

**Association génotype
microsatellite - phénotype chez
les organismes marins.**

Plan de l'exposé

- Exemple d'utilisation des microsatellites pour l'étude du fardeau génétique chez les bivalves marins.
- Heterosis associée aux locus microsatellites dans un stock d'élevage de crevettes Pénéides.
- Heterosis associée aux locus microsatellites dans des croisements contrôlés de Loup (*Dicentrarchus labrax*).
- Synthèse : Microsatellites, consanguinité et dépression dans la mer ...

Contexte

Problématique de la génétique des bivalves marins :

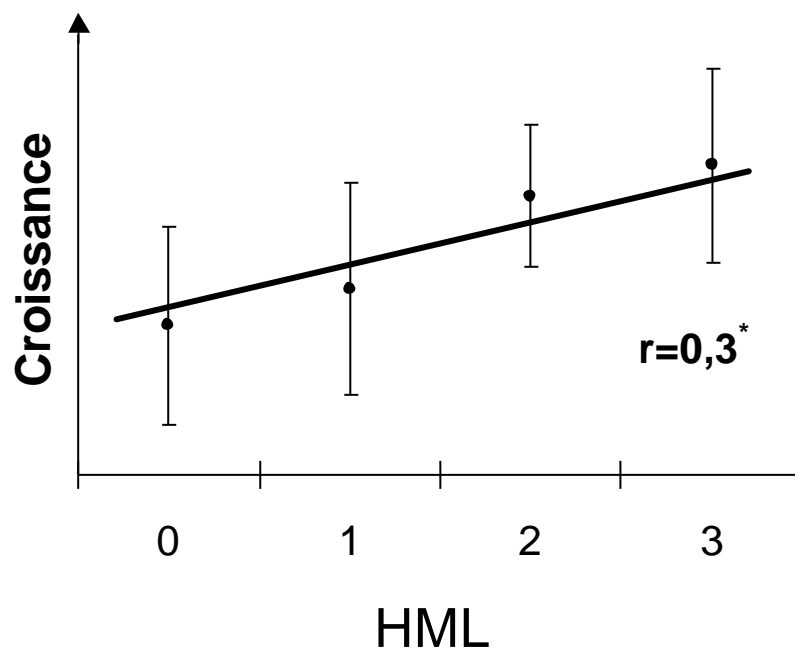
- Cycle de vie d'un bivalve marin.
- *A priori* panmixie et taille de population importante. Pourtant, écart à Hardy-Weinberg:
Déficits en hétérozygotes
- **Corrélation Hétérozygotie Multilocus (HML)**
– valeur sélective.
 - Consanguinité ?
 - Neutralité des enzymes ?
- **Distorsion de ségrégation** dans des croisements bi-parentaux.

Corrélation hétérozygotie-fitness. Qu'est-ce que c'est:

Hétérozygotie Multi Locus : HML

3 locus étudiés :

0x hétérozygote	→	HML=0
1x hétérozygote	→	HML=1
2x hétérozygote	→	HML=2
3x hétérozygote	→	HML=3



Corrélation hétérozygotie-fitness. Hypothèses:

- **Superdominance directe.**

Les allozymes sont l'agent responsable de la corrélation.

- **Superdominance associative.**

Les locus analysés sont des marqueurs neutres des conditions génétiques responsables de la corrélation.

→ Déséquilibre de liaison avec des gènes sélectionnés (effet local).

→ Reflet de la dépression de consanguinité (effet général).

Avec les microsatellites :
superdominance associative ?

Consanguinité en phase larvaire chez l'huître plate *Ostrea edulis*

But de l'étude :

- Explorer la boîte noire du cycle de vie des bivalves : la phase larvaire.
- Préciser l'intensité et la distribution génomique du fardeau génétique.

Méthode :

→ " Cartographie " de gènes associés à la fitness (GAFs) dans des croisements consanguins.

Analyses, à plusieurs stade du cycle de vie, de la descendance de deux croisements frère-sœur issus de géniteurs naturels à l'aide de 4 locus microsatellites.
(≈80 individus par stade).

Analyse des proportions en hétérozygotes

Excès en hétérozygote : $D = \frac{H_{obs} - H_{att}}{H_{att}}$

Croisement C1:

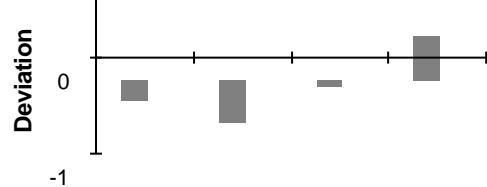
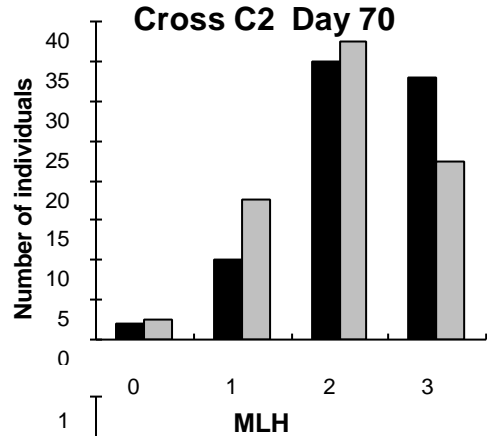
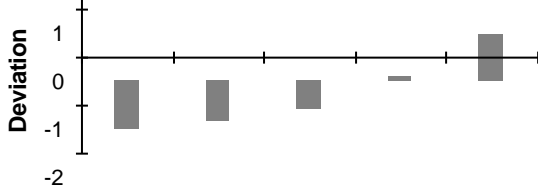
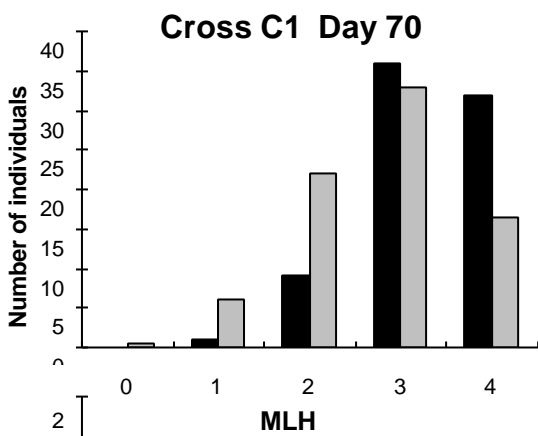
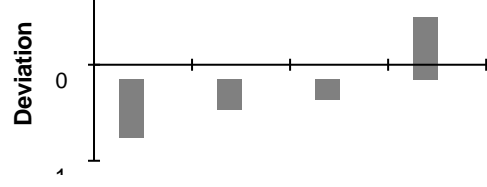
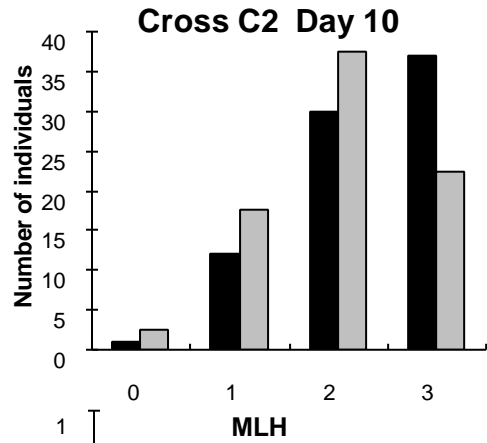
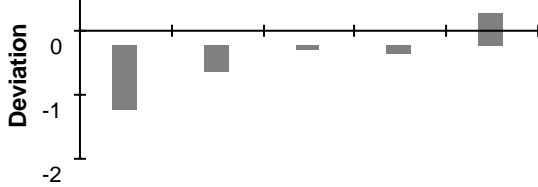
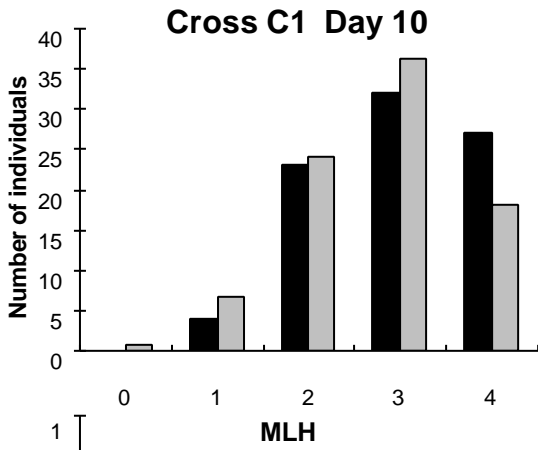
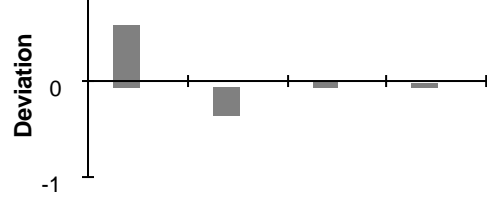
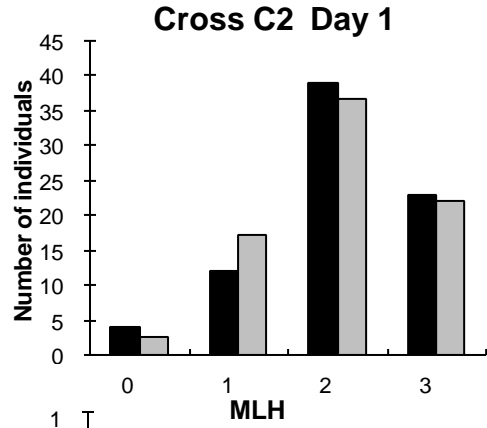
locus	J10	J70
<i>Oedu.O9</i>	7%	18%
<i>Oedu.B0</i>	7%	13%
<i>Oedu.T5</i>	7%	16%
<i>Oedu.J12</i>	11%	33%

Croisement C2:

locus	J1	J10	J70
<i>Oedu.O9</i>	8%	18%	17%
<i>Oedu.B0</i>	-15%	30%	25%
<i>Oedu.T5</i>	8%	0%	-2%

Fardeau génétique

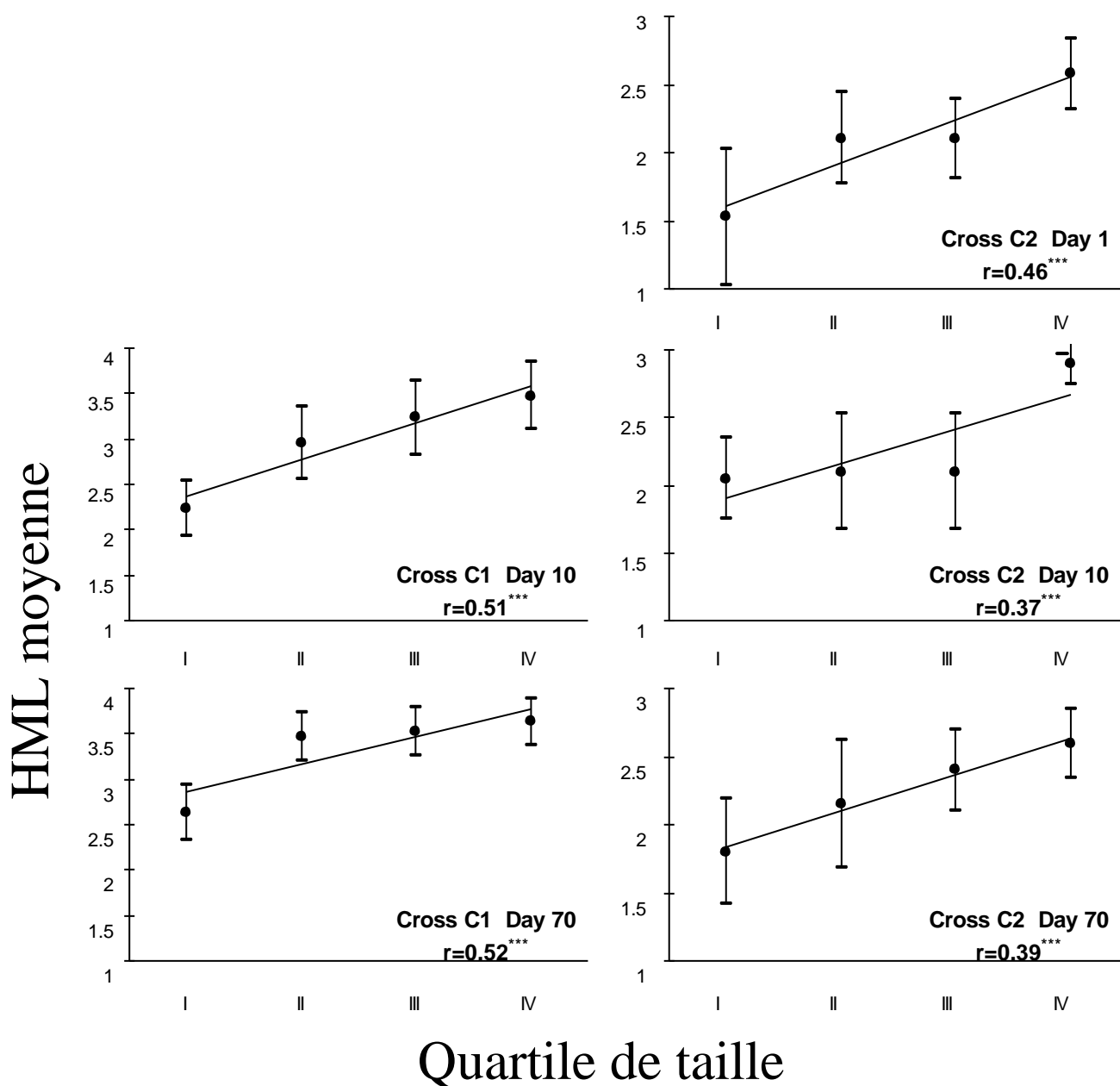
Distribution par classe de HML



* ↓

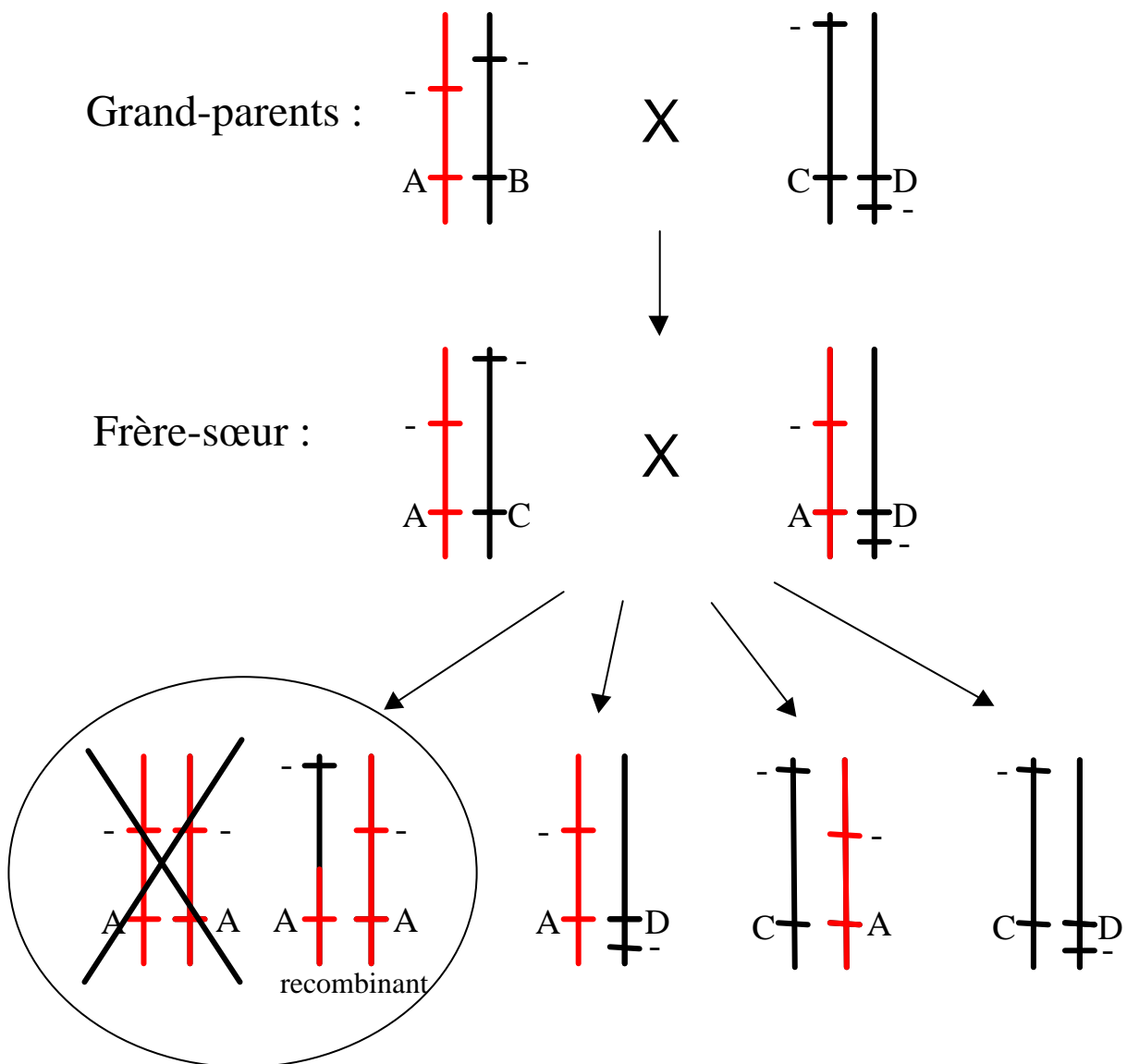
* ↓

Corrélations hétérozygotie-croissance



Mais effet locus-spécifique variable dans le temps
→ Épistasie ? Pleiotropie ?

Les microsatellites sont liés à des GAFs



AA : 20 à 50 % de mortalité à J70.

Les microsatellites sont liés à des GAFs

- La fraction, F , du génome marquée par un locus dans un croisement frère-sœur est :

$$F = \frac{1 - e^{-2Y}}{2nY}$$

Y : nombre de crossing-over (=1-2.5)
 $2n$: nombre de chromosomes (=20)

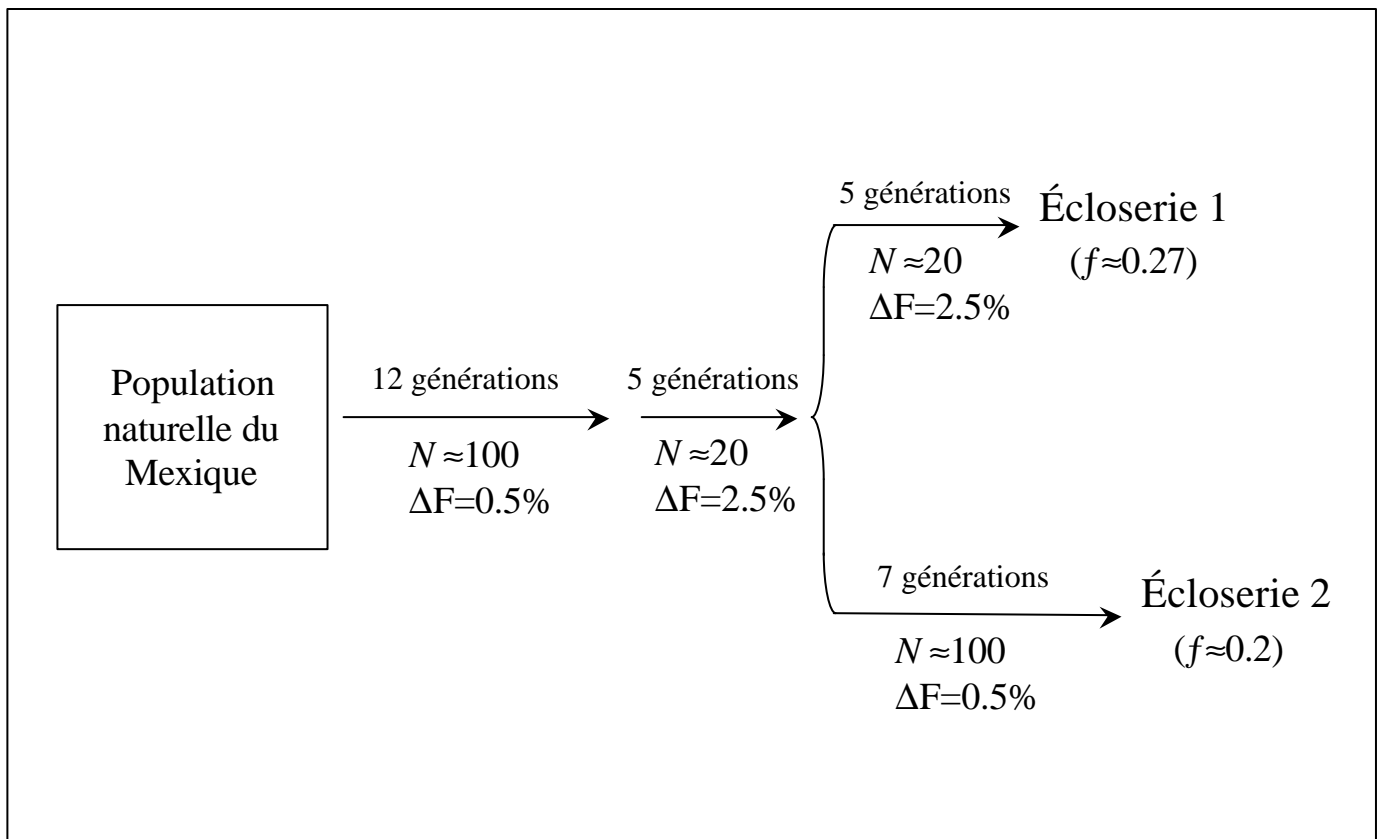
- Chaque locus marque **2-4%** du génome
- Nombre de GAFs dans un génome (haploïde) :
Croisement C1: **25-50**
Croisement C2: **17-33**
- Corrélation avec la croissance :
 - C1 : HML sur 8-17% du génome explique 17% de la variance de taille.
 - C2 : HML sur 6-13% du génome explique 10% de la variance de taille.

Pourquoi les microsatellites ?

- Il faut un marqueur PCR, neutre, codominant, suffisamment variable pour distinguer les "autozygotes" des "homozygotes" (3 ou 4 allèles différents chez les grand-parents).

Allozymes :	Neutre ? Variabilité ? PCR
RAPD :	Dominant
AFLP :	Dominant
DALP :	Dominant
DALP codominant :	Variabilité ?
Intron :	Variabilité ?
Microsatellites :	Tout bon ...

Historique des stocks de crevettes de Tahiti



N : Nombre de géniteurs utilisés à chaque génération

ΔF : Incrément de consanguinité par génération

f : Coefficient de consanguinité moyen du stock

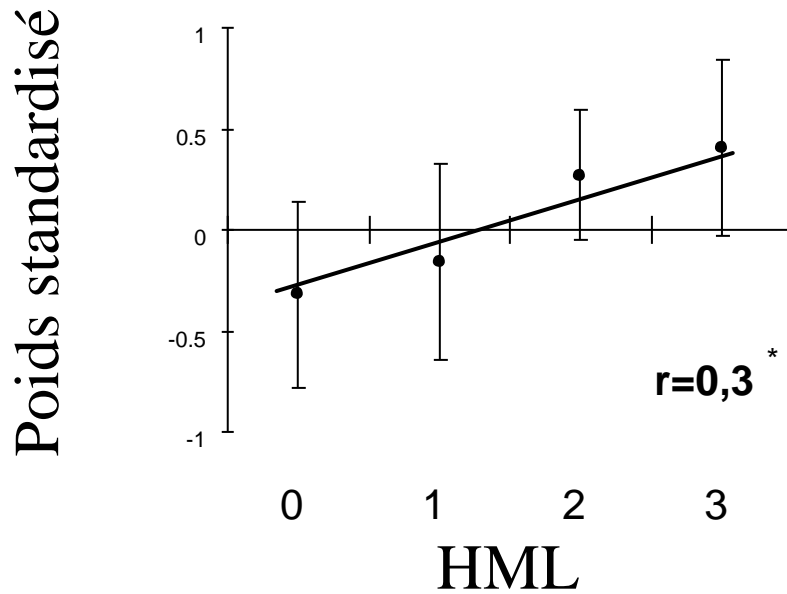
<h2 style="margin: 0;">Variabilité aux locus microsatellites</h2>

Population <i>n</i>	Ecloserie 1 60	Ecloserie 2 48
<i>Pstyli.05</i>		
180	0.72	1
210	0.28	0
H _{exp}	0.41	
H _{obs}	0.5	-
F _{is}	-0.22	
<i>Pstyli.19</i>		
210	0.8	0.44
214	0.2	0.56
H _{exp}	0.32	0.5
H _{obs}	0.3	0.46
F _{is}	0.07	0.08
<i>Pstyli.09</i>		
210	0.01	0.19
218	0.26	0.4
220	0.315	0.24
222	0.415	0.17
H _{exp}	0.66	0.72
H _{obs}	0.55	0.17
F _{is}	0.17	0.4
<hr/>		
F _{is} (Σ locus)	0.03	0.27

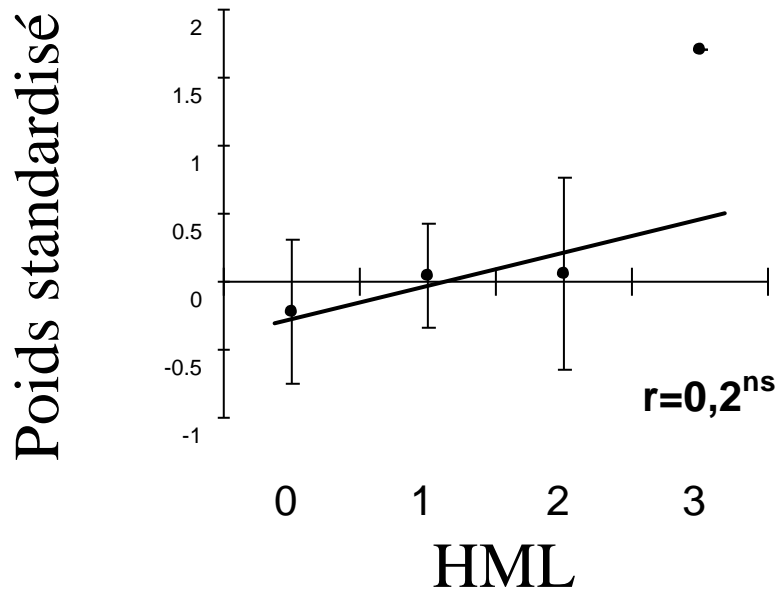
3 locus microsatellites encore variables malgré le goulot d'étranglement (RAPDs quasi monomorphes).

Corrélations hétérozygotie-croissance

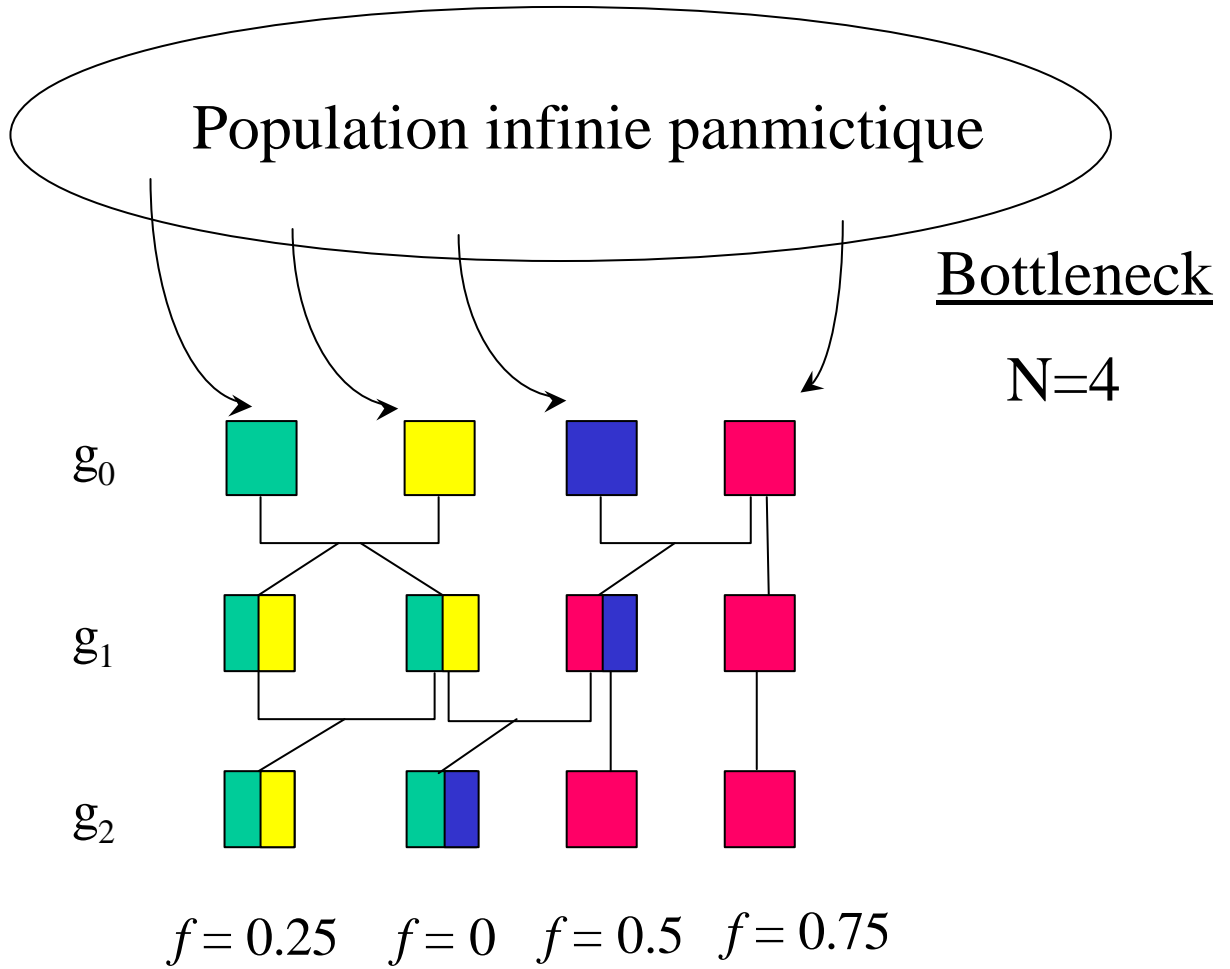
Écloserie 1



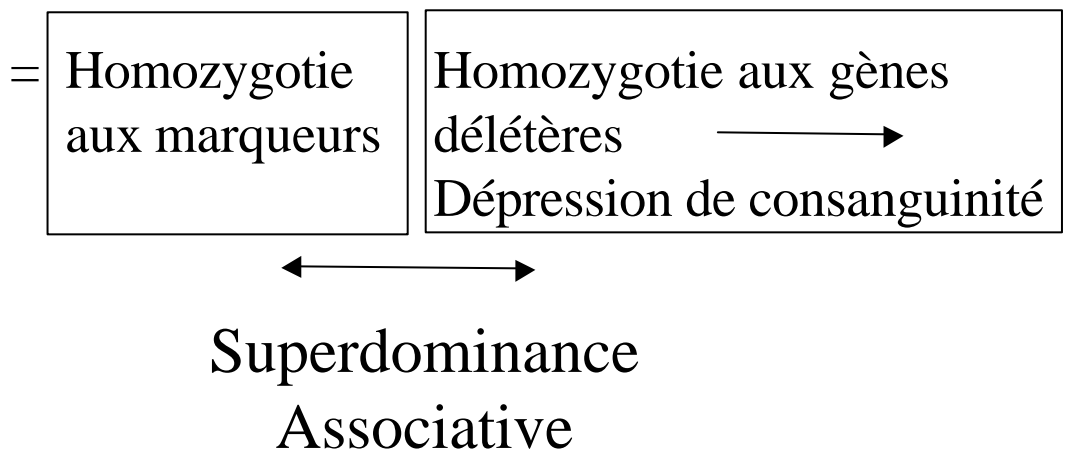
Écloserie 2



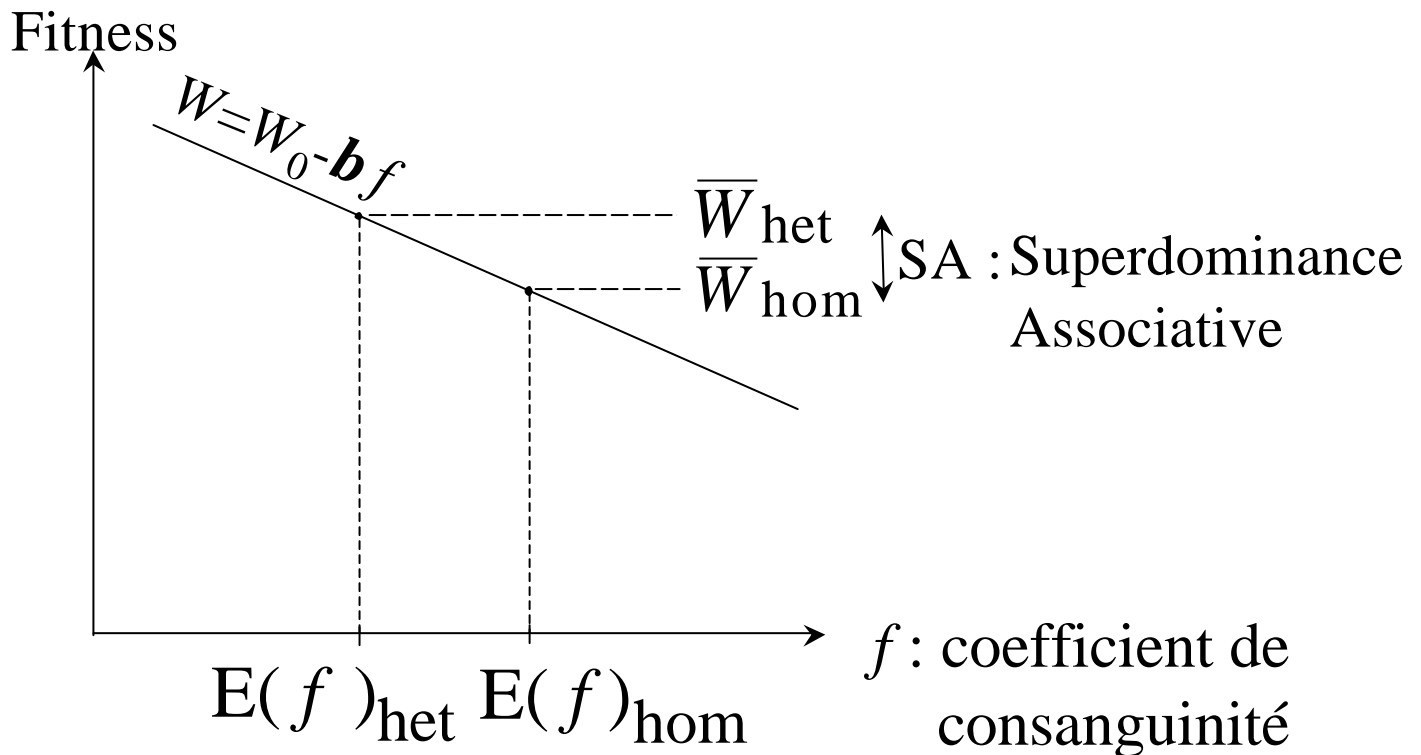
Bottleneck et consanguinité



Consanguinité = Homozygotie du génome



Superdominance associative

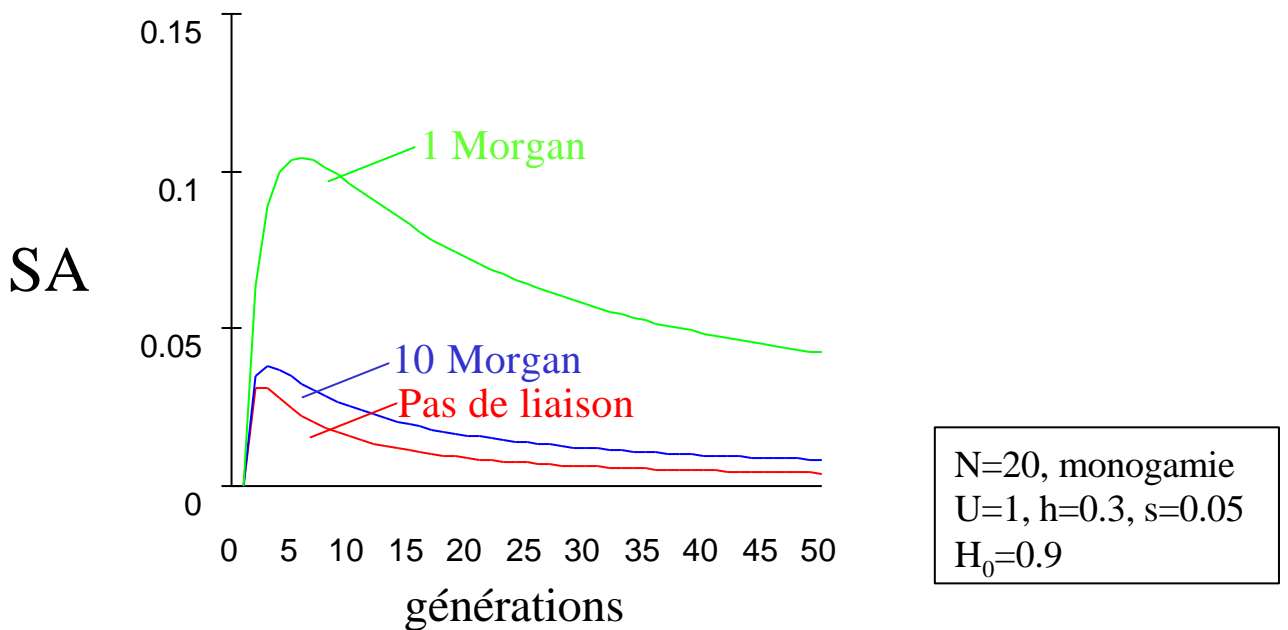
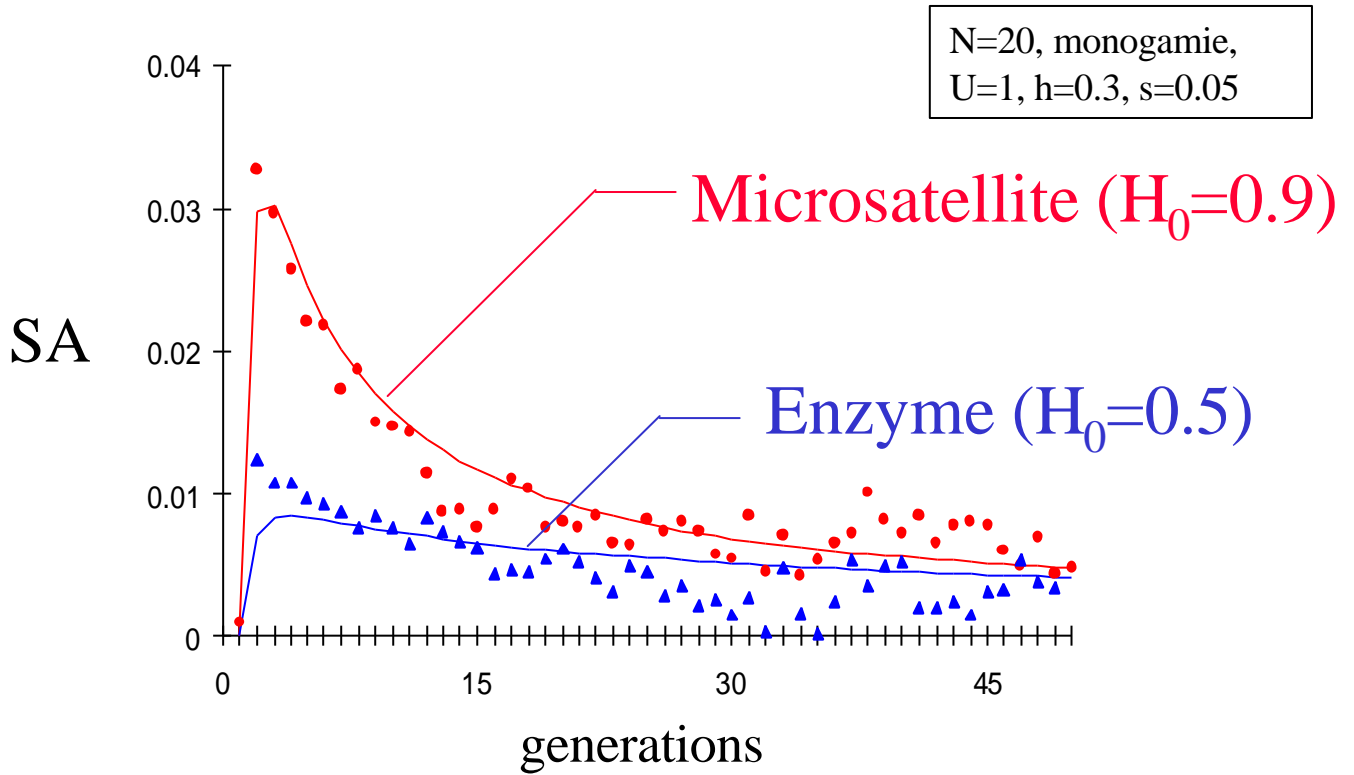


SA dépend :

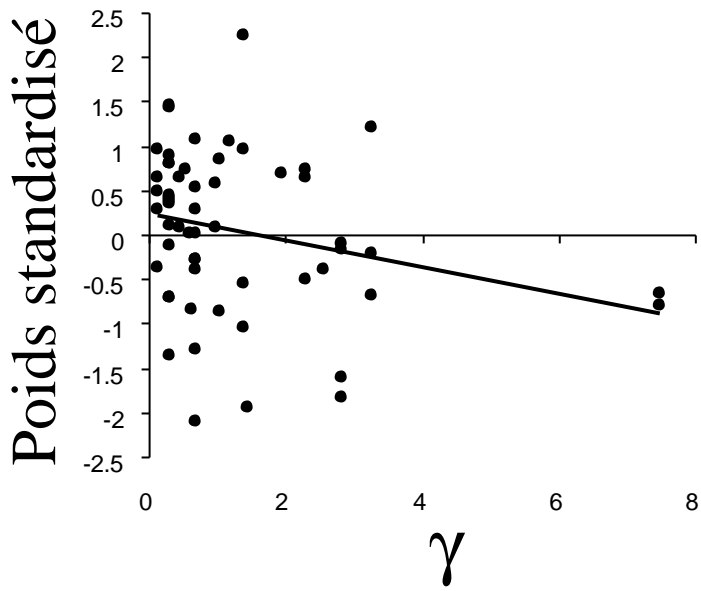
- de β , le fardeau de consanguinité
- de l'hétérozygotie du marqueur
- de l'espérance et surtout de la variance de f .

La liaison physique (taille du génome) augmente la variance de f (composante intra-pedigree).

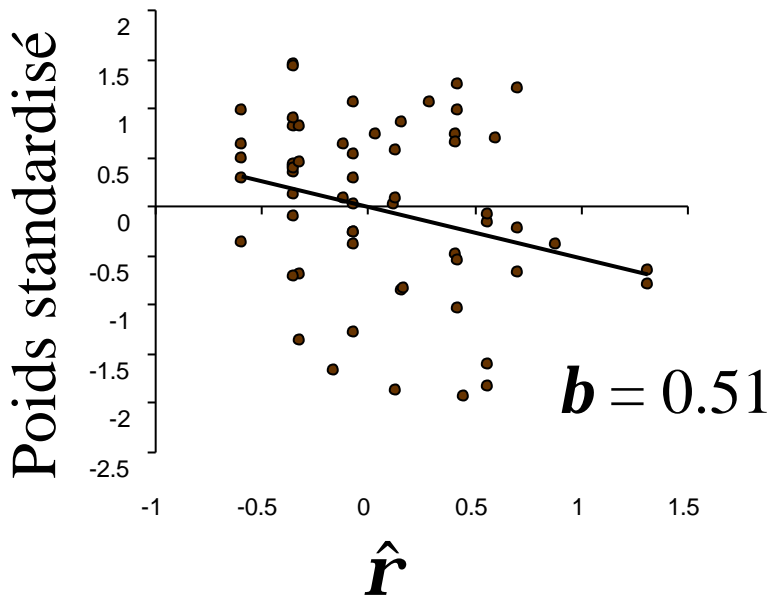
Superdominance associative pendant un bottleneck



L'hétérozygotie est-elle le meilleur indice ?



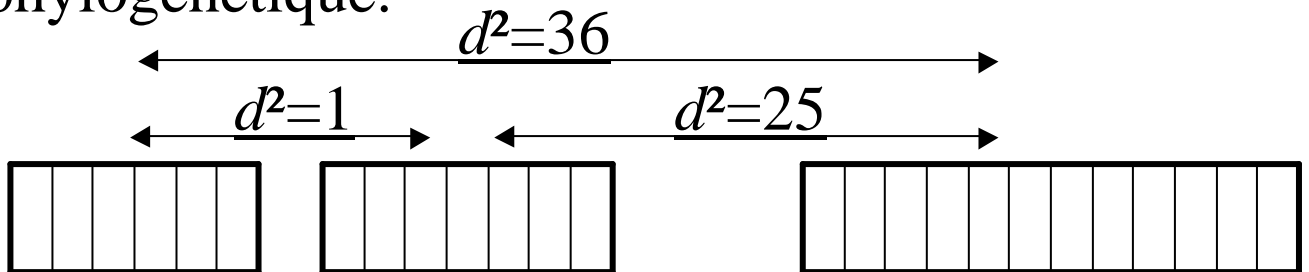
γ : Niveau de consanguinité individuel (David 1997, 1998)



\hat{r} : estimateur du coefficient individuel de consanguinité (Ritland 1996)

Une nouvelle mesure du génotype spécifique des microsatellites.

- Sous l'hypothèse d'un modèle de mutation en "stepwise", le carré de la différence du nombre de répétitions entre les deux allèles d'un locus microsatellite, d^2 , renseigne sur leur distance phylogénétique.



- Idée : Plutôt que de comparer homozygotes *versus* hétérozygotes, utiliser cette valeur.
- Résultats : Semble être mieux corrélée au phénotype que l'hétérozygotie (Coltman *et al.*, 1998, 1999; Coulson *et al.*, 1998).
- Explication (des auteurs) : En plus de la consanguinité, la d^2 apporterait une information supplémentaire sur des événements remontant plus haut dans le pedigree (alors que la mutation ne peut plus être négligée).

Croisement de Loup, *Dicentrarchus labrax* (Garcia de Leon *et al.*, 1997)

- Croisement factoriel entre trois mâles et trois femelles pêchés dans le milieu naturel :

—→ 9 familles.

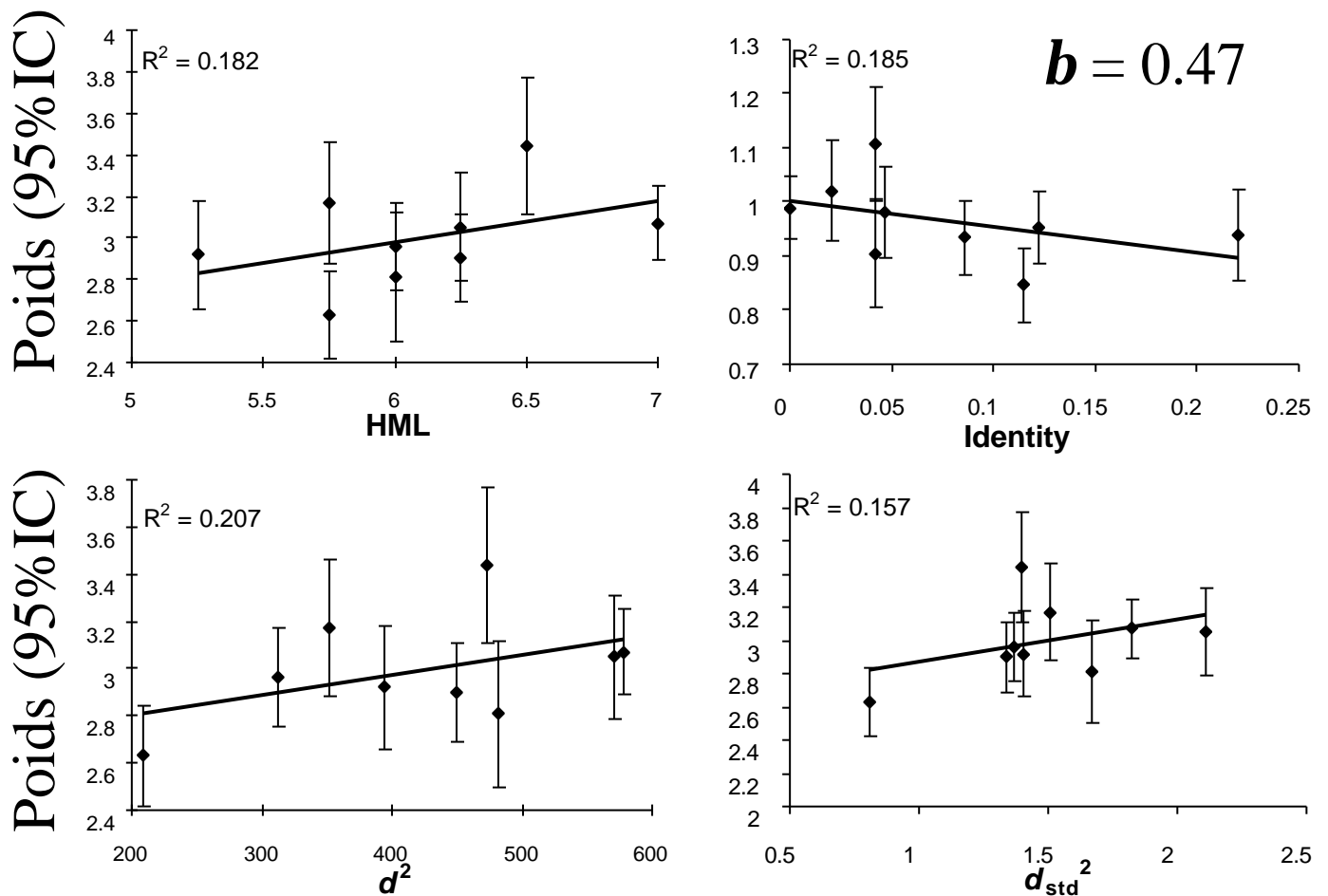
- Analyse de parenté à l'aide de 2 locus microsatellites :

—→ assignation sans ambiguïté.

- Génotype des 9 géniteurs sur 6 locus microsatellites.

Peut-on prédire les performances de croissance familiale à l'aide du génotype des parents ?

Corrélations génotype-croissance



- L'apparement des parents explique les performances de croissance de leurs descendants.
- Aucune variable n'est meilleure.

Microsatellites, consanguinité et dépression dans la mer

- Les organismes marins possèdent un fardeau génétique important.
- Leur forte fécondité autorise ce fardeau.
- Si l'hétérozygotie est corrélée à un trait de fitness c'est qu'il y a de la consanguinité dans la population étudiée. A moins que le marqueur ne soit pas neutre ...
- Quelques marqueurs très variables sont préférables à beaucoup de marqueurs peu variables. Les microsatellites sont donc des marqueurs de choix pour ces études car ils sont très variables et plutôt neutres ...

Conclusion : les organismes marins n'aiment pas la consanguinité mais ils en font quand même (de temps en temps) et ça se voit ...