



# Les Ressources Génétiques

face aux nouveaux enjeux  
environnementaux,  
économiques et sociétaux

//////////////// 20.21.22 SEPTEMBRE 2011 //////////////////

➤ LE CORUM - MONTPELLIER



Sous le Haut Patronage du Ministère de l'Agriculture, de l'Alimentation, de la Pêche, de la Ruralité et de l'Aménagement du Territoire.



exploratoire, ce travail de caractérisation aidera à mieux cerner l'impact de l'agriculture sur la diversité phytovirale d'un écosystème sauvage.



## DIVERSITÉ DE LA PHÉNOLOGIE DU BOURGEON APICAL CHEZ LE CHÊNE : GÉNÉTIQUE QUANTITATIVE ET DES POPULATIONS D'UN CARACTÈRE ADAPTATIF MAJEUR EN TEST DE PROVENANCES

>> Restitution appel à projets BRG 2007-2008

**Sophie Gerber**<sup>1,2</sup>, Brigitte Musch<sup>3</sup>, Stefanie Wagner<sup>1,2</sup>, Alexis Ducouso<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> INRA, UMR 1202 BIOGECO, 69 route d'Arcachon, F-33612 Cestas, France

<sup>2</sup> Université de Bordeaux, UMR 1202 BIOGECO, 69 route d'Arcachon, F-33612 Cestas, France

<sup>3</sup> ONF-DR, Conservatoire Génétique des Arbres Forestiers, centre INRA, 2163 avenue de la pomme de pin, BP 20619 Ardon F-45166 Olivet, France

Les tests de provenances des espèces forestières constituent des outils de choix pour comprendre la structure des différences génétiques de caractères impliqués dans la réponse adaptative des arbres à des changements climatiques passés ou futurs. Ce projet visait à évaluer et comparer les niveaux de diversités phénotypique (de la phénologie du bourgeon apical) et génotypique de chênes sessiles en tests de provenances.

Nous avons échantillonné les arbres de la tranche 4 du test de provenances de chêne sessile de la forêt domaniale de Sillégny (Moselle), plantée en 1993 (arbres de 14 ans en 2007). Ce test comprend 64 populations issues de l'ensemble de l'aire de répartition.

Pour l'analyse phénotypique, 12791 individus ont été mesurés pour les caractères de croissance et 1583 individus ont été caractérisés pour la phénologie.

La phénologie a été suivie en utilisant l'échelle BBCH (Meier 2001), adaptée pour l'occasion au chêne. Les plants ont été évalués en 5 passages (14 avril au 14 mai). Le caractère étudié est la somme des stades phénologiques d'un individu (phet).

Les autres caractères analysés ont été les suivants, notation du débourrement à 3 ans (deb), hauteurs totales à 4 et 10 ans (ht4, ht10), circonférence à 1,30 (circ130), hauteur de la première branche vivante (htbv), nombre de branches (nbb), nombre de fourches (nbfou), note de forme (form).

Pour l'analyse génétique, parmi les 64 provenances, 52 populations (Allemagne (15) Autriche (2) Danemark (2), France (29), Grande Bretagne, Géorgie, Pologne, Turquie, voir Figure 1), soit 1271 individus au total, ont été caractérisées pour 12 locus microsatellites nucléaires (Guichoux *et al.*, 2011) et pour leur haplotype chloroplastique (Petit *et al.* 2002)

Les caractères quantitatifs montrent une forte différenciation entre les populations ( $0,065$  (htbv) <  $QST$  <  $0,839$  (deb)). La phénologie est fortement corrélée ( $r = 0,5$ ) avec la latitude d'origine de la provenance. Ces valeurs de  $QST$  sont beaucoup plus élevées que les différenciations observées pour les marqueurs microsatellites nucléaires (FST), qui, calculées par paire de provenances, sont très faibles : entre 0 et 0,12 (0,012 en moyenne, avec un écart-type de 0,02). Ces différenciations contrastées entre caractères phénotypiques et marqueurs génétiques avaient déjà été observées chez les chênes (Zanetto & Kremer 1995)

Les provenances apparaissent homogènes pour les haplotypes cytoplasmiques, et cohérentes avec le type attendu selon la carte d'Europe des cytotypes. Les provenances de Géorgie et de Turquie (Gourdjani, Bolu (Ayikayasi)), extrêmes sur la carte (Figure 1), montrent également des cytotypes originaux.

Les populations ont été regroupées par classification hiérarchique ascendante avec la distance de Mahalanobis (dissimilarités) pour trois caractères (phénologie (phet), hauteur (ht10) et forme (form)). La provenance géorgienne se distingue de toutes les autres ; des populations nordiques (Danemark, Holstein et Basse Saxe) et des populations du nord-est de la France et du sud-est de l'Allemagne constituent deux autres groupes distincts.

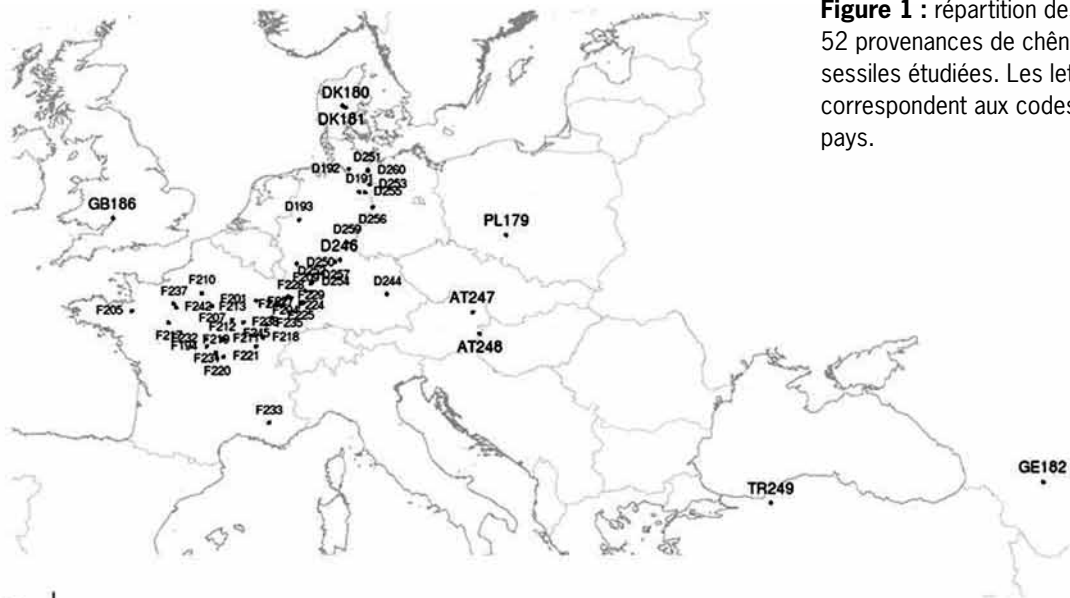
Les marqueurs nucléaires structurent également les provenances (Figure 2), avec à nouveau les provenances géorgiennes et turques en position extrême. Une analyse d'affectation des individus aux espèces a mis en évidence la particularité de ces deux provenances par rapport à toutes les autres (arbres différents des chênes sessiles ou des chênes pédonculés), alors que l'ensemble des individus pouvait être attribué à l'espèce sessile, sauf 26 individus, de type pédonculé (2% des individus analysés). L'une des deux provenances autrichiennes (Hainback), est également nettement différente des autres dans le dendrogramme. Le reste des provenances est moins nettement différencié, avec association de pays différents par exemple. Si l'on constitue des groupes à partir de ce dendrogramme, on constate que les phénologies moyennes diffèrent entre les groupes, mais pas les autres caractères.

Les deux classifications obtenues avec les caractères phénotypiques d'un côté et génétiques de l'autre apparaissent disjointes, sauf pour quelques provenances.

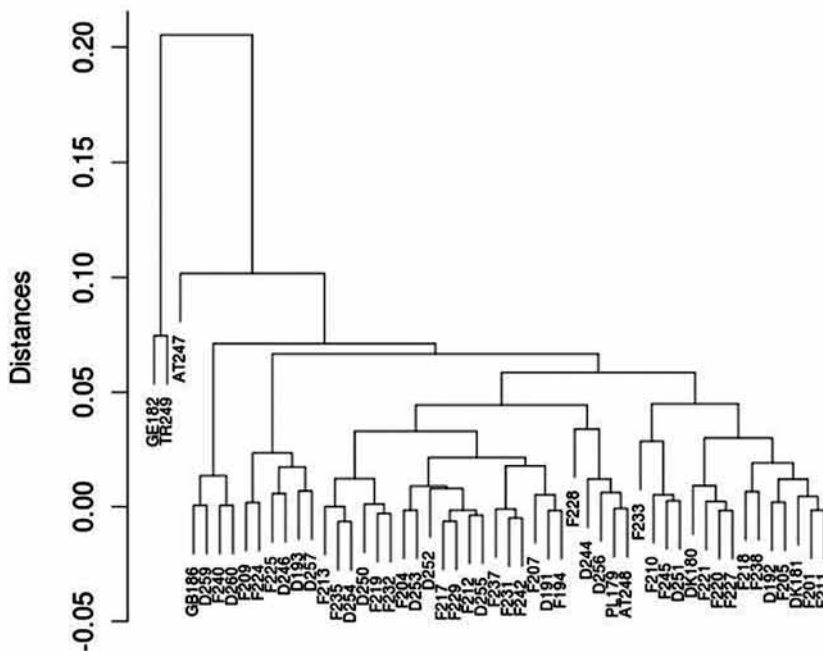
L'évaluation des niveaux de diversité et de la structuration spatiale de la phénologie et des marqueurs moléculaires neutres dans les tests de provenances et la confrontation des variabilités phénotypiques et génétiques conduisent à des images différentes des populations. À l'échelle de l'aire de distribution européenne des chênes, les différences observées se structurent de façon contrastée. La gestion et la conservation des ressources naturelles doivent considérer les informations différentes fournies par les descripteurs étudiés.

**Références**

- Guichoux, E., Lagache, L., Wagner, S., Léger, P. & Petit, R. (2011). Two highly validated multiplexes (12-plex and 8-plex) for species delimitation and parentage analysis in oaks (*Quercus* spp.), *Molecular Ecology Resources* 11 : 578-585.
- Meier U. (2001). Stades phénologiques des mono-et dicotylédones cultivées, BBCH Monographie, 2<sup>ème</sup> Édition. Centre Fédéral de Recherches Biologiques pour l'Agriculture et les Forêts.
- Petit, R., Csaikl, U., Bordacs, S., Burg, K., Coart, E., Cottrell, J., van Dam, B., Deans, J., Dumolin-Lapegue, S., Fineschi, S., Finkeldey, R., Gillies, A., Glaz, I., Goicoechea, P., Jensen, J., Konig, A., Lowe, A., Madsen, S., Matyas, G.,



**Figure 1 :** répartition des 52 provenances de chênes sessiles étudiées. Les lettres correspondent aux codes des pays.



**Figure 2 :** dendrogramme des 52 provenances de chênes sessiles issu des *F<sub>ST</sub>* calculés à partir des 12 locus microsatellites. Arbre construit avec la méthode de classification de Ward.

- Munro, R., Olalde, M., Pemonge, M., Popescu, F., Slade, D., Tabbener, H., Turchini, D., de Vries, S., Ziegenhagen, B. & Kremer, A. (2002). Chloroplast DNA variation in European white oaks: Phylogeography and patterns of diversity based on data from over 2600 populations, *Forest Ecology and Management* 156 : 5-26.
- Zanetto, A. & Kremer, A. (1995). Geographical structure of gene diversity in *Quercus petraea* (Matt.) Liebl. I. Monolocus patterns of variation, *Heredity* 75 : 506-517.

////////////////////////////////////

**DIVERSITÉ NUCLÉOTIDIQUE DE QUELQUES GÈNES IMPLIQUÉS DANS LA FORMATION DES CROSSING-OVERS À L'ÉCHELLE D'UNE COLLECTION DE VARIÉTÉS DE COLZA (*BRASSICA NAPUS*)**

>> Restitution appel à projets BRG 2007-2008

**Eric Jenczewski, INRA Versailles.**

La recombinaison méiotique est un des principaux mécanismes gouvernant la dynamique de la diversité au sein des ressources génétiques et l'utilisation raisonnée que l'on peut en faire. La recombinaison est à la fois une source de variabilité héritable au sein des populations et une force évolutive régissant la distribution de la diversité et l'efficacité de la sélection naturelle ou artificielle. Si les déterminants moléculaires responsables de l'initiation et de la résolution des événements de recombinaison méiotique sont de mieux en mieux connus chez les plantes, grâce notamment à l'espèce modèle *Arabidopsis thaliana*, on sait peu de chose sur l'évolution et la diversité de ces gènes. Dans ce contexte, notre projet visait à isoler et cartographier les gènes de colza orthologues/paralogues à quatre gènes (MUS81, MSH4, SRS2, MLH3) impliqués dans la formation des crossovers chez *Arabidopsis thaliana*, puis à analyser la diversité de ces gènes dans une collection de variétés de colza choisies pour être représentative de la diversité de l'espèce.

Le colza ayant une origine polyphylétique, nous avons tout d'abord cherché à retracer les différentes « lignées maternelles » chez cette espèce. Pour cela nous avons procédé à l'étude de la diversité nucléotidique de l'ensemble des variétés considérées en séquençant deux régions intergéniques du chloroplaste (ndhCU23-trnVL23 et rbcLATU22-accDATL22). Cette approche nous a permis de classer les variétés de colza en deux groupes, qui pourraient correspondre à deux événements de domestication différents. Par ailleurs nous avons pu montrer que la diversité chloroplastique est significativement corrélée à la diversité des comportements méiotiques (mesurés en Métaphase I de méiose sur des haploïdes produits à partir de chaque variété). Ce résultat suggère que les variations intra-spécifiques du niveau de recombinaison chez des haploïdes de colza pourraient être liées à des origines multiples de polyploidization/domestication (Cifuentes et al., 2010).

Les génomes A et C du colza et de ses progéniteurs sont entièrement tripliqués suite à un événement de d'hexaploidie ancien (11-12 millions d'années). Chaque gène de colza pourrait donc être présent en six copies à moins que celles-ci n'aient été éliminées lors du processus de diploidisation qui fait suite à un événement de polyploidie. Nous avons déterminé le nombre de copies de chacun des 4 gènes étudiés dans le génome du colza en criblant une banque BAC de colza (variété Darmor-bzh) représentant 12 équivalents génomes. Nous avons caractérisé la séquence de chaque clone, en séquençant 2-3 produits PCR par clone, pour identifier ceux qui sont redondants (on attend en moyenne 12 clones pour chaque copie) puis entrepris de reconstruire la séquence pleine longueur de chaque copie. Nous avons montré pour que les gènes MUS81, MSH4, et MLH3 n'étaient présents qu'en deux copies dans le génome du colza (une sur le génome A et une sur le génome C) alors que les régions correspondantes sont présentes en 6 copies en moyenne. Seules les copies « orthologues » à SRS2, dont il a été montré, après le démarrage du projet, qu'elle n'avait vraisemblablement pas de fonction méiotique (R. Mercier, com pers), sont présentes en plus grand nombre (au moins 4). Ces résultats suggéraient que les gènes méiotiques dupliqués sont préférentiellement éliminés suite à un événement de polyploidie. Cette conclusion, si elle était étayée, était particulièrement originale car les gènes impliqués dans la recombinaison méiotique se sont diversifiés après des duplications très anciennes concomitantes à l'apparition des eucaryotes. Seraient-ils devenus « résistants aux duplications ». Nous avons donc réorienté quelque peu les priorités définies dans le projet initial pour tester cette hypothèse sur un plus grand nombre des gènes méiotiques pour lesquels nous avons à nouveau trouvé moins de copies qu'attendu par hasard.

Nous avons positionné les copies retenues des gènes méiotiques considérés sur le génome du colza ce qui nous a notamment permis de constater que : (1) les copies A et C du gène MLH3 ne sont pas localisées sur des chromosomes homéologues mais dans des régions dupliquées préalablement à la divergence entre les progéniteurs du colza et (2) les copies de MUS81 ne sont pas dans des régions orthologues à celle portant MUS81 chez *Arabidopsis thaliana*.