



HAL
open science

Du complexe d'espèces à l'Adn : histoire d'un cheminement depuis la phylogénie des agrumes vers une connaissance de la structure des génomes et des gènes contrôlant des caractères d'intérêt

Luro François

► To cite this version:

Luro François. Du complexe d'espèces à l'Adn : histoire d'un cheminement depuis la phylogénie des agrumes vers une connaissance de la structure des génomes et des gènes contrôlant des caractères d'intérêt. Sciences du Vivant [q-bio]. Université de Corse Pasquale Paoli, 2012. <tel-02804679>

HAL Id: tel-02804679

<https://hal.inrae.fr/tel-02804679v1>

Submitted on 5 Jun 2020

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire HAL, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



HAL Authorization



**Thèse
d'Habilitation à Diriger des Recherches (HDR)**

Université de Corse Pascal PAOLI

Présentée par

Dr François LURO

Unité de Recherche 1103 GEQA INRA 20230 San Giuliano

**Du complexe d'espèces à l'Adn : histoire d'un
cheminement depuis la phylogénie des agrumes vers une
connaissance de la structure des génomes et des gènes
contrôlant des caractères d'intérêt**

Soutenue le 8 Février 2012

Devant le jury composé de:

Mme Maria Manzanares

Mme Liliane Berti

M. Christophe Plomion

M. Félix Tomi

M. Patrick Ollitrault

Professeur à l'Université de Rennes

Professeur à l'Université de Corse

Directeur de Recherche à l'INRA de Bdx

Professeur à l'Université de Corse

HDR Chercheur CIRAD Valence (Espagne)

SOMMAIRE

Curriculum Vitae	2
Résumé de mes travaux de recherche et d'encadrement	3
I – Préambule	4
II - Mes activités de recherche et d'encadrement	6
1 - Contexte général de mes activités	6
2 - Mes activités de recherche	8
2.1 - Structure génétique du complexe d'espèces	9
2.1.1 – Introduction	9
a) Zones de production et contexte de l'agrumiculture mondiale	9
b) Ressources génétiques et taxonomie	10
2.1.2 - Notre contribution à la connaissance de la diversité	11
a) Les principaux résultats	11
b) Les projets de recherche réalisés sur la diversité génétique	16
2.1.3 - Les perspectives dans l'étude de la diversité et des structures génétiques	22
2.2 Méthodologies de création variétale	25
2.2.1 Le contexte de l'amélioration variétale chez les agrumes	25
2.2.2 Activités et résultats produits sur l'obtention de polypléides	26
2.2.3 Les perspectives de recherche sur la polypléidie	28
2.3 Cartographie et Recherche de déterminants génétiques de caractères d'intérêt agronomique	29
2.3.1 Connaissances sur l'acidité des agrumes et les travaux de cartographie	29
2.3.2 Etude du contrôle génétique de l'acidité de la pulpe des fruits	30
2.3.3 Etude du contrôle génétique du caractère aromatique de type « mandarine »	32
2.3.4 Perspectives sur l'hérédité des caractères d'intérêt	32
2.4 Développement méthodologique	33
2.4.1 Outils d'analyse du génome	33
2.4.2 Outils de conservation des ressources génétiques	36
2.5 Conclusion	37
2.6 Références bibliographiques	38
III - Liste des publications	41
1 - Dans périodique à comité de lecture	41
2 - Dans périodiques sans comité de lecture	43
3 - Communications dans congrès, symposium	43
4 - Synthèses scientifiques	49
5 - Montage et coordination de projets	49
IV – Encadrements	50
1 - Encadrement de stages	50
2 - Encadrements de thèses	52
V - Vacances d'enseignement	52

CURRICULUM VITAE

Nom LURO
Prénom François
Date et lieu de Naissance 18 septembre 1963 à St Jean Pied de Port (64)
Nationalité Français
Situation Familiale Marié, 2 enfants
Adresse personnelle Pastini Vecchji, 20221 Valle di Campoloro
☎ 0495388468
Adresse professionnelle Station de Recherche INRA UR GEQA 20230 San Giuliano
☎ 0495595946

Diplômes et titres universitaires

Docteur es Sciences de l'Université	Bordeaux II	1993
DEA Biologie Santé	Bordeaux II	1989
Maîtrise Génétique	Bordeaux II	1988
Licence Biochimie	Bordeaux I	1986
DEUG B	Bordeaux I	1985

Fonctions exercées

- Dans la recherche

1/09/1994 à aujourd'hui

Employeur : INRA, 147 rue de l'Université, 75017 Paris, France.
Grade : Chargé de Recherche 1^{ère} classe
Résidence administrative : Station de Recherche INRA UR GEQA 20221 San Giuliano
Animateur scientifique du « collectif » agrumes de la SRA INRA de Corse
Responsable scientifique du projet « Ressources génétiques Agrumes » de l'UR GEQA

1/02/1994 au 30/06/1994

Employeur : CIRAD, 42 rue Scheffer, 75017 Paris, France.
Résidence administrative: laboratoire de Biologie Cellulaire et Moléculaire, INRA de Bordeaux
33883 Villenave d'Ornon.
Etude Génétique sur des hybrides somatiques d'agrumes du CIRAD-IRFA.

1/10/1989 au 23/12/1993

Employeur : Ministère de la Recherche et des Technologies
Résidence administrative : laboratoire de Biologie Cellulaire et Moléculaire, INRA de Bordeaux
33883 Villenave d'Ornon
Thèse : Diversité génétique et élaboration d'une carte génétique des agrumes.

- En vacances d'enseignement

1995 à aujourd'hui:

Employeur : Université de Corse Pascal Paoli.
Résidence administrative : UER Sciences Quartier Grosseti , 20 Corté.
40 heures/an (Cours, TP, TD) Master 2 Professionnel, et Recherche, IUFM
Biotechnologies végétales et Amélioration génétique en arboriculture fruitière

Résumé de mes travaux de recherche et d'encadrement

Mes activités de recherche couvrent 3 thématiques: (1) la connaissance de la phylogénie, de la structuration de la diversité et des mécanismes de la diversification des agrumes ; (2) l'étude méthodologique de la création variétale par l'exploitation de la polyploïdie en vue de la production de fruits aspermes et de porte-greffe plus tolérants aux contraintes environnementales; (3) la recherche de déterminants génétiques contrôlant l'expression de caractères de qualité de fruit ou de reproduction avec ou sans contraintes environnementales. La première constitue le noyau central de mes activités au sein de l'unité GEQA INRA de San Giuliano. Par le développement de diverses techniques de marquages moléculaires de l'ADN, j'ai étudié la diversité génétique des agrumes grâce à la présence au sein de l'INRA de San Giuliano d'une collection représentant une large diversité taxonomique des agrumes (une trentaine d'espèces pour près de 1000 variétés). J'ai pu ainsi démontrer que la diversité des agrumes repose essentiellement sur 3 groupes taxonomiques fondateurs à l'origine des agrumes cultivés. J'ai par ailleurs renseigné l'origine inconnue de la plupart des grands cultivars commerciaux tels que le clémentinier, la bergamote, et certains mandariniers tels que les variétés Afourer, Murcott, etc. J'ai également analysé la diversité via l'expression de plusieurs caractères d'intérêt agronomique (stérilité/fertilité gamétique, reproduction apomictique, acidité, sucrosité, coloration ...) et de comportements physiologiques sous contraintes (stress salin, tolérance au phytophthora). Les résultats de ces travaux ont amélioré la gestion de la collection, ont orienté les thématiques de recherche de l'unité mais ont aussi alimenté les programmes de sélection variétale et de création variétale de mes collègues de l'unité et du CIRAD. J'ai établi des collaborations avec plusieurs équipes de l'université de Corse Pascal Paoli pour aborder les problématiques de recherche par approche pluridisciplinaire. Les orientations actuelles de mes travaux s'inscrivent dans cette démarche où je continue à développer des études génétiques pour la recherche de gènes contrôlant la qualité des agrumes (sucrosité, acidité, nombre de pépins) en lien avec des études de physiologie, d'écophysiologie, de biochimie et d'enzymologie. Je développe actuellement des cartes génétiques où les gènes sont positionnés vis-à-vis de marqueurs moléculaires et leurs effets sur les caractères d'intérêt, évalués. Dans ce même registre, j'ai participé à des travaux internationaux pour le développement d'une carte génétique de référence et pour le séquençage du premier génome d'agrumes (clémentinier). Enfin, j'ai déchiffré les mécanismes méiotiques qui ont conduit au doublement chromosomique des gamètes chez le clémentinier à l'origine de la genèse de triploïdes spontanés. L'ensemble de ces travaux, et surtout les résultats qui en découlèrent furent accueillis avec intérêt par mes pairs, car constituait des avancées significatives à la connaissance de la génétique des agrumes, et furent valorisés par des publications dans des revues scientifiques de bon niveau. J'ai à mon actif, 38 articles dans des revues de rang A, plusieurs chapitres de livres toujours soumis au contrôle de références, 85 communications dans des congrès ou symposium. J'ai par ailleurs encadré 27 stages, pour la plus part, dans le cadre de Master, 10 thèses (6 soutenues et 4 en cours) dont 4 en tant que co-directeur. J'assure aussi des vacances (20 heures par an) d'enseignement à l'Université Pascal Paoli au niveau Master Pro et Recherche sur les biotechnologies végétales et sur l'arboriculture fruitière, et ce, depuis 1995.

I - Préambule

Les fondements de la génétique naissent au milieu du XIX^{ème} siècle par la conception de la théorie sur l'évolution des espèces et par la découverte des lois de l'hérédité. L'évolution des espèces a fait l'objet de débats acharnés entre deux conceptions : le darwinisme et le lamarckisme. Charles Darwin et Alfred Wallace défendaient l'idée que la sélection naturelle était basée sur la compétition entre formes d'une espèce, les mieux adaptées à leur environnement, qui apparaissaient au grès du hasard. Jean-Baptiste Lamarck soutenait que l'acquisition de caractères nouveaux dans une espèce étaient le fruit de l'adaptation des organismes aux conditions environnementales et que ces caractères étaient transmis à la descendance. A travers ces deux courants d'idées c'est le rôle de l'aléa et de la prédestination dans l'évolution qui a été l'objet des confrontations où la doctrine chrétienne a pesé sur les débats. En effet l'existence d'une puissance divine, ou force supérieure, ainsi que le statut de l'homme au sein des espèces étaient l'enjeu de ces débats d'idées. Le monde scientifique a adopté la pensée Darwinienne. Cependant, le débat n'est pas totalement clos car l'avènement des technologies d'exploration de l'ADN et de la génomique à la fin du XX^{ème} siècle a permis la découverte des modifications épigénétiques qui, d'une certaine manière, relancent quelque peu le lamarckisme. Les lois de l'hérédité découvertes par Grégoire Mendel (1866) n'ont pas suscité autant de confrontations passionnées que la théorie de l'évolution des espèces. Elles ont même été totalement ignorées pendant près de 40 ans puisqu'on parle de redécouverte des lois de l'hérédité au tournant du siècle.

Cette brève introduction sur la naissance de certains fondements essentiels de la génétique a pour but de dresser le tableau de mes activités de chercheur puisqu'elles font l'objet d'études sur l'évolution du complexe d'espèces que constituent les agrumes et sur le déterminisme génétique de caractères d'intérêt. Mais elle permet aussi de retracer d'une certaine manière mon propre cheminement depuis ma petite enfance jusqu'à ma présence dans cette unité de recherche en Corse où j'exerce mes fonctions de chercheur en génétique. Etais je prédestiné ou est ce une succession de choix aléatoires ? Même si je n'adhère pas à la prédestination il me plaît de croire que ma vie a été jalonnée de signes avant coureurs de la nature de mes activités professionnelles. Je suis par ailleurs persuadé que mon éducation et mon environnement social a contribué grandement à développer mes goûts pour la recherche en biologie. Je profite de cette occasion pour compter brièvement quelques éléments, étapes et rencontres majeurs de ma vie qui m'ont conduit à ma profession.

Je suis né dans une clinique d'accouchement de Saint Jean Pied de Port dans un merveilleux écrin de nature, au cœur du Pays Basque, un reflet probable du très symbolique jardin d'Eden. Dans le parc situé à l'entrée de cette clinique se trouvait un arbre merveilleux, rare dans la région (peut-être unique) chargé de petits fruits orangés contrastant sur un feuillage permanent vert foncé : un mandarinier. Aussi loin que ma mémoire me permet de remonter dans le temps, je ne me rappelle que de la présence de cet arbre et des commentaires admiratifs que nous échangeions avec ma mère. Dans ces moments là, j'étais loin de penser qu'un jour cet arbre et ses congénères d'espèce allaient devenir le cœur de mes préoccupations dans mon travail. Etais-ce un signe du destin ? Peut être !

Marcel Ruffo, lors d'une de ses conférences à l'Université de Corse Pascal Paoli, affirmait que nos affinités et en l'occurrence le goût pour la recherche scientifique prenaient corps dans le ventre de sa mère vers le huitième mois et vers 8 ans, en CE2 à l'école (« le ventre de l'Instituteur » appellation très personnelle). Si mes parents (sans déplaire à Marcel Ruffo, j'associe aussi mon père) et mon instituteur (Pierre Jaury) sont les principaux responsables de l'éclosion, en moi, du goût pour la compréhension de la vie, pour l'émerveillement de la nature, pour la description de notre monde, pour l'observation des plantes et des animaux, alors, qu'ils en soient honorés car le métier que je fais aujourd'hui

m'épanouit. Et comment ne pas reconnaître aussi l'influence de mon frère aîné, Benat, qui m'a embarqué dans ses virées botaniques, armés de livres descriptifs, pour apprendre à reconnaître les insectes, les champignons, les roches arpentant les champs et forêts de ma belle vallée d'Ergaray. Il a fait naître en moi la passion de la découverte et de l'apprentissage et plus particulièrement de la biologie. Au lycée, je me suis appliqué à suivre les traces de mon frère en développant des aptitudes dans l'apprentissage de cette discipline. J'ai aussi une pensée attendrie pour Marie Louise Cadiou, benoite de mon village, qui d'une certaine manière m'a enseigné la persévérance dans la recherche d'un objet perdu. En bon petit basque qui se respecte je jouais avec mes frères à la pelote sur le fronton de mon quartier et dans l'intensité de nos échanges il arrivait très fréquemment que nous perdions la pelote dans les bas cotés herbeux et les taillis. Affairé dans la recherche de l'objet perdu, la benoite me disait de prier Saint Antoine de Padoue pour qu'il m'aide à le retrouver. Je ne sais qu'elle a été l'influence de ce saint dans la réussite de mes fouilles mais quelque part j'y ai appris à persévérer et à développer une recherche méthodique en intégrant tous les paramètres qui permettaient d'atteindre mon objectif (calcul de la trajectoire, force de frappe, recherche par sectorisation, mode de recherche, etc.). J'ai souvent retrouvé la pelote ! Méthode et persévérance sont à mon sens deux qualités du chercheur dans n'importe quel domaine.

Pour arriver à ce second Eden, qu'est la Corse, j'ai fait de nombreuses autres rencontres, déterminantes, qui ont orienté mon choix de vie. Je ne voudrais pas (ou pourrais pas) dans cette préface retracer toute l'histoire de mon chemin parcouru et conter toutes ces rencontres, mais j'estime que, parmi elles, quelques unes méritent d'être révélées. Que les autres non cités (les passés sous silence) ne s'en offusquent pas, car au fond de moi, je leur témoigne toute ma reconnaissance pour leur participation à mon histoire et à mon évolution. Je pense que si je suis ici, aujourd'hui, c'est en partie grâce au Pr Laharrague, responsable de la maîtrise de Biologie à l'Université de Bordeaux II où j'ai fait mes études, qui m'a encouragé à continuer pour embrasser une carrière dans la recherche, à l'époque où je ne savais guère quelle orientation je devais donner à mon avenir professionnel. Je remercie le Pr Joseph Bové et mon maître de stage Frédéric Laigret qui ont cru en mes capacités et m'ont accueilli dans le laboratoire de Biologie Moléculaire des Plantes à l'INRA de Villenave d'Ornon pour effectuer mon DEA puis ma thèse. C'est à ce moment là que j'ai connu Patrick Ollitrault, chercheur CIRAD en poste à la SRA INRA/CIRAD en Corse. Il a été mon maître de stage, mon mentor, mon soutien et par ses compétences alliées à son humilité il a été mon modèle et par-dessus tout il est devenu un ami. Dans les moments de désespoir lié aux échecs expérimentaux il m'a transmis son optimisme et a réactivé mon énergie pour résoudre les écueils et a fait renaître ma confiance égarée. Un de ses enseignements de base a été que la persévérance finit toujours par payer et qu'on finit par trouver une solution heureuse à nos problèmes de recherche. Ce lien d'amitié a été déterminant dans la confiance qu'il a su faire naître en moi au moment où je doutais de mes capacités et de mon avenir dans le domaine de la recherche. Je suis heureux d'avoir pu prolonger notre relation de travail au-delà de ma thèse en collaborant fructueusement dans plusieurs projets de recherche. Je remercie aussi vivement Camille Jacquemond pour l'enseignement qu'il m'a prodigué sur les agrumes et l'accueil chaleureux qu'il m'a offert. Je ne pourrais malheureusement pas remercier toutes les personnes qui ont contribué à trouver ma voie mais je voudrais qu'ils sachent que je leur suis très reconnaissant.

Je voudrais terminer ce préambule en dédiant ce bilan de ces années de labeur à mes parents, mes frères et sœurs et à ma famille, Muriel, Lydie et Rémy qui m'ont donné tant de joie, d'amour et surtout un équilibre pour arpenter mon chemin de vie. Je les aime de toutes mes forces.

II - Mes activités de recherche et d'encadrement

Je me suis longtemps demandé sous quelle forme je devais présenter le document accompagnant la soutenance HDR. Les opinions sur le sujet sont assez divergentes mais les documents que j'ai pu lire décollent rarement du style académique de présentations scientifiques. Je me permets donc de mentionner ci-après l'article 1^{er} de l'arrêté du 23/11/1988 relatif à l'HDR « *L'habilitation à diriger des recherches sanctionne la reconnaissance du haut niveau scientifique du candidat, du caractère original de sa démarche dans un domaine de la science, de son aptitude à maîtriser une stratégie de recherche dans un domaine scientifique technologique suffisamment large et de sa capacité à encadrer de jeunes chercheurs.* » L'exercice de rédaction devrait donc être conduit selon les objectifs stipulés dans cet arrêté, néanmoins il n'est pas aussi simple qu'il en a l'air car il ne colle pas tout à fait à une présentation académique. Je m'efforcerai donc dans ce document de donner aux membres du jury les éléments qui leur permettront de jauger mes aptitudes et leur conformité avec celles requises et présentées dans cet arrêté.

Pour ne pas alourdir le document je ne présenterai pas d'une manière détaillée l'ensemble de mes activités de recherche et de tous les résultats obtenus. Tout en essayant de situer le contexte des études, leur évolution et les principaux enseignements qui en ont découlés, je voudrais mettre l'accent sur les collaborations. Bien évidemment, j'essaierai d'indiquer l'originalité (ou l'intérêt) des questions de recherche abordées, par rapport à l'état de connaissance du moment sur le sujet. J'ai opté également pour une présentation en 4 paragraphes dédiés à des champs thématiques et un développement méthodologique. Dans chacun d'eux je signalerai autant que possible les stages de formation (Master et thèses) que j'ai encadrée et qui ont généré la plupart des résultats obtenus. Dans la mesure où ces travaux sont le fruit de l'investissement de plusieurs personnes qui ont travaillé avec moi, j'utiliserai le plus souvent la première personne du pluriel.

1 - Contexte général de mes activités

Mes activités de recherche ont débuté le 01/02/1994 dans la continuité de mon stage de doctorat dans le laboratoire de Biologie Cellulaire et Moléculaire à la station INRA de la Grande Ferrade (Villenave d'Ornon), dirigé par le Pr J.M. Bové. Dans le cadre d'un CDD du CIRAD, d'une durée de 5 mois, j'ai réalisé des travaux d'analyse moléculaire au niveau du génome mitochondrial chez les agrumes pour la recherche du déterminisme génétique de l'organogénèse. Ce contrat a également été l'occasion d'enseigner, par l'encadrement technique d'un stage de Melle Elzein Loubna, dans le cadre d'une coopération bilatérale France-Liban soutenue par le MAE. J'avais déjà pratiqué auparavant la formation et la transmission de mes compétences des techniques de biologie moléculaire via l'encadrement de stages au cours de ma thèse. J'ai même été sollicité, en 1993, par le laboratoire du service de bactériologie de l'Hôpital Pellegrin de Bordeaux pour résoudre un problème technique dans le protocole de détection par PCR de *Campylobacter pilori*.

A la fin du CDD, je me suis présenté au concours de Chargé de Recherche du Département de Génétique et d'Amélioration des Plantes de l'INRA sur le poste de « généticien-biologiste moléculaire » à la station de Recherches Agronomiques SRA INRA-CIRAD de San Giuliano en Corse. Bien que des études du polymorphisme des protéines enzymatiques (isozymes) aient été développées par le Dr Patrick Ollitrault, le développement de marqueurs génétiques de l'ADN n'avait jamais été réalisé et aucun équipement n'était disponible pour pouvoir le faire. Ma première mission fut donc d'équiper le laboratoire avec les appareils de base nécessaires au développement des techniques de biologie moléculaire. J'ai immédiatement été confronté à la difficulté majeure de ce métier, à savoir l'obtention de financements pour le développement des travaux scientifiques, ce qui m'a conduit à déposer des dossiers de demandes de subvention où l'argumentation est décisive pour leur acceptation. J'ai pris de nombreux contacts avec des laboratoires locaux, nationaux et internationaux afin de tisser des liens établir des collaborations et soumettre des projets de recherche sur des appels d'offres nationaux ou internationaux. Si je dois mettre en avant l'une de ces collaborations, c'est assurément celle construite avec le Dr Patrick Ollitrault, chercheur au CIRAD, généticien des populations, biotechnologiste, avec qui j'ai construit mon programme de recherche, qui m'a souvent soutenu dans mes initiatives et m'a fait participer à plusieurs projets de recherche. L'apprentissage du métier de chercheur est parfois difficile, par exemple lorsque nos projets furent rejetés, mais souvent aussi excitant et fructueux lorsque les programmes se mettent en place, fournissent des résultats et qu'ils sont connus et reconnus par la communauté scientifique. Personnellement j'éprouve une grande satisfaction d'avoir contribué à produire de la connaissance scientifique et à créer des liens avec des chercheurs de plusieurs laboratoires nationaux ou internationaux. J'ai œuvré pour le développement du laboratoire de biologie moléculaire de la station de San Giuliano par la recherche de financements dans le cadre de projets de recherche afin d'acquérir l'équipement nécessaire à ce domaine d'activités. J'ai également contribué au développement des activités de culture *in vitro* pour la création variétale aujourd'hui développé par le CIRAD.

D'une manière générale il est convenu que l'outil en terme générique est absolument nécessaire pour pouvoir réaliser les ambitions des chercheurs mais, à lui seul, il n'est pas suffisant bien qu'il permette une certaine autonomie, donc une certaine reconnaissance de compétences techniques. Dans la mesure où je n'avais aucune mission de développement d'une plateforme technique, j'ai donc œuvré pour l'acquisition et le développement d'outils de biologie moléculaire nécessaires à la réalisation d'un programme scientifique où les questions abordées revêtaient un caractère original ou présentaient un intérêt reconnu par la communauté scientifique et mes responsables institutionnels. L'outil ne peut être un objectif en soi pour une petite unité décentralisée comme celle de GEQA mais doit être par contre un levier ou un moyen pour réaliser nos expérimentations génératrices de connaissances sur les questions de recherche. Cependant, je souhaite mentionner que, lors de mon arrivée en septembre 1994, le laboratoire ne disposait d'aucun équipement (hormis un autoclave). Seize ans après, j'ai contribué à l'équiper avec des appareils permettant de développer la plupart des techniques de biologie moléculaire. Sans vouloir dresser une liste exhaustive je ne mentionnerai parmi eux que les plus importants : 1 séquenceur automatique d'ADN à 8 capillaires, 1 robot de pipetage, 3 thermocycleurs 96 puits, 1 thermocycleur 384 puits, 1 thermocycleur à gradient de températures, 1 thermocycleur pour la PCR quantitative, 2 congélateurs -80°C, 1 congélateur -140°C, 1 laboratoire équipé pour l'utilisation de

radioléléments P33, 1 laboratoire équipé pour la microbiologie et plus particulièrement pour le clonage de fragments d'ADN, un cytomètre en flux, etc. Ces équipements me permettent, mais aussi aux autres chercheurs de l'unité, de réaliser de nombreuses expérimentations sur des approches pluridisciplinaires (génétique, biologie moléculaire, génomique, biochimie, CIV). L'équipement et la compétence acquise au cours de ces années m'a permis d'accueillir ponctuellement des doctorants et de leur offrir un cadre technique pour finaliser leurs travaux de recherche même si leurs sujets étaient hors champ du programme de l'unité. Mes thématiques de recherches visent à la fois à répondre à des questions scientifiques purement cognitives mais également à répondre à des problématiques agronomiques locales ou régionales (méditerranéennes). Par ailleurs, cet environnement technique et thématique offre la possibilité à de jeunes étudiants ou des chercheurs d'autres instituts ou pays de venir se former au métier de la recherche, et aux techniques de biologie, dans le cadre de stages diplômant ou de formations.

2 - Mes activités de recherche

Les thèmes de recherches du département de Génétique et Amélioration des Plantes de l'INRA, auquel je suis affilié, vont des sciences cognitives vers les sciences appliquées. Par conséquent, mes activités s'inscrivent dans ce même plan d'organisation et peuvent être déclinées en 3 parties: (1) étude de la diversité et des mécanismes évolutifs, (2) étude du déterminisme génétique de caractères d'intérêt agronomique, (3) méthodologie de la sélection et de la création variétale. Cette succession de thématiques de recherche est dans la suite logique telle que le Pf Jean Pernes le définissait dans sa préface du livre « Gestion des Ressources Génétiques des Plantes » (1984) : *« Il est indispensable de se rendre compte que la gestion des ressources génétiques est très loin d'être une simple conservation et que les travaux qui doivent être réalisés ont pour but de faire fructifier le matériel végétal accumulé par l'acquisition des meilleures connaissances possibles des plantes étudiées, par l'enregistrement le plus utilisable possible des informations obtenues et par la création et la transformation de populations dont certaines esquisseront des structures génétiques de base ultérieurement utilisées par les sélectionneurs. »*. La définition des stratégies d'amélioration repose donc, en amont, sur l'acquisition de connaissances approfondies sur la structuration et l'évolution des complexes d'espèces, sur la variabilité des caractères d'intérêt étudiés au sein des populations, mais aussi leur hérédité. La gestion de la diversité à des fins de conservation et la recombinaison pour l'amélioration génétique et la sélection réclament aussi des développements méthodologiques s'appuyant sur les outils de la biologie cellulaire et moléculaire.

Mon activité principale depuis mon arrivée en 1994 concerne l'étude de la diversité génétique des agrumes et de l'histoire évolutive de ce complexe d'espèces. Concomitamment j'ai soutenu le programme de méthodologie de la création variétale des agrumes développé par le CIRAD par ma contribution active dans la production d'hybrides triploïdes et l'étude des mécanismes génétiques à l'origine de la polyploïdisation gamétique. Dès 2000 je me suis recentré sur l'étude de la diversité génétique, et ai engagé des travaux, depuis 2006, sur l'étude de la ségrégation allélique dans des populations inter-génériques et sur l'hérédité et le déterminisme génétique de caractères d'intérêt agronomique.

2.1 - Structure génétique du complexe d'espèces

2.1.1 – Introduction

a) Zones de production et contexte de l'agrumiculture mondiale

Aujourd'hui cultivés tout autour du monde, entre 40° de latitude nord et sud, les agrumes ont été domestiqués en Asie. On trouve ainsi des références aux agrumes acides dès 800 avant JC en Inde tandis que les mandarines, oranges et pamplemousses sont cités dès 500 avant JC en Chine (Aubert, 2001). Leur dispersion à travers le monde s'est faite parallèlement aux grands événements historiques tels que les conquêtes grecques en Asie mineure et au moyen orient (cédrat), l'expansion de la civilisation islamique et les croisades (agrumes acides), l'établissement des routes commerciales (introduction des orangers par les Portugais à partir de la Chine) et les grandes découvertes (Webber 1967). Cet agrume a pris une place importante au cours des siècles dans la vie des méditerranéens surtout pour ses propriétés médicinales (antiseptique, régularise les problèmes digestifs, la sécrétion hépatique...) et cosmétiques (antimite, rafraichissant, parfum...). Son intégration dans l'alimentation est assez tardive. Il a également une fonction religieuse chez les hébreux, car est indispensable pour célébrer la Fête des Tabernacles car cette religion lui attribue une valeur symbolique de haute vertu religieuse (Loret, 1997). Il a fallu attendre près de 12 siècles avant que les orangers, bigaradiers et pamplemoussiers soient introduits à leur tour dans les pays méditerranéens. Le Bassin Méditerranéen constitue à cet égard une importante zone de diversification secondaire pour les orangers (*C. sinensis*), les mandariniers (*C. reticulata*) et les citronniers (*C. limon*). Les agrumes introduits en Amérique après la découverte du nouveau monde par Christophe Colomb y donneront naissance à la seule espèce non originaire d'Asie ou de Méditerranée: *C. paradisi* (les pomelos). Les agrumes constituent la première production fruitière mondiale avec plus de 124 millions de tonnes produites en 2009 (FAO, 2010). Les principaux producteurs sont le Brésil (20.6 MT), la Chine (19.6 MT), les USA (14.9 MT), le Mexique (6.5 MT), l'Inde (6.2 MT) et l'Espagne (5.7 MT). L'orange représente une très large part de cette production (55.2 %), suivie des petits agrumes (mandarines, et clémentines: 23 %), des citrons et des limes (11%) et des pomelos et pamplemousses (4.4 %). Environ 30% de la production alimente l'industrie du jus. Dans le Bassin Méditerranéen 82 % de la production est destinée au marché du fruit frais contre seulement 24% et 32 % aux USA et au Brésil mais 97 % en Chine.

Au plan mondial, l'agrumiculture est confrontée à des contraintes biotiques et abiotiques croissantes. Outre les maladies virales comme la Tristeza', la production de deux des principaux pays producteurs (Brésil et EtatsUnis) est aujourd'hui menacée par deux bactérioses: le chancre citrique (*Xanthomonas campestris*) et le 'Huanglongbing' (*Liberobacter asiaticum*) récemment identifiés dans les grands bassins de production du continent américain. En Afrique, la cercosporiose (maladie fongique due à *Phaemularia angolensis*) est une contrainte majeure en expansion rapide. La fragilité de ces productions face aux maladies émergentes et invasives est d'autant plus grande que les productions majeures (oranger en particulier) reposent sur une diversité génétique très faible. La raréfaction des ressources en eau et la dégradation de sa qualité (salinité en particulier) sont

des contraintes abiotiques majeures pour de nombreux pays du Sud. L'agrumiculture doit par ailleurs répondre à l'attente de marchés de plus en plus exigeants en terme de qualité. Des politiques de segmentation du marché sont, par ailleurs, mises en place dans le secteur des petits agrumes. Pour le marché du fruit frais, l'absence de pépins et la coloration des fruits sont des critères de qualité essentiels.

b) Ressources génétiques et taxonomie

Les agrumes font parties des Rutaceae, l'une des 21 familles qui compose l'ordre des Géraniales. Les Rutaceae comprennent 1600 espèces et 150 genres regroupés en 7 sous familles et 12 tribus constituées pour l'essentiel d'arbres et d'arbustes originaires des régions tropicales et subtropicales. La sous famille des Aurantioideae se caractérise par une fructification particulière produisant des baies appelées *hesperidium*. La cavité ovarienne du fruit issu du développement d'un seul ovaire est cloisonnée en loges qui contiennent des vésicules à jus. Ces loges sont contenues dans le mésocarpe qui est recouvert d'un épiderme riche en glandes à huiles essentielles, généralement très aromatiques. Un autre caractère important des Aurantioideae (mais non exclusif) est leur aptitude à produire des pépins polyembryonnés qui, mis à part l'embryon zygotique, proviennent du développement mitotique de cellules du nucelle. Le nombre de chromosomes de base dans la sous famille des Aurantioideae est de 9 (Krug, 1943; Stace et al., 1993) et les agrumes et les genres apparentés sont majoritairement diploïdes même s'il existe des exceptions dont la plus connue est la lime à gros fruit (*C. latifolia*) qui porte le nom commercial de citron vert.

Les agrumes sont un complexe d'espèces regroupés en 3 genres botaniques sexuellement compatibles selon Swingle & Reece (1967) ou 6 genres selon Maberley (1997). La compatibilité sexuelle avec ces 3 genres supplémentaires de la taxonomie de Maberley (*Eremocitrus*, *Microcitrus*, *Clymenia*) n'est pas assurée (faible ou inexistante). Les 3 genres botaniques compatibles (*Citrus*, *Fortunella* et *Poncirus*) sont originaires du Sud-Est asiatique mais de zones assez distinctes. Les *Poncirus* et *Fortunella* seraient originaires d'une zone autour du 35^{ème} parallèle de l'ouest côtier de la Chine tandis que pour les *Citrus* la zone de diversification serait localisée plus au sud, de part et d'autre de la chaîne himalayenne et jusqu'en Indonésie. On retrouve dans le genre *Citrus* un grand nombre d'espèces regroupant la grande majorité des variétés de production telles que les orangers, les mandariniers, les citronniers, les limettiers, les cédratiers, les pomelos et les pamplemoussiers. La classification est assez controversée dans ce genre botanique du fait d'une grande capacité d'hybridations interspécifiques et de la reproduction apomictique assez répandue qui a permis de multiplier et fixer des structures génétiques hybrides. Tanaka a élevé au statut d'espèce, plusieurs de ces structures hybrides pour finalement proposer une taxonomie du genre *Citrus* riche de 156 espèces tandis que Swingle et Reece n'en détectaient que 16 (Swingle & Reece, 1967; Tanaka, 1961). La classification taxonomique sur les caractères phénotypiques avait mis en lumière une forte structuration de la diversité autour de trois espèces diversifiées, dites ancestrales: *C. medica* (les cédratiers), *C. reticulata* (les mandariniers) et *C. maxima* (les pamplemoussiers). Une quatrième espèce, mais apparemment peu ou pas diversifiée, *C. mycrantha*, serait impliquée dans la genèse des limettiers (Nicolosi et al. 2000). Tous ces arbres ont des feuilles persistantes à l'exception du *Poncirus* qui se comporte comme les fruitiers de zones tempérées, c'est à dire avec une chute des feuilles à l'entrée de l'hiver. Si

pour la majorité des agrumes l'origine tropicale ou subtropicale ne fait aucun doute, elle semble être plus septentrionale pour les *Fortunella* et les *Poncirus* qui résistent assez bien à des températures négatives (proches de -20°C pour le *Poncirus*). Le Bassin Méditerranéen a également été une zone tremplin pour l'expansion des agrumes tout autour de la planète. Par la suite cette zone est devenue une zone de diversification où plusieurs variétés sont apparues spontanément par croisements sexués naturels (clémentinier, bergamotier,...).

La culture se fait sous la forme d'une association porte-greffe/scion dont les deux compartiments présentent des objectifs de sélection distincts ainsi que des stratégies d'amélioration complémentaires.

Les variétés greffées sont souvent des structures génétiques très hétérozygotes (hybrides interspécifiques spontanés) améliorées surtout par sélection de mutants somatiques reproduits de manière clonale, tandis que les porte-greffes sont, le plus souvent, des hybrides inter-génériques issus des programmes de sélection du XXème siècle. Par exemple, il est difficilement envisageable d'intégrer l'oranger dans un programme d'amélioration par voie sexuée car il présente une hétérozygotie très élevée qui génère des descendances très hétérogènes perdant au passage beaucoup de caractères du morphotype « oranger ». Par ailleurs, du fait de son existence très ancienne, la reproduction végétative via l'embryonnie nucellaire a favorisé l'accumulation de mutations génétiques dans des gènes modifiant négativement leur expression ou la fonction des protéines concernées, mais qui néanmoins se sont maintenues à l'état récessif. La reproduction sexuée, limitée ou inexistante, n'a pas permis l'élimination des « tares » génétiques et cet état dépressif latent du génome de l'oranger est observable dans des croisements de type backcross comme par exemple dans la descendance du croisement clémentinier x oranger où de nombreux hybrides rencontrent de sévères difficultés de croissance. Bien que d'existence plus récente, la situation d'hétérozygotie rencontrée chez l'oranger est valable aussi pour le citronnier, le clémentinier et le pomelo mais les phénotypes dépressifs sont rares en raison très certainement d'une genèse de ces structures génétiques plus récentes que l'oranger et qui n'a pas permis l'accumulation de mutations délétères ou défavorables.

2.1.2 - Notre contribution à générer de la connaissance sur la diversité et sur l'évolution des agrumes

a) Les principaux résultats

Les outils d'analyse des génomes nous ont permis de mieux comprendre l'origine et l'évolution des différentes espèces d'agrumes. Les travaux que nous avons développés sur la diversité, grâce aux techniques de la biologie moléculaire telles que isozymes, STMS (Sequence Tagged Microsatellite), cytométrie en flux, et CAPS (Cleaved Amplified Polymorphic Sequence), ont mis clairement en évidence une forte **structuration autour de trois taxons ancestraux** à l'origine de l'ensemble des agrumes cultivés du genre *Citrus* (Figure 1): *C. medica* (les cédratiers), *C. reticulata* (les mandariniers) et *C. maxima* (les pamplemoussiers). *C. aurantium* (bigaradiers) et *C. sinensis* (orangers) sont apparentés aux mandariniers mais résultent de l'introgession de certaines portions du génome des pamplemoussiers. Les pomelos (*C. paradisi*) seraient issus d'un croisement entre un pamplemoussier et un oranger.

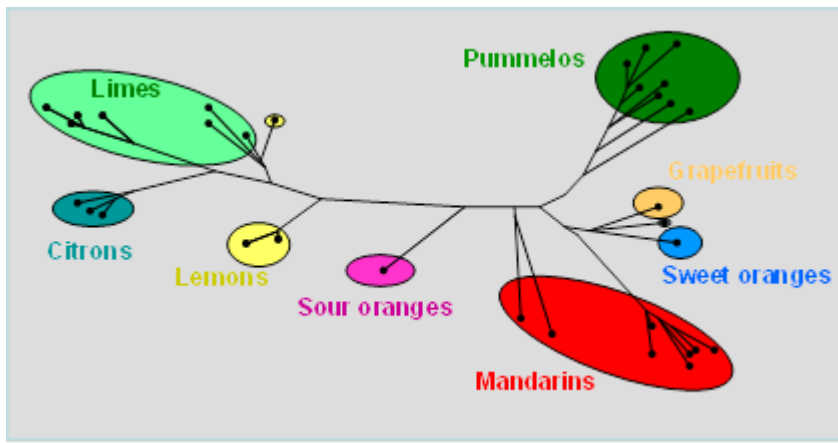


Figure 1 : Représentation de la diversité des espèces du genre *Citrus* à l'aide 10 marqueurs SSR. Chaque taxon est représenté par 10 variétés (sauf 5 pour les cédrats, «citrons » en anglais) Luro et al. 2001

Les cédratiers ont, pour leur part, participé à la genèse des limettiers (*C. aurantifolia*) et des citronniers (*C. limon*); ces deux espèces présentent une hétérozygotie très élevée associant, pour de nombreux loci, des allèles des cédratiers et du groupe mandariniers/orangers/bigaradiers. L'analyse de la diversité du génome chloroplastique à l'aide de marqueurs SSR nous a permis de préciser la phylogénie maternelle et le sens des croisements à l'origine des espèces secondaires (Figure 2).

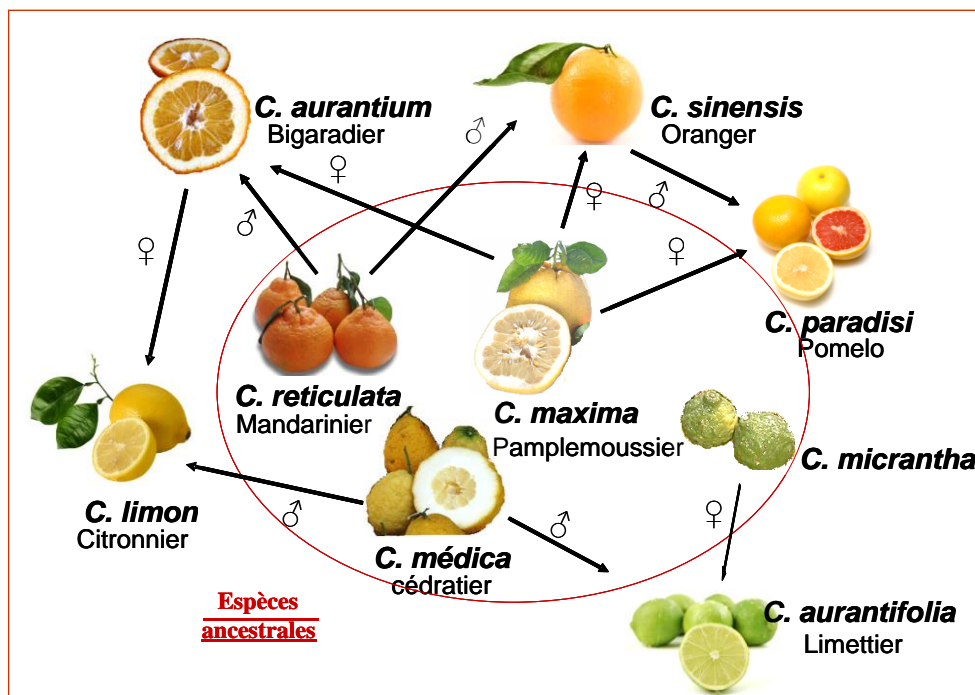


Figure 2: Schéma illustrant les hypothèses sur la phylogénie des agrumes des espèces du genre *Citrus* établies à partir des données de marquage moléculaire des génomes nucléaires et chloroplastiques

Il est fort possible que les limettiers soient issus de la combinaison entre un cédratier et *Citrus micrantha* (agrume sauvage), tel que le propose Nicolosi et al. (2000). Cette espèce étant absente de notre collection nous n'avons pas pu l'inclure dans la plus part de nos études. Si l'on se réfère aux distances génétiques, calculées sur la base des allèles communs sur le nombre d'allèles totaux, nous pouvons également supposer qu'à partir d'un ancêtre commun à

tous les agrumes une première divergence aurait conduit à la genèse de l'ancêtre des cédratiers. La séparation des deux entités génétiques représentées par les mandariniers et les pamplemoussiers aurait été plus tardive. Nous avons relevé une haute fréquence d'allèles communs à ces deux taxons alors que les cédratiers présentent souvent des allèles spécifiques.

Cette structuration du genre *Citrus* mise en lumière à l'aide des marqueurs moléculaires est également appréciable au niveau de la taille des génomes des espèces déterminée par cytométrie en flux (Figure 3).

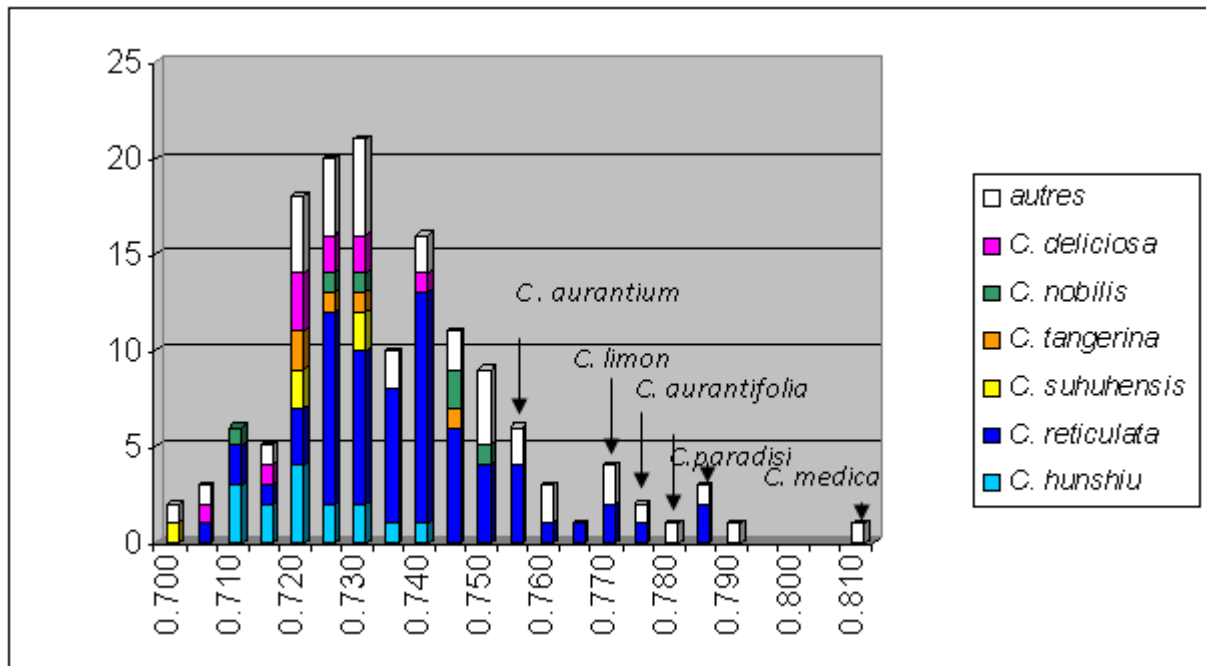


Figure 3 : Répartition de la taille des génomes de 151 variétés d'agrumes estimée par cytométrie en flux des noyaux colorés au iodure de propidium. La taille est relative à celle de la variété triploïde limettier cv. Tahiti (1.17 pg/2C)

En effet, nous avons pu observer par cytométrie en flux une variation maximum représentant 10% de la taille moyenne du génome d'un agrume (estimée à environ 290 M bases et confirmée par le séquençage ; soit environ 3 fois le génome d'*Arabidopsis thaliana*). Le cédratier présente le génome le plus grand tandis que certains mandariniers, comme Cléopatra, le plus petit. La taille du génome des pamplemoussiers est intermédiaire à ces deux espèces ancestrales. Les espèces secondaires, hybrides de ces trois espèces ancestrales, ont des génomes de tailles intermédiaires aux deux parents supposés. Ces observations convergent vers une même hypothèse d'évolution allopatrique des espèces ancestrales. Mais elles suscitent aussi de nouvelles questions: Quelle est la nature des séquences d'ADN à l'origine de ces variations de taille des génomes ? Des séquences répétées, des séquences d'éléments transposables, des duplications ? Nous n'avons aucun élément de suggestion à proposer à l'heure actuelle mais il est très vraisemblable que très prochainement plusieurs génomes d'agrumes seront entièrement séquencés et nous pourrons alors répondre à ces questions. Au delà de la nature de ces séquences nous sommes amenés à nous questionner sur leur conséquence sur la méiose des hybrides interspécifiques. Quelle est l'incidence de ces

variations de taille sur l'appariement des chromosomes homéologues à la méiose et sur les recombinaisons chromosomiques ?

Les marqueurs nucléaires mettent également en lumière une forte variabilité des niveaux de polymorphisme intra-spécifique et de l'hétérozygotie, suggérant des mécanismes de diversification particuliers à chaque taxon (Figure 4).

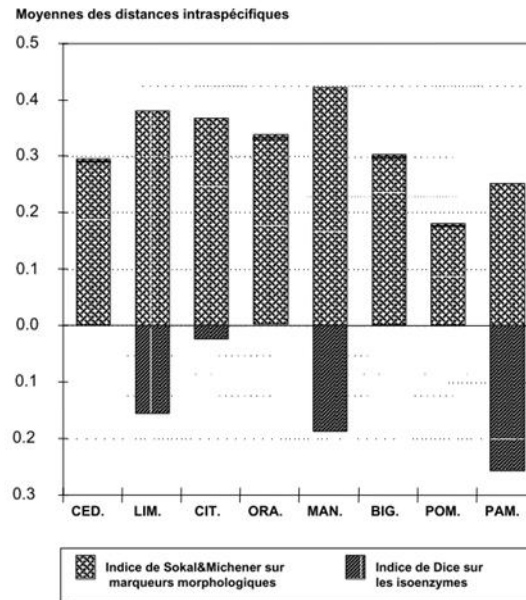


Figure 4 : Illustration simultanée de la dispersion intra spécifique (approximation de la diversité) évaluée à partir de 20 marqueurs morphologiques et 11 loci enzymatiques sur la base de 10 cultivars par espèce (Ollitrault et al. 2003)

La diversité moléculaire intra spécifique est nulle chez les cédratiers, bigaradiers, pomelos et orangers alors qu'elle est élevée chez les limettiers, mandariniers et pamplemoussiers. La diversité phénotypique, quant à elle, est élevée quel que soit l'espèce considérée.

La reproduction sexuée est le principal mécanisme de diversification des mandariniers et des pamplemoussiers (diversité variétale élevée, diversité allélique élevée et hétérozygotie observée équivalente à celle de l'hétérozygotie théorique). Cependant, ces deux taxons se distinguent néanmoins sur plusieurs éléments de la reproduction. La monoembryonie et l'autoincompatibilité gamétophytique conduisant à une reproduction allogame caractérisent les pamplemoussiers tandis que chez les mandariniers la polyembryonie est très fréquente et qu'il n'y a pas de limitation aux différents types de croisement. La reproduction des cédratiers se caractérise par la monoembryonie et l'hétérogamie. Néanmoins, la forte homozygotie révélée par les différents marqueurs moléculaires suggérerait que l'autofécondation ait été la principale voie de reproduction des cédratiers. Nous avons remarqué par ailleurs chez les cédratiers de notre collection que la déhiscence des anthères est souvent antérieure à l'éclosion florale (ouverture des pétales). Si cette observation est un caractère physiologique des cédratiers quelque soit leur environnement de vie, elle aurait favorisé l'autofécondation au détriment de la fécondation croisée, conduisant à l'homozygotie. La diversification des

principales espèces secondaires (orangers, citronniers, pomelos, bigaradiers) s'est faite, presque systématiquement, par mutations à partir d'un prototype hybride initial. Chacune de ces espèces présentent en effet, pour les marqueurs moléculaires étudiés (SSR dans la figure 2), une hétérozygotie très élevée (en excès) en l'absence de tout polymorphisme inter cultivars. Il est à noter que chez ces espèces, la polyembryonnie est fortement exprimée et qu'elle a été le principal moteur de la multiplication. Le genre *Poncirus* décrit comme étant monospécifique présente aussi une très faible diversité inter-variétale. Les marqueurs moléculaires codominants, tels que les SSR, ont permis de révéler deux entités taxonomiques qui physiologiquement se distinguent en partie par la taille de leurs fleurs (Figure 5). Les génotypes non intégrés à ces deux groupes seraient des hybrides d'individus appartenant soit aux deux groupes ou soit à un seul groupe.

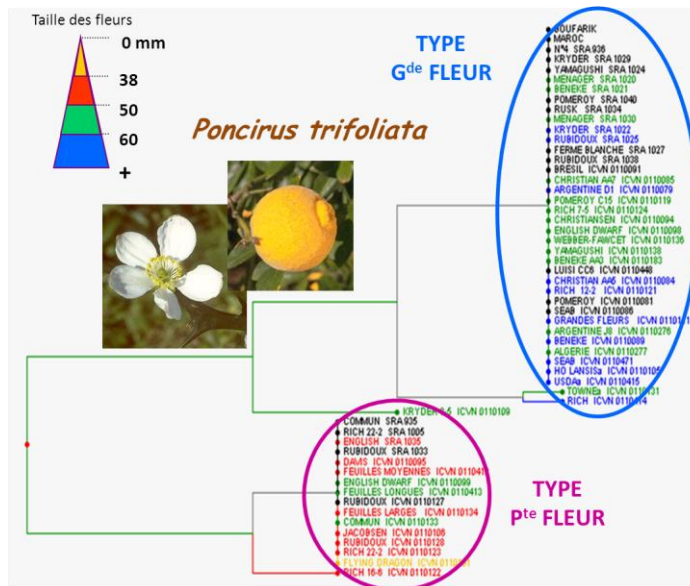


Figure 5 : Représentation de la diversité du genre *Poncirus trifoliata* révélée par les marqueurs SSR et relation avec la taille des fleurs le code couleur du nom de chaque génotype détermine la classe de taille (génotypes en noir = non observés)

Seuls des marqueurs dominants multilocus (AFLP, ISSR) ont permis de révéler une diversité inter-variétale un peu plus importante. Pour les *Poncirus* comme pour les espèces secondaires du genre *Citrus* la mutation et la polyembryonnie ont été les principaux moteurs de la diversification.

Dans le cadre du stage de Master Recherche de Julia Gatto, nous avons observé des variations de séquences d'ADN au sein d'un groupe de variétés d'orangers. Ce travail était centré sur la recherche de variation de séquences de gènes intervenant dans le métabolisme primaire (synthèse des sucres solubles et des acides organiques) pouvant expliquer la variation d'acidité et de sucrosité de la pulpe des fruits de près de 100 variétés représentant les principales espèces du genre *Citrus*. Des fragments de gènes codant pour des enzymes impliquées dans le métabolisme primaire, amplifiés par PCR (Polymerase Chain Reaction), ont été séquencés et des permutations de nucléotides ou SNP (Single Nucleotide Polymorphism) ont été observées.

Or. iaffaoui douce PFK	CCCTAGTAAAATGACAAAAAGATAGAAACCAAAGGGGTAGATGCTTACTTCATTTCTTTA
Or. madame vinous PFKh	CCCTAGTAAAATGACAAAAAGATAGAAACCAAAGGGGTAGATGCTTACTTCATTTCTTTA
Or. sakkaria lokum PFK	CCCTGGTAAAATGACAAAAAGATAGAAACCAAAGGGGTAGATGCTTACTTCATTTCTTTA
Or. shamouti PFKhomo 2	CCCTRGTAAAATGACAAAAAGATAGAAACCAAAGGGGTAGATGCTTACTTCATTTCTTTA
Or. washington navel P	CCCTGGTAAAATGACAAAAAGATAGAAACCAAAGGGGTAGATGCTTACTTCATTTCTTTA



Figure 6 : Détection d'un SNP (position indiquée par la flèche verte) dans la séquence du Phospho-fructo-kinase (PFK) entre 5 variétés d'orangers

Si la plupart des SNP détectés coïncident avec les hypothèses phylogénétiques quelques-uns sont néanmoins polymorphes au niveau intra spécifiques entre variétés mutantes et donc ne répondant pas à une hérédité parentale (Figure 6). Ils seraient alors probablement dues à une mutation ultérieure à la genèse du premier génotype hybride. Nous avons aussi détecté un InDel (Insertion ou Délétion) d'environ 80 nucléotides dans la séquence de la PFK présent chez le bigaradier mais absent chez les pamplemoussiers et les mandariniers étudiés. Ceci n'est pas en accord avec les hypothèses sur son origine.

Dans une deuxième étude nous sommes intéressés aux séquences d'éléments transposables que nous avons pu détecter à partir d'une séquence BAC (Bacterial Artificial Chromosom) publiée dans la banque NCBI. Nous avons développés des marqueurs IRAP (Inter Retroelement Amplified Polymorphism) et REMAP (RetroElement Microsatellite Amplified Polymorphism) à partir des séquences aux extrémités des rétroéléments (LTR pour Long Terminal Repeat) qui nous ont permis de distinguer les variétés sanguines d'autres variétés d'oranger. Ces résultats constituent une nouveauté dans la distinction des clones mutants, d'agrumes cultivés. Toutefois malgré le caractère innovant, ces résultats doivent être relativisés car ils ne révèlent qu'un très faible polymorphisme inter-variétal. Ceci étant, ils constituent d'ores et déjà un outil appréciable pour la gestion des ressources génétiques en vue du contrôle d'identité au stade pépinière lieu de plusieurs opérations pouvant occasionner des erreurs (rempotage, étiquetage,...). Par ailleurs ces variations, observées au niveau de l'ADN, pourraient être le point de départ d'une étude de leur effet sur l'expression des gènes et sur le caractère lié.

b) Les projets de recherche réalisés sur la diversité génétique

(1) J'ai coordonné une **action de recherche financée par le CTPS** (Comité Technique Permanent à la Sélection) (1998-2001) pour **l'étude de la diversité des mandariniers**. L'équipe de chimie et biomasse de l'Université de Corse du Pr Joseph Casanova a apporté ses compétences dans l'analyse des composés aromatiques des huiles essentielles de feuilles, de zeste et de jus pour décrire la diversité des espèces. Plusieurs publications et thèses ont été produites sur ce sujet. Ces travaux ont permis, entre autre, d'identifier, grâce à des marqueurs moléculaires, de nombreux synonymes et homonymes, mais aussi de renseigner sur l'expression de plusieurs **caractères de la reproduction** (fertilité male et femelle, la polyembryonnie...). Le caractère de **polyembryonnie** qui traduit la capacité de reproduction apomictique est assez rare chez les fruitiers, mais semble assez répandu chez les agrumes et surtout chez les mandariniers alors qu'il est absent chez les deux

autres espèces ancestrales. La fréquence de ce caractère est probablement liée d'une part à sa dominance supposée mais aussi au fait que le fond génétique des mandariniers se retrouve dans la grande majorité du génome des espèces secondaires ou formes cultivées telles que les orangers, pomelos, bigaradiers, citronniers, tangors et tangelos. La monoembryonie chez les hybrides de mandarinier est en l'occurrence très rare et pour ne citer qu'un exemple très connu, le clémentinier. La polyembryonie se retrouve aussi chez d'autres espèces non apparentées aux mandariniers telles que *C. aurantifolia* (les limettiers), *C. micrantha*, et chez les *Papeda Citrus*, ou autres genres botaniques comme *Poncirus* et *Fortunella*. Si l'on se réfère au nombre d'espèces portant ce caractère d'apomixie on est en droit de se demander si l'ancêtre des pamplemoussiers et celui des cédratiers n'auraient pas perdu ce caractère au cours de l'évolution. Dans le cadre d'un stage de Master (Xiao Fuen) nous avons initié une étude de localisation de **QTL contrôlant ce caractère d'apomixie** en développant une approche « Bulk Segregant Analysis » (BSA) à partir d'un croisement clémentinier x pomelo. Deux QTLs ont été repérés.

L'apomixie est un caractère de la reproduction qui revêt plusieurs intérêts scientifiques ou appliqués. Elle a contribué au maintien et à la multiplication des formes cultivées hybrides avant l'intervention de l'homme. Elle a probablement modifié le taux d'hybrides dans les populations naturelles en limitant leur capacité de développement ou de maintien au détriment des plants-clones d'origine nucellaire, du fait de la compétition entre individus de la progéniture. Si cette tendance était avérée on devrait observer une hétérozygotie plus élevée chez les mandariniers (espèce apomictique et auto-compatible) que chez les pamplemoussiers (espèce monoembryonnée et allogame). Paradoxalement la différence d'hétérozygotie entre ces deux populations n'est pas réellement significative. Quelles en sont les raisons ? Plusieurs possibilités : (i) la faible représentativité de notre échantillon par rapport aux populations naturelles de mandariniers qui peut induire des biais ; (ii) l'apomixie pourrait se traduire par une faible polyembryonie diminuant ainsi la compétitivité entre embryons ou plantules laissant ainsi des possibilités aux hybrides de se développer. Chez certains agrumes comme l'oranger, probablement apparu depuis plusieurs milliers d'années, l'apomixie a certes permis son maintien, mais a également favorisé l'accumulation de mutations récessives à effet dépressif ou délétère. Ceci est appréciable dans la descendance d'un croisement entre un clémentinier et un oranger dont la moitié des arbres sont moribonds ou morts au cours des 10 premières années de croissance. Le clémentinier, hybride récent (à peine plus d'une centaine d'années) n'est pas la source de cette dépression phénotypique bien qu'il est l'oranger comme parent pollinisateur.

Sur le plan pratique l'apomixie est utile pour la multiplication des porte-greffe mais évitée pour la genèse des populations hybrides. Ces informations sur la reproduction des agrumes ont été et sont toujours exploitées par les chercheurs des programmes de création variétale pour trier les géniteurs offrant les meilleures garanties de succès. Compte tenu de l'intérêt des systèmes de reproduction des agrumes et des mandariniers en particulier la description des caractères tels que la fertilité male, la fertilité femelle et la polyembryonie des variétés de la collection est poursuivie en intégrant également l'évaluation de l'effet du pollinisateur sur les deux derniers caractères.

Dans ce projet CTPS nous avons mis en place une expérimentation sous serre pour l'évaluation du caractère de **tolérance au chancre à *Phytophthora parasitica*** à partir d'une

souche locale isolée depuis des clémentiniers. Ce travail a porté sur plus de 105 variétés de mandariniers et quelques variétés de référence appartenant à d'autres espèces. L'expérience a duré 3 ans et a permis de repérer des variétés résistantes d'un niveau équivalent à celui des références variétales connues pour leur résistance à ce champignon pathogène (*Poncirus trifoliata* et *C. aurantium*), pouvant donc être utilisées dans des études génétiques ou pour la création de porte-greffe (Figure 7).

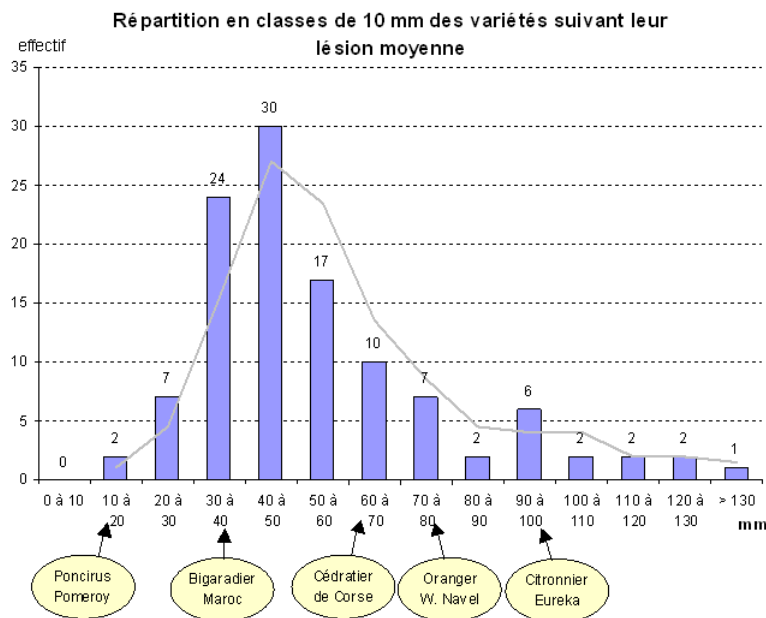


Figure 7 : Répartition des effectifs en classes de tailles de nécrose au point d'inoculation de 108 variétés de mandariniers et de référents d'espèces

C. amblycarpa (Nasranan) et *C. unshiu* (Satsuma) sont les variétés de mandariniers les plus résistantes à cette souche de *Phytophthora parasitica*. Elles sont du même niveau que le *Poncirus trifoliata* et plus tolérante que le bigaradier qui sont les agrumes utilisés comme porte-greffe résistant au *Phytophthora*. Un tiers de la population est d'un niveau de résistance équivalent ou supérieur à celui du bigaradier. Environ 20% de la population des mandariniers présente une sensibilité équivalente ou supérieure à celle de l'oranger et sont donc décrite comme très sensibles. Dans notre étude les clémentiniers sont les mandariniers les plus sensibles à cette souche. Ceci est conforme au fait que ce champignon ait été isolé à partir de clémentiniers. Les activités de recherche sur les pathogènes ayant cessées en 2002, après le départ du chercheur CIRAD en pathologie (Dr Christian Vernière), j'ai également abandonné l'idée d'une poursuite du programme de l'étude génétique de la tolérance dans la relation agrumes/*Phytophthora* pour me recentrer sur des critères plus proches de la production fruitière.

(2) De 2008 à 2010 j'ai participé à l'élaboration et au développement d'un projet BRG avec mes collègues du CIRAD (Dr Raphael Morillon et Dr Patrick Ollitrault) pour **l'analyse génétique et physiologique de la tolérance au stress salin d'un échantillon d'espèces d'agrumes**. Ce projet a constitué, pour partie, au sujet de thèse de Sajjad Hussain (étudiant Pakistanais dont j'ai été co-directeur et co-encadrant). Thèse qui a été soutenue le 16 février

2011. Cette étude a été réalisée sous serre en appliquant un stress salin sur des plants en pots âgés d'environ 24 mois. Vingt-deux variétés des différentes espèces ancestrales et cultivées ont été étudiées sur des paramètres physiologiques et photosynthétiques en mode dynamique. Une analyse de la diversité a été conduite sur la base des valeurs de ces paramètres (Figure 8).

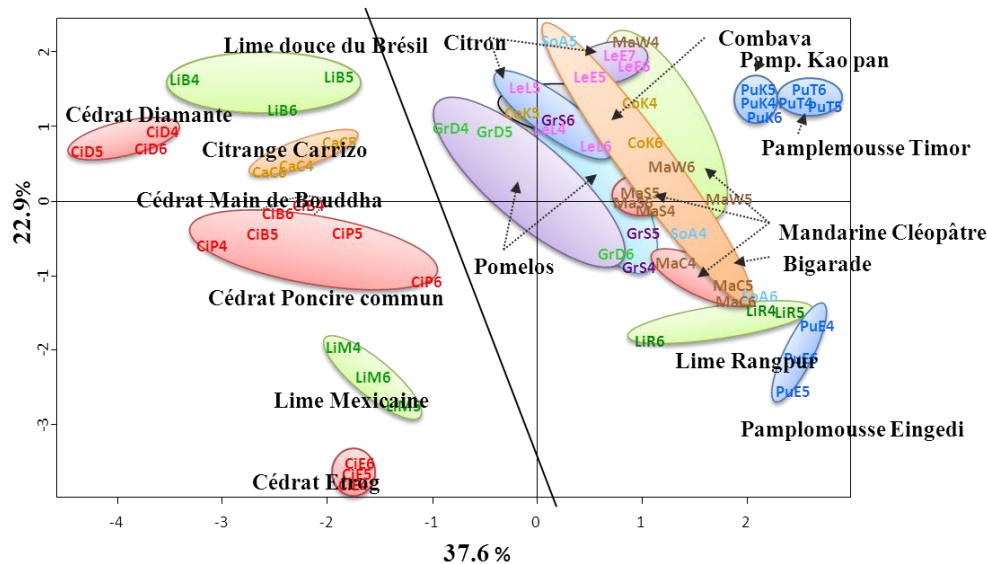


Figure 8 : Analyse en composantes principales des variétés d'agrumes soumis au stress salin en fonction des valeurs relatives par rapport aux témoins non stressés de différents paramètres physiologiques

Plusieurs résultats innovants ont été extraits de cette étude comme par exemples : (i) le mécanisme de gestion de l'accumulation des ions chlorures dans les feuilles des pomelos qui après l'abscission foliaire génère de nouvelles feuilles ; (ii), la sensibilité des variétés génétiquement proches des cédratiers ; (iii) la tolérance des mandariniers, des pamplemoussières et de leurs hybrides ; (iiii) l'accumulation du chlorure dans les feuilles semble être le meilleur indicateur du niveau de sensibilité des agrumes vis-à-vis du stress salin.

Cette étude se poursuit en collaboration avec le CIRAD par l'analyse de séquence de fragments de gènes candidat à la tolérance au NaCl. Nous envisageons de prolonger l'étude par la recherche des déterminants génétiques (QTL) de la tolérance aux sels portés par le mandarinier Cléopatra par une étude de cartographie des génomes, déjà initiée au cours de la thèse de M Sajjad Hussain. Ce prolongement d'étude se fera très probablement dans le cadre d'une coopération avec l'Université de Multan (Pakistan) où M Hussain a été nommé Professeur adjoint au mois de mai 2011 et sera coordonné par Dr Raphael Morillon (CIRAD) dont la tolérance à la salinité constitue le thème principal de son programme de recherche.

(4) Le projet de recherche GEQA a été recentré sur les critères de la **qualité organoleptique** des fruits d'agrumes. Mon apport dans ce projet se situe dans la connaissance de l'élaboration des composants de la qualité des agrumes d'un point de vue global (**diversité au sein du complexe d'espèces**) et dans la **recherche de déterminismes génétiques** qui régulent ces composants. Une analyse de la diversité de 87 variétés représentatives des

principales espèces ancestrales et cultivées du genre *Citrus* a été réalisée sur la base de la composition en sucres solubles et en acides organiques de la pulpe. En complément, nous avons recherché d'éventuelles modifications de séquences de gènes codant pour des enzymes du métabolisme primaire par l'approche SSCP (Single Sequence Conformation Polymorphism) puis par le séquençage des fragments de gènes amplifiés. Ces informations nous ont permis d'analyser la diversité et sa structure du genre *Citrus* (Figure 9).

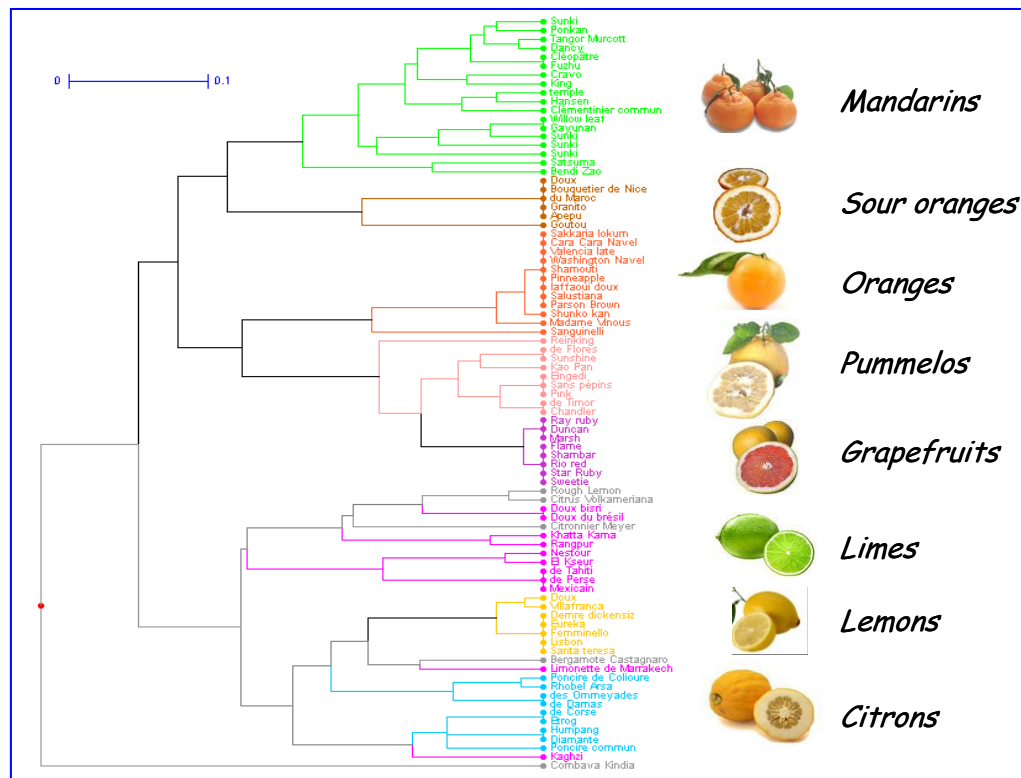


Figure 9: Représentation de la diversité génétique du genre *Citrus* à partir de l'analyse du polymorphisme par SSCP d'amplicons correspondant à des fragments de 6 gènes impliqués dans le métabolisme primaire. Luro et al. 2011

Nous avons mis en évidence l'influence de la phylogénie des agrumes et de sa structuration sur la diversité de composition de ces métabolites. Il apparaît que la structure est très semblable à celle révélée à l'aide de marqueurs moléculaires neutres où les trois espèces ancestrales structurent cette représentation. Les espèces secondaires sont affiliées à l'espèce parentale la plus proche et la séparation espèces « acides » et « peu acides » est très marquée. Les mutants « sans acidité » sont affiliés à leurs groupes taxonomiques respectifs suggérant ainsi que les modifications de séquences d'ADN observées ne sont pas l'origine de leur variation phénotypique. Par ailleurs, nous avons décrit les particularités tant quantitatives que qualitatives de chaque groupe taxonomique comme par exemple les mandariniers qui se singularisent des autres espèces par des concentrations en acide succinique et en saccharose élevées et une diminution de l'acidité très marquée au cours de la maturation des fruits.

La confrontation de ces différents niveaux de diversité a pour objectif l'établissement de corrélations de cause à effet. Ce travail d'analyse est encore en cours, mais d'ores et déjà, il nous a permis de repérer des phénotypes hors normes (mutants sans acidité, ou proportions différentes entre sucres solubles) qui seront utilisés dans des études d'hérédité et d'orienter le

choix d'un croisement génétique pour l'obtention d'un pédigrée offrant une large variation phénotypique de ces caractères. L'étude globale, telle que nous l'avons abordée sur le genre *Citrus*, est unique chez les agrumes et même assez rare chez les autres espèces fruitières.

(5) De 2003 à 2005, plusieurs chercheurs et ingénieurs de l'unité ont participé à une coopération décentralisée Corse-Vietnam pour enseigner aux partenaires vietnamiens (3 instituts d'Hanoï et 1 institut de Saïgon) les **principes, les techniques, et les méthodes de conservation et de caractérisation des variétés d'agrumes du Vietnam**. J'ai assuré la formation de deux techniciens vietnamiens pour l'utilisation des marqueurs moléculaires dans le cadre de la caractérisation des variétés d'agrumes vietnamiens et la mise en place de ces techniques dans leurs laboratoires respectifs au Vietnam. Une étude de la diversité des pamplemoussiers cultivés au Vietnam a été menée durant ces stages.

(6) J'ai construit, à deux reprises, un partenariat avec le Maroc (projet PRAD 2003-2005 et 2006-2008) respectivement avec le Pr Mohamed El-Otmani de l'IAV Hassan II d'Agadir et le Dr Samia Lotfy de l'INRA d'El-Menze-Kenitra. Dans ces projets, j'ai participé à l'élaboration du sujet et à l'encadrement de la thèse de Bouchra Chahidi (réalisée en partie à l'INRA de Corse) et à la formation en stage pré-doctoral de Melle Naima Ait-Dahoud (2008). Ces recherches ont contribué à définir des **critères pertinents de la caractérisation des clones de clémentiniers**, tant au niveau moléculaire qu'au niveau agronomique tout en comparant les effets environnementaux sur les critères de qualité du fruit (Corse/Maroc). Ce travail fut le sujet de thèse de Bouchra Chahidi, soutenu en 2007 à l'Université de Rabat (Maroc). Dans le deuxième projet, l'objectif était de **caractériser le germplasm des mandariniers de la station El-Menze INRA Maroc** de Kenitra, à l'aide de marqueurs SSR, tout en comparant les variétés en commun avec le germplasm de Corse. Des différences génétiques ont été observées pour des mêmes dénominations entre les deux germplasm, de même que du polymorphisme entre arbres représentant d'une dénomination donnée. Ceci souligne l'importance de l'outil moléculaire pour la caractérisation génétique, préambule à toute étude phénotypique comparative et de l'impact de l'environnement sur un caractère donné. Nous avons par ailleurs retracé l'origine parentale d'une variété marocaine protégée et commercialement en vogue (Afourer™) en provenance de semis de graines d'une variété (Murcott) de la collection de Suila, effectués dans les années 60. La parcelle de cette collection étant encore en place, nous avons pu faire un vrai travail d'investigation pour identifier le parent pollinisateur.

(7) Dans le cadre d'une collaboration avec le CIRAD et l'IVIA (Espagne), je participe à l'encadrement de la thèse (2008-2012) d'un étudiant espagnol (Andres Garcia Lors) pour **l'analyse fine de la diversité du groupe des mandariniers à l'aide de marqueurs SSR** (Single Sequence Repeat) et de marqueurs morphologiques et biochimiques. Cette étude a permis d'analyser la structuration de la diversité génétique de cette espèce par des approches d'analyse Baésienne qui met en exergue 11 sous-groupes mais avec néanmoins des flux génétiques entre eux. Cette étude a analysé le contenu des germplasm de mandariniers Valencien et Corse. Le germplasm de Corse possède une diversité très importante du fait de nombreuses introductions réalisées à partir des zones asiatiques, dont les mandariniers sont originaires, tandis que celui d'Espagne est plus représentatif des hybrides issus des

programmes d'amélioration du XXème siècle. Une « **core collection** » de mandariniers a été définie à partir de l'analyse comparative de différents modèles méthodologiques. Par ailleurs cette thèse a été l'occasion d'affiner la structure des génomes des variétés et espèces cultivées en termes de proportion des génomes des espèces ancestrales à l'aide de différents marqueurs SSR et Indel. C'est ainsi, par exemple que nous avons démontré que le génome de l'oranger est constitué pour $\frac{3}{4}$ du génome de mandarinier et $\frac{1}{4}$ de celui du pamplemoussier confirmant ainsi l'origine backcross de l'oranger initial, premier. Cette étude démontre aussi que l'approche de **génétique d'association** basée sur l'étude du déséquilibre de liaison pour rechercher des QTL, ne pourra pas être envisagée à partir d'un échantillon représentatif des espèces du genre *Citrus*, car trop structuré, mais plutôt à partir d'une population de mandariniers.

En collaboration avec Patrick Ollitrault, j'ai défini le sujet de thèse et je participe à l'encadrement d'un ingénieur INRA (Franck Curk). Cette thèse démarrée en 2010 est réalisée à l'IVIA en collaboration avec le Pr Luis Navarro (Espagne). Elle vise à **déchiffrer la structure chimérique du génome des espèces secondaires** telle que le clémentinier, à l'aide de marqueurs SNP (Single Nucleotide Polymorphism) spécifiques des 3 espèces ancestrales (pamplemoussier, mandarinier, cédratier). L'objectif étant de repérer l'origine des portions chromosomiques et de localiser les points de recombinaison. Il faut pour cela rechercher des marqueurs spécifiques de chacun des génomes ancestraux et par conséquent nous avons opté pour le développement de marqueurs SNP que nous avons démontré être plus informatifs pour le traçage des espèces que les marqueurs SSR (trop polymorphes + homoplasie). Une possible application serait de pouvoir piloter par marqueurs une possible recréation par hybridation d'une forme cultivée telle que le clémentinier.

2.1.3 - Les perspectives dans l'étude de la diversité et des structures génétiques

La majeure part de la diversité phénotypique et sa structuration au sein du genre *Citrus* sont liées à la différenciation entre les trois taxons ancestraux avant la genèse des espèces secondaires. Il semble aujourd'hui que cette structure globale soit bien admise. De même la genèse des espèces secondaires à partir des espèces ancestrales est élucidée pour la plus part des agrumes cultivés. C'est le cas des pomelos des orangers et du clémentinier. Néanmoins quelques incertitudes demeurent quant à l'origine des citronniers et des bigaradiers. Certaines données de nos travaux qu'elles soient génotypiques ou phénotypiques sont légèrement en contradiction avec la filiation mandarine/pamplemousse du bigaradier. En effet des allèles spécifiques du groupe des espèces « acides » (citronniers, limettiers, cédratiers et autres espèces sauvages) se retrouvent chez le bigaradier. Néanmoins lorsque l'on somme l'ensemble des données génotypiques, l'origine pamplemoussier/mandarinier des bigaradiers est confirmée. La proportion de marqueurs provenant du groupe espèces acides est très faible (<10%). Nous n'avons aucune hypothèse phylogénétique à proposer qui pourrait expliquer cette très faible proportion d'allèles non présents dans le groupe mandarinier/pamplemoussier. Une explication pourrait être celle d'un échantillonnage non représentatif de la diversité allélique réelle existante dans les deux espèces, mandariniers et de pamplemoussiers et que les allèles spécifiques des espèces acides dans nos études pourraient bien être présents également dans ces deux espèces mais pas dans nos études. Bien que la diversité des mandariniers dans notre collection soit importante (près de 250 variétés) on ne peut avoir l'assurance de sa

représentativité exhaustive. Cela est encore plus vrai pour les pamplemoussiers, espèce peu ou pas cultivée en Méditerranée, qui ne sont représentés dans notre collection que par une vingtaine de variétés. Pour répondre à cette question de l'origine des bigaradiers et des citronniers une étude de diversité sur un plus grand échantillonnage variétal serait donc souhaitée. Néanmoins pour se faire, il serait nécessaire d'établir des collaborations avec des équipes étrangères ayant des collections plus spécialisées sur la diversité des pamplemoussiers, comme par exemple en Thaïlande.

La mutation (au sens large incluant élément transposable et variation épigénétique) a été le moteur principal de la diversification intraspécifique des espèces secondaires. Ces dernières présentent ainsi une diversité génétique intraspécifique très étroite portant principalement sur des caractères sélectionnés par l'homme (période de production, qualité des fruits...). Elles apparaissent, ainsi, particulièrement fragiles vis-à-vis des maladies émergentes, comme l'illustrent bien les ravages causés par la Tristeza sur les vergers d'agrumes greffés sur bigaradier (*C. aurantium*) et les difficultés actuelles de l'agrumiculture brésilienne (monoculture de l'oranger, *C. sinensis*), confrontée à deux maladies bactériennes, la chlorose variéguée et le huanglongbing.

L'amélioration variétale de ces espèces secondaires présente un intérêt économique majeur (plus de 80% de la production mondiale des agrumes). Cependant, à ce jour, elle n'est pas envisageable par des schémas d'amélioration conventionnelle (recombinaisons sexuées) pour plusieurs motifs :

- leur structure très hétérozygote ne permet pas un maintien des caractéristiques phénotypiques de base (le morphotype) après recombinaison sexuée ;
- la multiplication clonale a contribué à l'accumulation sous forme récessive d'allèles néfastes ou délétères, qui, lors d'un croisement par un génotype proche, se trouvent à l'état homozygote et en s'exprimant entraînent un effet dépressif ou léthal ;
- la plupart des « cultivars » ont été sélectionnés sur la perte de leur capacité à produire des pépins (aspermie) et sont par conséquent stériles ;
- chez les cultivars produisant des fruits spermés, les pépins sont le plus souvent polyembryonnés, avec de multiples embryons somatiques limitant fortement la possibilité de régénération de l'embryon zygotique.

Compte tenu de l'ensemble de ces contraintes génétiques, actuellement, les seules possibilités d'amélioration de ces variétés sont, soit la mutagenèse, soit la transformation. Néanmoins une autre voie pourrait être envisagée : celle de la reconstruction des structures génomiques hybrides à partir de combinaisons de génotypes des taxons ancestraux qui constituent les principaux réservoirs de diversité des formes cultivées. Cette approche pourrait être envisagée à condition de connaître très finement les structures du génome des espèces secondaires et de repérer les points de recombinaison entre chromosomes parentaux. En d'autres termes l'objectif serait de reconstruire à partir des génomes ancestraux les génomes chimériques des espèces secondaires les plus cultivées ainsi que localiser les points de recombinaisons. La reconstitution des structures génomiques de chaque espèce secondaire à partir de combinaisons de génotypes des taxons ancestraux, nécessite le développement de marqueurs spécifiques des 3 taxons ancestraux (mandariniers, pamplemoussiers et cédratiers). Les marqueurs de type SSR, qu'ils soient génomiques ou inclus dans des EST, ne permettent pas d'atteindre le niveau de spécificité escompté. En effet, les études de génotypage, menées tant à l'Inra qu'au Cirad, attestent de la présence très fréquente d'allèles communs au moins à deux espèces (mandariniers et pamplemoussiers). Il est reconnu également que du fait de la

nature des séquences SSR, des formes alléliques peuvent être identiques alors qu'elles sont issues d'évènements génétiques indépendants. Des travaux préliminaires, conduits par le Cirad et l'Ivia sur une quarantaine de gènes (chaîne de biosynthèse des métabolites primaires et secondaires, gènes candidats pour la tolérance à la salinité), suggèrent que les marqueurs SNPs et Indel seraient bien plus appropriés. En effet, la probabilité de convergence vers une forme identique à partir d'évènements indépendants est très faible. La recherche de marqueurs SNP spécifiques des trois espèces ancestrales constitue le sujet de thèse de Franck Curk.

Nous faisons l'hypothèse que l'un des déterminants essentiels de la variabilité phénotypique des espèces secondaires est lié à l'expression du génome et à une régulation différentielle au niveau interspécifique. Il serait alors nécessaire d'évaluer l'importance de cette différenciation des transcriptomes entre les 3 taxons ancestraux et d'étudier la néorégulation du génome chez les espèces secondaires. Des études précédentes réalisées au Cirad lors des thèses d'Anne-Laure Gancel et de Jean-Baptiste Bassène, ont démontré à partir de l'analyse de composés aromatiques et d'expression de gènes (transcriptomique) chez des génotypes allopolyploïdes, une dominance globale d'expression des gènes de mandariniers sur les autres génomes. Avec le développement des techniques de séquençage, les informations sur la structure des génomes (séquence complète de référence du génome du clémentinier + ~600 000 Est dans les banques) l'analyse des séquences du transcriptome de plusieurs génotypes englobant les espèces ancestrales et quelques espèces secondaires cultivées est une approche réalisable tant sur le plan financier que sur le plan technique.

La mutation étant le principal moteur de diversification des espèces secondaires au niveau intraspécifique, il n'y a ce jour aucun élément au niveau de la diversité de structure de l'ADN permettant la distinction des différentes variétés. La variabilité phénotypique est le plus souvent ciblée sur un seul caractère que l'on peut observer entre mutants d'une même espèce secondaire. Ces mutants constituent un matériel biologique favorable pour la recherche des gènes impliqués dans la variation phénotypique par différentes voies telle que par exemple la comparaison d'expression associée à une sélection soustractive (SSH = Soustractive and Supressive Hybridization). Mais on peut supposer que ces stratégies permettent d'appréhender le plus souvent des variations quantitatives donc probablement liées à des régulations d'expression de gènes. L'identification des mécanismes moléculaires conduisant à la variation phénotypique des variétés mutantes pourrait servir à l'obtention de marqueurs génétiques permettant le traçage variétal. Nous émettons l'hypothèse que les éléments transposables ou la régulation épigénétique puissent être les deux sources de cette variabilité. Nous avons entrepris un travail de recherche de marqueurs ET (éléments transposables) pour le génotypage de variétés d'orangers, par des techniques de recherches globales à l'aveugle en combinant différentes amorces PCR spécifiques de séquences particulière de ces ET, les LTR (Long Terminal Repeat). La définition des amorces avait été réalisée à partir de la séquence d'un seul clone BAC. Cette approche pourrait aujourd'hui être complétée par la disponibilité des informations liées au séquençage des génomes du clémentinier et de l'oranger. En effet une recherche des différents ET sur ces deux génomes pourrait conduire à une meilleure définition des séquences consensus des ET et par conséquent à un meilleur marquage génétique des positions de ces ET. Les analyses des variations épigénétiques a été entreprise par le CIRAD avec notamment le développement des marqueurs DArT .

2.2 Méthodologies de création variétale

2.2.1 Le contexte de l'amélioration variétale chez les agrumes

Pour le marché du fruit frais, la qualité du produit est le critère essentiel. La définition de la qualité organoleptique peut varier suivant les habitudes du consommateur. En Occident, elle est déterminée par la coloration, l'arôme, la teneur en jus et le rapport sucre/acidité. Des différences d'appréciation notables existent toutefois entre les différents pays Européens. Le sélectionneur doit donc s'efforcer de développer une gamme variétale susceptible de répondre à la diversité de ces perceptions de la qualité organoleptique. L'aspermie, la facilité d'épluchage et la régularité de l'écorce participent à la définition de la qualité du fruit. Au-delà de l'aspermie des nouvelles variétés, il convient de sélectionner des cultivars incapables de polliniser les variétés auto-incompatibles. C'est particulièrement important vis-à-vis du clémentinier, qui représente actuellement l'essentiel des vergers de production de petits agrumes dans le Bassin Méditerranéen. A défaut, les vergers de production de clémentinier côtoyant ces nouvelles variétés produiront en effet des fruits contenant de nombreux pépins. L'étalement de la production constitue également un objectif très important des programmes de sélection dans le groupe des petits agrumes de type mandarine. Des variétés tardives sont ainsi particulièrement attendues par le marché. L'amélioration de la qualité des petits agrumes pour les zones tropicales humides et une plus grande valorisation des pamplemousses dans les zones tropicales sont également des enjeux importants pour les pays du Sud.

Les programmes d'innovation variétale développés par le CIRAD portent sur la diversification des « petits agrumes » pour le marché du fruit frais par la création de variétés aspermes. La structuration du complexe d'espèce, la longueur de la phase juvénile ainsi que l'apomixie ou la stérilité de nombreux cultivars expliquent, en grande partie, les difficultés rencontrées par l'amélioration conventionnelle. **L'absence de pépins** étant une caractéristique essentielle pour le marché du fruit frais, le projet de diversification des petits agrumes repose sur la sélection de cultivars triploïdes stériles. Une des stratégies permettant de générer des hybrides triploïdes consiste à rechercher des hybrides triploïdes spontanés, issus d'accidents méiotiques produisant des ovules diploïdes. Compte tenu de l'impact sur le développement des pépins, il est nécessaire de passer par un sauvetage *in vitro* et une sélection par la cytométrie en flux. La recherche d'hybrides triploïdes à partir de croisements entre diploïdes a été décrite dès les années 70 (Esen and Soost, 1971; Esen and Soost, 1973; Geraci et al., 1975). Les triploïdes étaient sélectionnés parmi les plants de semis des petits pépins de cultivars monoembryonnés (Esen and Soost, 1977; Wakana et al., 1981; Soost, 1987). Cependant cette approche était limitée par des taux relativement faibles et la difficulté de caractériser la ploïdie de grande population hybride par comptage chromosomique. Nous avons montré que la combinaison du sauvetage d'embryons et de l'évaluation de la ploïdie par cytométrie en flux permettait d'améliorer considérablement l'efficacité de cette stratégie (Ollitrault et al., 1996). Il est ainsi possible d'exploiter efficacement ce processus naturel en création variétale, y compris pour des géniteurs femelles comme le clémentinier produisant de faibles taux de gamètes diploïdes (1%). Cette stratégie est ainsi aujourd'hui utilisée en routine par plusieurs projets d'amélioration dans le Bassin Méditerranéen (France, Espagne, Maroc).

2.2.2 Activités et résultats produits sur l'obtention de polyplloïdes

J'ai participé, à la création d'hybrides triploïdes par pollinisations contrôlées du clémentinier par différentes variétés, à la mise en culture *in vitro* et à la **sélection des triploïdes** selon le procédé décrit dans la figure 10.

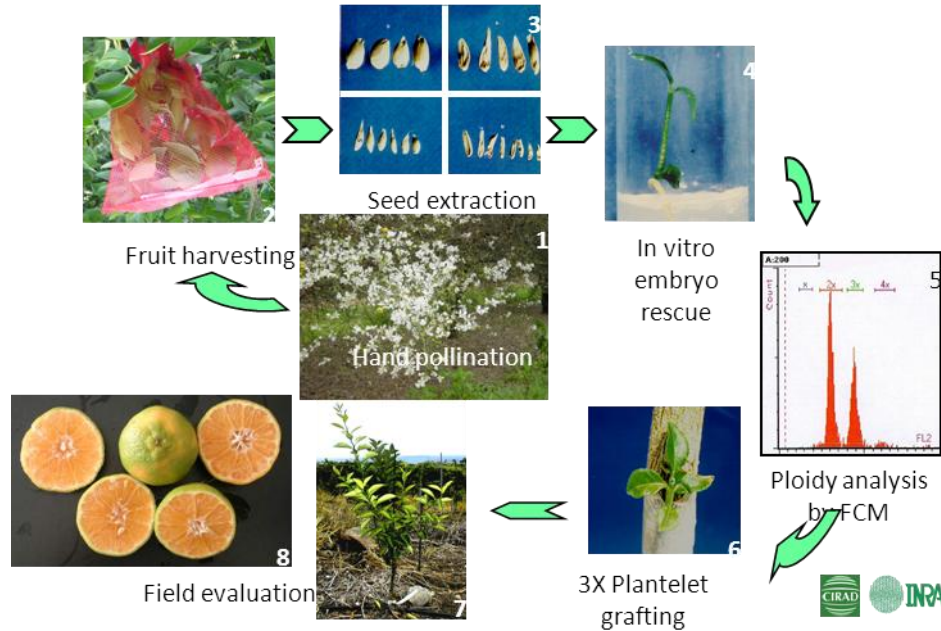


Figure 10 : Schéma du procédé pour l'obtention d'hybrides triploïdes à partir de croisements entre deux génotypes diploïdes.

Nous avons, par ailleurs, démontré par l'utilisation des marqueurs moléculaires isozymes, SSR et RAPD que les événements cellulaires à l'origine de la diploïdisation des gamètes étaient probablement des **restitutions gamétiques de la deuxième division de méiose** (SDR). Cette origine entraîne un niveau élevé d'homozygotie des gamètes diploïdes mais également une diversité allélique plus importante dans la descendance de ces croisements que si le diplo-gamète avait été le produit d'une FDR (First Division Restitution). Dans le cas d'une FDR l'hétérozygotie parentale est mieux conservée que dans le cas d'une SDR (Figure 11). Par conséquent on peut s'attendre à ce qu'il y ait une plus grande variabilité allélique et donc phénotypique dans les descendances d'hybrides triploïdes rendant la sélection un peu plus difficile que si nous avons affaire à des diplogamètes issus de FDR.

Ces résultats découlent de travaux effectués lors d'un stage de Master de Franck Maddi (1999). Ces travaux initiés en 1994, ont permis la mise en place d'une collaboration avec l'INRA Maroc (PRAD 1996-1997) dans laquelle j'ai assuré l'encadrement et la formation d'une stagiaire marocaine aux techniques de sauvetage *in vitro* d'embryons immatures (Andaji Najat). Au sein de l'équipe CIRAD qui est seul responsable de ce programme maintenant, cette stratégie a été optimisée ces dernières années par Froelicher et col. (identification de géniteurs produisant de forts taux de triploïdes, pollinisation assistée par bourdons...) et est utilisée en routine dans le cadre des projets d'innovation variétale en partenariat. Plusieurs milliers de triploïdes ont ainsi été générés par Froelicher et col. Au cours de ces dernières années.

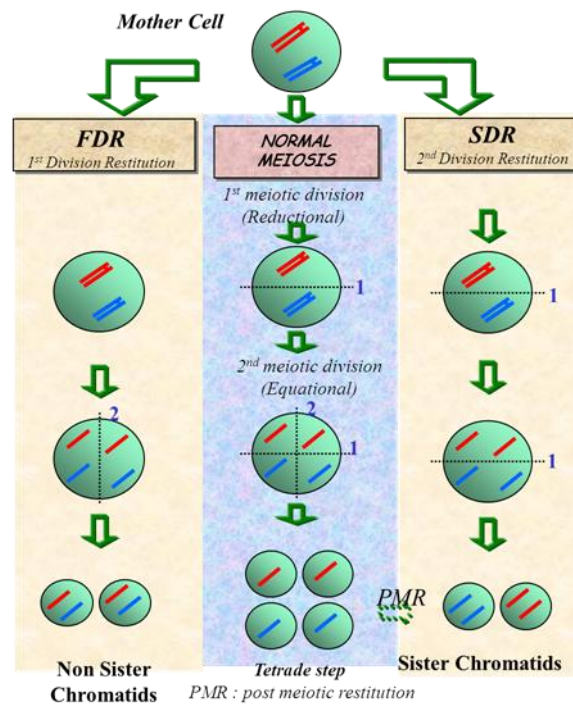


Figure 11 : Schéma représentant les deux voies principales de la diplogamie

La recherche de polypléides, et notamment de **tétraploïdes**, constitue en enjeu majeur pour la création de triploïdes par fécondation mais est aussi une opportunité potentielle pour l'amélioration des porte-greffes vis-à-vis des stress biotiques et abiotiques. La polypléidisation spontanée, hormis la genèse des triploïdes, est souvent issue du doublement chromosomique du génome des cellules des embryons nucellaires chez les agrumes. En collaboration avec les chercheurs du CIRAD nous avons estimé la fréquence d'occurrence de cette polypléidisation des embryons nucellaires en recherchant par cytométrie en flux des plantules tétraploïdes dans des semis de différents agrumes de la collection. Les fréquences les plus élevées ont été observées chez les Poncirus et certains hybrides intergénériques (citranges et citrumelos) où elles dépassaient les 10%. Nous avons démontré également que l'environnement et probablement la température avez un effet sur ces événements de doublement chromosomiques avec des valeurs plus élevées dans les régions les plus froides. Nous avons aussi étudié l'effet de ces porte-greffe tétraploïdes sur la production et sur la croissance du clémentinier. D'une manière générale un porte-greffe tétraploïde induit une croissance ralentie et un développement plus faible du greffon et un rendement fruitier beaucoup plus faible sans réelle incidence significative sur la qualité organoleptique des fruits. La photosynthèse du clémentinier est également modifiée et dans des conditions de stress salin les porte-greffe tétraploïdes ont démontré une meilleure adaptation que les équivalents diploïdes. Compte tenu des répercussions de la polypléidisation sur la physiologie de l'arbre, l'ensemble de la collection de porte-greffe a été analysé et tous les génotypes tétraploïdes ont été répertoriés afin qu'ils ne puissent plus être diffusés au titre de porte-greffe diploïdes. Ces tétraploïdes sont également utilisés par les collègues du CIRAD pour les études de physiologie de la tolérance aux stress abiotiques.

2.2.3 Les perspectives de recherche sur la polypléidie

Le programme de création variétale est pris en charge par le Cirad. Les orientations et les programmes de recherche associés au développement de l'exploitation des polypléides sont du ressort des scientifiques de cet institut. Des recherches ont été engagées par ces chercheurs sur l'étude de la méiose des polypléides et notamment des tétraploïdes hybrides somatiques issus de la fusion de protoplastes d'espèces ou de genres différents. La nature de la ségrégation (disomique, tétrasomique ou intermédiaire) des tétraploïdes, utilisés comme géniteurs dans des croisements avec des génotypes diploïdes, influe sur le taux de variabilité allélique dans la descendance des hybrides triploïdes ainsi que sur le succès des programmes d'amélioration. L'obtention de polypléides est source de questionnements sur la régulation épigénétique.

Bien que n'étant pas participant à ce programme de création variétale, l'unité GEQA INRA pourrait néanmoins être intéressée par l'utilisation de certains hybrides pour répondre à ses problématiques de recherche. En effet les cybrides, ou hybrides nucléo-cytoplasmiques, représenteraient un objet d'étude d'intérêt pour éprouver certaines hypothèses sur la régulation du métabolisme primaire. La mitochondrie est l'organelle où se déroule le cycle de Krebs, étape déterminante du métabolisme primaire permettant la synthèse de l'acide citrique, composé principal de l'acidité de la pulpe des agrumes. Néanmoins nous ne pouvons affirmer si c'est au niveau de la mitochondrie que se situe la clé de la régulation de l'acidité. La glycolyse se déroulant dans le cytoplasme, ou les étapes ultérieures de transport de l'acide citrique vers la vacuole en lien avec des transporteurs tonoplastiques et de son métabolisme pourraient être aussi des points de régulation de l'acidité. L'analyse de l'acidité et de la régulation d'expression des enzymes-clés du métabolisme primaire chez des cybrides combinant des mitochondries d'espèces acides à des noyaux d'espèces peu acides, et réciproquement, pourraient être utiles pour répondre à cette question. De même, les chloroplastes, organes assurant la photosynthèse, pourraient aussi intervenir dans la régulation de l'acidité et de la sucrosité des fruits via la synthèse du saccharose. Les premiers résultats de la thèse de Jérémie Santini sur l'analyse de la plasticité de l'activité photosynthétique au sein des agrumes démontrent que les espèces ancestrales et les différents genres botaniques présentent des capacités photosynthétiques très contrastées, résultant probablement d'une adaptation aux différentes conditions environnementales des zones naturelles de diversification. L'activité photosynthétique est aussi dépendante des conditions environnementales et notamment de la température. On peut donc supposer que des cybrides proposant différentes combinaisons chloroplaste/mitochondrie/noyau, pourraient être utiles pour répondre à la question des interactions entre les différents organes et sur la régulation des mécanismes cellulaires responsables de l'acidification de la pulpe des agrumes. L'obtention de cybrides n'a jamais été un objectif du groupe « agrume » du Cirad, néanmoins quelques uns ont été générés aléatoirement dans les programmes utilisant l'hybridation somatique pour l'obtention de polypléides. Une collaboration entre chercheurs INRA et CIRAD pourrait être construite autour d'un tel projet.

2.3 Cartographie et Recherche de déterminants génétiques de caractères d'intérêt agronomique

Depuis 2007, les orientations des thématiques de recherches de l'unité GEQA intègrent une approche pluridisciplinaire associant également la collaboration d'équipes de l'université de Corse qui ont pour cible des caractères d'intérêt pour l'agrumiculture en général. La coloration, l'arôme et le goût des fruits sont des critères essentiels pour la gestion des récoltes et la qualification des productions et sont, par conséquent, devenus des objets de recherche. L'apport des techniques de biologie moléculaire, de génomique et de la génétique se situe dans le dénombrement, l'identification et l'effet des gènes qui interviennent dans l'élaboration des caractères de qualité de production.

2.3.1 Connaissances sur l'acidité des agrumes et les travaux de cartographie

L'évaluation de la qualité des fruits d'agrumes consommés en frais prend en compte à la fois des critères physiologiques (aspect extérieur, calibre, absence de pépins, coloration, proportion de jus...) et des critères de qualité intrinsèques (teneur en sucres et en acides). Cependant, selon la norme européenne, la maturité des agrumes est déterminée d'après trois critères : la teneur en jus, la coloration et la teneur en sucre (Norme CEE, 2004). Toutefois, certains fruits atteignent leur maturité avant que la coloration de la peau ne soit totale (Loussert, 1987). La coloration n'est donc pas un bon indicateur de la maturité. En revanche, le rapport Extrait sec soluble /Acidité, ou simplement E/A, absent de la réglementation européenne, est largement utilisé dans tous les pays agrumicoles pour déterminer le stade optimal de récolte de la plupart des fruits (oranges, mandarines, clémentines) (Loussert, 1987 ; Baldwin, 1993). Au cours du développement du fruit, l'acidité titrable varie, elle augmente généralement dès le début du stade II et atteint un pic lorsque le fruit a atteint 50 % de son volume final (Erickson, 1968). Pendant la maturation, l'acidité des limes et des citrons reste constante (Sinclair, 1984) mais elle diminue chez les oranges, les mandarines et les clémentines (Cercós *et al.*, 2006). L'acide citrique est l'acide organique majoritaire de la pulpe des agrumes matures (Spiegel-Roy et Goldschmidt, 1996). Néanmoins, les concentrations en acide citrique sont très contrastées. L'acide citrique représente de 60 % à plus de 90 % des acides organiques totaux des agrumes (Sinclair, 1984). Il est principalement responsable de l'acidité de la pulpe des agrumes, suivi de l'acide malique (en moyenne : 5,0 g L⁻¹).

L'acidité et le taux de sucres varient en fonction des espèces mais également en fonction des conditions culturales et environnementales, notamment en fonction du porte-greffe, de la fertilisation, de l'irrigation et du climat (Marsh *et al.*, 2000). Le climat, notamment la température, est un facteur influençant l'acidité et la teneur en sucres des agrumes. En général, plus la température est élevée moins les fruits sont acides (Sinclair, 1984). Les travaux de Richardson *et al.* (1997) ont montré qu'une élévation de température d'environ 10°C durant le stade II diminue l'acidité de la mandarine Satsuma (*C. unshiu* Marc.) de 12 à 8 meq 100 g⁻¹ de matière fraîche. En revanche, cette augmentation de température favorise l'accumulation des sucres.

La plupart des caractères étudiés en génétique mendélienne et en cartographie génique concerne essentiellement des résistances aux stress biotiques et abiotiques car dans ce cas, la contrainte de phase juvénile n'intervient pas (pour revue Roose, 2007). Ces travaux de cartographie ont permis de localiser et de placer sur ces cartes différents gènes d'intérêt, pour certains, intervenant dans l'expression de caractères quantitatifs comme des QTLs de

résistance au *Phytophthora*, au virus de la Tristeza, au nématode. Hormis les résistances aux maladies plusieurs travaux ont été menés sur des QTL de la physiologie de la croissance de la plante de la production de masse sèche de l'enracinement ainsi que ceux intervenant dans le contrôle de l'apomixie et des QTL de la production de fruits et de graines. Enfin signalons un travail de recherche sur la tolérance au stress salin qui a répertorié 70 QTLs intervenant dans l'accumulation et/ou l'interaction entre les ions K, Na et/ou Cl (Tozlu et al., 2002). A notre connaissance aucun travaux de génétique mendélienne ont été développée sur l'hérédité de l'acidité et de la sucrosité chez les agrumes.

Notre objectif est de comprendre dans un premier temps quels sont les facteurs génétiques qui interviennent dans la régulation de l'acidité sans tenir compte de la variation de facteurs climatiques. Pour cela nous avons établi deux approches stratégiques, l'une sur la base d'études comparatives entre variétés acides et mutants sans acidité, la deuxième sur l'analyse l'hérédité dans une généalogie de QTL intervenant dans le contrôle de caractères de la qualité des fruits (acidité/sucrosité et de métabolites secondaires volatiles).

2.3.2 Etude du contrôle génétique de l'acidité de la pulpe des fruits

Une thèse a été réalisée par Marie Vincente Albertini sur ce thème et dont l'objectif était de porter sur la compréhension de **l'élaboration de l'acidité** et de la teneur en sucres solubles de la pulpe, au cours du développement du fruit chez des variétés à acidité « normale » et des variétés « sans acidité ». Elle a été conjointement encadrée par la Pr Liliane Berti de l'Université de Corse et par Olivier Pailly et moi même de GEQA. A partir de **mutants « sans acidité »** nous avons pu établir des hypothèses sur des modèles de la régulation des voies du métabolisme primaire où la différence d'acidité finale serait due à un métabolisme du citrate cytoplasmique alors que chez les fruits acide il est transporté vers la vacuole. L' α -cétoglutarate, produit à partir du citrate cytoplasmique, serait métabolisé par l'intermédiaire du glutamate en acide γ -aminobutyrique (GABA). La consommation de protons lors de la synthèse du GABA permettrait de stabiliser le pH cytoplasmique. De plus, le catabolisme du GABA via le « GABA *shunt* » (GABA \rightarrow succinate semialdéhyde \rightarrow succinate) permettrait de réalimenter le cycle de Krebs en succinate.

A partir de ces résultats, nous avons engagé la réalisation d'une deuxième thèse (Sandrine Antoine 2008-2011) toujours en collaboration avec le Pr Liliane Berti sur l'étude des **relations entre métabolisme des sucres et celui des acides organiques** dans des conditions de **limitations en ressources carbonées**. Ces travaux sont complémentaires de ceux que j'ai engagés sur la recherche de **déterminants génétiques (QTL) contrôlant les teneurs en sucres solubles et en acides organiques** de la pulpe par l'étude de ségrégations dans des populations pédigrées en pleine production que j'avais créées en 1995. La longueur des phases juvéniles (jusqu'à 10 ans) impose une anticipation pour la création de matériel biologique adapté aux études génétiques sur les caractères du fruit. Ces travaux reposent bien évidemment sur l'établissement de cartes génétiques à l'aide de marqueurs moléculaires SSR. Trois populations ségréгатives sont disponibles dont les pedigrees sont présentés dans la figure 12.

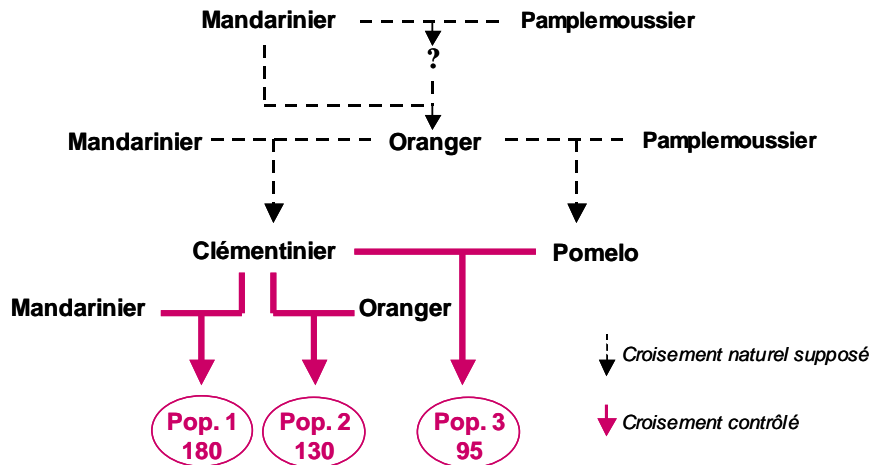


Figure 12: Pedigree des 3 populations ségrégatives disponibles pour l'étude de l'hérédité des caractères de qualité du fruit.

Sur la base des caractères phénotypiques des parents, ces différentes populations sont utiles pour des études d'hérédité de plusieurs caractères d'intérêt agronomique dont les plus importants sont : la taille du fruit, la coloration de la pulpe (caroténoïdes et anthocyanes), la décoloration de la peau, l'acidité, la sucrosité, les délais de maturation, l'aspermie, l'autoincompatibilité gamétique et la polyembryonie.

In fine l'objectif général est de comprendre et de mieux contrôler et si possible d'améliorer ces critères de qualité. Des cartes génétiques sont en cours d'élaboration via l'étude de ségrégation de marqueurs SSR dans deux descendance issues du croisement entre le clémentinier et le pomelo Star Ruby pour l'un et entre le clémentinier et le mandarinier Willow Leaf pour le deuxième. Ces cartes comportent à ce jour environ 80 marqueurs localisés. Dans le même temps une analyse de l'acidité et de la sucrosité de la pulpe des hybrides de la population à été réalisée à une date fixe (Figure 13).

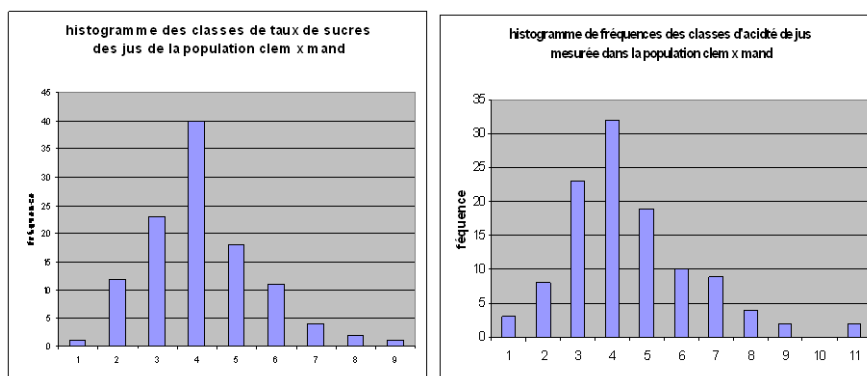


Figure 13: Histogrammes représentant les distributions des effectifs de la population clémentinier x mandarinier selon les classes de sucrosité et d'acidité du jus des fruits.

La distribution des hybrides en fonction des classes de valeurs d'acidité et de sucres est de type Gaussienne avec des hybrides présentant parfois des valeurs dépassant (plus et moins élevées) celles des parents.

2.3.3 Etude du contrôle génétique du caractère aromatique de type « mandarine »

Même si les métabolites primaires sont les éléments essentiels de la qualité interne des fruits d'agrumes, les métabolites secondaires ont également un rôle important dans l'appréciation olfactive, gustative et visuelle mais également sur le plan du bénéfice santé pour les consommateurs. Le **caractère aromatique** est principalement supporté par la présence **d'huiles essentielles** au niveau de la peau des fruits, mais également dans une moindre mesure, dans la pulpe. Ne possédant pas de compétences dans la technologie d'analyse de ces composés, j'ai développé des collaborations avec les 2 équipes de chimie de l'Université de Corté, celle du Pr Joseph Casanova et celle du Pr Jean Costa. Plusieurs travaux m'ont conduit à analyser **l'hérédité** de certains de ces composés et notamment celui **du N-méthylentranylate de méthyl** qui confère la typicité aromatique de la mandarine méditerranéenne. Ce caractère, qui représente un intérêt important pour la création de petits fruits de type clémentine, semble être gouverné par un seul gène majeur car la ségrégation des chémotypes parentaux est de type 1:1. La recherche de marqueurs de proximité de ce QTL est en cours et devrait aboutir à l'obtention d'outils génétiques très utiles pour les programmes de création variétale. En effet, un autre résultat majeur de ces travaux démontre la présence d'une différence de contrôle génétique de la synthèse de cette molécule dans les feuilles et dans les fruits, interdisant ainsi toute possibilité d'utiliser l'analyse chimique sur des jeunes plants de semis comme indicateur prédictif. Par ailleurs, la divergence de compositions en métabolites des huiles essentielles des hybrides d'un croisement clémentine x mandarine est relativement faible, suggérant une probabilité élevée de recréer, dans un tel croisement sexué, un produit final assez ressemblant à l'un des morphotypes parentaux.

2.3.4 Perspectives sur l'hérédité des caractères d'intérêt

Le projet de recherche scientifique de l'unité est axé sur l'étude des relations « génétique et environnement » sur l'expression de la qualité des fruits. Dans le cadre des études de génétique mendélienne sur les caractères ciblés, nous envisageons, dans un premier temps, d'étudier pour les 3 populations l'hérédité de l'acidité et de la sucrosité en mode dynamique, c'est à dire en prenant en compte leur variation au cours de la maturation des fruits. Dans les études de diversité nous avons vu que le pomelo et le clémentinier présentent des maturations très contrastées avec par exemple une stabilité de l'acidité chez le premier tandis que cette acidité décroît fortement chez le second. Ces différentes populations permettraient de localiser les QTL commun et spécifiques de régulation de l'acidité et de sucrosité. D'une certaine manière nous recherchons des QTLs à effet fort qui soient présents dans les différents génomes. Ainsi nous pourrions proposer aux équipes en charge de la création variétale (notamment le groupe CIRAD) des marqueurs génétiques pour une sélection assistée donc plus efficace. Par ailleurs, nous pourrions exploiter la collection pour aller rechercher de la variabilité allélique sur les QTL détectés et analyser ainsi la sélection naturelle sur ces caractères. Dans un deuxième temps nous pourrions introduire une contrainte environnementale (stress photo-oxydatif ou hydrique) pour évaluer l'héritabilité des QTL préalablement détectés dans un cadre, à priori, non contraignant. Nous pourrions ainsi tester la stabilité (la plasticité) de ces QTL dans différents environnements. Nous souhaiterions

également intégrer les caroténoïdes comme objets d'études en génétique héréditaire, mais cela nécessite quelques améliorations technologiques pour l'extraction et l'analyse de ces composés, actuellement peu envisageables sur des grands effectifs. Les contraintes environnementales sont souvent à l'origine d'un stress oxydatif cellulaire qui s'accompagne de synthèse de ROS (Reactive Oxygen Species : molécules hautement toxiques pour les cellules). La synthèse d'antioxydants, comme les caroténoïdes, est une voie potentielle pour lutter contre ce stress oxydatif même s'il existe d'autres mécanismes cellulaires de contournement ou de détoxification. Dans le cadre de la thèse de Jérémie Santini, démarrée en 2010, nous nous proposons d'évaluer les potentialités photosynthétiques (les réactions de la photosynthèse sont sources des ROS en cas de stress) et les mécanismes de détoxification enzymatiques de différentes espèces d'agrumes. L'hypothèse sous-jacente est que compte tenu de la disparité des conditions environnementales des différentes zones de diversification des agrumes, il y ait eu des adaptations spécifiques dans les différents groupes taxonomiques. Nous supposons que les différentes capacités photosynthétiques des différentes espèces puissent influencer sur les caractères de qualité des fruits. Par ailleurs, le développement des techniques de marquage notamment celles produisant des marqueurs SNP spécifiques des espèces ancestrales (Cf paragraphe sur le développement méthodologique) nous permettra de saturer les cartes génétiques et ainsi de mieux localiser les QTL en question.

2.4 Développement méthodologique

2.4.1 Outils d'analyse du génome

Suite à l'utilisation de techniques aléatoires de marquage du génome par PCR telles que le RAPD (Repeat Amplified Polymorphic DNA) ou l'AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism) j'ai porté l'effort sur le développement de séquences spécifiques: (i) les STMS (Sequence Tagged MicroSatellite) au niveau nucléaire afin de permettre une caractérisation internationale, en réseau, des ressources génétiques et d'établir des marqueurs fixes pour les cartes génétiques des agrumes ; (ii) les IRAP (Inter Retroelement Amplified Polymorphism), REMAP (Retroelement Microsatellite Amplified Polymorphism) et SSAP (Specific Sequence Amplified Polymorphism) qui ciblent essentiellement la position de séquences de type transposons et rétro-transposons pour permettre la distinction entre génotypes issus de mutations somatiques dans les groupes taxonomiques tels que les clémentiniers et les orangers (iii) les CAPS chloroplastiques et mitochondriaux et les STMS chloroplastiques pour caractériser les génomes cytoplasmiques des hybrides somatiques. Nous avons ainsi développé près de 800 marqueurs EST-SSR.

L'étude du **polymorphisme des séquences microsatellites** (SSR) tient compte également de la localisation de ces séquences et, plus particulièrement, de leur position dans les **séquences codantes (EST)**, ou à l'extérieur de celles-ci. Nous avons évalué l'impact de leur variation et de leur nature (di ou tri nucléotides) sur la structuration de la diversité et sur la variabilité génétique et ainsi nous avons pu orienter la sélection des marqueurs en réponse à leurs niveaux de variabilité (Tableau 1). Ce travail a été réalisé dans le cadre d'un projet Géoscope (2005) associant le CIRAD et l'IVIA et visant à séquencer 37 000 EST du clémentinier (Terol et al. 2005).

Tableau 1: Analyse du polymorphisme des différentes catégories de SSR en lien avec leurs positions relatives vis des séquences EST traduites (TR= translated region ; UTR= Untranslated Region). (Luro et al. 2008)

	SSR type	SSR in TR	SSR in UTR	Total
% of polymorphic loci	dinucleotide	67	83	80
	trinucleotide	67	93	83
	indistincte	67	86	82
Number of allele per locus	dinucleotide	5,3	7,9	7,3
	trinucleotide	3,6	4,4	4,1
	indistincte	4	5,9	5,25
Identification rate per locus	dinucleotide	0,44	0,66	0,61
	trinucleotide	0,31	0,29	0,29
	indistincte	0,34	0,44	0,41

Les marqueurs de SSR dinucléotidiques, les plus nombreux et souvent positionnés en extrémité 5' des EST, sont plus polymorphes que les SSR trinucleotidiques uniquement dans les régions non traduites. Néanmoins, leur diversité est plus élevée quel que soit leur position. On peut expliquer la différence de répartition des SSR dinucléotidiques (78% dans les séquences non traduites des extrémités 5') par l'effet de décalage de code de lecture que provoque le plus souvent une variation de répétition de leur motif. La répartition homogène des SSR trinucleotidiques tout au long de la séquence EST abonde cette hypothèse puisque leur variation dans les séquences traduites ne fait « que » rajouter ou supprimer des acides aminés (Luro et al. 2008).

Ces marqueurs sont actuellement utilisés dans les travaux de **cartographie du génome du clémentinier** dont l'établissement a associé plusieurs laboratoires internationaux (CIRAD, IFAS Floride, Université de Riverside Californie, INRA Maroc, Université de Cucurova Turquie et l'INRA de San Giuliano) dans le cadre du **consortium international de génomique citrus** (ICGC). Nous avons réalisé le sauvetage par greffage et la mise au champ de la population de 250 hybrides issus du croisement Pamplemoussier x Clémentinier servant aux études de ségrégation des marqueurs, pour l'établissement de la carte génétique. Nous étions chargés de diffuser les feuilles aux partenaires qui devaient extraire l'ADN et le distribuer à toutes les équipes. Nous avons contribué au génotypage des hybrides de la descendance du croisement pour 70 marqueurs SSR. Ce travail a généré la **première carte génétique de référence** des agrumes incluant plus de 1000 marqueurs (Figure 14)

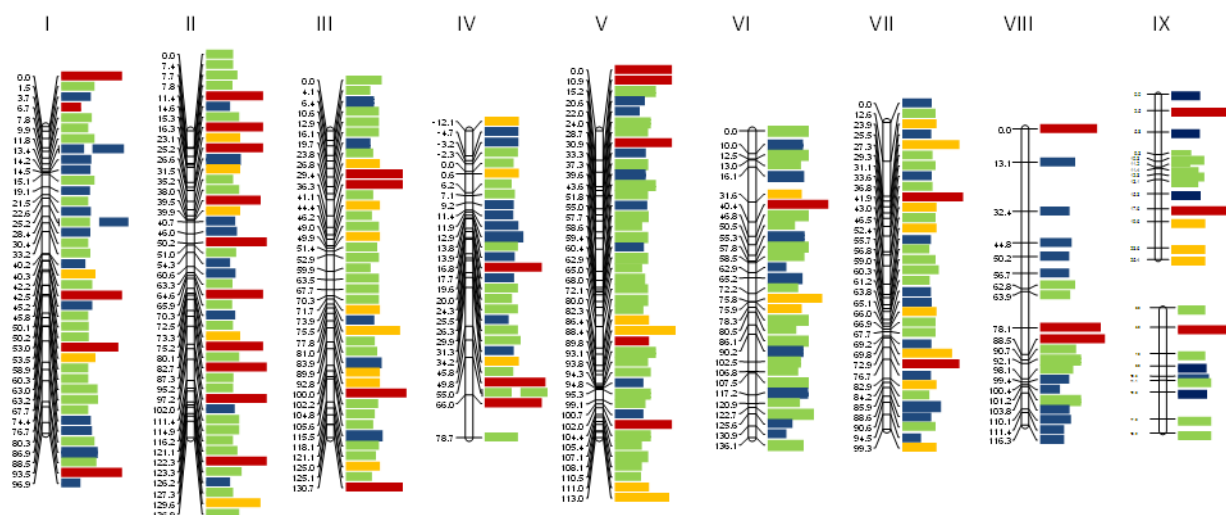


Figure 14: Représentation des 9 groupes de liaison de la carte génétique du clémentinier établie à l'aide de marqueurs SSR (les différentes couleurs symbolisent l'origine de ces SSR)

Cette carte sert pour l'assemblage des fragments de séquences (« contigage ») du génome du clémentinier. Le séquençage d'un génome haploïde de clémentinier a été réalisé dans le cadre d'un programme ANR « Citrusseq » 2009-2011 associant Génoscope, CIRAD, INRA San Giuliano, IVIA et CNGV-INRA Evry. Le choix du génome haploïde du clémentinier avait fait l'objet antérieurement d'une caractérisation génétique et génomique, réalisée par plusieurs équipes internationales membres du consortium ICGC, à laquelle nous avons participé par l'analyse génétique de 3 candidats haploïdes à l'aide de 40 marqueurs SSR.

Afin d'explorer la **méiose des génomes génétiquement distants** et vérifier sa cohérence avec les lois d'**hérédité mendélienne**, nous avons réalisé l'étude de la ségrégation de marqueurs moléculaires dans 2 pédigrées issus de croisements entre agrumes de genres botaniques différents (*Poncirus* et *Citrus*). Ces travaux ont été réalisés en partie avec la collaboration du Pr Fred Gmitter de CREC IFAS USA et complétés par une partie du travail de thèse de Sajjad Hussain (INRA-CIRAD San Giuliano). Sur le plan méthodologique, ces travaux ont révélé deux points importants. Tout d'abord au niveau technique nous avons remarqué que le principe de marquage des marqueurs par extension d'amorce à l'aide d'une séquence du bactériophage M13 (Tailing M13), était sujet à erreur de génotypage par élimination d'un des deux allèles aux loci hétérozygotes (compétition d'amplification ou d'hybridation d'amorces ?). Ceci a pu être corrigé par une vérification systématique des profils d'amplification à partir d'un protocole n'impliquant pas le tailing M13. De telles erreurs peuvent conduire à de fausses liaisons et des distances erronées entre marqueurs sur la carte génétique. L'autre point concerne les **distorsions de ségrégation et des contre-sélections** de combinaisons alléliques parentales. Elles sont en général plus fréquentes chez le parent femelle (le niveau de distorsion de ségrégation est nettement moins fréquent et moins prononcé chez le clémentinier s'il est utilisé comme parent male). Nous n'avons pas pu le constater dans l'étude à partir du croisement mandarinier Cléopâtre x *Poncirus trifoliata* car nous avons affaire à une F2 mais plusieurs groupes de liaisons étaient exclusivement construit à l'aide de marqueurs présentant une forte distorsion de ségrégation (Figure 15).

orthodoxes car même si la capacité germinative diminue avec le taux de dessiccation elles permettent de régénérer des plantules pour plus de 45% des graines après immersion dans l'azote liquide à des taux d'humidité relatives de l'ordre de 75-80%. Cette fourchette d'humidité relative pour la dessiccation des graines est suffisante pour éliminer l'eau libre intra cellulaire qui lors de la congélation/décongélation entrainerait une altération irréversible des cellules. Ainsi les graines peuvent tolérer le passage dans l'azote liquide. Nos expérimentations sur les variétés semi-orthodoxes ou récalcitrantes prouvent qu'il est possible de régénérer des plants à partir d'une fraction (20 à 30%) des lots de graines cryogénisées de la majorité des agrumes étudiés (80%) après une équilibration de la teneur en eau des graines par dessiccation en atmosphère à 75-81% d'humidité relative. Par ailleurs, nous avons démontré que cette tolérance est également héritable, ce qui ouvre des possibilités d'études génétiques à partir de populations ségrégeantes. Par ailleurs nous envisageons de prolonger cette étude en collaboration avec l'IRD (Stéphane Dussert) par l'analyse de la composition en lipides totaux et en phospholipides membranaires des graines pour comprendre la tolérance à la dessiccation et ainsi améliorer les procédés de cryoconservation. Pour les graines de variétés récalcitrantes une approche de cryoconservation d'apex suivi de micro-greffage pour la régénération est envisagée ; méthode qui a été développée par un laboratoire américain. Les compétences et l'équipement nécessaires au développement de cette approche et notamment en ce qui concerne le micro-greffage *in vitro* sont disponibles dans l'unité.

L'objectif de l'unité GEQA est de réaliser une cryobanque de sauvegarde des ressources génétiques agrumes pour assurer leur conservation à long terme à partir des organes les mieux adaptés à ce mode de conservation. Cette cryobanque sera mise en place dès 2012 et sera très probablement dupliquée dans la future cryobanque nationale des CRB (Centres de Ressources Biologiques) végétaux qui sera installée sur Montpellier.

2.5 Conclusion

La stratégie globale de nos travaux scientifiques s'appuie sur les ressources génétiques. La première étape de nos travaux a été l'analyse de la structure évolutive du complexe d'espèce. Les événements et processus évolutifs à l'origine de la structuration génotypique et phénotypique globale des formes cultivées du genre *Citrus* sont aujourd'hui bien connus. Ces connaissances orientent les stratégies de gestion des ressources génétiques et d'amélioration variétale. Aujourd'hui nos activités dans ce domaine concernent principalement : (i) la standardisation des méthodes de caractérisation moléculaire, (ii) la contribution à l'analyse de la diversité des agrumes dans les zones d'origine (iii) l'analyse de la diversité de gènes candidats dans le cadre d'étude de génétique d'association et (iiii) la définition des populations recombinantes les mieux adaptées à la recherche des déterminants génétiques des caractères d'intérêt agronomique. Ce projet s'appuie sur de nombreux acquis méthodologiques au niveau de la biologie moléculaire (cytométrie en flux, marqueurs SSR nucléaires et chloroplastiques, PCR ciblé et CAPS pour les génomes cytoplasmiques, ESTs, cartes génétiques, séquence du génome...).

Nos ambitions sur le plan cognitif concernent la compréhension des mécanismes moléculaires intervenant dans l'élaboration de la qualité des fruits en prenant en compte l'interaction génotype / environnement. Dans ce cadre, les ressources génétiques sont sources de connaissances sur les modèles de développement de cette qualité au sein du complexe d'espèces.

Elles nous permettent d'orienter nos stratégies en choisissant le matériel d'études (mutants « sans acidité », géniteurs de populations...) adapté à nos problématiques de recherche. La sélection variétale est une des voies d'exploitation finale de nos études afin de répondre aux besoins de la filière et du marché. Pour cela nous analysons l'hérédité de certains caractères en recherchant la nature et le fonctionnement de leurs déterminants génétiques. L'obtention de marqueurs précoces de ces caractères est indéniablement profitable aux programmes de création variétale par la mise en place d'une sélection assistée par marqueurs (SAM) pour la construction d'hybrides de manière plus efficace. Même si il est probable que ces marqueurs ne pourront pas raccourcir les schémas de sélection, puisque la phase juvénile limite le nombre de générations, ils seront en revanche utiles à la sélection des hybrides présentant les combinaisons alléliques souhaitées. Cependant la SAM n'est pas la seule exploitation envisagée. Par l'analyse de la plasticité des QTL (variation/stabilité en fonction de l'environnement) il nous sera possible de prédire le phénotype (la réponse à des modèles environnementaux) de variétés cultivées en fonction de leurs constitutions alléliques. Dans une perspective de modification des paramètres climatiques, le contrôle de la qualité à l'échelle de la production passe par une prédiction de l'évolution et de la régulation de la maturation des fruits en associant l'adaptation des techniques agraires. La connaissance des déterminants génétiques de ces caractères de qualité pourront aussi être exploités pour rechercher de la variabilité au sein du complexes d'espèces et étudier la sélection naturelle des espèces via ou sur ces caractères. D'une certaine manière on pourrait aborder la question de la valeur adaptative de l'acidité des agrumes au cours de l'évolution dans leur environnement naturelle à forte compétitivité.

Compte tenu des objectifs scientifiques de notre unité, des méthodes développées et des relations scientifiques établies avec différents partenaires de la recherche (Universités, CNR, CIRAD, IVIA...) l'unité ambitionne d'établir un réseau méditerranéen autour de la gestion et de la connaissance des ressources génétiques agrumes dans différents environnements. Ce réseau permettrait, au delà de l'organisation des acteurs de la conservation des ressources génétiques et de la recherche sur agrumes, de faciliter la connaissance de l'interaction génotype / environnement sur les caractères cibles de nos études.

2.6 Références bibliographiques

- Aubert B. 2001. Genèse et développement de la culture des agrumes et patrimoine génétique méditerranéens de l'histoire naturelle des orangers. Dans la réédition de l'Histoire Naturelle des Orangers- Risseau et Poiteau, tome 2 Connaissance et mémoires éditeur, Paris.
- Baldwin E.A. 1993. Citrus fruit. In: Biochemistry of fruit ripening. (Eds. G.Seymour, J.Taylor and G.Tucker). Chapman & Hall, Londres, pp107-149.
- Barret H.C. and Rhodes A.M., 1976. A numerical taxonomic study of affinity relationships incultivated Citrus and its close relatives. Syst. Bot., 1, 105-136.
- Cercos M., Soler G., Iglesias D.J., Gadea J., Forment J. and Talon M. 2006. Global analysis of gene expression during development and ripening of citrus fruit flesh: a proposed mechanism for citric acid utilization. Plant Molecular Biology 62: 513–527.
- Erickson L.C. 1968. *The general physiology of Citrus*. In:W. Reuter, L.D. Batchelor, and H.J. Webber (eds). The Citrus Industry. Vol.2. Univ. Calif., Berkeley, pp 86-126.
- Esen A. and Soost R. K. 1971. Unexpected triploids in Citrus : their origin, identification and possible use. Journal of Heredity 62, 329-333.

- Esen A. and Soost R. K. 1973. Precocious development and germination of spontaneous triploid seeds in Citrus. *Journal of Heredity* 64, 147-154.
- Esen A. and Soost R. K. 1977. Relation of unexpected polyploids to diploid megagametophytes and embryo:endosperm ploidy ratio in Citrus. In O. Carpena (ed), *Proceedings of Congresso Mundial de Citricultura. 1973, International society of Citriculture, 2*, pp. 53-63.
- Geraci G., Esen A. and Soost R. K. 1975. Triploid progenies from 2x X 2x crosses of Citrus cultivars. *Journal of Heredity* 66, 177-178.
- Krug C.A. 1943. - Chromosome numbers in the subfamily Arantioideae, with special reference in the genus Citrus. *Citrus Bot. Gaz.*, 104, 602-611.
- Loret V. 1997. Le cédratier dans l'antiquité. In *Connaissance et Mémoires Européennes* pp51.
- Marsh K.B., Erner Y., Gonzalez P.G., and Echeverria E. 2000. The H+ translocating vacuolar pyrophosphatase in acidless citrus cultivars. *Proc. Intl. Soc. Citricult. IX Congr.* 672-673.
- Mabberley DJ 1997. A classification for edible Citrus (Rutaceae). *Telopea* 7:167-172.
- Nicolosi E., Deng Z.N., Gentile A., La Malfa S., Continella G. and Tribulato E. 2000. Citrus phylogeny and genetic origin of important species as investigated by molecular markers. *Theor. Appl. Genet.* 100, 1155-1166.
- Ollitrault P., Dambier D., Allent V., Luro, F. and Jacquemond C. 1996. In vitro rescue and selection of spontaneous triploids by flow cytometry for easy peeler citrus breeding. In *Proceedings of 8th International Citrus Congress. International Society of Citriculture, Sun City, South Africa, 1*, pp. 254-258
- Wakana A., Hanada N., Park SungMin, Fukudome I. and Kajiwara K. 2005. Production of tetraploid forms of acid citrus cultivars by top grafting of shoots with sprouting axially buds treated with colchicine. *Journal of the Faculty of Agriculture, Kyushu University*, 50(1), 93102.
- Pernes J, Lourd M. Organisation des complexes d'espèces. In : *Gestion des ressources génétiques des plantes*. Paris : Agence de coopération culturelle et technique, 1984 : 7-108.
- Roose M.L. 2007. Mapping and Marker-assisted Selection. In Khan I. (ed.) : *Citrus Genetics, Breeding and Biotechnology*. CABI publishing, Londres, 275-285.
- Soost R. K. 1987. Breeding citrus-Genetics and nucellar embryony. In Abbott A.J. and Atkin R.K. (ed) *Improving vegetatively propagated crops*. Academic Press Limited, London, pp. 83-110.
- Stace H.M, Armstrong J.A. and James SH. 1993. - Cytoevolutionary patterns in Rutaceae. *Pl. Syst. Evol.*, 187, 1-28.
- Sinclair W.B. 1984. Organic acids of lemon fruits. In: *Biochemistry and physiology of the lemon and other citrus fruit*. University of California, Division of agriculture and natural resources, pp.109-156.
- Spiegel-Roy P. and Goldschmidt E.E. 1996. *Biology of Citrus*. Cambridge University Press. Cambridge, United Kingdom, pp.230.
- Swingle W.T. and Reece P.C. 1967. The botany of Citrus and its wild relatives. In : *The citrus industry. 1. History, world distribution, botany and varieties*, W. Reuther et al. éd., Berkeley, Etats-Unis, University of California Press, 190-430.
- Tanaka T. 1961. *Citrologia : semi centennial commemoration papers on citrus studies*. Citrologia supporting fondation, Osaka, Japan 114 p.
- Terol J., Agustí X. , Alós E. , Andres F. , Argout X. , Brumos J. , Carrillo J. , Cercos M. , Colmenero J. , Conejero V. , Conesa A. , Courtois B. , Dossat C. , Iglesias D. , Legaz F. , Morillon R. , Navarro L. , Ollitrault P. , Soler G. , Tadeo F. , Wincker P. And Talon M. 2005. Analysis Of Citrus ESTs From Standard And Normalized Full Length

- cDNA. Libraries. XIIIth Plant and animal genome conf. January 15-19, 2005. San Diego, Etats Unis.
- Tozlu I., Guy C.L., Moore G.A. 1999. QTL analysis of morphological traits in an intergeneric BC1 progeny of citrus and Poncirus under saline and non-saline environments. *Genome* 42 (5) :1020-1029.
- Webber, H. J. 1967. History and development of the citrus industry. In: *The Citrus Industry. 1. History, World distribution, Botany and varieties*. W. Reuther et al., eds., Berkeley, University of California Press, pp. 1-39.

III - Liste des publications

1 - Dans périodique à comité de lecture

- 1) **Luro F.**, F. Laigret, P. Ollitrault, and J.M. Bové. (1995) DNA amplified fingerprinting (D.A.F.), an useful tool for determination of genetic origin and diversity analysis in Citrus. Hort. Sciences. vol. 30 (5) p 1063-1067.
- 2) **Luro F.**, F. Laigret, P. Ollitrault, and J.M. Bové. (1995) A rapid method for preparation of high molecular weight genomic DNA from citrus suitable for subsequent analysis by pulsed field gel electrophoresis. BioTechniques vol 19 n°3 p 388-392.
- 3) **Luro F.**, M. Lorieux, F. Laigret, J.M. Bové et P. Ollitrault. (1995) Cartographie du génome des agrumes à l'aide des marqueurs moléculaires et distorsions de ségrégation. *Techniques et utilisation des marqueurs moléculaires* Montpellier France 29-31 mars 1994 Ed. INRA, Paris (Les colloques n°72) p 69-82.
- 4) Elisario P. J, G.G. Santos, A.R. Guerreiro, P. Ollitrault, **F. Luro**, J. M. Leitaó (1997) Isozyme analysis revealed that Portuguese mandarin "Carvalhais" originated as a single clone. *Scientia Horticulturae*
- 5) Ollitrault P., Dambier D., Sudahono, Vanel F., Mademba Sy F., **Luro F** and Aubert B. 1998. Biotechnology for triploid mandarin breeding. *Fruit*, 53: 307-317.
- 6) Ollitrault P. , Dambier D., Froelicher Y., Carreel F., D'Hont A., **Luro F.**, Bruyère S., Cabasson C., Lotfy F., Joumaa A., Vanel F., Maddi F., Treanton K. and Grisoni M. 2000. Apport de l'hybridation somatique pour l'exploitation des ressources génétiques des agrumes. *Cahiers Agricultures*, 9: 223-236.
- 7) Louche L.M.M, **Luro F.**, Gaydou E.M., Lesage J.C. 2000. Phlorin screening in various citrus species and varieties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, vol. 48, n°10, pp. 4728-4733
- 8) Ollitrault P., Dambier D., Froelicher Y., **Luro F.** et Cottin R. 2001. La diversité des agrumes ; structuration et exploitation par hybridation somatique. *Comptes rendus de l'Académie d'agriculture*. 86 (8): 197-221.
- 9) Cabasson C.M., **Luro F.**, Ollitrault P., Grosser J.W., 2001. Non-random inheritance of mitochondrial genomes in Citrus hybrids produced by protoplast fusion. *Plant Cell Report*, no. 20, 604-609.
- 10) Gancel A.L., Olle D., Ollitrault P., **Luro F.**, Brillouet J.M., 2002. Leaf and peel volatile compounds of an interspecific citrus somatic hybrids [Citrus aurantifolia (Chrism.) Swing. + Citrus paradisi MacFayden.]. *Flavour and Fragrance Journal*, no. 17 (6); 416-424.
- 11) Gancel A.L., Ollitrault P., Froelicher Y., Tomi F., Jacquemond C., **Luro F.**, Brillouet J.M., 2003. Leaf volatile compounds of seven citrus somatic tetraploid hybrids sharing Willow leaf mandarin (Citrus deliciosa Ten.) as their common parent. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, no. 51; 6006-6013.
- 12) Lotfy S., **Luro F.**, Carreel F., Froelicher Y., Rist D., Ollitrault P., 2003. Application of cleaved amplified polymorphic sequence method for analysis of cytoplasmic genome among Aurantioideae intergeneric somatic hybrids. *Journal of the American Society of Horticultural Science*, no. 128; 225-230.
- 13) **Luro F**, Rist D., Ollitrault P., 2001. Evaluation of genetic relationships in Citrus genus by means of sequence tagged microsatellites. In: Doré, C.; Dosba; Baril, C. Proceedings of the International Symposium on Molecular markers for characterizing genotypes and identifying cultivars in horticulture. *Acta Horticulturae*, no. 546, 537-542.
- 14) **Luro F.**, Maddy F., Jacquemond C., Froelicher Y., Morillon R., Rist D., Ollitrault P., 2004. Identification and evaluation of diploidy in clementine (*Citrus clementina*) for use in breeding. *Acta Horticulturae*, no. 663 vol II, 841-847.
- 15) Gancel A.L., Ollitrault P., Froelicher Y., Tomi F., Jacquemond C., **Luro F.**, Brillouet J.M., 2005. Leaf volatile compounds of six citrus somatic allotetraploid hybrids originating from various combinations of lime, lemon, citron, sweet orange, and grapefruit. *Journal of agricultural and food chemistry*, 53(6): 2224-2230.

- 16) Gancel A.L., Ollitrault P., Froelicher Y., Tomi F., Jacquemond C., **Luro F.**, Brillouet J.M., 2005. Citrus somatic allotetraploid hybrids exhibit a differential reduction of leaf sesquiterpenoid biosynthesis compared with their parents. *Flavour and fragrance journal* 20(6): 626-632.
- 17) Fanciullino A.L., Gancel A.N., Froelicher Y., **Luro F.**, Ollitrault, P., Brillouet J.M., 2005. Effects of nucleo-cytoplasmic interactions on leaf volatile compounds from citrus somatic diploid hybrids. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53, 4517-4523.
- 18) Carrera E.A., Hubert C.C., Jacquemond C., **Luro F.**, Gaydou E., 2005 Free and bound hydroxycinnamic acid derivative determination in different parts in sweet and sour orange fruits. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*,
- 19) Fanciullino A.L., Dhuique-Mayer, C.; **Luro, F.**; Casanova, J.; Morillon, R.; Ollitrault P., 2005 Relationships between juice carotenoid profiles and genetic diversity within cultivated citrus. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54(12): 4397-4406.
- 20) **Luro F.**, Curk F., Costantino G., Dubois, A., Ribouchon J.L., Thermo J.P., Pailly O., Jacquemond C. (2006) An open field citrus germplasm in the Corsican citrus research center (SRA INRA/CIRAD): management, diversity and use. *Acta Horticultarea*.
- 21) Fanciullino A.L., Tomi F., **Luro F.**, Desjobert J.M., Casanova J., 2006. Chemical variability of peel and leaf oils of mandarins. *Flavour and Fragrance Journal*, 21(2),359.
- 22) Albertini M. V., Carcouet E., Pailly O., Gambotti C., **Luro F.**, Berti L. 2006. Changes in organic acids and sugars during early stages of development of acidic and acidless citrus fruit. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54(21):8335-8339.
- 23) Maserti B.E., Della Croce C.M., **Luro F.**, Morillon R., Cini M. and Caltavuturo L. 2007. A general method for the extraction of citrus leaf proteins and separation by 2D electrophoresis: a follow up. *Journal of Chromatography B*, 849: 351–356.
- 24) Fanciullino A.L., Dhuique-Mayer C., **Luro F.**, Morillon R., Ollitrault P., 2007. Carotenoid biosynthetic pathway in Citrus genus: number of copies and phylogenetic diversity of seven genes *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 55(18); 7405-7417.
- 25) Chahidi B., El-Otmani M., **Luro F.**, Srairi I. et Tijane M. 2007. Fruit Quality Characterization of Seven Clementine Cultivars. *Journal of Applied Horticulture*, 9(2): 162-166.
- 26) Froelicher Y., Dambier D., Costantino G., Lotfy S., Didout C., Beaumont V., Brottier P., Risterucci A.M., **Luro F.**, Ollitrault P. 2008 Characterization of microsatellite markers in *Citrus reticulata* Blanco. *Molecular Ecology Notes* 8 (1):119-122.
- 27) Chahidi B., El-Otmani M., Jacquemond C., Tijane M., El-Mousadik A., Srairi I., **Luro F.**, 2008 Utilisation de caractères morphologiques, physiologiques et de marqueurs moléculaires pour l'évaluation de la diversité génétique de trois cultivars de clémentinier. *C. R. Biologies* 331 : 1-12.
- 28) Tomi F., Barzalona M, Casanova J., and **Luro F.** 2008 Chemical variability of the leaf oils from *Citrus clementina* (Commun) x *Citrus deliciosa* (Willow Leaf) hybrids. *Flavour and Fragrance Journal* 23: 152-163.
- 29) **Luro F.**, Costantino G., Argout X., Froelicher Y., Terol J., Talon M., Wincker P., Ollitrault P., and Morillon R., 2008 Transferability of the EST-SSRs developed on Nules clementine (*Citrus clementina* Hort ex Tan) to other Citrus species and their effectiveness for genetic mapping *BMC Genomics*, 9:287.
- 30) Barboni T., **Luro F.**, Chiamonti N., Desjobert J.-M., Muselli A., Costa J. 2009. Volatile composition of hybrids Citrus juices by Headspace Solid-Phase Micro Extraction /Gas Chromatography / Mass Spectrometry. *Food Chemistry* 116 (2009) 382–390
- 31) Carrera, E.A.; Hubert, C.C., Jacquemond, C.; **Luro, F.**; Gaydou E., 2010. Free and bound hydroxycinnamic acid derivative determination in different parts in sweet and sour orange fruits. *Natural Product Communications* 5(3), 351-506
- 32) Froelicher Y., Mouhaya W., Bassene J.B., Costantino G., Kamiri M., **Luro F.**, Morillon R. and Ollitrault P. 2010 New universal mitochondrial PCR markers reveal new information on maternal citrus phylogeny *TGG* DOI 10.1007/s11295-010-0314-x

- 33) Barboni T., Muselli A., **Luro F.**, Desjobert J.M. and Costa J., Influence of processing steps and fruit maturity on volatile concentrations in juices from clementine, mandarin, and their hybrids. *Eur Food Res Technol*, **231**: 379-386 (2010).
- 34) Mouhaya W., Allario T., Brumos J., Andrés F., Froelicher Y., **Luro F.**, Talon M., Ollitrault P. and Morillon R. (2010) Sensitivity to high salinity in tetraploid citrus seedlings increases with water availability and correlates with expression of candidate genes *Functional Plant Biology* 37:1-12.
- 35) Maserti B.E., R. Del Carratore, C.M. Della Croce, A. Podda, Q. Migheli, Y. Froelicher, **F. Luro**, R. Morillon, P. Ollitrault, M. Talon, M. Rossignol 2011 Comparative analysis of proteome changes induced by the two spotted spider mite *Tetranychus urticae* and methyl jasmonate in citrus leaves. *Journal of Plant Physiology* 168: 392-402.
- 36) **Luro F.**, J. Gatto, G. Costantino and O. Pailly 2011. Analysis of genetic diversity in *Citrus*. *Plant Genetic Resources*, 9(2):218-221.
- 37) Aleza P., Y. Froelicher, S. Schwarz, M. Agusti, M. Hernández, J. Juarez, **F. Luro**, R. Morillon, L. Navarro, and P. Ollitrault 2011; Tetraploidization events by chromosome doubling of nucellar cells are frequent in apomictic citrus and are dependent on genotype and environment. *Annals of Botany* doi:10.1093/aob/mcr099.
- 38) Barboni T, Paolini J, Tomi P, **Luro F**, Muselli A and Costa J 2011. Characterization and comparison of volatile constituents of juice and peel from clementine, mandarin and their hybrids. *Natural Product Communications* (accepted in May 2011).
- 39) Hussain Sajjad, Franck Curk, Patrick Ollitrault, Raphaël Morillon and **François Luro** 2011. Facultative apomixis and chromosome doubling are sources of heterogeneity in citrus rootstock trials: Impact on clementine production and breeding selection. *Scientia Horticulturae* Vol 130 (4): 815-819.
- 40) García-Lor A., **F. Luro**, L. Navarro and P. Ollitrault 2011. Comparative use of InDel and SSR markers in deciphering the interspecific structure of cultivated citrus genetic diversity; a perspective for genetic association studies. *MGG*. Doi 10.1007/s00438-011-0658-4
- 41) Hussain Sajjad, Frank Curk, Claudie Dhuique-Mayer, Laurent Urban, Patrick Ollitrault, **François Luro**, Raphaël Morillon, 2012. Autotetraploid trifoliate orange (*Poncirus trifoliata*) rootstocks do not impact clementine quality but reduce fruit yields and highly modify rootstock/scion physiology. *Scientia Horticulturae* 134:100-107
- 42) **Luro F.**, N. Venturini, G. Costantino, J. Paolini, P. Ollitrault and J. Costa 2012. Genetic and chemical diversity of citron (*Citrus medica* L.) based on nuclear and cytoplasmic markers and leaf essential oil composition. *Phytochemistry* Doi: 10.1016/j.phytochem.2011.12.013

2 - Dans périodiques sans comité de lecture

- 1) **Luro F.**, M. Lorieux, F. Laigret, J.M. Bové et P. Ollitrault (1995) Genetic Mapping of an Intergeneric Citrus Hybrid Using Molecular Markers. *Fruits*, Special on Tropical Orchards. vol. 49 (5-6) p 404-408.
- 2) Ollitrault P., D. Dambier, **F. Luro** and C. Duperray (1995) Nuclear genome size in *Citrus*. *Fruits*, Special on Tropical Orchards. vol. 49 n° 5-6 p 390-393
- 3) Ollitrault P., D. Dambier, C. Cabasson, C. Teisson and **F. Luro** (1995) Protoplast Fusion in *Citrus*. *Fruits*, vol. 49 n° 5-6 p 401-403.
- 4) Ollitrault P. et **F. Luro** (1995) Amélioration des agrumes et biotechnologie . *Fruits* vol. 50 p 267-279
- 5) **Luro F.** (1997) Les Agrumes: Diversité génétique et Amélioration. *Fruit et Légumes* Juillet 1997
- 6) **Luro, F.** ; Curk, F. ; Costantino, G. ; Dubois, A. ; Ribouchon, J.L. Thermoz, J.P. ; Pailly O. ; Jacquemond, C., 2006. An open field citrus germplasm in the Corsican citrus research center (SRA INRA/CIRAD): management, diversity and use. S. Bullitta (ed.) 2007. *Plant Genetic Resources of Geographical and 'other' islands* (conservation, evaluation and use for plant

breeding). Proceeding of the XVII Eucarpia Genetic Resources Section Meeting, 30 M – 2 April 2005, Castelsardo (I). CNR-ISPAAM sez. Sassari Publisher, Sassari, Italy, 121-127.

3 - Communications dans congrès, symposium

- 1) **Luro F.**, M. Lorieux, F. Laigret, J.M. Bové et P. Ollitrault. (1995) Cartographie du génome des agrumes à l'aide des marqueurs moléculaires et distorsions de ségrégation. *Techniques et utilisation des marqueurs moléculaires* Montpellier France 29-31 mars 1994 (oral, résumé et texte intégral).
- 2) Delye C., **F. Luro**, F. Laigret, M. Clerjeau, P. Leroux, C. Malosse & M.S. Corio-Costet. Resistance of uncinula necator (GRAPE Powdery mildew) to fungicide inhibiting sterol biosynthesis: biochemical molecular approach. Plant Sciences 1994 2nd general Colloquium on Plant Sciences St Malo France 12-14 Octobre 1994 (poster et résumé).
- 3) Ollitrault P., **F. Luro**, V. Allent et D. Dambier. Diversification des mandariniers; apport des biotechnologies pour la création de cultivars triploïdes aspermes. Symposium international sur les Mandarines; 5 au 11 mars 1995; SRA de Corse; (communication orale et résumé).
- 4) **Luro F.**, C. Cabasson, J. Grosser, D. Dambier et P. Ollitrault. Utilisation du marquage RFLP et de la cytométrie en flux pour l'analyse génétique de plants régénérés après fusion de protoplastes. Symposium international sur les Mandarines; 5 au 11 mars 1995; SRA de Corse; (communication orale et résumé).
- 5) Ollitrault P., X. Faure et **F. Luro**. Apport du polymorphisme enzymatique pour l'étude de l'organisation de la diversité génétique du genre *Citrus*. Symposium international sur les Mandarines; 5 au 11 mars 1995; SRA de Corse (poster et résumé).
- 6) Ollitrault P., D. Dambier et **F. Luro**. Variations of nuclear genome size in the genus Citrus. Symposium international sur les Mandarines; 5 au 11 mars 1995; SRA de Corse (poster et résumé).
- 7) **Luro F.**, F. Laigret, P. Ollitrault & J.M. Bové. RFLP Annalysis of cytoplasmic and nuclear genomes used for citrus taxonomy. Symposium international sur les Mandarines; 5 au 11 mars 1995; SRA de Corse (poster et résumé).
- 8) **Luro F.**, C. Cabasson, J. Grosser, D. Dambier et P. Ollitrault. Application de la cartographie du génome des agrumes au contrôle de l'origine des plantes issues de la fusion somatique. Séminaire «Marqueurs Moléculaires et Amélioration des Plantes»; Méribel du 20 au 24 Mars 1995 (communication orale et résumé).
- 9) Jacquemond C., B. Vignale & **F. Luro** Effets porte-greffe sur certains critères agronomiques pour le clémentinier commun SRA 63. Journées Agrumes, 22-24 Février 1996. IAV Hassan II, Complexe d'Agadir, Maroc (résumé, article et communication orale).
- 10) Ollitrault P, Dambier D., Allent V. and **Luro F.** (1996) Biotechnology for triploid mandarin breeding. Congrès EUCARPIA plantes tropicales 11-15 mars 1996 Montpellier (poster and abstract)
- 11) **Luro F.** et R. Cottin (1996) Computerizing the rootstock data base. Workshop on rootstocks for citrus. *VIII congress of the international society of citriculture*; Sun City Resort, South Africa 12-17 may 1996 (communication orale sur invitation et résumé).
- 12) **Luro F.**, Laigret F., Lorieux M. and Ollitrault P. (1996) Citrus genome mapping with molecular markers two maps obtained by segregation analysis of one intergeneric progeny. *VIII congress of the international society of citriculture*; Sun City Resort, South Africa 12-17 may 1996 (communication orale et texte intégral).
- 13) **Luro F.** & Ollitrault P. (1996) A new set of cytoplasmic markers based on amplification, reaction: application for taxonomy and control of somatic hybridization *VIII congress of the international society of citriculture*; Sun City Resort, South Africa 12-17 may 1996 (poster et texte intégral).
- 14) **Luro F.** & Ollitrault P. (1996) Molecular relationships between citrus species and their related genera based on RFLP of chloroplastic and mitochondrial genomes. *VIII congress of the international society of citriculture*; Sun City Resort, South Africa 12-17 may 1996 (poster et résumé).

- 15) **Luro F.**, Laigret F. and Ollitrault P. (1996) Efficient protocol for the isolation of high molecular weight DNA from citrus and RFLP analysis after separation of large DNA fragments by pulsed field electrophoresis. *VIII congress of the international society of citriculture*; Sun City Resort, South Africa 12-17 may 1996 (poster et texte intégral).
- 16) **Luro F.**, Jacquemond C., de Rocca Serra D. and Vignale B. (1996) The effect of 29 rootstocks on the yield tree, the fruit size and quality of clementine SRA 63 in Corsica. *VIII congress of the international society of citriculture*; Sun City Resort, South Africa 12-17 may 1996 (poster et résumé).
- 17) Ollitrault P, Allent V. and **Luro F.** (1996) Obtention of haploïd plantelets of *Citrus reticulata* (clementine) by induced gynogenesis. *VIII congress of the international society of citriculture*; Sun City Resort, South Africa 12-17 may 1996 (poster et texte intégral).
- 18) Ollitrault P, Dambier D., Allent V. and **Luro F.** (1996) Embryo rescue and spontaneous triploïds selection in *C. reticulata* (Clementine) for easy peeler breeding. *VIII congress of the international society of citriculture*; Sun City Resort, South Africa 12-17 may 1996 (poster et texte intégral).
- 19) Ollitrault P, Dambier D. and **Luro F.** (1996) Somatic hybridization in Citrus some new hybrids and cybrids *VIII congress of the international society of citriculture*; Sun City Resort, South Africa 12-17 may 1996 (poster et texte intégral).
- 20) Aubert B., P. Lagoda & **F. Luro** (1996). New approach in genetic selection and Characterization of citrus and possible benefits for the juice industry. Juiceworld 2000 International Congress 20-24th May 1996 - Interlaken - Switzerland (communication orale et texte intégral)
- 21) **Luro F.** and Ollitrault P. (1997) Molecular markers applications, limits and perspectives in cultivars and rootstocks identification. ISCN Mars 1997 Montpellier (poster et résumé).
- 22) **Luro F.**, D. Roby & T. Candresse (1997) Options pour l'obtention de plantes bio résistantes: mécanismes de défense de la plante ou dérivés du pathogène ?. XXIVème Forum des Jeunes Chercheurs SFBBM - 8 au 11 Juillet 1997 - Corte (Organisateur de la table ronde).
- 23) **Luro F.** and Ollitrault P. (1997) The use of molecular marker to determine the origine of bergamota (*Citrus bergamia* Risso). *16èmes Journées internationales Huiles Essentielles Digne les Bains, 3,4,5 & 6 Septembre 1997* (présentation orale sur invitation, poster, et texte intégral)
- 24) Froelicher Y., Lotfy S., Rist D., **Luro F.**, Carreel F. and Ollitrault P. 2000 Development of CAPS (Cleaved Amplified Polymorphic Sequences) for cytoplasmic genome studies in *Aurantioideae* sub-family. 9th Citrus Congress. Int. Soc. Citriculture : 207.
- 25) Froelicher Y., **Luro F.** and Ollitrault P. 2000. Analysis of meiotic behavior of the tetraploid species *Clausena excavata* by molecular marker segregation studies. 9th Citrus Congress. Int. Soc. Citriculture : 210.
- 26) **Luro F.**, Rist D. and Ollitrault P. 2000. Sequence Tagged Microsatellites polymorphism : an alternative tool for cultivar identification and evaluation of genetic relationships in Citrus genus. In Proc. 9th Citrus Congress, Int. Soc. Citriculture : 170-171.
- 27) **Luro F.**, Maddy F., Rist D. and Ollitrault P. 2000. Identification of 2n gametes parental origin and mode of nuclear restitution of spontaneous triploid citrus hybrids. In Proc. 9th Citrus Congress, Int. Soc. Citriculture : 168-169.
- 28) **Luro, F.** ; Dambier, D.; Gelormini, F.; Froelicher, Y.; Rafanel, B.; Vernière, C.; Ollitrault P. 2001. Organisation de la diversité génétique des mandariniers. In : Réunion annuelle arboriculture fruitière du CIRAD, Montpellier, 2001/09/03-06.
- 29) Ollitrault, P. ; Froelicher, Y.; Dambier, D.; **Luro, F.** ; Beaumont, V. ; Risterucci, A.M. 2001. Développement de marqueurs microsatellites chez les agrumes. In : Réunion annuelle arboriculture fruitière du CIRAD, Montpellier, 2001/09/03-06.
- 30) Jacquemond, C ; Curk, F. ; **Luro, F.** ; Vernière, C.; Aubert, B.; Ollitrault, P. ; Filleron, E. ; Cottin, R. 2001 Performing Rootstocks : a difficult choice for the nurserymen – sharing a 40 years experience. In : Donadio L.C.; Moreira, C.S.; Stuchi, E.S. Proceedings of the 6th World Congress of the International Society of Citrus Nurserymen; Ribeiro Preto, 2001/07/09-13, 161-164.
- 31) Jacquemond, C ; Curk, F. ; **Luro, F.** ; Vernière, C. ; Ollitrault, P. ; Filleron, E. ; Cottin, R. 2001. Le rôle des porte-greffe pour répondre aux contraintes biotiques et abiotiques : exemple du bassin

- méditerranéen. In : Réunion annuelle arboriculture fruitière du CIRAD, Montpellier, 2001/09/03-06
- 32) Vernière, C. ; Aubert, B.; **Luro, F.** ; Curk, F. ; Cottin, R. 2001. The foundation unit of San Giuliano Corsica : a basis for the citrus national certification scheme in France. . In : Donadio L.C.; Moreira, C.S.; Stuchi, E.S. Proceedings of the 6th World Congress of the International Society of Citrus Nurserymen; Ribeiro Preto, 2001/07/09-13, 32-36.
 - 33) Fanciullino, A.L.; **Luro, F.** ; Casanova, J. ; Tomi, F. 2002. Composition chimique des huiles essentielles de zestes et de feuilles de huit variétés de mandarines. In : Congrès International Environnement et Identité en Méditerranée, Université de Corse, Corte, 2002/07/03-05, 462.
 - 34) Jacquemond, C., Curk, F. ; Zurru, R. ; Ezzoubir, D. ; Kabbage T. ; **Luro, F.**, 2002. Influence des porte-greffe sur la production de clémentine dans 3 zones méditerranéennes aux conditions environnementales contrastées : Corse, Sardaigne, Maroc. In : Congrès International Environnement et Identité en Méditerranée, Université de Corse, Corte, 2002/07/03-05, 457-458.
 - 35) Louche, L.M.M. ; **Luro, F.** ; Jacquemond, C. ; Lesage, J.C. ; Gaydou, E.M., 2002. Evaluation au cours de la maturité de la teneur en phlorine dans la peau et le jus de différentes variétés d'oranges cultivées en Corse. In : Congrès International Environnement et Identité en Méditerranée, Université de Corse, Corte, 2002/07/03-05, 455-456.
 - 36) **Luro, F.** ; Jacquemond, C. ; Ollitrault, P., 2002. Les ressources génétiques agrumes à la SRA INRA-CIRAD : un complexe d'espèces présentant une diversité génétique fortement structurée. In : Congrès International Environnement et Identité en Méditerranée, Université de Corse, Corte, 2002/07/03-05, 388-389.
 - 37) **Luro, F.**, 2002. Le concept de diversité génétique chez les agrumes : une perception de l'évolution et des relations inter et intra spécifiques par l'approche du marquage moléculaire de l'ADN. In : Les apports de la biologie moléculaire. 12^e colloque sur les recherches fruitières, Bordeaux, 2002/05/30-31.
 - 38) Ollitrault P., Dambier D., **Luro F.** and Froelicher Y. 2002. Triploid easy peeler breeding with help of biotechnologies. In Proc 7th International Citrus Improvement Seminar. Bebeduro, SP, Brazil, October 21-24, 2002, 13 pages.
 - 39) Ollitrault P., Dambier D., **Luro F.** and Froelicher Y. 2002. Varietal diversification in the mandarin group: the promise of seedless triploid hybrids. The quality of fresh and processed citrus fruits. CIRAD/CLAM professional meeting, Montpellier 10-11 october 2002.
 - 40) Froelicher, Y.; Dambier, D.; Costantino, G. ; Lotfy, S. ; Didout, C. ; Beaumont, V. ; **Luro, F.** ; Brottier, P. ; Risterucci, A.M. ; Ollitrault, P., 2003. Development of single tagged microsatellite sequence (STMS) for networking management of citrus germplasm. In: ISPBM congress, Barcelone, 2003/06/23-25.
 - 41) Lotfy, S. ; **Luro, F.** ; Froelicher, Y.; Risterucci, A.M. ; Fillox, D.; Ollitrault, P., 2003. Development of microsatellite markers for chloroplast genome studies in Citrus. In: ISPBM congress, Barcelone, 2003/06/25-28.
 - 42) **Luro, F.** ; Froelicher, Y.; Costantino, G. ; Ollitrault, P., 2003. Citrus STMS markers development and mapping. In: 11th International conference on the status of Plant & Animal Genome research, San Diego, Californie, 2003/01/11-15.
 - 43) Ollitrault P.; Dambier, D.; Bruyère, S.; **Luro, F.**; Froelicher, Y., 2003. Triploid easy peeler breeding with help of biotechnologies. In: Proceedings 7. International citrus seminar improvement, Bébédouro, Brésil, 2002/10/21, 52-62.
 - 44) **Luro, F.**, Maddy, F., Jacquemond, C., Froelicher, Y., Morillon, R., Rist, D., Ollitrault, P., Identification and evaluation of diplogyny in clementine (Citrus clementina) for use in breeding. Eleventh Eucarpia Symposium on fruit breeding and genetics, Angers, France, September 1-5, 2003. ISHS,
 - 45) Chahidi, B.; El-Mousadik, A. ; El-Otmani, M.; Tijane, M.; **Luro, F.**, 2004. Genetic polymorphism of citrus clementina Hort. Ex. Tan. Varieties evaluated by isozymes, RAPD, SSR and AFLP markers. International Society of Citriculture 10th ISC congress Agadir, Morocco 2004/02/15-20, 82.

- 46) **Luro, F.**, Costantino, G.; Ollitrault, P., 2004. Analysis of genetic diversity of tangerines conserved in the SRA INRA-CIRAD germplasm, using microsatellites and isozymes markers. International Society of Citriculture 10th ISC congress Agadir, Morocco 2004/02/15-20, 28.
- 47) Albertini, M.V., Pailly, O., Carcouet, E., Polidori, J.J., Gambotti, C., **Luro, F.**, Berti, L., 2004. Changes in the organic acid composition of acidic and acidless citrus fruit during development. 4. Congrès International Environnement et Identité en Méditerranée, Corte, 2004/07/19-25, Corte (FRA). Université de Corse (FRA). (communication orale)
- 48) Cavalli, J.F., **Luro, F.**, Jacquemond, C., Fernandez, X., Lizzani-Cuvelier, L., Loiseau, A.M., 2004. Etude chimiotaxonomique des constituants volatils de fleurs du genre citrus par SHS-SM. 4. Congrès International Environnement et Identité en Méditerranée, Corte, 2004/07/19-25, Corte (FRA). Université de Corse (FRA).
- 49) Fanciullino, A.L., Froelicher, Y., Jacquemond, C., **Luro, F.**, Ollitrault, P., Brillouet, J.M., 2004. Volatile compounds from diploid somatic hybrids. 10 th Congress of the International Society of Citriculture 15-20 février 2004, Agadir, Maroc
- 50) Froelicher, Y., Dambier, D., Morillon, R., Angeli, A., Costantino, G., Gandoin, J.M., Dubois, A., Medecin, P., Curk, F., Jacquemond C., **Luro F.** and Ollitrault P. 2004. Environmental effect on spontaneous polyploidization phenomena in Citrus. 10 th Congress of the International Society of Citriculture 15-20 février 2004, Agadir, Maroc.
- 51) Froelicher, Y., Costantino, G., Dambier, D., Lotfy, S., Scotto, C., Didout, C., Beaumont, V., **Luro F.**, Brottier, P., Risterucci, A.M. and Ollitrault P. 2004. Isolation and characterization of citrus microsatellite for networking germplasm management and gene mapping. 10 th Congress of the International Society of Citriculture 15-20 février 2004, Agadir, Maroc
- 52) Gancel, A.L., Froelicher, Y., Jacquemond, C., **Luro F.**, Tomi, F., Ollitrault, P., Brillouet, J.M., 2004. Volatile compounds from somatic Hybrids test cross 10 th Congress of the International Society of Citriculture 15-20 février 2004, Agadir, Maroc
- 53) **Luro, F.**, Costantino, G., Scotto, C., Vila M., Ollitrault, P., Risterucci, A.M., Froelicher, Y., 2004. Development and use of microsatellites markers for the analyse of genetic diversity of citrus in the SRA INRA-CIRAD germplasm. 4. Congrès International Environnement et Identité en Méditerranée, Corte, 2004/07/19-25, Corte (FRA). Université de Corse (FRA).
- 54) Morillon R. ; Argout X. ; **Luro F.** ; Froelicher Y. ; Dambier D. ; Ollitrault P., 2004. Les développements dans le domaine de la génomique. Réunion annuelle Flhor 5-9 juillet 2004. CIRAD, Montpellier (FRA).
- 55) **Luro F.**, Cao Van P., 2004. Ressources génétiques : projet Corse / Vietnam. 9 p. Réunion annuelle Flhor 5-9 juillet 2004. CIRAD ; Montpellier (FRA).
- 56) Ollitrault P., Lotfy, S., Froelicher, Y., and **Luro, F.** 2004. Do PCR markers for chloroplast genomes fit Aurantioideae evolution ? 10 th Congress of the International Society of Citriculture 15-20 février 2004, Agadir, Maroc
- 57) Albertini, M.V., Carcouet, E., Polidori, J.J., Pailly, O., **Luro, F.**, Berti, L., 2005. Contribution des acides organiques, des sucres et des cations à l'acidité des limes. Journée de l'Institut de l'Environnement et de l'Ecole Doctorale, Corté, France. (Communication orale)
- 58) Albertini, M.V., Costantino, G., Pailly, O., Berti, L., **Luro, F.**, 2005. Identification of genes involved in citric acid content of orange fruit using mutant strategy. International Symposium on Biotechnology of Temperate Fruit Crops and Tropical Species, Daytona Beach, Floride, USA. (Poster)
- 59) Albertini, M.V., Carcouet, E., Polidori, J.J., Pailly, O., **Luro, F.**, Berti, L., 2005. Organic acid composition changes during citrus fruit development : a comparison between acid and acidless varieties. Journée de l'Institut de l'Environnement et de l'Ecole Doctorale, Corté, France. (Poster)
- 60) Bouffin, J. ; Dambier D. ; Froelicher Y. ; **Luro F.** ; Fanciullino A.L. ; Gandoin J.M. ; Paolacci V. ; Jacquemond C. ; Ollitrault P., 2005. First evaluation of a cybrid lemon in Corsica. 7. World Congress of the International Society of Citrus Nurserymen (ISCN), 17-21 septembre, 2005, Le Caire, Egypte.
- 61) **Luro, F.**; Argout, X.; Costantino, G.; Froelicher, Y. 2006. Polymorphism And Position Analysis Of Dinucleotide And Trinucleotide Microsatellite Sequences Detected In Citrus Clementine

- cv. EST Sequences. Plant & Animal Genomes XIV Conference, 2006/01/14-18, San Diego, CA (USA).
- 62) **Luro, F.**; Muhaia, W.; Hussain, S.; Costantino G.; Morillon,R.. 2006. Citrus Genetic mapping for detection of QTLs for salt stress tolerance : Methodology and progress of the program.. Seminar of the INTERREG IIIa project (CITRUS) Pisa 1 march 2006 (Italy)
 - 63) **Luro, F.**; Costantino G.; Billot,C.; Froelicher,Y.; Morillon,R. ; Ollitrault,P. ; Terol,J. ; Talon,M. ; Gmitter Jr, F.G. ; Chen,C., 2007. Genetic Maps Of Clementine Mandarin And Intergeneric Hybrid Clementine X Poncirus Using Genomic And EST Microsatellite Markers. Plant and Animal Genome XV Conference, 13-17 janvier, 2007 San Diego, CA, (USA).
 - 64) **Luro, F.**; Muhaia, W.; Hussain, S.; Costantino G.; Morillon,R.. 2007. Genetic and genomic approaches for salt stress tolerance study. Seminar of the INTERREG IIIa project (CITRUS) Alghero 28-29 mai 2007 (Sardaigne)
 - 65) Mouhaya W., Allario T., Costantino G., Andres F., Talon M., **Luro F.**, Ollitrault P., Morillon R. (2008) Citrus tetraploid rootstocks are more tolerant to salt stress than diploid [Abstract] In : Universidad Politécnic de Valencia. *Modern Variety Breeding for Present and Future Needs. 18th EUCARPIA General Congress, 9-12 September 2008, Valencia, Spain* 18th EUCARPIA General Congress. Modern Variety Breeding for Present and Future Needs., Universidad Politécnic de Valencia. Valence (ESP) pp. 439.
 - 66) Podda A., Della Croce C.M., Mouhaya W., Del Carratore R., Hmyene A., Froelicher Y., **Luro F.**, Morillon R., Ollitrault P., Maserti B.E. (2009 (en préparation)) Identification of differentially expressed proteins in the leaf of diploid and autotetraploid *citrus reshni* after salinity stress, Third international Congress of biochemistry, UBMB Special Meeting on Plant Stresses and 6th Congress of FASBMB, Marrakech (MAR).
 - 67) Ait Daoud N., Constantino G., Benali D., Lotfy S., **Luro F.** (2008) Genetic Diversity Analysis of Moroccan Mandarin (*Citrus reticulata* Blanco) Germplasm using SSR markers 11th International Citrus Congress (ICC 2008), Wuhan (CN). poster
 - 68) Antoine S., Pailly O., **Luro F.**, Berti L. (2008) Étude et modélisation des mécanismes physiologiques de l'acidification de la pulpe des agrumes en conditions de température et de disponibilité en assimilats contrastées, Journée de l'Ecole Doctorale, Corte (FR). poster
 - 69) Constantino G., Casabianca S., Pouillet T., Appere M., Paolacci V., **Luro F.**, Ollitrault P., Bouffin J. (2008) Genetic conformity assessment of C35 citrange seedlings by SSR markers, 11th International Citrus Congress (ICC 2008), Wuhan (CN). poster
 - 70) Germana M.A., Aleza P., Carrera E., Chen C., Chiancone B., Costantino G., Dambier D., Deng X., Federici C.T., Froelicher Y., Gmitter Jr F.G., Guo W., Juárez J., Kwok K., **Luro F.**, Machado M., Naranjo M.A., Navarro L., Ollitrault P., Rios G., Roose M.L., Talon M., Xu Q. (2008) Molecular and Cytological Characterization of Homozygous Plants of *Citrus clementina* Hort. ex Tan., Candidates for Citrus Genome Sequencing, 11th International Citrus Congress (ICC 2008), Wuhan (CN). oral
 - 71) Hussain S., Curk F., Tison G., **Luro F.**, Jacquemond C. (2008) New Rootstock Evaluation for Common Clementine in Corsica, 11th International Citrus Congress (ICC 2008), Wuhan (CN).
 - 72) Hussain S., Mouhaya W., Costantino G., Urban L., Froelicher Y., Ollitrault P., Morillon R., **Luro F.** (2008) Genetic strategy for identification or genes involved in citrus salt stress tolerance : Status of genome mapping program, in: J. Prohens and M. L. Badenes (Eds.), *Modern Variety Breeding for Present and Future Needs, Proceedings of the Eighteenth EUCARPIA General Congress Editorial Universidad Politécnic de Valencia, Valencia, Spain, Valence (ESP).* pp. 393. poster
 - 73) Lotfy S., **Luro F.** (2008) Who is the Father of the Spontaneous Murcott hybrid: Afourer mandarin? Survey with SSR and ISSR markers, 11th International Citrus Congress (ICC 2008), Wuhan (CN). poster
 - 74) **Luro F.** (2008) Genetic Resources and Variety Selection Needs, EuroMedCitrusNet EU Dissemination Conference. Project No. 43146. Sixth Framework Programme 2008/07/11, Catania (IT). oral
 - 75) **Luro F.**, Constantino G., Traore S., Demonjoz C., Albertini M.-V., Terol J., Talon M., Argout X., Ollitrault P., Morillon R. (2008) EST-SSRs in citrus: features, polymorphism and mappability,

- 11th International Citrus Congress (ICC 2008), Wuhan (CN). oral
- 76) Ollitrault P., Lotfy S., **Costantino G.**, Roose Staff M.L., Chen C., Kacar Y., Frédérique O., Mar R., Tejol J., Froelicher Y., Morillon R., Billot C., Talon M., Navarro L., Roose M.L., Gmitter F.G., **Luro F.** (2008) International effort toward a SSR-based linkage map for *C. clementina* 11th International Citrus Congress (ICC 2008), Wuhan (CN). poster
- 77) Podda A., Della Croce C.M., Mouhaya W., Del Carratore R., Hmyene A., Froelicher Y., **Luro F.**, Morillon R., Ollitrault P., Maserti B.E. (2009 (en préparation)) Identification of differentially expressed proteins in the leaf of diploid and autotetraploid *citrus reshni* after salinity stress, Third international Congress of biochemistry, UBMB Special Meeting on Plant Stresses and 6th Congress of FASBMB, Marrakech (MAR).
- 78) Sutour S., Bradesi P., **Luro F.**, Casanova J., Tomi F., 2009. Sesquiterpene rich oils from leaves of five Fortunella species. International Symposium of Essentials Oils ISEO 2009 - Savigliano (Italy), September 6-9, 2009 poster
- 79) Engelmann, F.; Balsemin, E.; Barreneche, T.; Chatelet, P.; Chauvin, J.-E.; Couturon, E.; Curk, F.; Dantec, M.-A.; Dantec, J.-P.; Dussert, S.; Feugey, L.; Froelicher, Y.; Fouilhau, L.; Gamiette, F.; Grapin, A.; Grisoni, M.; Guérif, P.; Guyarder, A.; Label, A.; **Luro, F.**; Moulin, B.; Muller, M.; Peyrière, A.; Prigent, Y.; Renard, M.; Roux-Cuvelier, M.; Roques, D.; Rubens, S.; Sapotille, J.; Souchet, C.; Teyssedre, D. 2009. Cryopreservation of French plant genetic resource collections (CRYOVEG) [Abstract]. **Cryobiology** 59 (3):p. 411
- 80) Hussain, S.; Morillon, R.; Palazzo, A.; Costantino, G.; Dubois, A.; Curk, F.; Ollitrault, P.; **Luro, F.** 2009. *Genetic and physiological behavior of citrus genetic resources to salt stress tolerance*, 8th International Conference, Eco-Physiological Aspects of Plant Responses to Stress Factors, September 16-19, 2009 Cracow, Poland : poster session B (Supplement), Springer: Heidelberg, Allemagne. p 8.
- 81) García-Lor A., **Luro F.**, Navarro L. and Ollitrault P. Analysis of genetic diversity and population structure of the *Citrus* Germplasm using nuclear markers (SSRs, INDELs) and mitochondrial markers. 2nd International Symposium on Genomic of Plant Genetic Resources 24-27 april, 2010 Bologna, Italy
- 82) **Luro F.**, Gatto J., Costantino G. and Pailly O. Genetic diversity of the genus *Citrus* analysis aimed by soluble sugars and organic acids contents from fruit pulp and sequence polymorphism analysis of genes involved in primary metabolism. 2nd International Symposium on Genomic of Plant Genetic Resources 24-27 april, 2010 Bologna, Italy
- 83) Garcia-Lor A., **Luro F.**, Navarro L.y Ollitrault P. Análisis de la diversidad genética y de la estructura poblacional del Germoplasma de mandarina mediante marcadores moleculares nucleares (SSRs, INDELs) y mitocondriales. V congreso de mejora genéticas de plantas XVII Jornadas de Selección y Mejora de Plantas Hortícolas VI Seminario de Mejora Genética Vegetal- 7-9 juillet 2010 Madrid, Espana
- 84) Ollitrault Patrick, Javier Terol, Chunxian Chen, Claire Federici, Samia Lotfy, Isabelle Hippolyte, Frédérique Ollitrault, Aurélie Bérard, Aurélie Chauveau, Gilles Costantino, Yildiz Kacar, Lisa Mu, Jose Cuenca, Andres Garcia, Yann Froelicher, Pablo Aleza, Anne Boland, Claire Billot, Luis Navarro, François **Luro**, Mikeal L. Roose, Frederick G. Gmitter, Manuel Talon and Dominique Brunel (2011) A reference linkage map of *C. clementina* based on SNPs, SSRs and Indels. Plant and Animal Genome XIXth congress January 15-19, 2011 San Diego (CA, USA). Poster
- 85) **Luro** François, Julia Gatto, Gilles Costantino and Olivier Pailly (2011) Associative Genetic Approach For The Investigation Of *Citrus* Species Diversity: Evaluation Of SSCP Polymorphism Of Few Genes Involved In Primary Metabolism And Fruit Juice Acidity And Sweetness. Plant and Animal Genome XIXth congress January 15-19, 2011 San Diego (CA, USA). Poster

4 - Synthèses scientifiques

- 1) Ollitrault P. et **F. Luro**. Les agrumes dans «Amélioration des espèces tropicales» Edit. CIRAD - ORSTOM collection Repère (parution en 1996).

- 2) **Luro F.** and P. Ollitrault « Organisation évolutive de la diversité dans le genre *Citrus* ; Implications pour la conservation des ressources génétiques » In : Hamon, P., Seguin, M., Glaszmann, J.C., Perrier, X. Eds., La diversité génétique des plantes tropicales cultivées. Editions CIRAD. Montpellier (parution en 1999)
- 3) Ollitrault, P. ; **Luro, F.**, 2001. Citrus. In : Charrier, A. Jacquot, M.; Hamon, S.; Nicolas, D.; Tropical plant breeding. CIRAD, Montpellier, 55-77.
- 4) Ollitrault, P.; Jacquemond, C.; Dubois, C. ; **Luro, F.**, 2003. Citrus. In : Hamon, P. ; Seguin, M. ; Perrier, X.; Glaszmann, X., Genetic diversity of cultivated plants. CIRAD, Montpellier, 193-197.
- 5) Ollitrault, P., Froelicher, Y., **Luro, F.**, Yamamoto, S., Khan, I., 2007. Seedlessness and Ploidy Manipulations. In Khan I. (ed.) : Citrus Genetics, Breeding and Biotechnology. CABI publishing, Londres, n.p.

5 - Montage et coordination de projets

- Co-rédacteur du projet PRAD 03-07 (appel d'offre 2002) et des Rapports annuels d'avancement des travaux de recherche et d'échanges scientifiques
- Coordonnateur et Rédacteur du projet et des Rapports (intermédiaires et final) du projet CTPS (1999 - 2002)
- Co-rédacteur du rapport d'activités de la station SRA INRA-CIRAD de San Giuliano en vue de l'évaluation collective de l'unité (Novembre 2003)
- Animateur et Co-rédacteur du projet « Coopération décentralisé Corse-Vietnam » (2002) et des rapports intermédiaires et final (2004, 2006)
- Coordonnateur et Co-rédacteur du projet CPER (mars 2003) « Analyse des déterminismes génétiques biochimiques des composants de la qualité organoleptique des agrumes » 2003-2005 et des rapports annuel et final
- Co-rédacteur du projet PRAD n°05.11 « Analyse de la diversité génétique du germplasm de mandariniers à l'aide de marqueurs moléculaires et de marqueurs phénotypique à forte héritabilité » (appel d'offre 2004)
- Coordonnateur et Rédacteur du projet et des Rapports intermédiaire et final du projet CRB « Développement de marqueurs microsatellites pour la caractérisation et la gestion des ressources génétiques agrumes et apparentés à travers l'utilisation d'un système de gestion de base de données » (clos en octobre 2004)
- Co rédacteur et Responsable français du projet de recherche INTERREG III A France -Italie (Iles 2004- 2006) « CITRUS : *Il Citrus come sistema modello per l'area mediterranea: studio varietale per resistenza a Stress biotici e abiotici* » (2004-2007)
- Coordonnateur des participants français au MIS3.1-PIC Interreg IIIA Projet Italy/France Islands- 2000-2006. « CITRUS : *Il Citrus come sistema modello per l'area mediterranea: studio varietale per resistenza a Stress biotici e abiotici* » (2004-2007); partners: University of Sassari, CNR Pisa, CIRAD and INRA granted by European council and local Offices for Administration Management of each country (Corsica, Sardaigna, Toscana) (300 000 euros). General Coordinator Chiara Geri (CNR Pisa)
- Co-rédacteur du projet CPER 2007 n° 42000030 “ANALYSIS of genetic, physiological and environmental factors modifying the composition of components of citrus fruit juice involved in fruit quality evaluation” Partenaires: Inra, Cirad, Université de Corse. Financé par la Collectivité territoriale de Corse et l'Etat (28 297euros).
- Co-rédacteur et animateur du projet34 BRG “Diversité des composantes physiologiques et moléculaires de la tolérance à la salinité chez les agrumes » 2009-2010 (subvention 28 000€)

IV - Encadrements

1 - Encadrement de stages

- 1) Brand Sandrine BTS Biotechnologie Lycée technique Marie Curie Marseille; *Obtention d'agrumes triploïdes par culture in vitro - mise au point d'un marquage moléculaire par PCR*; décembre 1995
- 2) El Mouzdahir Rachid Maitrise de Sciences et Techniques Université de Corté. *Etude de la diversité phénotypique du genre Citrus: Etalement de la floraison, morphologie des pépins et polyembryonie* Avril - Juin 1996.
- 3) Condé Philippe Maitrise de Sciences et Techniques Biophysologie Appliquée aux productions Végétales UFR de Sciences d'Angers; *Mise au point des conditions expérimentales pour le marquage de l'ADN à la chemiluminescence*; Juin - Aout 1996.
- 4) Achahboune Milouda DESS " Ressources animales et végétales " Université de Corté. *Etude de la diversité génétique des agrumes à l'aide des marqueurs moléculaires*; Mars - Septembre 1997.
- 5) Guilbert Thierry. 1998 Méthode d'obtention de marqueurs microsatellites chez les agrumes : Standardisation de la révélation du polymorphisme. Mémoire de Maitrise des Sciences et Techniques « Valorisation des ressources Naturelles » Université de Corse ; Avril-juin 1998.p24.
- 6) Rist Delphine. 1999. apports comparés de 2 techniques de marquage moléculaire (RAPD et STMS) pour l'évaluation de la diversité génétique du genre *Citrus*. DESS Ressources Animales et Végétales« Valorisation des productions dans un développement intégré » Université de Corse. Mars – septembre 1999. p28.
- 7) Lorenzi Vanina 2000 Caractérisation génétique chimique de quelques variétés de pomelos (*Citrus Paradisi*) Mémoire de Maitrise de Chimie, Université de Corse p38.
- 8) Gelormini Franck, 2001. *Etude de la variabilité et de la fertilité, polliniques, chez les mandariniers*. Mémoire (Maîtrise), Option Environnement, Université de Corse, 27 p.
- 9) Raffanel Bénédicte, 2001. *Evaluation de la résistance à Phytophthora dans le groupe des mandariniers : mise au point d'outils d'évaluation*. Mémoire (DAA), ENSA Toulouse, 55 p.
- 10) Costantino Gilles, 2002. *Participation à la définition de couples d'amorces microsatellites (STMS) et à l'évaluation de leur polymorphisme en vue de l'établissement d'un référentiel allélique*. Mémoire (Maîtrise), Option Biochimie, Université de Nice, 28 p.
- 11) Coudrain Alice, 2002. *Contribution à l'élaboration d'une carte génétique d'un hybride intergénérique (*Citrus clementina* x *Poncirus trifoliata*) à l'aide de marqueurs moléculaires microsatellites et AFLP*. Mémoire (DESS), Option Production animale et végétale, Université de Corse, 28 p.
- 12) Espi Mélanie, 2002. *Evaluation du risque d'hétérogénéité de la reproduction par graines d'espèces polyembryonnés d'agrumes*. Mémoire (DEA), Option Biodiversité, Université de Corse, 30 p.
- 13) Villa Morgan, 2002. *Analyse de la diversité génétique des mandariniers (genre Citrus) à l'aide de marqueurs microsatellites*. Mémoire (DEA), Option Biodiversité, Université de Corse, 28 p.
- 14) Cervetti Emanuelle, 2003. *Analyse du test d'évaluation de la résistance au Phytophthora citrophthora souche PA36 d'un croisement intergénérique Poncirus trifoliata x Citrus clementina et de quelques variétés d'agrumes*. Mémoire (DEA), Option Biodiversité, Université de Corse, 25 p.
- 15) Fanciullino Anne Laure, 2003. *Héritabilité des voies de biosynthèse des composés d'arôme chez les hybrides somatiques diploïdes (alloplastés) d'agrumes*. Mémoire (DEA), Option Sciences des aliments, Université de Montpellier, 34 p.
- 16) Medecin Pierre, 2003. *Caractérisation de l'apomixie et de la polyploidie chez des agrumes polyembryonnés*. Mémoire (DAA), Option Ingénierie de la production végétale, ENSA Montpellier, 33p.
- 17) Wasmer Marie, 2004. *Etude de la diversité génétique de l'espèce Poncirus trifoliata Raf. à l'aide de marqueurs moléculaires et de marqueurs phénotypiques*. Mémoire de Maîtrise de Biologie, Université de Corse, 28p.
- 18) Joannin Magali, 2004. *Evaluation de la conformité génétique d'un parc semencier de porte-greffe d'agrumes de l'espèce Poncirus trifoliata*. IUP « Génie de l'environnement option : Valorisation des ressources naturelles » Université de Corse 32 p.
- 19) Delpoux Vivien, 2005. *Etude de la diversité génétique de deux espèces dites acides du genre Citrus : les limettiers (*C. aurantifolia*) et les cédratiers (*C. medica*)*. Master 1

- IUP Biotechnologies appliquées au végétal Université Paul Sabatier Toulouse III. 30 p.
- 20) Domenjoz Cyrill, 2006. Analyse d'expression par PCR quantitative de gènes candidats à l'élaboration de l'acidité chez les agrumes. Mémoire, Master Biomolécules. Université de Corse, 30p
 - 21) Lepitre Vincent 2006. *Contribution à l'élaboration d'une carte génétique du génome du clémentinier par l'analyse de la ségrégation de 30 marqueurs EST-SSR*. Master 1 IUP Biotechnologies appliquées au végétal Université Paul Sabatier Toulouse III. 28 p.
 - 22) Xiao Fuen, 2007. Cartographie génétique des locus contrôlant la polyembryonie chez les agrumes. Mémoire, Master Biomolécules. Université de Corse, 25p
 - 23) Gatto Julia, 2008. « *Etude de la diversité du genre Citrus sur les caractères acide et sucré : Approches biochimique et moléculaire* » Universités Bordeaux 1 et 2 – INRA Mémoire de Master 2 PRO Biologie et Biotechnologies des Plantes.
 - 24) Traore Seydou Nampé, 2008. « *Etude du polymorphisme de séquences microsatellites localisées dans les EST d'agrumes en lien avec leur position et leur structure* » Master 2 Pro Semences et Plants Méditerranéens et Tropicaux. SupAgro Montpellier
 - 25) Conventi Alizée (Avril 2008) « *Analyse de la conformité génétique des porte-greffe Poncirus trifoliata utilisés dans un essai agronomique de sélection variétale, par cytométrie en flux (niveau de ploïdie) et par empreinte génétique ISSR (multiplication clonale)* » Université de Corse, Faculté des Sciences et Techniques Licence de Biochimie.
 - 26) Anelli Angela, (Avril 2008) « *Authentification de l'identité et détermination de l'origine parentale de plats d'agrumes par marquage moléculaire* » Université de Corse, Faculté des Sciences et Techniques Licence de Biochimie.
 - 27) Palazzo Audrey 2009 (6 mois) « *Etude physiologique, en condition de stress salin, de plusieurs espèces représentatives de la diversité génétique des agrumes* » Master Qualité et Valorisation des Productions du Bassin Méditerranéen, Université de Corse p35.
 - 28) Patteri Emmanuel 2011 (6 mois) « *Contribution à l'étude de l'hérédité et de la localisation des QTL de l'acidité et de la sucrosité sur une carte génétique* ». Master Qualité et Valorisation des Productions du Bassin Méditerranéen, Université de Corse. p28

2 - Encadrements de thèses

2.1 - Thèses soutenues

- 1) Anne Laure Gancel (**encadrement ponctuel** sur techniques de biologie moléculaire) 2001-2004: Université de Corse. Hérité des composés aromatiques chez les hybrides somatiques d'agrumes.
- 2) Barboni Toussaint (**encadrant sur 1/3**) 2003-2006, Université de Corse: encadrement de la partie I de la thèse : Caractérisation chimique d'un hybride de clémentine et du myrte commun-
- 3) Fanciullino Anne Laure (**encadrement ponctuel**) 2003-2007: Université de Corse. Déterminants génétiques de la variation de la composition en caroténoïdes des jus d'agrumes
- 4) Chahidi Bouchra (**co-directeur**) 2003-2007, Université de Casablanca (Maroc) : Caractérisation morpho-biochimique et recherche de marqueurs génétiques précoces de variétés de clémentiniers.
- 5) Albertini Marie-Vincente (**co-directeur**) 2003-2007, Université de Corse. Caractérisation biochimique et moléculaire des fruits d'agrumes.
- 6) Hussain Sajad (**co-directeur**) 2006- 2011, Université de Corse – Etude génétique de la résistance au stress salin (soutenue le 16 février 2011)

2.2 Thèses en cours de réalisation

- 7) Antoine Sandrine (2008- « 2011 ») ; Université de Corse. **Co-encadrent**. Sujet : Etude des relations entre synthèses des sucres et des acides organiques sous contrainte de limitation de source carbone.

- 8) Garcia Lors Andres (2008-« 2012 ») Université de Valence. **Co-encadrent**. Sujet : Analyse fine de la structuration et de la diversité génétique des mandariniers de la collection IVIA Valence et INRA-CIRAD San Giuliano
- 9) Curk Franck (2010 – « 2013 ») Université de Montpellier. **Co-encadrent**. Sujet : Déchiffrement de la structure chimérique du génome des espèces secondaires à l'aide de marqueurs SNP
- 10) Santini Jérémie (2010 – « 2013 ») Université de Corse. **Co-directeur**. Sujet : Etude de la spécificité des mécanismes de photosynthèse et de détoxification lors de la production des ROS en lien avec l'adaptation aux contraintes environnementales au cours de l'évolution des espèces

V - Vacances d'enseignement

Depuis 1995 je dispense des cours, des TD et TP en raison d'environ 20 heures par an actuellement. Initialement ils concernaient des étudiants d'IUP3 et de DESS de l'UFR Sciences de l'Université Pascal Paoli. Actuellement j'assume des cours d'arboriculture fruitière aux Masters-pro 2^{ème} année de cette même Université. L'objectif de ces enseignements est à la fois de donner des bases sur les méthodes de culture, la sélection variétale et d'informer sur l'organisation de la filière fruitière et le rôle des différents acteurs de l'agriculture (Agriculteurs, Associations et regroupements professionnels, les organismes de l'administration et de la recherche etc...). Bien entendu je mets l'accent sur le rôle des organismes de recherche tels que l'INRA et enseigne la méthodologie de l'expérimentation en arboriculture fruitière tout en complétant avec les apports des travaux de la connaissance des génomes, et des biotechnologies pour l'amélioration végétale.