

*Communauté Française de Belgique*

FACULTE UNIVERSITAIRE DES SCIENCES  
AGRONOMIQUES DE GEMBLoux

Contribution à la mise au point de la méthode cDNA-AFLP  
sur bananes

**Année académique**

2004-2005

Mémoire de fin d'études  
présenté par :

Lassois Ludivine

**Promoteur**

Dr M.H. Jijakli

en vue de l'obtention du  
Diplôme d'Etudes  
Approfondies (D.E.A.) en  
Sciences Agronomiques et  
Ingénierie Biologique

© Toute reproduction du présent document, par quelque procédé que ce soit, ne peut être réalisée qu'avec l'autorisation de l'auteur et de l'autorité académique de la Faculté Universitaire des Sciences Agronomiques de Gembloux. Le présent document n'engage que son auteur.

## Résumé

### *Contribution à la mise au point de la méthode cDNA-AFLP sur bananes*

L'obtention d'ARN de qualité et en quantité suffisante est une étape essentielle dans la réalisation de la cDNA-AFLP. L'efficacité de plusieurs protocoles d'extractions d'ARN a été évaluée sur peau et pulpe de bananes vertes et jaunes. Sur peau et pulpe de bananes vertes, quatre protocoles ont été testés et deux d'entre eux ont permis l'obtention d'ARN de bonne qualité et en quantité suffisante. Il s'agit du protocole décrit par Liu *et al.* (1998) et celui proposé par le CIRAD (non publié) et qui est une version modifiée de Wan et Wilkins (1994). Cependant, de nouveaux essais doivent être réalisés afin de choisir le plus adapté dans le cas des extractions sur peau et pulpe de bananes vertes. A partir de pulpe et de peau de bananes jaunes, sept protocoles ont été testés et comparés. Parmi ceux-ci, le protocole décrit par Liu *et al.* (1998) et celui proposé par le CIRAD (non publié) ont donné les meilleurs résultats.

---

## Abstract

### *Contribution to the development of cDNA-AFLP method on bananas*

Obtaining ARN of quality and in sufficient quantity is an essential stage in the realization of cDNA-AFLP. The effectiveness of several protocols of RNA extraction was evaluated on peel and pulp of green and yellow bananas. On peel and pulp of green bananas, 4 protocols were tested and two of them allowed obtaining RNA of good quality and in sufficient quantity. They acts of the protocol described by Liu *and al.* (1998) and that proposed by the CIRAD (not published) and which is a modified version of Wan and Wilkins (1994). However, new tests must be realized in order to choose more adapted in the case of the extractions on peel and pulp of green bananas. Seven protocols were tested and compared on peel and pulp of yellow bananas. Among those, the protocols describes by Liu *and al.* (1998) and that proposed by the CIRAD (not published) gave the best results.

## Remerciements

Au terme de ce travail, je tiens à exprimer ma profonde reconnaissance envers toutes les personnes qui, de près ou de loin, m'ont aidée et conseillée dans la réalisation de ce mémoire.

Je remercie Monsieur Jijakli pour m'avoir accordé sa confiance et pour m'avoir guidée, conseillée et soutenue dans la réalisation de ce travail et dans la mise au point du projet d'étude de la variation de sensibilité des bananes aux maladies de conservation..

Mes remerciements s'adressent également à Sébastien Massart pour sa disponibilité et ses bons conseils durant toute la réalisation de ce travail ainsi qu'aux autres personnes du laboratoire qui m'ont fait profiter de leurs connaissances. Je pense particulièrement à Jean-Pierre, Damien, Imène et Mohammed. Mais je n'oublie pas toutes les personnes travaillant ou ayant travaillé à l'unité de phytopathologie et qui ont participé au bon déroulement de ce travail. Mes pensées vont aussi à Jean-Pierre Toko pour son travail, sa patience, sa volonté et sa compréhension durant son stage.

Je remercie également Didier Mbéguié-A-Mbéguié et Marc Chillet du CIRAD ainsi que Luc de Lapeyre du CARBAP pour leurs conseils et leur disponibilité.

Mes derniers remerciements vont à ma famille et plus particulièrement à mes parents pour leurs encouragements. Merci à Jonathan pour son soutien et sa présence, plus particulièrement au cours de ces derniers mois...

## Abréviations utilisées

|                          |                                                                                                                                            |
|--------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <u>% :</u>               | Pourcent                                                                                                                                   |
| <u>µl :</u>              | Microlitre                                                                                                                                 |
| <u>°C :</u>              | Degré Celsius                                                                                                                              |
| <u>° jour :</u>          | Degré jour                                                                                                                                 |
| <u>A<sub>260</sub> :</u> | Absorbance à 260nm                                                                                                                         |
| <u>A<sub>280</sub> :</u> | Absorbance à 280nm                                                                                                                         |
| <u>ACP :</u>             | Afrique, Caraïbes, Pacifique.                                                                                                              |
| <u>ARN :</u>             | Acide ribonucléique                                                                                                                        |
| <u>ARN<sub>m</sub> :</u> | ARN messenger                                                                                                                              |
| <u>ARN<sub>r</sub> :</u> | ARN ribosomique                                                                                                                            |
| <u>ARN<sub>t</sub> :</u> | ARN de transfert                                                                                                                           |
| <u>CIRAD-FLHOR :</u>     | Centre de Coopération Internationale en Recherche Agronomique pour le Développement, section cultures fruitières, légumières et horticoles |
| <u>DEPC :</u>            | Diéthyle pyrocarbonate                                                                                                                     |
| <u>DO :</u>              | Densité optique                                                                                                                            |
| <u>DVV :</u>             | Durée de vie verte                                                                                                                         |
| <u>Fig. :</u>            | Figure                                                                                                                                     |
| <u>FUSAGx:</u>           | Faculté Universitaire des Sciences Agronomiques de Gembloux                                                                                |
| <u>ml :</u>              | Millilitre                                                                                                                                 |
| <u>OCMB :</u>            | Organisation Communautaire du Marché de la banane                                                                                          |
| <u>OMC :</u>             | Organisation Mondiale du Commerce                                                                                                          |
| <u>RNases :</u>          | Ribonucléases                                                                                                                              |
| <u>U.V. :</u>            | Ultra-violet                                                                                                                               |