chromosomes homologues. Ceux-ci commencent à se repousser, mais ils restent solidement attachés en un ou plusieurs points : les chiasmata. Ces structures, qui matérialisent les sites de crossing-over ayant eu lieu au stade précédent, sont maintenant clairement visibles et maintiennent l'intégrité des bivalents. Cette tension physique assure la bonne orientation des chromosomes pour leur future ségrégation en métaphase I.

- *Diacinèse (stade du double mouvement)* : (**Fig. 15 E et E'**).

À ce stade, les chromosomes atteignent leur degré de condensation maximal. Le nucléole et l'enveloppe nucléaire disparaissent, tandis que l'appareil mitotique (ou fuseau achromatique) commence à se former.

- **Métaphase I** : Alignement aléatoire des bivalents à l'équateur de la cellule (**Fig. 15 F et F'**).

À ce stade, les bivalents (paires de chromosomes appariés) migrent et s'alignent de manière aléatoire sur la plaque équatoriale de la cellule. Chaque bivalent est positionné de façon indépendante, l'orientation de chaque paire (chromosome maternel vers un pôle, paternel vers l'autre) étant due au hasard. Cet assortiment indépendant constitue un deuxième mécanisme fondamental de brassage génétique, car il permet la production de gamètes avec des combinaisons chromosomiques maternelles et paternelles originales. Les chromosomes sont maintenus en place par la tension des fibres du fuseau achromatique attachées à leurs centromères.

- **Anaphase I** : Séparation et migration des chromosomes homologues (chacun à deux chromatides) vers les pôles (**Fig. 15 G et G'**).

Ce stade marque la séparation définitive des chromosomes homologues. Sous l'effet du raccourcissement des microtubules du fuseau, les chromosomes homologues de chaque bivalent sont tirés et migrent vers les pôles opposés de la cellule. C'est l'événement clé de la division réductionnelle : chaque pôle reçoit un lot haploïde de chromosomes, chacun étant encore constitué de deux chromatides sœurs. Cette ségrégation des homologues réduit de moitié le nombre de chromosomes et assure la distribution aléatoire des chromosomes d'origine maternelle et paternelle, poursuivant ainsi le brassage génétique initié en prophase I.

- **Télophase I et Cytocinèse** : Reformation partielle des noyaux et division cytoplasmique donnant naissance à deux cellules haploïdes (**Fig. 15 H et H'**)

À ce stade, les chromosomes homologues ayant atteint les pôles cellulaires commencent à se décondenser partiellement, tandis qu'une enveloppe nucléaire se reforme temporairement autour de chaque lot haploïde. La cytokinèse (division du cytoplasme) s'ensuit immédiatement, scindant la cellule mère en deux cellules filles haploïdes. Chez les végétaux, cette division s'effectue par la formation d'une plaque cellulaire au centre de la cellule, qui évoluera en lamelle moyenne. Chaque cellule fille issue de cette première division méiotique contient désormais un nombre haploïde de chromosomes, mais chaque chromosome est encore dupliqué (composé de deux chromatides sœurs), préparant ainsi le terrain pour la méiose II.

3.2.2. Méiose II : Division Équationnelle Sépare les chromatides sœurs, sans réplication d'ADN préalable.

➤ **Prophase II** : Condensation des chromosomes et formation du fuseau (**Fig. 15 I et I'**)

Cette phase marque le début de la deuxième division méiotique. Dans chacune des deux cellules filles haploïdes issues de la méiose I, les chromosomes (toujours constitués de deux chromatides sœurs) se re-condensent après la décondensation partielle de la télophase I. L'enveloppe nucléaire, si elle s'était reformée, se désagrège à nouveau. Simultanément, un nouveau fuseau mitotique se forme, perpendiculairement au fuseau de la première division, afin de préparer la séparation des chromatides sœurs. Aucune réplication de l'ADN n'ayant eu lieu depuis la méiose I, le matériel génétique est maintenant prêt pour la séparation équationnelle.

➤ **Métaphase II** : Alignement des chromosomes (à deux chromatides) sur la plaque équatoriale (**Fig. 15 J et J'**).

À ce stade, les chromosomes, chacun formé de deux chromatides sœurs, migrent et s'alignent individuellement sur la plaque équatoriale de chaque cellule fille haploïde. Leurs centromères, portant chacun deux kinétochores, s'orientent de telle sorte que les microtubules du fuseau provenant des pôles opposés puissent s'y attacher. Cet alignement en métaphase II est similaire à celui d'une métaphase mitotique, mais il se produit dans des cellules déjà haploïdes. La disposition des chromosomes sur la plaque équatoriale est aléatoire, ce qui peut contribuer une dernière fois à une légère augmentation de la variabilité génétique.

➤ **Anaphase II** : Séparation des chromatides sœurs et migration vers les pôles (**Fig. 15 K et K'**).

Cette étape consiste en la séparation définitive des chromatides sœurs. Les centromères de chaque chromosome se divisent, libérant ainsi les deux chromatides qui deviennent alors des chromosomes indépendants. Sous l'action du raccourcissement des microtubules du fuseau, ces chromosomes fils sont tirés et migrent vers les pôles opposés de la cellule. Ce mécanisme de séparation est identique à celui de l'anaphase mitotique, mais son résultat est particulier : il s'achève sur la répartition d'un lot haploïde de chromosomes simples dans chaque future cellule fille.

- **Télophase II et Cytocinèse** : Décondensation et formation de quatre noyaux haploïdes donnant naissance à quatre cellules filles génétiquement différentes (**Fig. 15 L-M et L'-M'**).

Cette phase finale conclut la méiose. Les chromosomes fils, ayant atteint les pôles cellulaires, se décondensent pour retrouver leur état de chromatine fonctionnelle. Une enveloppe nucléaire se reforme autour de chaque lot chromosomique, créant ainsi quatre noyaux haploïdes distincts. La cytocinèse, survenant simultanément, sépare le cytoplasme de chaque cellule en deux. Le résultat final est la production de quatre cellules filles haploïdes. Grâce aux événements de brassage génétique (enjambement et assortiment indépendant), chacune de ces cellules possède une combinaison chromosomique différente, garantissant une variabilité génétique caractéristique de la reproduction sexuée.

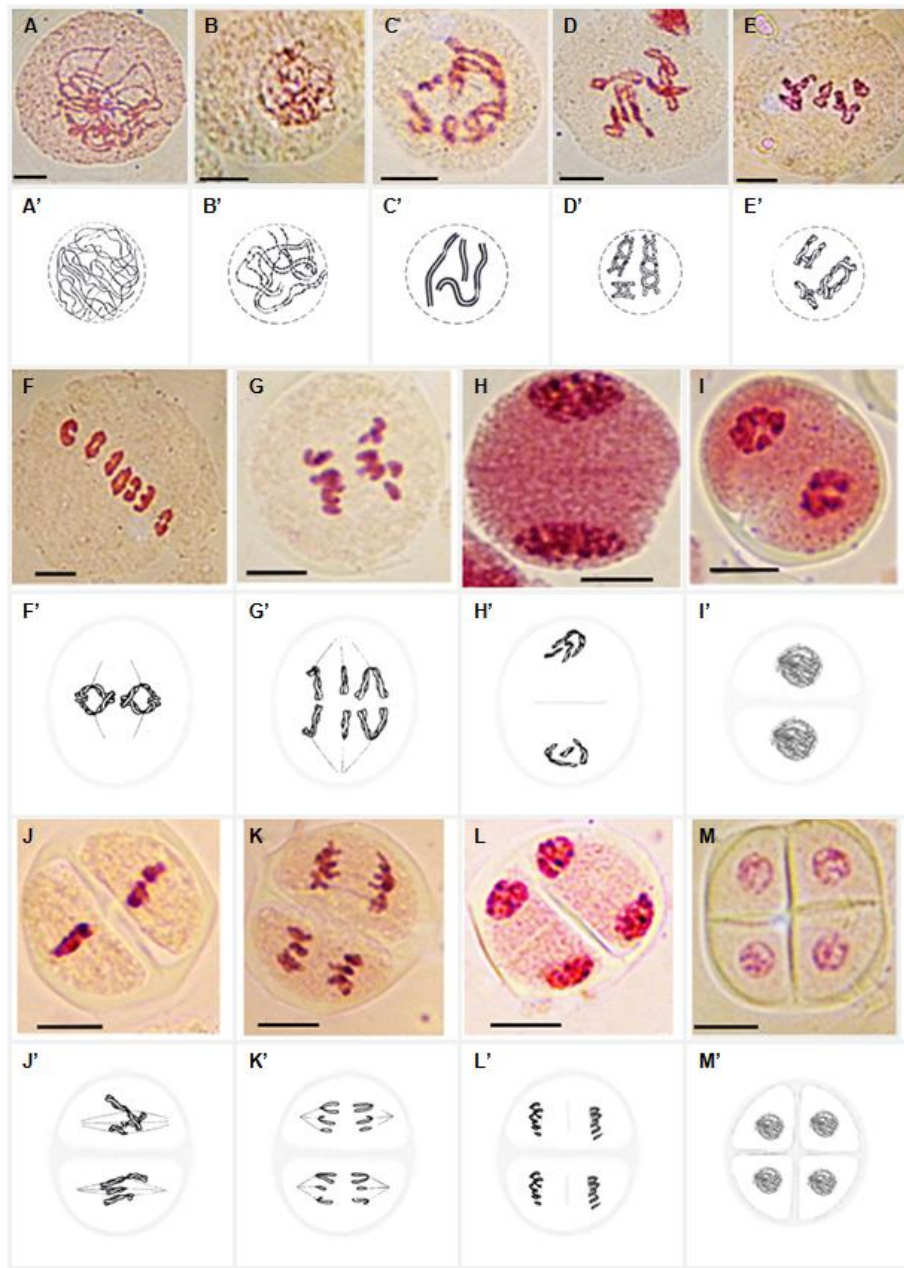


Fig. 15 : Différents stades de la division méiotique chez *Hordeum bulbosum* L.. **Méiose I (A-I):** Prophase I (A-E): A-Leptotène, B- Zygotène, C- Pachytène, D-Diplotène, E-Diacinèse; B- Métaphase I ; C- Anaphase I ; D- Télophase I; **Méiose II (J-M) ;** E- Prophase II, F- Métaphase I; G- Anaphase II; H- Télophase II . (Photos Sedki W. 2016)

- **Comportement et irrégularités méiotiques :**

La méiose constitue le processus clé permettant les échanges génétiques entre les génomes parentaux. L'analyse du comportement et des associations des chromosomes homologues fournit des informations sur le taux de recombinaison génétique, ainsi que sur l'identité et l'origine de chaque génome.

L'observation du comportement méiotique s'effectue généralement sur les cellules mères des grains de pollen en division, plus particulièrement au stade de métaphase I où les paires de chromosomes homologues sont parfaitement alignées sur la plaque équatoriale. Les autres stades de la méiose présentent également un intérêt pour détecter d'éventuelles anomalies dans la division telles la formation de ponts chromatiques, la présence de chromosomes retardataires, des divisions asynchrones...etc. (**Fig. 16**).

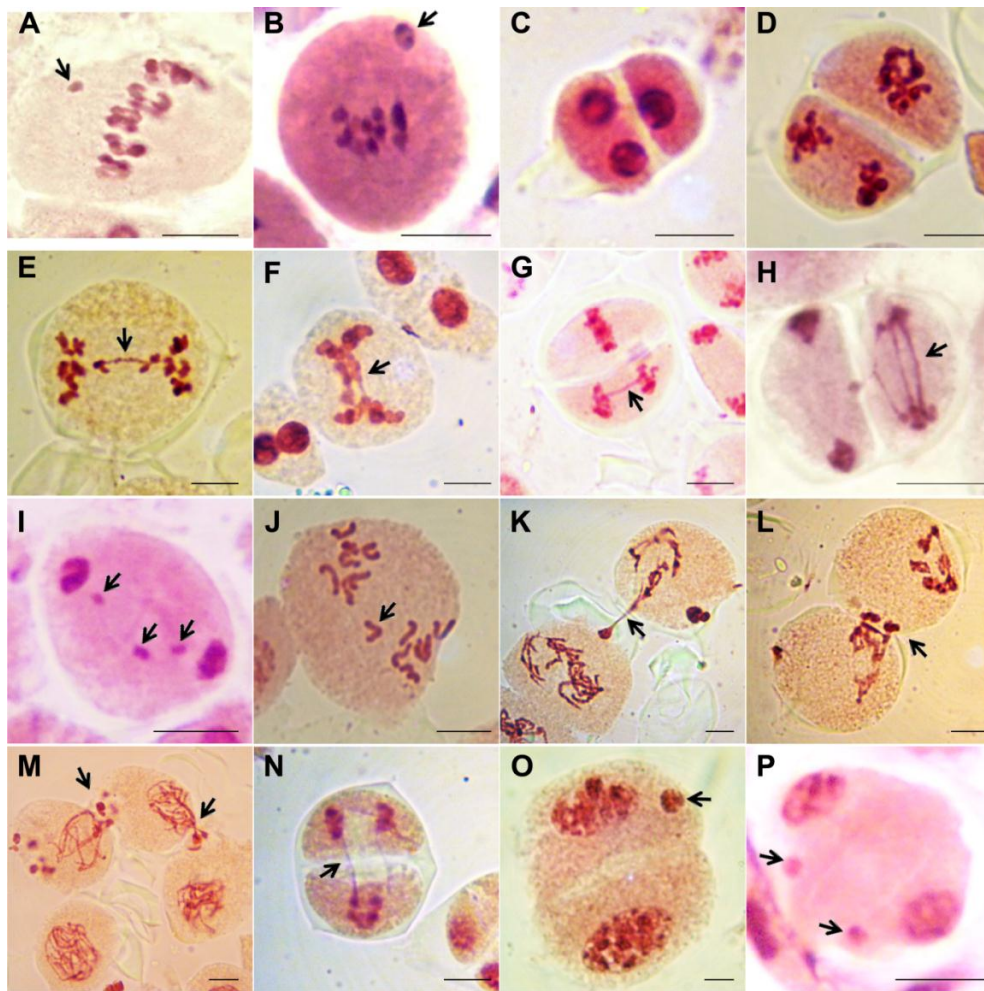


Fig. 16. Microméiocytes anormaux dans des populations algériennes de *Hordeum bulbosum* L. A- Syncyte. B- Métaphase I montrant un bivalent non orienté (flèche). C- Triade. D- Divisions asynchrones dans une dyade. E- Anaphase I montrant un pont chromatique (flèche). F- Anaphase I montrant deux ponts chromatiques (flèche). G- Anaphase II montrant un pont chromatique (flèche). H- Anaphase II montrant trois ponts chromatiques (flèche). (I) Télaphase I montrant trois chromosomes retardataires (flèches). J- Télaphase I montrant un chromosome retardataire (flèche). K- Prophase I montrant une cytomixie entre deux cellules (flèche). L- Métaphase I montrant une cytomixie entre deux cellules. M- Cytomixie entre plusieurs cellules. N- Cytomixie entre deux cellules d'une dyade. O- Dyade avec un micronoyau (flèche). P- Télaphase I avec deux micronoyaux (flèche). Échelle = 10 μ m (Djafri-Bouallag *et al.* 2025).

3.3. Bande chromosomique (euchromatine, hétérochromatine, bandes C, R, G)

L'étude des chromosomes (caryotype) révèle une grande diversité entre les espèces, non seulement dans leur nombre, mais aussi dans leur taille, leur forme et leur structure fine. Les techniques modernes de marquage ont permis de visualiser cette structure et d'identifier précisément les différents constituants des chromosomes (ADN, histones, protéines non histoniques, ions...).

- L'euchromatine et l'hétérochromatine

Au sein des chromosomes, on distingue deux états principaux de compaction de l'ADN, qui forment un équilibre dynamique essentiel au fonctionnement cellulaire :

- **L'euchromatine** représente la forme fonctionnelle et active de la chromatine. Caractérisée par un état peu compacté. Sa structure chromatinienne relâchée permet un accès facile à l'ADN pour les facteurs de transcription et les complexes enzymatiques. C'est pourquoi elle est le siège principal de la transcription des gènes, où sont transcrits environ 90% des gènes eucaryotes. Principalement localisée dans les régions centrales du noyau durant l'interphase, elle est riche en gènes uniques et en séquences uniques, présentant souvent une proportion plus élevée de paires Guanine-Cytosine (teneur en GC% élevé). Lors des analyses cytogénétiques, elle correspond aux bandes claires (bandes G-négatives) observées sur les chromosomes. Enfin, il s'agit d'une structure dynamique, capable de se condenser et de se décondenser en fonction des besoins transcriptionnels de la cellule.

- **L'hétérochromatine** constitue la forme condensée et majoritairement inactive de la chromatine. Sa structure très compactée forme un environnement dense qui limite considérablement l'accès à l'ADN et en fait une région génétiquement silencieuse, pauvre en gènes transcrits. Elle est souvent retrouvée à la périphérie nucléaire ou autour du nucléole. Sa composition est principalement constituée d'ADN répétitif, comme les séquences satellite, et elle est généralement plus riche en paires Adénine-Thymine (% en AT élevé). Avec les techniques de marquage conventionnelles, elle apparaît sous la forme de bandes sombres (bandes G-positives). On distingue deux types d'hétérochromatine :

- ✓ **L'hétérochromatine constitutive**, qui est constamment condensée et inactive dans toutes les cellules (comme dans les régions centromériques et télomériques, révélées par le marquage en bandes C) ;

- ✓ **L'hétérochromatine facultative**, dont l'état est réversible et peut varier selon le type cellulaire ou le stade de développement, l'exemple le plus connu étant l'inactivation facultative de l'un des deux chromosomes X chez les femelles mammifères.

3.3.1. Le principe du marquage en bandes

Le marquage en bandes est une technique cytogénétique fondamentale qui produit un motif caractéristique de bandes claires et sombres le long des chromosomes métaphasiques. Cette technique a révolutionné l'analyse chromosomique en permettant :

- L'identification précise de chaque chromosome
- La détection d'anomalies chromosomiques structurales
- L'établissement de caryotypes précis et fiable (reproductibles)
- L'étude de l'évolution chromosomique entre espèces

Le principe repose sur des différences structurales et chimiques le long des chromosomes :

- Les bandes correspondent à des domaines chromatinien distincts
- Chaque type de bande a une composition spécifique en bases (AT/GC)
- La liaison différentielle des colorants dépend de la compaction et de la composition de l'ADN

3.3.2. Les principaux types de bandes

Il existe six techniques de coloration, chacune mettant en évidence des régions spécifiques :

- **Les bandes G (au Giemsa) :** C'est la technique la plus courante. Elles sont obtenues par une digestion enzymatique (à la trypsine) des chromosomes, suivie d'une coloration au Giemsa. Les chromosomes présentent alors une succession de bandes claires et sombres caractéristiques.
 - ✓ **Bandes sombres (G⁺) :** Riches en adénine-thymine (AT), elles correspondent à de l'ADN condensé et répliqué tardivement, souvent associé à de l'hétérochromatine.

- ✓ Bandes claires (G-) : Riches en guanine-cytosine (GC), elles correspondent à de l'ADN décondensé et répliqué tôt, souvent associé à de l'euchromatine et aux gènes actifs.
- **Les bandes R (Reverse)** : Cette technique donne un motif inverse de celui des bandes G. Elles sont obtenues par dénaturation thermique des chromosomes suivie d'une coloration au Giemsa. Les bandes G- (claires) apparaissent alors intensément colorées en sombre, alors que les bandes G+ (sombres) deviennent claires.
 - ✓ Les bandes R sombres (R+) sont riches en séquences GC et correspondent à de l'euchromatine active.
 - ✓ Les bandes R claires (R-) sont riches en AT et correspondent à de l'hétérochromatine.
- **Les bandes C (Centromériques)** : Cette technique permet une coloration différentielle de l'hétérochromatine constitutive, qui est constituée de séquences d'ADN hautement répétitives. Le protocole, basé sur une dénaturation-renaturation de l'ADN (par traitement avec des acides, des bases ou à haute température suivie d'une incubation en solution de citrate de sodium), entraîne une coloration intense des régions hétérochromatines riches en ADN répétitif.
- **Les bandes Q (à la quinacrine)** : Cette technique utilise un fluorochrome, la **quinacrine**. Après coloration, les chromosomes observés en microscopie à fluorescence présentent un motif de bandes Q+ (fluorescentes) caractéristiques. Ces bandes brillantes correspondent aux régions riches en paires adénine-thymine (AT) et offrent un motif similaire à celui des bandes G.
- **Les bandes T (Télomériques)** : Cette technique est basée sur l'utilisation d'un fluorochrome, l'**acridine orange**, après un traitement de dénaturation-renaturation de l'ADN chromosomique. Sous lumière ultraviolette, les régions télomériques apparaissent spécifiquement colorées, permettant ainsi de visualiser l'extrémité des chromosomes.
- **Les bandes N (NOR, pour Nuclear Organizer Regions)** : Cette technique, également appelée coloration des organisateurs nucléolaires, utilise le **nitrate d'argent** pour révéler les régions chromosomiques actives dans la formation du

nucléole. Elle met en évidence les sites de transcription des gènes de l'ARN ribosomique sur les chromosomes.

3.4. Cytophotométrie ou cytométrie en flux :

La cytométrie en flux est une technique d'analyse cellulaire **quantitative** qui permet de caractériser et de trier, à haute vitesse, des populations de cellules individuelles. Pour ce faire, les cellules en suspension sont d'abord marquées spécifiquement à l'aide de fluorochromes qui se lient à leurs composants d'intérêt, tels que l'ADN ou des protéines. Elles sont ensuite alignées par un flux liquide et exposées une à une à un faisceau laser. L'excitation des fluorochromes génère alors des signaux de fluorescence et de diffusion lumineuse, qui sont captés puis quantifiés. Cette analyse multiparamétrique permet de révéler avec précision des caractéristiques essentielles des cellules, notamment leur taille, leur complexité interne et l'expression de marqueurs moléculaires spécifiques.

La cytométrie en flux trouve une application puissante dans l'analyse du génome *via* la quantification d'ADN et la génération de caryotypes en flux, offrant une approche complémentaire et quantitative aux techniques cytogénétiques classiques.

- La quantification d'ADN par cytométrie en flux repose sur un principe de marquage proportionnel. Après isolement des noyaux cellulaires par centrifugation, ceux-ci sont colorés avec un fluorochrome, tel que l'iodure de propidium, qui présente une affinité stœchiométrique pour l'ADN. Cette propriété essentielle garantit que la quantité de colorant fixée est directement proportionnelle à la masse d'ADN présente dans chaque noyau. Lors du passage individuel devant le laser, chaque noyau émet ainsi un signal fluorescent dont l'intensité reflète précisément sa teneur en ADN. Les données recueillies sont visualisées sous forme d'histogramme de distribution de l'ADN, où les pics caractéristiques correspondent aux différentes phases du cycle cellulaire : le pic G0/G1 représente les cellules au contenu diploïde normal ($2n$), le pic G2/M les cellules en phase pré-division ($4n$), tandis que la région intermédiaire S correspond à la phase de synthèse active d'ADN. Cette approche permet de détecter rapidement des anomalies chromosomiques comme les aneuploïdies, qui se manifestent par un décalage significatif du pic diploïde principal, révélateur d'un gain ou d'une perte anormale de matériel génétique.

- La cytométrie en flux permet également de générer **des caryotypes en flux**, une approche quantitative qui complète l'analyse cytogénétique conventionnelle. Pour cela, des chromosomes métaphasiques intacts sont d'abord isolés à partir de cellules en division, puis marqués avec un ou plusieurs fluorochromes dont la fixation est proportionnelle à la masse d'ADN ou spécifique de certaines séquences nucléotidiques. Chaque chromosome traverse ensuite individuellement le faisceau laser, où deux paramètres principaux sont mesurés : l'intensité de fluorescence, qui renseigne sur sa teneur en ADN, et l'angle de diffusion de la lumière, qui reflète sa longueur relative. Ces données permettent de distinguer les différents chromosomes non pas par leur banding morphologique, mais par leur profil biophysique unique. Le résultat est présenté sous la forme d'un histogramme de distribution, ou caryotype en flux, où chaque pic correspond à une paire de chromosomes classée par taille et contenu génomique. Cette technique offre une résolution particulièrement fine pour détecter et quantifier des aberrations chromosomiques complexes – telles que translocations, délétions ou additions de matériel génétique – qui pourraient échapper à l'analyse visuelle classique, en fournissant une mesure objective et hautement reproductible de l'ensemble du génome.

3.5. Hybridation moléculaire (sonde et leur marquage, techniques *FISH* et *GISH*).

L'hybridation moléculaire est une technique fondamentale en biologie qui permet de détecter et localiser des séquences spécifiques d'acides nucléiques (ADN ou ARN) dans un échantillon complexe. Le principe fondamental de l'hybridation moléculaire est simple, il est fondée sur :

- La complémentarité des bases azotées : A s'apparie avec T/U, G s'apparie avec C
- Les propriétés physicochimiques (dénaturation : renaturation) de la molécule d'ADN :
 - Dénaturation : On sépare les deux brins d'ADN de la cible (dans un chromosome, un tissu, etc.) et de la sonde par un traitement (chaleur, pH alcalin).
 - Hybridation : On met la sonde marquée en contact avec la cible dans des conditions contrôlées (température, salinité). Si la séquence de la sonde est complémentaire d'une séquence dans l'échantillon, les deux brins vont s'apparier pour former un duplex stable.

- Lavage : On élimine les sondes qui ne se sont pas liées spécifiquement (pour réduire le bruit de fond).
 - Révélation : On détecte le signal émis par la sonde qui s'est hybridée à sa cible.
- **Les sondes nucléiques et leur marquage**

Qu'est-ce qu'une sonde ?

Une sonde est un fragment d'ADN, d'ARN ou d'un oligonucleotide synthétique dont la séquence est complémentaire de la séquence cible que l'on souhaite détecter. Elle porte une marque qui permet sa détection.

- **Types de sondes**
 - Sondes double brin : Souvent des clones génomiques (BAC, YAC, cosmides).
 - Sondes simple brin : Produites par transcription *in vitro* (ribosondes) ou synthèse chimique.
 - Oligonucléotides : Courts fragments (20-50 bases) synthétisés chimiquement, très spécifiques.
- **Méthodes de marquage des sondes**

Le marquage peut être radioactif ou non radioactif.

✓ Marquage Radioactif :

- Isotopes : ^{32}P , ^{35}S , ^{33}P , ^{125}I .
- Avantage : Très grande sensibilité.
- Inconvénients : Période radioactive limitée, danger pour la santé, déchets spéciaux.

✓ Marquage non radioactif (le plus utilisé actuellement) :

Principe : Incorporation de nucléotides couplés à un haptène.

- Marqueurs courants :
 - Biotine (détectée par la Streptavidine couplée à une enzyme ou un fluorochrome).
 - Digoxigénine (DIG) (détectée par un anticorps anti-DIG couplé).
- Avantages : Stabilité, sécurité, pas de déchet radioactif.
- Détection :

- Colorimétrique : Enzyme (Phosphatase alcaline, Peroxydase) qui produit un précipité coloré.
- Fluorimétrique (pour *FISH*) : Fluorochrome (FITC, TRITC, Cy3, Cy5) qui émet de la lumière à une longueur d'onde spécifique.
- Chimiluminescente : L'enzyme produit de la lumière.

- **L'Hybridation Fluorescente *In Situ* (*FISH*)**

Le *FISH* permet de visualiser la localisation précise d'une séquence d'ADN ou d'ARN directement sur des préparations cytologiques (métaphases, noyaux interphasiques, chromosomes étalés).

✓ **Protocole Type**

- Préparation de l'échantillon : Fixation de cellules ou étalement de chromosomes sur une lame.
- Dénaturation : Traitement de la lame avec une solution alcaline ou de la chaleur pour séparer les brins d'ADN de la cible.
- Hybridation : Application de la sonde marquée avec un fluorochrome sur la lame. Incubation (de quelques heures à une nuit) pour permettre l'appariement.
- Lavages : Élimination des sondes non hybridées.
- Contre-coloration : Ajout d'un colorant comme le DAPI qui colore l'ADN de tout le noyau en bleu, permettant de visualiser l'architecture générale.
- Visualisation : Observation au microscope à fluorescence équipé de filtres spécifiques.

✓ **Applications du *FISH***

- Détection d'anomalies chromosomiques : Délétions, duplications, translocations.
- Cartographie génomique : Localisation physique d'un gène sur un chromosome.
- Dénombrement chromosomique : Compter le nombre de chromosomes spécifiques (ex : chromosomes 13, 18, 21, X, Y) dans les noyaux interphasiques pour le diagnostic prénatal non invasif.
- Étude de l'organisation nucléaire : Position des gènes dans le noyau.

- Détection d'ARN (RNA-*FISH*) : Visualiser l'expression et la localisation d'ARN messenger.

✓ Variantes du *FISH*

- m*FISH* (*FISH* multicolore) : Utilise des sondes pour tous les chromosomes, chacune marquée avec une couleur différente, permettant de peindre le caryotype.
- SKY (Spectral Karyotyping) : Similaire au m*FISH* mais utilise un système de spectrométrie pour distinguer plus de couleurs.
- *FISH* comparatif (*CGH*) : Permet de détecter des déséquilibres génomiques (gains/pertes d'ADN) dans un génome test par rapport à un génome référence.

- L'Hybridation Génomique *In Situ* (*GISH*)

Le *GISH* est une variante du *FISH* spécialisée pour l'étude des génomes hybrides ou des espèces proches.

✓ Principe

On utilise de l'ADN génomique total (non purifié, mélange de toutes les séquences) d'une espèce "A" comme sonde, marqué, et on l'hybride sur les chromosomes d'une espèce hybride "A x B" ou d'une espèce "B". En présence d'ADN "blocage" (non marqué) de l'espèce "A" ou "B", on peut discriminer les génomes parents.

✓ Applications du *GISH*

- Identification de l'origine parentale des chromosomes dans les hybrides interspécifiques ou les allopolyploïdes (ex : le blé, le coton).
- Détection de l'introgression chromosomique (transfert de gènes entre espèces).
- Étude de l'évolution des génomes et des relations phylogénétiques entre espèces.
- Détection de contaminants ou de mélanges d'espèces.

Chapitre III : Variations chromosomiques

Les variations chromosomiques désignent toute modification affectant le nombre, l'architecture, la forme ou les dimensions des chromosomes. Ces modifications peuvent survenir de manière spontanée (erreurs lors de la méiose ou de la mitose) ou être induites par des agents mutagènes.

On distingue quatre types principaux d'anomalies :

- Variations numériques (aneuploïdies, polyploïdies)
- Modifications structurales (translocations, délétions, duplications)
- Altérations morphologiques (chromosomes dicentriques, en anneau)
- Changements de taille (gain ou perte de matériel génétique)

Ces anomalies résultent de divers mécanismes tels que la non-disjonction méiotique, des cassures de l'ADN ou des réarrangements chromosomiques aberrants.

Leurs impacts s'observent à différentes échelles :

- Au niveau individuel : apparition de pathologies génétiques (trisomies), troubles de la fertilité, ou exceptionnellement, conférant des avantages sélectifs
- Dans les populations : altération de la variabilité génétique et influence sur la dynamique évolutive
- Pour les espèces : possibilité de spéciation (comme dans les cas de polyploïdie végétale) ou, à l'inverse, une diminution de la survie et de la capacité reproductive.

1. Variation de nombre chromosomique :

L'étude des variations chromosomiques numériques repose sur une terminologie précise, particulièrement lorsqu'on aborde les organismes polyploïdes. Pour éviter toute confusion entre les différents "niveaux" de ploïdie, il est impératif de distinguer deux concepts fondamentaux

- **Le nombre chromosomique de base (x)** représente le nombre minimal de chromosomes constituant un jeu chromosomique complet et non redondant. Il définit l'identité génomique fondamentale d'une espèce. Cette caractéristique est une constante pour l'espèce, indépendante du niveau de ploïdie des individus.

- **Le nombre chromosomique haploïde (n)** désigne la quantité de chromosomes contenue dans un gamète (qu'il s'agisse d'un anthérozoïde/spermatozoïde ou d'une oosphère/ovule). Ce nombre n , caractéristique de l'espèce, résulte de la méiose, un processus de division cellulaire qui réduit de moitié le stock chromosomique des cellules somatiques.

Les variations chromosomiques de nombre correspondent à toute modification du **nombre normal** de chromosomes dans le noyau d'une cellule.

Elles peuvent concerner **l'ensemble du génome** (variation du nombre de lots complets de chromosomes) ou **un ou plusieurs chromosomes isolés**.

On distingue donc deux grands types : l'**euploïdie** et l'**aneuploïdie**.

1.1. L'euploïdie

L'euploïdie désigne les individus ou cellules qui possèdent un nombre entier de lots chromosomiques complets, c'est-à-dire un multiple du nombre chromosomique de base (x).

Exemple : $x = 7$, alors un individu diploïde aura $2n = 2x = 14$, un triploïde $2n = 3x = 21$, un tétraploïde $2n = 4x = 28$, etc.

On distingue deux formes :

- L'autopolyploïdie

Elle résulte de la duplication d'un même génome au sein d'une espèce, ce qui signifie que tous les jeux de chromosomes supplémentaires proviennent d'un seul et même patrimoine génétique. Ce doublement peut survenir principalement de deux manières :

- Soit par une non-disjonction des chromosomes lors de la méiose ou de la mitose,
- Soit par la fusion de gamètes non réduits ($2x$).

Des exemples typiques d'autopolyploïdie se rencontrent chez plusieurs plantes cultivées, notamment la pomme de terre (*Solanum tuberosum*, tétraploïde, $4x$), la luzerne et certaines variétés de blé.

L'autopolyploïdie entraîne souvent une augmentation de la taille cellulaire, de la vigueur végétative et de la taille des organes, mais peut aussi provoquer une stérilité partielle en raison d'un déséquilibre méiotique.

- L'allopolyplœdie

Elle résulte de l'hybridation entre deux espèces différentes, suivie d'une duplication chromosomique. Les génomes impliqués sont donc d'origine distincte, par exemple A et B, puis la duplication donne un ensemble AABB. Cette duplication chromosomique permet de rétablir la fertilité, car elle rend possible la formation de paires homologues lors de la méiose. Ce phénomène est à l'origine de nombreuses espèces cultivées importantes. Parmi les exemples les plus connus figurent le blé tendre (*Triticum aestivum*, $2n = 6x = 42$), issu d'hybridations successives entre espèces diploïdes et tétraploïdes, ainsi que le coton (*Gossypium hirsutum*, $2n = 4x = 52$).

1.2. L'aneuploïdie

L'aneuploïdie correspond à une variation du nombre d'un ou de quelques chromosomes, et non de l'ensemble du lot. Elle résulte d'une non-disjonction lors de la méiose ou la mitose. Les cellules ne possèdent donc pas un multiple exact du nombre de base.

Les principaux types d'aneuploïdie sont :

- La monosomie ($2n = 2x - 1$)

Elle résulte de la perte d'un chromosome. Exemple monosomie X (syndrome de Turner : $2n = 46 - 1 = 45$) chez l'homme

- La polysomie ($2n = 2x + 1$, $2n = 2x + 2$, etc.)

Elle résulte du gain d'un ou plusieurs chromosomes. On a : la trisomie ($2n = 2x + 1$), la tétrasomie ($2n = 2x + 2$). La Double trisomique ($2n = 2x + 1 + 1$). Exemple : Chez l'homme : trisomie 21 (syndrome de Down), trisomie 18, etc.

- La Nullisomie ($2n = 2x - 2$)

Elle résulte de la perte d'une même paire de chromosomes homologues.

2. Variations de morphologie des chromosomiques

2.1. L'isochromosome

C'est un chromosome anormal qui possède deux bras identiques (mêmes loci). Il se forme lors de la division cellulaire suite à une division anormale du centromère. Au lieu de se scinder longitudinalement pour séparer les chromatides sœurs, le centromère se divise

transversalement. Cette erreur entraîne la séparation des bras courts et des bras longs, générant un nouveau chromosome composé exclusivement de deux bras longs (ou de deux bras courts) qui fusionnent. Le bras complémentaire est généralement perdu.

Un isochromosome peut être monocentrique ou dicentrique selon le mécanisme de sa formation (**Fig. 17**).

Remarque : Le statut génétique des bras dépend du mécanisme de formation. Lors d'une mitose, les chromatides sœurs étant identiques, l'isochromosome résultant sera **homozygote**. Lors de la méiose, si un enjambement s'est produit, la fusion de deux bras homologues peut créer un isochromosome **hétérozygote** au niveau des segments recombinaisonnés. En l'absence d'enjambement, il restera homozygote.

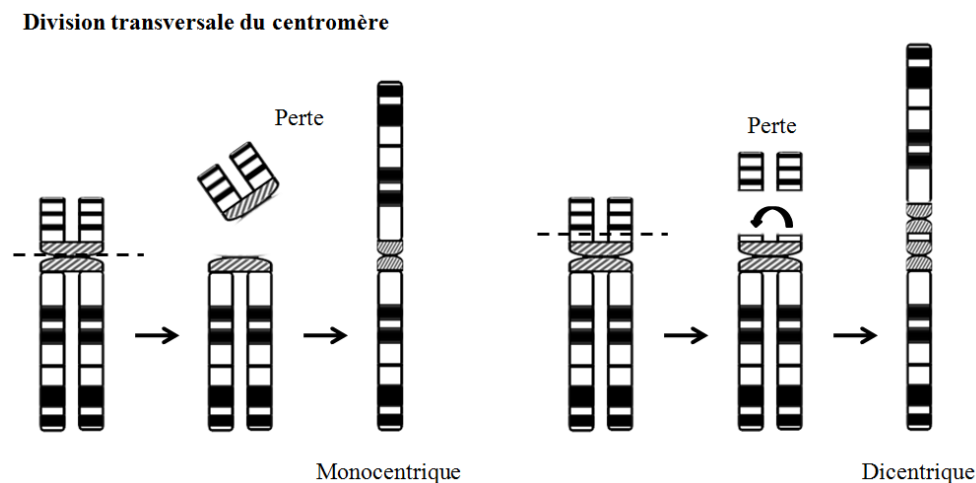


Fig. 17 : Le mécanisme de formation d'un isochromosome

2.2. Le chromosome en anneau

Un chromosome en anneau (ou chromosome annulaire) est un chromosome anormal dont la structure habituellement linéaire (en forme de bâtonnet) s'est refermée sur elle-même pour former un cercle ou un anneau.

La formation d'un chromosome en anneau résulte d'un processus en deux étapes. Premièrement, des cassures double-brin se produisent simultanément sur les deux bras du chromosome, de part et d'autre du centromère. Deuxièmement, au lieu d'une réparation fidèle, un mécanisme anormal de réparation "colle" ensemble ces extrémités cassées, entraînant la

perte des télomères et des fragments génétiques adjacents, et la soudure des brins d'ADN en une boucle fermée. Cette fermeture en boucle transforme ainsi définitivement la structure linéaire originale en anneau, privé de ses extrémités protectrices naturelles (**Fig. 18**).

La formation d'un chromosome en anneau entraîne trois conséquences majeures. D'abord, elle provoque une perte de matériel génétique aux extrémités chromosomiques, supprimant des gènes essentiels et causant des anomalies phénotypiques. Ensuite, lors des divisions cellulaires, le chromosome annulaire présente une instabilité mitotique : les chromatides sœurs s'entremêlent et fusionnent, créant des structures anormales qui perturbent la ségrégation chromosomique et génèrent une instabilité génomique permanente. Enfin, l'absence de télomères laisse le chromosome sans protection, favorisant des fusions supplémentaires et potentiellement déclenchant la mort cellulaire. Ensemble, ces effets compromettent gravement la fonction et la survie cellulaires.

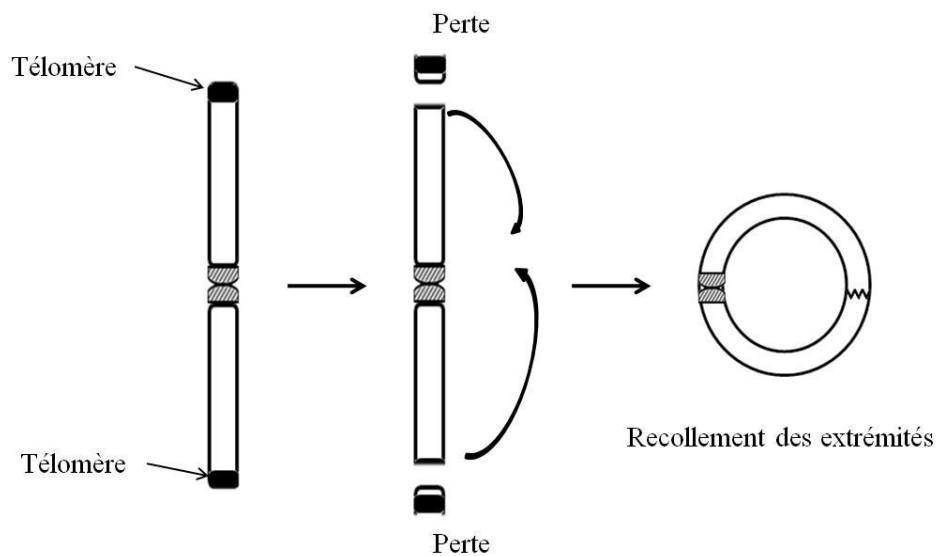


Fig. 18 : Le mécanisme de formation d'un chromosome en anneau

2.3. Translocations robertsoniennes (fusion centrique)

Une translocation robertsonienne est un réarrangement chromosomique structurel où deux chromosomes fusionnent par leur région centromérique pour n'en former qu'un seul. Ce type de translocation concerne spécifiquement des chromosomes dits "acrocentriques". Le résultat de cette fusion est la création d'un chromosome dit "dérivé", unique et de grande taille.

La translocation robertsonienne se forme en trois étapes clés. D'abord, deux chromosomes acrocentriques subissent des cassures au niveau de leurs bras courts. Ensuite, les fragments des bras courts sont éliminés, ce qui est sans conséquence majeure car ces régions contiennent peu de gènes essentiels. Enfin, les segments restants, portant les centromères et les longs bras, fusionnent pour créer un nouveau chromosome dérivé stable, qui conserve l'essentiel du matériel génétique des deux chromosomes d'origine (**Fig. 19**).

Les conséquences de la translocation robertsonienne présentent deux aspects distincts. Chez le porteur équilibré, qui possède un chromosome de moins mais l'ensemble du matériel génétique essentiel, la translocation est généralement sans effet sur la santé. Cependant, lors de la reproduction, cette anomalie devient significative : la méiose peut produire des gamètes au contenu chromosomique déséquilibré. Selon les cas, cette transmission peut entraîner soit la non viabilité de l'embryon, soit le développement d'anomalies chromosomiques (trisomies ou monosomies) chez la descendance, se manifestant par des malformations et des déficiences développementales potentiellement graves.

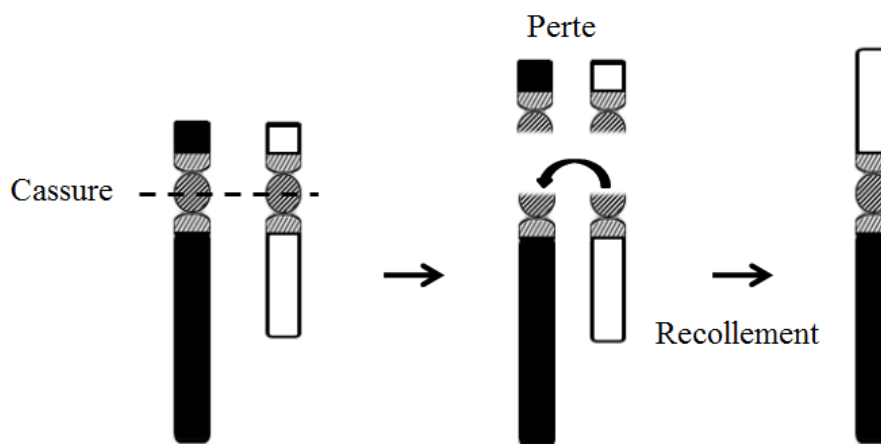


Fig. 19 : Le mécanisme de formation d'une translocation robertsonienne

2.4. Cycle pont-rupture- liaison- pont

Le cycle pont-rupture-fusion-pont (aussi appelé cycle BFB, pour Breakage-Fusion-Bridge) est un mécanisme auto-entretenu d'instabilité chromosomique où un chromosome subit une succession de dommages à chaque division cellulaire. Ce cercle vicieux transforme effectivement la forme du chromosome à chaque génération cellulaire et peut produire des tissus mosaïques présentant des panachures - des taches irrégulières de phénotype anormal sur un fond tissulaire normal.

Le cycle s'enclenche lorsqu'un chromosome présente une rupture initiale. Lors de la réplication, les extrémités rompues de la chromatide sœur, qualifiées de "collantes", sont fusionnées par les mécanismes de réparation de l'ADN. À l'anaphase, lorsque les chromatides migrent vers les pôles opposés, cette fusion anormale crée un pont chromosomique caractéristique. Ce pont se rompt ensuite de manière aléatoire le long de sa longueur, générant de nouvelles extrémités collantes qui perpétuent le cycle à la division suivante (Fig. 20). La taille des tissus anormaux ainsi générés suit une relation inverse avec le timing du développement : plus la rupture initiale apparaît précocement, plus la zone de tissu affectée sera étendue.

Les conséquences sont triples. Le cycle produit une amplification et délétion géniques massives puisque chaque rupture aléatoire redistribue différemment le matériel génétique aux cellules filles. Il engendre une instabilité génomique permanente, créant une diversité de caryotypes aberrants au sein de la population cellulaire. Enfin, il peut conduire soit à la mort cellulaire par perte de gènes essentiels, soit à l'émergence de clones cellulaires avantageés, favorisant ainsi l'apparition de cancers. Les mosaïques tissulaires résultantes manifestent cette hétérogénéité cellulaire par leurs panachures caractéristiques.

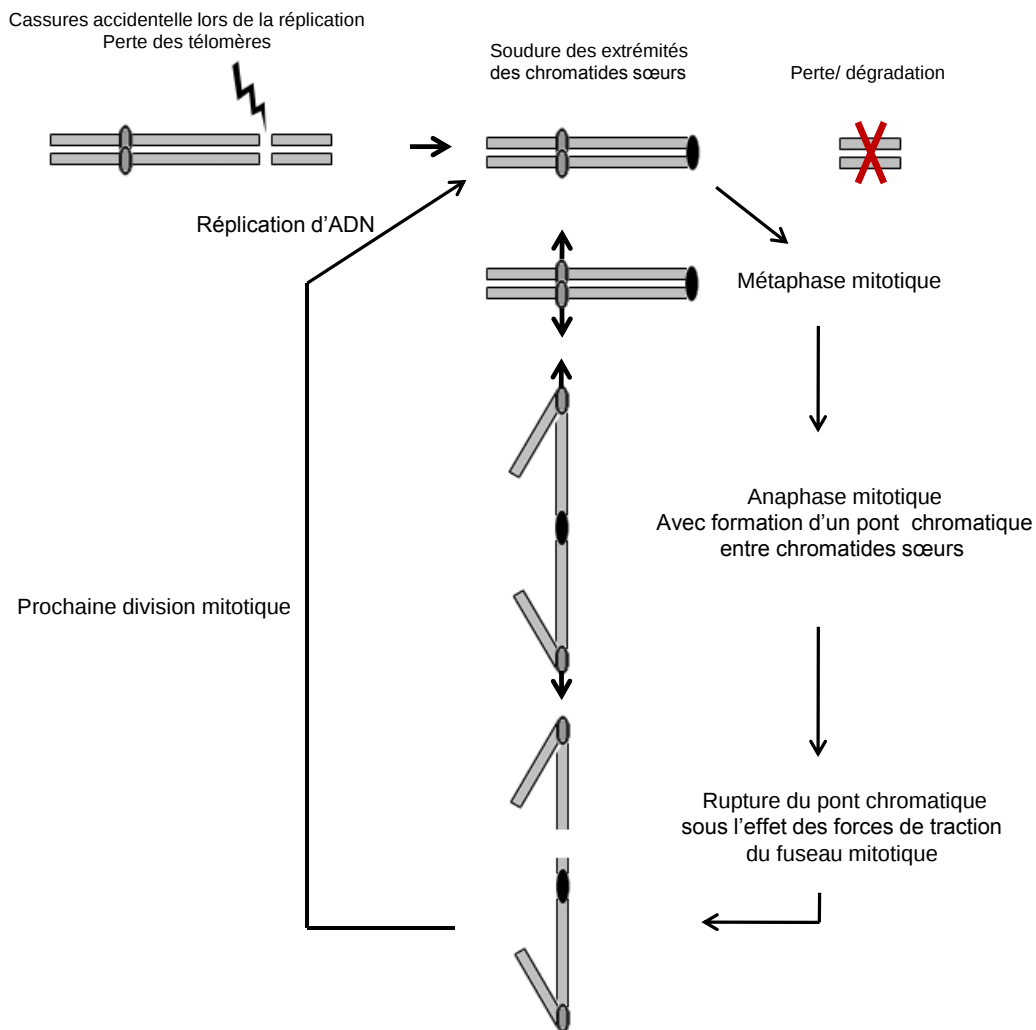


Fig. 20 : Le mécanisme de formation du cycle pont-rupture-fusion-pont

3. Variation de taille des chromosomes

La variation de la taille des chromosomes désigne les différences observables dans les dimensions des chromosomes, principalement en longueur, entre les espèces ou au sein d'un même génome. Ces différences reflètent des écarts dans la quantité d'ADN et dans l'organisation structurale des chromosomes.

La taille des chromosomes varie principalement sous l'action de trois mécanismes interdépendants. Premièrement, des **changements dans la quantité d'ADN** surviennent par duplication (amplification de segments), délétion (perte de matériel génétique) ou insertion de nouvelles séquences. Deuxièmement, la **variation des séquences répétées** contribue

significativement à travers l'expansion ou la contraction des régions d'ADN répétitif, notamment des séquences satellite et de l'ADN intergénique. Troisièmement, des **remaniements chromosomiques majeurs** comme les fusions (translocations robertsoniennes), les fissions ou la formation de chromosomes géants par amplification modifient radicalement l'architecture et les dimensions des chromosomes.

Les variations de taille chromosomique présentent un double impact évolutif et fonctionnel. Bien qu'elles n'affectent pas la complexité des organismes, elles favorisent l'adaptation et la diversification des espèces. Fonctionnellement, elles constituent une source de diversité génétique mais peuvent aussi entraîner des déséquilibres et des maladies en perturbant la régulation des gènes.

Exemple : Les chromosomes polytènes (Fig. 21)

Les chromosomes polytènes sont des structures chromosomiques géantes qui se forment par un processus d'endoréduplication, où de multiples cycles de réplication de l'ADN se succèdent sans division cellulaire, conduisant à l'alignement parfait de centaines de chromatides sœurs. Principalement observés dans les glandes salivaires des diptères comme les drosophiles, ces chromosomes présentent une structure caractéristique en bandes correspondant à différents niveaux de condensation de l'ADN. Les "puffs" transcriptionnels, zones de décondensation visibles en microscopie, témoignent d'une activité génique intense. Ces chromosomes exceptionnels permettent une production massive de protéines et offrent un modèle unique pour étudier l'organisation et l'expression des gènes *in situ*.

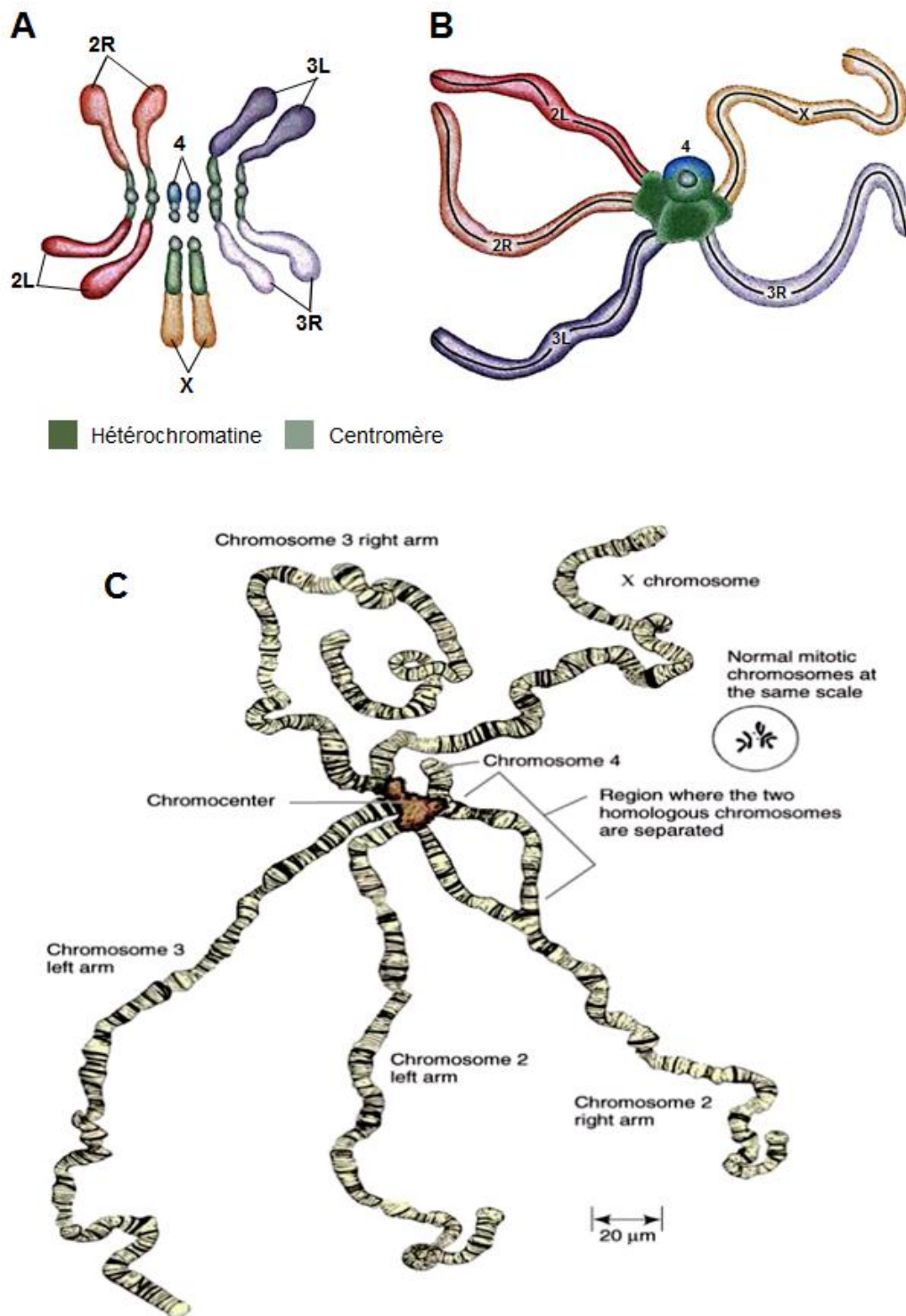


Fig. 21 : Chromosomes polytènes: A- chromosomes en métaphase mitotique, B- l'Hétérochromatine fusionne pour former le chromocentre, C- photographie des chromosomes polytènes (Griffiths et al. 2002)

4. Variations de structure des chromosomes

Les anomalies de structure sont le résultat de cassures chromosomiques suivies de mécanismes de réparation anormaux sur un ou plusieurs chromosomes. Bien que ces événements soient aléatoires, certains sites génomiques sont plus fragiles, conduisant à des anomalies récurrentes. La plupart de ces remaniements entraînent un phénotype anormal et une diminution de la fertilité chez les individus concernés. Cependant, à l'échelle évolutive, elles représentent une source importante de diversité génétique et participent à la variation au sein des espèces.

4.1. La délétion

Une délétion est une anomalie chromosomique structurelle déséquilibrée, caractérisée par la perte d'un segment d'ADN. Cette perte, qui peut concerner quelques paires de bases (microdélétion) ou plusieurs gènes (macrodélétion), entraîne une monosomie partielle pour la région concernée.

On distingue deux formes principales :

- La délétion terminale, provoquée par une cassure unique entraînant la perte d'une extrémité chromosomique (**Fig. 22a**).
- La délétion interstitielle (ou intercalaire), résultant de deux cassures sur le même bras, suivies de la perte du segment intermédiaire et de la fusion des parties restantes (**Fig. 22b**).

La gravité des conséquences de la délétion dépend de la taille de la région perdue et de l'importance fonctionnelle des gènes concernés. Si cette anomalie est souvent source de pathologies, elle participe aussi à l'évolution des génomes en éliminant des séquences génétiques.

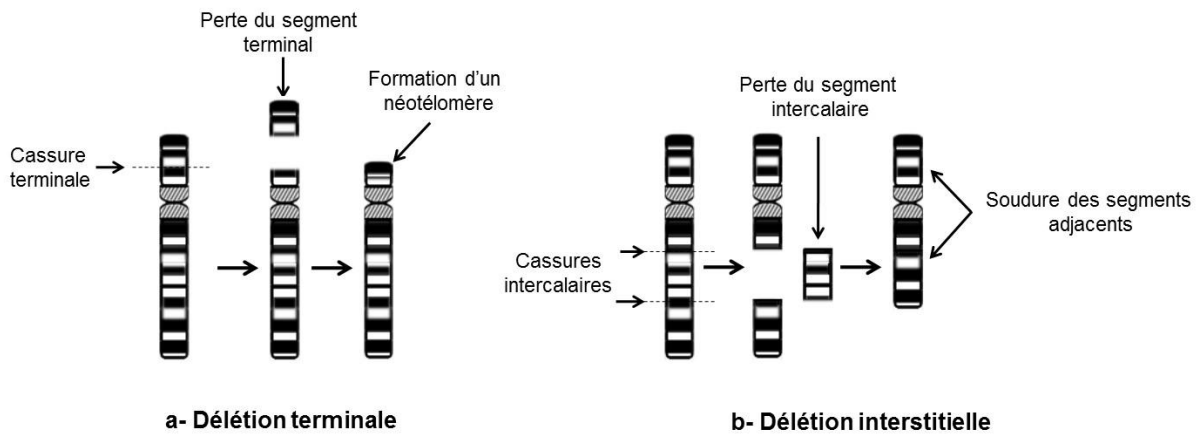


Fig. 22 : Le mécanisme de formation des délétions

4.2. L'inversion

Une inversion est un réarrangement chromosomique structural dans lequel un segment de chromosome est retourné à 180° par rapport à son orientation normale. Il s'agit d'une anomalie équilibrée, ce qui signifie qu'il n'y a ni perte ni gain de matériel génétique, mais simplement un changement dans l'ordre des gènes.

La formation d'une inversion suit un processus en deux étapes :

- Double cassure : Deux cassures se produisent simultanément sur le même chromosome.
- Rétro-insertion : Le fragment détaché se réinsère dans le chromosome après avoir effectué une rotation de 180° .

On distingue deux types d'inversions :

- Inversion paracentrique : Le segment inversé n'inclut pas le centromère et se situe sur un seul bras chromosomique (**Fig. 23a**)
- Inversion péricentrique : Le segment inversé inclut le centromère (**Fig. 23b**)

Bien que généralement sans effet pour le porteur, les inversions chromosomiques ont des conséquences majeures lors de la reproduction. Lors de la formation des gamètes, la présence d'un segment inversé perturbe l'appariement des chromosomes et peut générer des recombinants déséquilibrés. Ces anomalies méiotiques entraînent souvent une réduction de la fertilité et une augmentation des avortements spontanés. Sur le plan évolutif, les inversions

jouent un rôle crucial en maintenant des combinaisons génétiques avantageuses et en favorisant l'isolement reproductif, contribuant ainsi à l'émergence de nouvelles espèces.

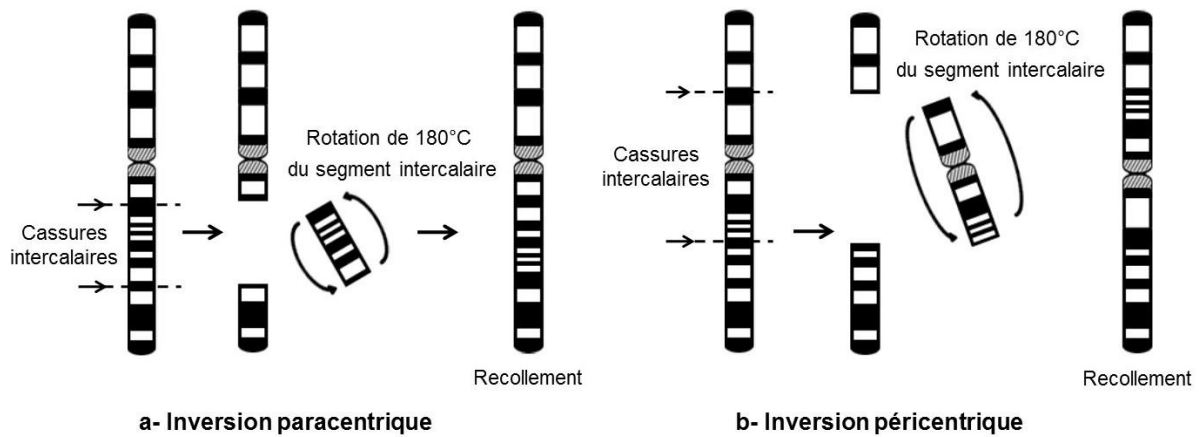


Fig. 23 : Le mécanisme de formation des inversions

4.3. La duplication

Une duplication est une anomalie chromosomique structurale caractérisée par la présence d'un segment chromosomique en double exemplaire sur un même chromosome. Il s'agit d'un gain de matériel génétique qui peut concerner quelques gènes ou de larges régions chromosomiques.

La formation des duplications résulte principalement de trois mécanismes. La recombinaison inégale survient lors d'un mauvais alignement des chromosomes durant la méiose, conduisant à un transfert inégal de matériel génétique. La réplication anormale se produit quand l'ADN polymérase "glisse" et copie plusieurs fois un même segment. Enfin, des erreurs de réparation après cassure chromosomique peuvent insérer des segments supplémentaires. Ces processus génèrent ainsi des régions dupliquées qui deviennent source de variation évolutive.

On distingue deux types d'organisation du segment dupliqué :

- La duplication en tandem (directe) où le segment est répété dans la même orientation que la séquence originale (**Fig. 24a**).

- La duplication « en miroir » (indirecte) où le segment est répété en orientation inverse par rapport à la séquence d'origine (**Fig. 24b**).

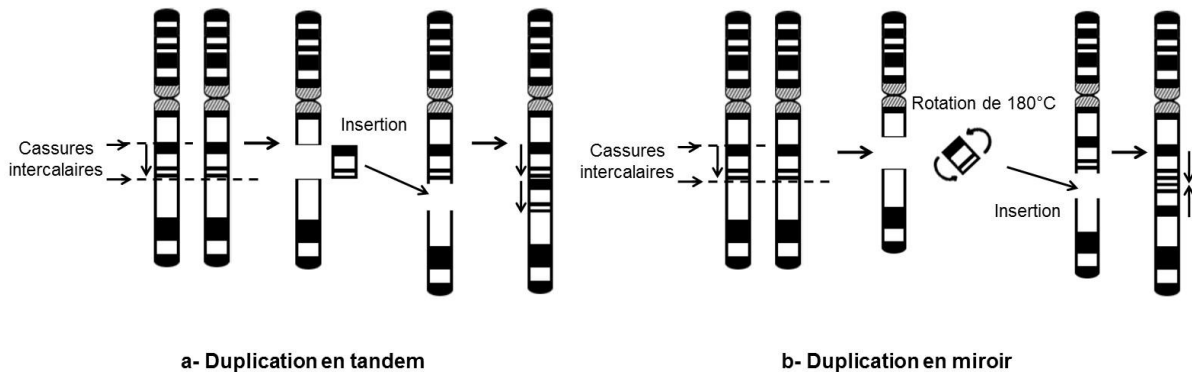


Fig. 24 : Le mécanisme de formation d'une duplication

4.4. Les translocations

Une translocation est un réarrangement chromosomique caractérisé par le transfert d'un segment d'ADN d'un chromosome à un autre, suite à une ou plusieurs cassures. Il s'agit le plus souvent d'une anomalie équilibrée, n'entraînant ni perte ni gain de matériel génétique. Elle implique généralement deux chromosomes, mais peut être plus complexe, avec un risque important de produire une descendance porteuse de remaniements déséquilibrés.

On distingue principalement :

- La translocation réciproque

Elle correspond un échange mutuel de fragments chromosomiques entre deux chromosomes non homologues (**Fig. 25**). Dans sa forme équilibrée, cet échange n'entraîne ni perte ni gain de matériel génétique, et le porteur est généralement phénotypiquement normal. Cependant, si l'échange s'accompagne d'une délétion ou d'un remaniement supplémentaire, la translocation devient déséquilibrée et peut entraîner des anomalies phénotypiques.

Lors de la méiose, les chromosomes remaniés présentent des difficultés d'appariement :

- Chez un individu homozygote pour la translocation, les chromosomes s'apparient normalement en formant des bivalents.

- Chez un individu hétérozygote, les chromosomes homologues partiellement modifiés forment une structure d'appariement complexe, souvent un quadrivalent (ou tétravalent) (**Fig. 26**), ce qui perturbe la ségrégation chromosomique. Cette mauvaise ségrégation méiotique peut produire des gamètes porteurs de remaniements déséquilibrés (non viables).

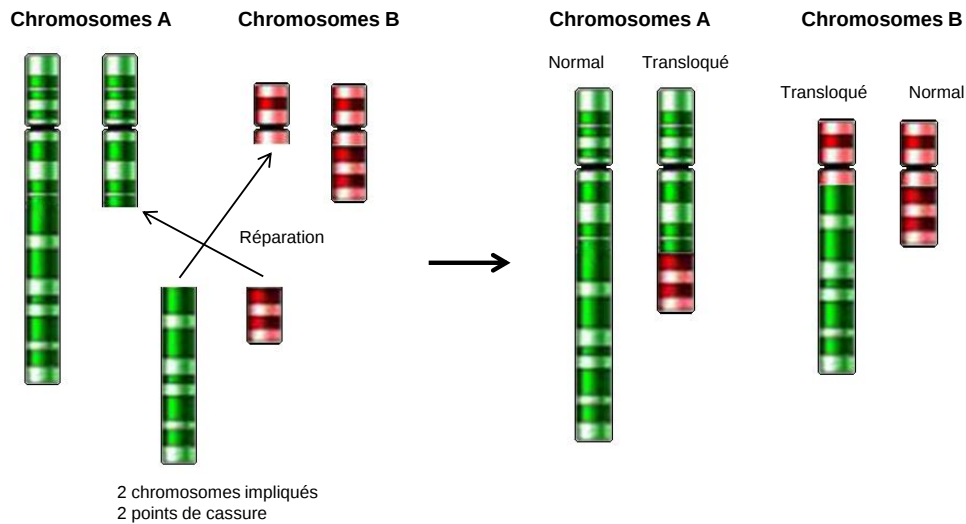


Fig. 25 : Le mécanisme de formation d'une translocation réciproque.

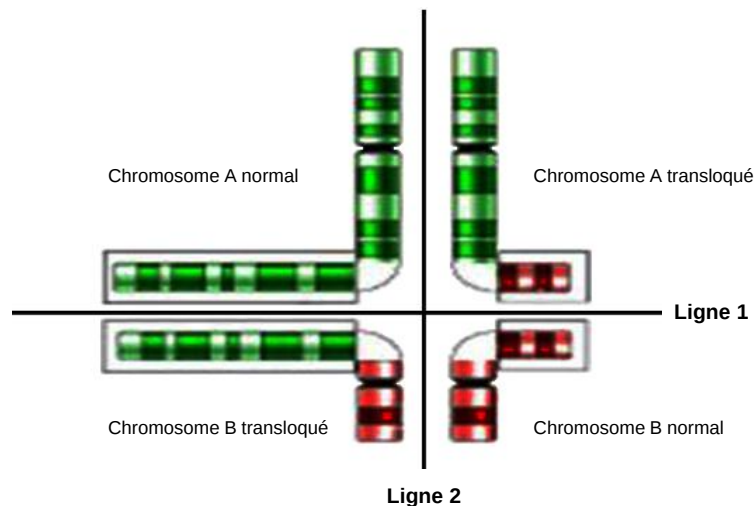


Fig. 26 : Exemple de formation d'un tétravalent à la méiose I dans le cas d'une translocation réciproque hétérozygote

- L'insertion

Il s'agit d'un cas particulier de translocation, impliquant le transfert d'un segment chromosomique intercalaire à l'intérieur d'un autre chromosome. Cette anomalie nécessite trois points de cassure : un sur le chromosome receveur et deux sur le chromosome donneur, ce qui libère le fragment intercalaire.

Le chromosome donneur peut également être le chromosome receveur. Dans ce cas, il s'agit du déplacement d'un fragment chromosomique d'un site à un autre sur le même chromosome. Le fragment peut conserver la même orientation (on parle alors d'insertion directe) ou avoir une orientation inverse (insertion inversée).

L'insertion est un remaniement équilibré sur le plan génétique, mais elle est très instable lors de la méiose.

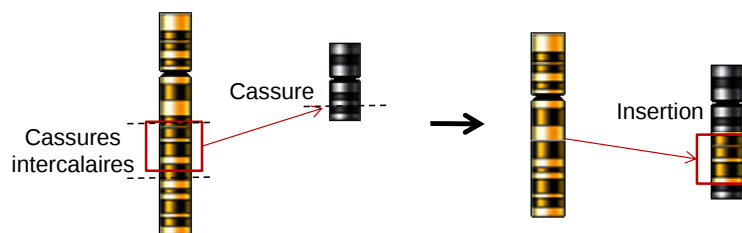


Fig. 27 : Le mécanisme de formation d'une insertion.

Chapitre IV : Cytogénétique et évolution

L'évolution des espèces résulte de modifications génétiques et chromosomiques qui transforment la structure des gènes et l'organisation du génome. La cytogénétique étudie ces variations pour comprendre comment elles favorisent l'adaptation et la diversification des organismes.

Ces mécanismes incluent :

- La variation de la quantité d'ADN, la duplication génique et les éléments transposables, sources d'innovation génétique.
- Les réarrangements chromosomiques (inversions, translocations, délétions) qui modifient la structure des chromosomes et influencent la transmission des caractères.
- La polyploïdie, qui augmente le nombre de jeux de chromosomes et stimule la diversification, surtout chez les plantes.

1. Variation de la quantité d'ADN et la duplication des gènes, éléments transposables.

L'évolution du génome repose sur des mécanismes qui modifient sa taille et son organisation. Parmi eux, la variation de la quantité d'ADN, la duplication des gènes et l'action des éléments transposables jouent un rôle clé dans l'adaptation des organismes et la diversification des espèces.

1.1. La variation de la quantité d'ADN

La quantité d'ADN dans une cellule peut varier considérablement d'une espèce à l'autre, et même au sein d'une même lignée évolutive. Cette variation est influencée par plusieurs facteurs :

- L'accumulation d'ADN non codant, qui peut augmenter la taille du génome sans forcément modifier le nombre de gènes.
- La duplication de segments chromosomiques, qui entraîne l'ajout de nouvelles copies de gènes ou de séquences régulatrices.
- L'élimination de séquences d'ADN, par recombinaison ou délétion, permettant de stabiliser la taille du génome et d'éliminer les séquences redondantes ou inutiles.

Ces fluctuations influencent directement la complexité génétique et peuvent jouer un rôle dans l'adaptation des espèces en modifiant l'expression des gènes et la diversité génomique

1.2. La duplication des gènes

La duplication des gènes est l'un des mécanismes majeurs de diversification du génome. Elle se produit lorsque des copies supplémentaires d'un gène apparaissent suite à :

- Des duplications segmentaires, qui concernent des portions de chromosomes contenant plusieurs gènes.
- Des événements de polyploïdie, où l'ensemble du génome est dupliqué, notamment chez les plantes.
- Des rétrotranspositions, où un ARN messager est rétrotranscrit en ADN et intégré à un autre endroit du génome.

Les copies de gènes nouvellement formées peuvent suivre différentes trajectoires évolutives :

- Conservation : si le gène dupliqué reste fonctionnel et continue d'assurer son rôle initial.
- Spécialisation (néofonctionnalisation) : l'une des copies acquiert une nouvelle fonction avantageuse pour l'organisme.
- Dégénérescence (pseudogénisation) : le gène dupliqué s'accumule des mutations et devient non fonctionnel.

Ce phénomène est à l'origine de l'évolution de nombreuses familles de gènes impliquées dans des fonctions essentielles, comme l'immunité, la photosynthèse ou le développement. **Exemple** : l'apparition de la vision trichomate chez les primates

1.3. Les éléments transposables

Les éléments transposables, ou transposons, sont des séquences d'ADN capables de se déplacer d'un endroit à un autre dans le génome. Ils représentent une part importante du génome de nombreux organismes et peuvent avoir des effets variés :

- Augmentation de la taille du génome, en s'insérant à différents endroits.
- Modification de l'expression des gènes, en influençant la régulation génétique.
- Création de nouvelles séquences régulatrices, favorisant l'émergence de nouveaux réseaux d'expression génique.
- Réarrangements chromosomiques, pouvant générer de la diversité génétique mais aussi des mutations délétères.

Malgré leur potentiel perturbateur, ces éléments ont joué un rôle clé dans l'évolution en contribuant à l'émergence de nouvelles fonctions génétiques et en favorisant l'innovation évolutive.

2. Restructurations chromosomiques et évolution

Les restructurations chromosomiques désignent l'ensemble des modifications affectant la structure ou l'organisation des chromosomes. Ces réarrangements, qui modifient l'ordre, le nombre ou la position des gènes, jouent un rôle essentiel dans l'évolution des espèces.

Ils peuvent influencer la stabilité du génome, la fertilité, la diversité génétique et même contribuer à la spéciation (formation de nouvelles espèces).

Ces changements ne concernent pas la séquence des gènes eux-mêmes, mais la manière dont ces gènes sont organisés dans le génome, ce qui peut avoir des effets considérables sur leur expression et leur transmission.

Les restructurations chromosomiques se divisent en deux grandes catégories :

- Les réarrangements intrachromosomiques (au sein d'un même chromosome),
- Les réarrangements interchromosomiques (entre chromosomes différents).

Les principaux types sont :

2.1. Les Délétions

Une délétion correspond à la perte d'un fragment chromosomique contenant un ou plusieurs gènes. Elle peut être interstitielle (au milieu du chromosome) ou terminale (à l'extrémité). Cette perte peut entraîner des effets graves si elle concerne des gènes essentiels.

Exemples :

- La délétion sur le bras court du chromosome 5 chez l'homme cause le syndrome du cri du chat.
- Chez les plantes, de petites délétions peuvent aussi favoriser des adaptations locales en éliminant des gènes devenus inutiles dans un environnement donné.

2.2. Les duplications

Une duplication est la répétition d'un fragment de chromosome. Elle augmente la quantité d'ADN et peut fournir de la matière première à l'évolution, car une copie du gène peut évoluer vers une nouvelle fonction (voir le point sur la duplication des gènes).

Exemple : Dans le génome du blé, des duplications chromosomiques ont conduit à l'apparition de nouvelles protéines de stockage, améliorant la qualité des grains.

2.3. Les Inversions

Une inversion se produit lorsqu'un fragment chromosomique se détache, pivote à 180°, puis se rattache au chromosome.

- Si le centromère n'est pas inclus : inversion paracentrique.
- Si le centromère est inclus : inversion péricentrique.

Les inversions modifient l'ordre des gènes, ce qui peut influencer leur expression et limiter les recombinaisons lors de la méiose, favorisant ainsi la divergence génétique entre populations.

Exemple : Des inversions sont impliquées dans la spéciation chez certaines mouches du genre *Drosophila* et dans l'adaptation aux climats variables chez *Arabidopsis thaliana*.

2.4. Les Translocations

Une translocation résulte d'un échange de fragments entre deux chromosomes non homologues.

- Si l'échange est équilibré, il n'y a pas de perte de matériel génétique, mais la descendance peut être génétiquement instable.
- Si elle est non équilibrée, il y a perte ou gain de gènes, souvent délétère.

Les translocations jouent un rôle majeur dans la différenciation chromosomique et la formation de nouvelles espèces.

Exemple : Certaines espèces de blé et de seigle (*Triticum* × *Secale*) résultent de translocations naturelles stabilisées au cours de l'évolution.

2.5. Les Fusions et Fissions Chromosomiques

Une fusion correspond à l'union de deux chromosomes distincts en un seul (réduction du nombre chromosomique). Une fission est la fragmentation d'un chromosome en deux (augmentation du nombre chromosomique).

Ces phénomènes modifient le caryotype (nombre et forme des chromosomes) et peuvent contribuer à l'isolement reproductif entre espèces.

Exemple : la fusion de deux chromosomes ancestraux est à l'origine du chromosome 2 chez l'homme, absent chez les autres primates.

Chez les plantes, les fusions et fissions sont fréquentes et participent à la diversification génomique. Exemple dans le genre *Medicago* : le génome de *M. murex* ($2n=2x=14$) provient de celui de *M. lesinsii* ($2n=2x=16$) par fusion des chromosomes 3 et 8 suivi d'un isolement reproductif entre ces deux espèces.

- Effets évolutifs des restructurations chromosomiques

Les restructurations chromosomiques peuvent avoir des effets neutres, bénéfiques ou délétères, selon leur nature et leur ampleur. Leur impact évolutif se manifeste à plusieurs niveaux :

➤ Génération de diversité génétique

Les réarrangements modifient la position des gènes, créant de nouvelles combinaisons génétiques et donc de la variabilité. Cela favorise l'adaptation à différents environnements et peut contribuer à la plasticité évolutive des espèces.

➤ Modulation de l'expression des gènes

Le déplacement d'un gène dans une nouvelle région chromosomique peut l'exposer à d'autres régions régulatrices (effet de position), modifiant son niveau d'expression.

Ainsi, des gènes dupliqués ou transloqués peuvent acquérir de nouvelles fonctions ou être activés dans d'autres tissus.

➤ Isolement reproductif et spéciation

Les individus porteurs de réarrangements chromosomiques différents peuvent produire des gamètes anormaux, entraînant une réduction de fertilité. Ce phénomène limite les croisements entre populations, favorisant ainsi la formation de nouvelles espèces (spéciation chromosomique).

Exemple d'évolution de caryotype par restructurations chromosomiques chez la souris *Perognathus goldmani* dans le nord du Mexique

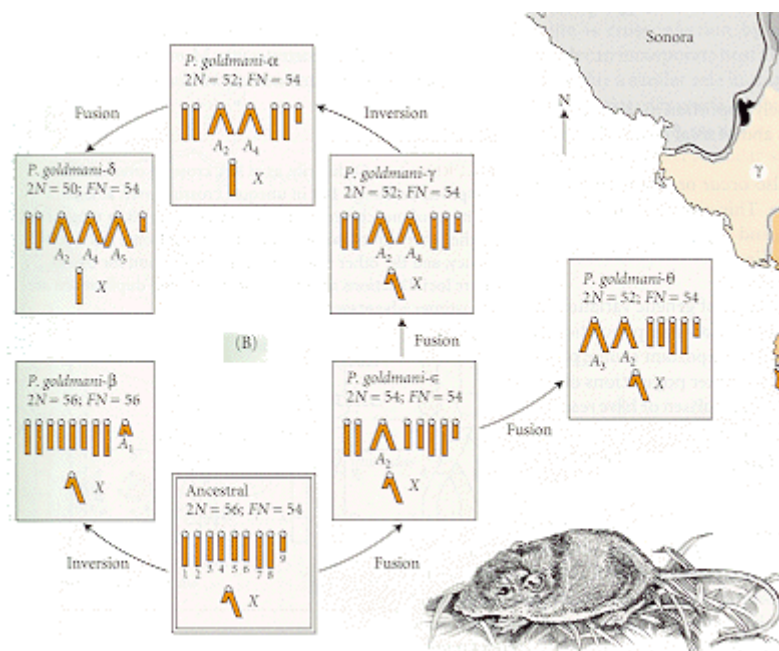


Fig. 26 : Evolution de caryotype par restructurations chromosomiques chez la souris *Perognathus goldmani* dans le nord du Mexique

➤ Stabilisation et adaptation du génome

Certaines restructurations peuvent stabiliser le génome en réduisant les recombinaisons indésirables ou en adaptant la structure chromosomique aux besoins métaboliques et écologiques de l'espèce.

3. Polyploïdie et Évolution

La polyploïdie désigne la présence de plus de deux jeux complets de chromosomes dans les cellules d'un organisme. Chez les eucaryotes, le génome est généralement diploïde ($2n=2x$), c'est-à-dire constitué de deux séries de chromosomes homologues, l'une d'origine maternelle et l'autre paternelle. Cependant, certains organismes possèdent $2n= 3x$ (triploïdes), $2n= 4x$ (tétraploïdes) ou davantage de séries chromosomiques $6x$, $8x$... (hexaploïdes, octoploïdes, etc.).

➤ Les différents types de polyploïdie

❖ L'autopolyploïdie

- Elle résulte de la duplication du génome d'une seule espèce.
- Tous les jeux chromosomiques proviennent du même génome ancestral.
- Ce phénomène peut survenir par non-disjonction des chromosomes lors de la méiose ou de la mitose, conduisant à la formation de gamètes non réduits ($2n$).
- Lorsque ces gamètes fusionnent, l'organisme obtenu devient autotétraploïde ($4x$).

Conséquences :

- Taille cellulaire et organique souvent augmentée (grains de pollen, graines, feuilles).
- Réduction de la fertilité, car les chromosomes homologues s'apparient difficilement lors de la méiose.

Exemple : certaines variétés d'oignons, de pommes de terre et de luzerne.

❖ L'allopolyploïdie

- Elle provient de la fusion de génomes appartenant à deux espèces différentes, suivie d'une duplication complète du génome hybride.
- L'organisme obtenu combine les caractéristiques génétiques des deux espèces parentales.
- Ce type de polyploïdie est fréquent chez les plantes et souvent à l'origine de nouvelles espèces stables et fertiles.

Exemples :

- Le blé tendre (*Triticum aestivum*, $2n = 6x = 42$), issu de l'hybridation entre trois espèces ancestrales de graminées.
- Le colza (*Brassica napus*, $2n = 38$), né de l'hybridation entre *Brassica rapa* et *Brassica oleracea*.

Les mécanismes d'apparition de la polyploïdie

La polyploïdie peut résulter de plusieurs processus biologiques :

- **Non-disjonction chromosomique** : échec de la séparation des chromosomes homologues lors de la méiose ou de la mitose, générant des cellules avec un nombre anormalement élevé de chromosomes.
- **Fécondation d'un gamète non réduit** ($n=2x$) par un gamète normal ($n=x$), produisant un triploïde ($2n=3x$).
- **Doublement chromosomique** spontané dans un zygote hybride, qui restaure la fertilité en rétablissant des paires homologues.
- **Traitements expérimentaux** (par exemple avec la colchicine), utilisés en agriculture pour induire la polyploïdie et créer de nouvelles variétés plus performantes.

Conséquences biologiques et évolutives de la polyploïdie

✓ Effets morphologiques et physiologiques

- Les cellules polyploïdes sont souvent plus grandes et contiennent plus d'ADN, ce qui entraîne une augmentation de la taille des organes (graines, fruits, fleurs, feuilles).
- La polyploïdie influence également le métabolisme, la résistance au stress (froid, sécheresse, salinité) et la vigueur hybride.

✓ Effets génétiques

- La duplication du génome crée une redondance génétique : certaines copies de gènes peuvent se spécialiser, acquérir de nouvelles fonctions (néofonctionnalisation) ou se désactiver (pseudogénisation).

- Cette flexibilité favorise l'innovation évolutive et l'adaptation à de nouveaux milieux.

✓ **Effets sur la reproduction et la spéciation**

- Les polyploïdes sont souvent reproductivement isolés de leurs formes diploïdes, car les croisements donnent des hybrides stériles.

Ce mécanisme favorise la formation rapide de nouvelles espèces (spéciation instantanée).

En d'autres termes, la polyploïdie agit comme un accélérateur de la diversification dans l'évolution des plantes.

➤ **Rôle évolutif de la polyploïdie**

La polyploïdie joue un rôle majeur dans l'évolution, particulièrement chez les végétaux. Elle favorise :

- L'adaptation à des milieux variés grâce à la redondance génique, permettant la tolérance à des mutations et à des conditions environnementales extrêmes.
- L'apparition de nouvelles espèces par isolement reproductif rapide des formes diploïdes.
- L'augmentation de la variabilité génétique, offrant un réservoir de gènes pouvant être modifiés, spécialisés ou silencieux au cours du temps.

Elle contribue donc à la diversification évolutive et à l'expansion écologique des groupes polyploïdes.

➤ **Distribution de la polyploïdie dans le règne végétal**

La fréquence de la polyploïdie varie fortement selon les groupes taxonomiques :

- Selon Löve (1964), les polyploïdes représentent environ 90 % des Ptéridophytes, 50 % des Monocotylédones et 30 % des Dicotylédones.
- Stebbins (1966, 1971) rapporte qu'ils constituent 30 à 35 % des Angiospermes, contre seulement 4,5 % chez les Gymnospermes.
- John et Lewis (1968) confirment que la polyploïdie est beaucoup plus répandue chez les plantes que chez les animaux.

Références bibliographiques:

- Alberts, B., Bray, D., Lewis, J., Raff, M., Roberts, K., and Watson, J.D. (1986). Biologie moléculaire de la cellule (2^e éd.). Flammarion Médecine-Sciences, Paris.
- Campbell Neil A., Reece Jane B. (2004). Biologie ; ed. ERPI Editions du renouveau pédagogique Inc.
- Djafri-Bouallag L., Ourari M., Sedki W., Fedoul D., Taleb-Toudert K. (2025). Microsporogenesis and reduced fertility in Algerian populations of *Hordeum bulbosum* L. (Poaceae). Cytologia 90 (4), 245-253.
- Elrod Susan, Stansfield William D. (2003) Génétique; Ed. Ediscience.
- Gorenflot, R. and Raicu, P. (1980). Cytogénétique et évolution. Masson, Paris.
- Griffiths A. J. F., Miller J. H., Suzuk D. T., Lewontin, R. C. and Gelbart W. M. (2002). Introduction à l'analyse génétique Ed. De Boeck.
- Löve, A. and Löve, D. (1975). Plant chromosomes. Cramer, Vaduz.
- Öztürk, D., Koyuncu, O., Koray Yaylacı, Ö., Özgişi, K., Sezer, O., & Tokur, S. (2014). Karyological studies on the four *Ornithogalum* L. (Asparagaceae) taxa from Eskişehir (Central Anatolia, Turkey). Caryologia, 67(1), 79–85.
- Robinson P.J. and Rhodes D. (2006) Structure of the '30 nm' chromatin fibre: a key role for the linker histone. Curr Opin Struct Biol 16:336–343
- Sedki W. (2016). Contribution à l'étude cytogénétique d'une population de *Hordeum bulbosum* L. d'Ighzer Amokrane (Béjaïa). Mémoire de Master en Biologie Option : Génétique et Amélioration végétale. Université Mouloud Mammeri Tizi Ouzou.