

# Systemes de reproduction, structure génétique et microsatellites

Jean-Christophe Simon et François Delmotte

UMR INRA/ENSAR "Biologie des organismes et des populations appliquées à la protection des plantes (BiO3P)", INRA de Rennes

## Plan de l'exposé

- **Systemes de reproduction: intérêt d'études théoriques et appliquées**
- **Apport des microsatellites à l'étude des régimes reproducteurs**
- **Organismes strictement clonaux**
- **Organismes combinant sexualité et asexualité**
- **Organismes autogames**
- **Régimes de reproduction et modalités évolutives des microsatellites**
- **Conclusion**

# Systemes de reproduction et biologie des populations

- **Importance du système reproducteur**
  - sur la dynamique des espèces et des populations
  - sur la diversité génétique et la structure des populations
- **Aspects théoriques et finalisés des études sur les systèmes reproducteurs**
  - **Validation des théories sur l'évolution des systèmes reproducteurs**
    - Évolution et maintien de la reproduction sexuée chez les eucaryotes
    - Évolution de l'autofécondation
  - **Implications pratiques du système reproducteur**
    - en amélioration génétique
    - en gestion des populations de bioagresseurs ou d'organismes bénéfiques
    - en biologie de la conservation...

# Apport des microsatellites dans l'étude des systèmes reproducteurs

## **Les microsatellites sont des marqueurs hautement polymorphes et co-dominants**

- Utilisation sur des espèces considérées comme génétiquement "pauvres" (espèces clonales ou autogames)
- Analyse fine de la structure génétique des populations, très sensible au régime reproducteur
  - variabilité allélique et génique (recombinaison et brassage)
  - ségrégation allélique aux locus (déficit ou excès d'hétérozygotes)
  - recombinaison entre locus (déséquilibres de liaison)

# Diversité des systèmes reproducteurs

- **Organismes strictement clonaux**
  - reproduction asexuée, multiplication végétative, apomixie, parthénogenèse améiotique
  - très fréquents chez les unicellulaires, communs chez les plantes et les invertébrés, rares chez les vertébrés (absents chez oiseaux et mammifères)
- **Organismes combinant sexualité et asexualité**
  - reproduction végétative (asexuée) et sexuée
  - parthénogenèse cyclique (trématodes, rotifères, cladocères, cynipides, pucerons)
- **Organismes autogames ou hermaphrodites**
  - autofécondation obligatoire ou variable
  - fréquents chez les champignons, les végétaux, chez certains groupes d'animaux (vers plats, gastéropodes)

# Organismes clonaux et microsatellites

- **Signes de la reproduction clonale au niveau de la structure génétique**
  - individus copies de mêmes génotypes (résolution des microsatellites)
  - niveau de diversité génétique et d'hétérozygotie
  - déséquilibres de Hardy-Weinberg et de liaison
- **Microsatellites chez les organismes clonaux**
  - protozoaires, bryozoaires, fourmis, pucerons et gastéropodes

# Détection de la reproduction clonale dans les populations naturelles à l'aide des microsatellites

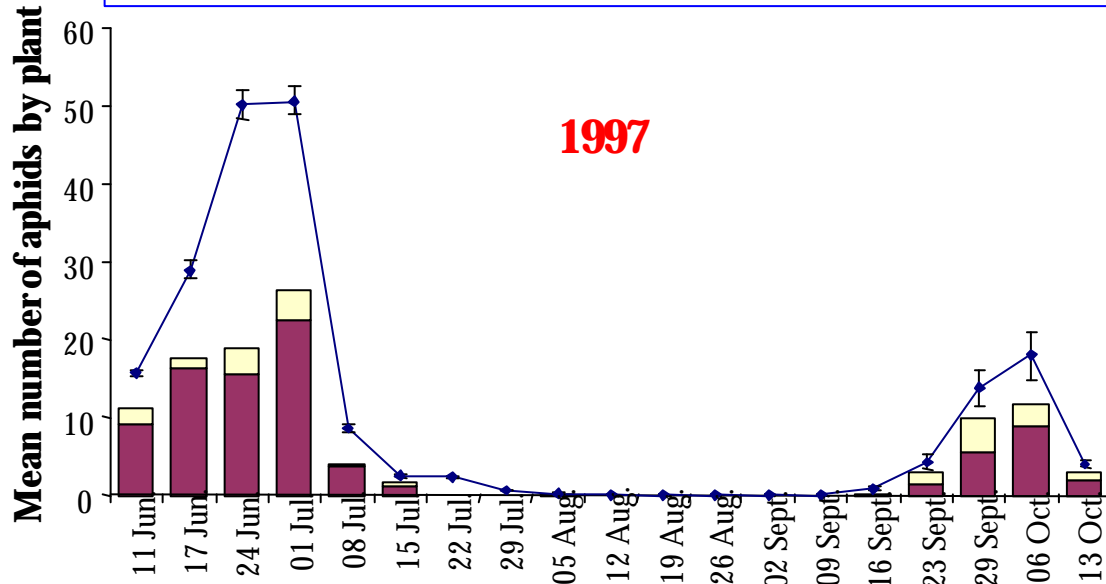
- **Le protozoaire** *Trypanozoma cruzi*, agent de la maladie de Chagas (Oliveira *et al.* 1998)
  - reproduction clonale attestée par 8 microsatellites
  - détection d'infection multiclonale chez l'homme ou le vecteur
- **Les pucerons**, *Sitobion miscanthi* (Sunnucks *et al.* 1996) et *Aphis gossypii* (Fuller *et al.* 1999)
  - détection de quelques clones à l'échelle d'une région (*A. gossypii*) ou d'un pays (*S. miscanthi*)
- **La fourmi** *Platythyrea punctata* (Schilder *et al.* 1999)
  - révélation d'une structure clonale des populations
  - une colonie  $\cong$  un génotype (ou clone)
- **Le gastéropode** *Melanoides tuberculata* (Samadi *et al.* 1999)
  - reproduction clonale (malgré la présence de mâles)
  - correspondance entre clones et morphotypes de coquilles

# Écologie clonale et microsatellites

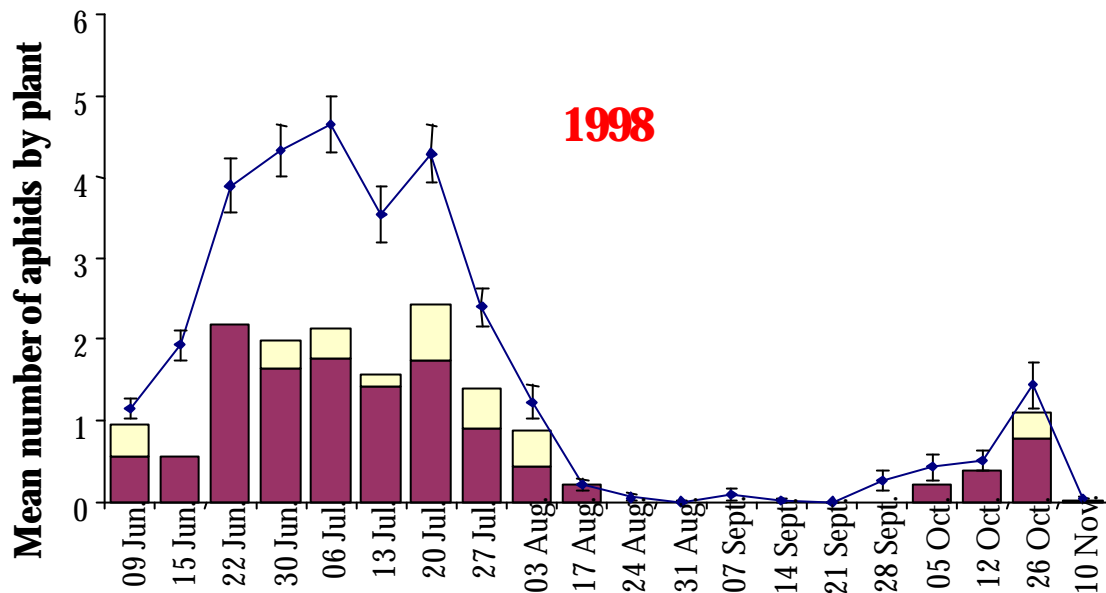
## Écologie des clones du puceron des céréales *Sitobion avenae*

- Spécialisation d'habitat : les clones sont-ils généralistes (polyphages ) ou spécialistes (monophages)?
- Dispersion à grande échelle: quelles sont les capacités de dispersion des clones?

# Super-clones généralistes chez le puceron *Sitobion avenae* (Haack et al., soumis)



Existence de super génotypes asexués et généralistes chez *S. avenae*, qui peuvent constituer plus de 50% des effectifs des populations



Genotype G1  
Genotype G2

# Distribution à grande échelle des "super-clones" du puceron *Sitobion avenae*



# Conclusion sur les organismes clonaux

- Les organismes clonaux maintiennent souvent une reproduction sexuée résiduelle ou ont une origine très récente
- Le mécanisme de perte de sexualité influence les caractéristiques génétiques des populations
- Difficultés de généraliser les modifications de structure liées à la clonalité

Taxons	$N_{\text{ind}}$	$N_{\text{géno}}$	$N_a$	$H_o$	HW	Déficit H	Excès H	DL
Protozoaire								
<i>Trypanozoma cruzi</i>	20	20	9,1	0,49	non	oui	non	oui
Bryozoaires								
<i>Cristatella mucedo</i>	?	?	15,4	0,14	non	oui	non	?
<i>Celleporella hyalina</i>	?	?	8,3	0,33	?	?	?	?
Homoptères								
<i>Aphis gossypii</i>	694	12	4,6	0,50	non	non	oui	oui
<i>Rhopalosiphum padi</i>	139	53	6,7	0,85	non	non	oui	oui
<i>Sitobion avenae</i>	40	25	6,2	0,59	non	non	oui	oui
Hyménoptères								
<i>Platythyrea punctata</i>	314	25	2,8	0,51	non	?	?	?
<i>Diplolepis spinosissima</i>	178	1-3	1,3	0,01	oui	oui	non	---
Gastéropode								
<i>Melanoides tuberculata</i>	800	60	40	?	non	?	?	?

# Organismes combinant reproduction sexuée et asexuée

- **Maintien d'une reproduction sexuée régulière associée à une phase clonale plus ou moins longue**
  - reproduction sexuée et multiplication végétative chez les végétaux
  - parthénogenèse cyclique chez les animaux
- **Perte fréquente de la reproduction sexuée au sein de l'espèce**
  - coexistence de populations ou lignées sexuées et asexuées
  - modèles biologiques pour étudier l'influence du mode de reproduction sur la structure génétique des populations

# Organismes à parthénogenèse cyclique: cas des rotifères

## Étude de Gomez & Carvalho (2000) sur *Brachionus plicatilis* (rotifère monogonte d'eau douce)

- **7 microsatellites analysés sur:**
  - populations directement issues de la reproduction sexuée
  - banque d'œufs diapausants et produits par voie sexuée
  - populations en phase clonale de durée variable
- **Résultats:**
  - les populations directement issues de la reproduction sexuée (contemporaines ou sous forme d'œufs) sont en structure de Hardy-Weinberg
  - modifications de la structure génétique des populations en phase clonale prolongée (3 mois) résultant des effets de sélection amplifiés par la reproduction asexuée

# Coexistence de populations sexuées et asexuées: cas des cynipides

## Étude de Plantard *et al.* (1998) sur *Diplolepis spinosissima*, cynipide galligène de *Rosa pimpinellifolia*

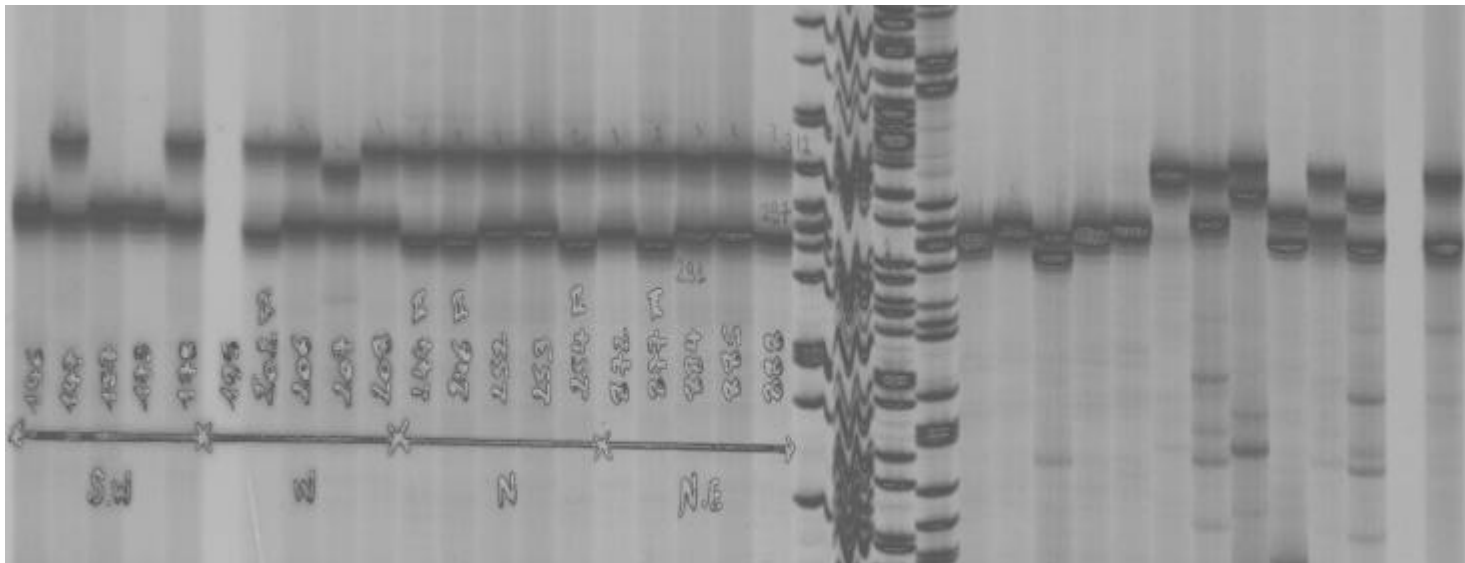
- populations côtières asexuées, à faible diversité génétique et bas niveaux d'hétérozygotie
- populations continentales sexuées, à forte diversité génétique et hauts niveaux d'hétérozygotie
- étroite relation entre la présence de *Wolbachia* et le mode de reproduction: induction de la parthénogenèse thélytoque chez les individus des populations infectées

# Coexistence de populations sexuées et asexuées: cas des pucerons

## Étude de Delmotte *et al.* (non publiée) sur le puceron des céréales *Rhopalosiphum padi*

- populations à parthénogenèse cyclique  
(x générations clonales + 1 génération sexuée/an)
- populations à parthénogenèse obligatoire  
(reproduction clonale infinie)
- comparaison de la structure génétique et analyse  
des apparentements à l'aide de 7 microsatellites

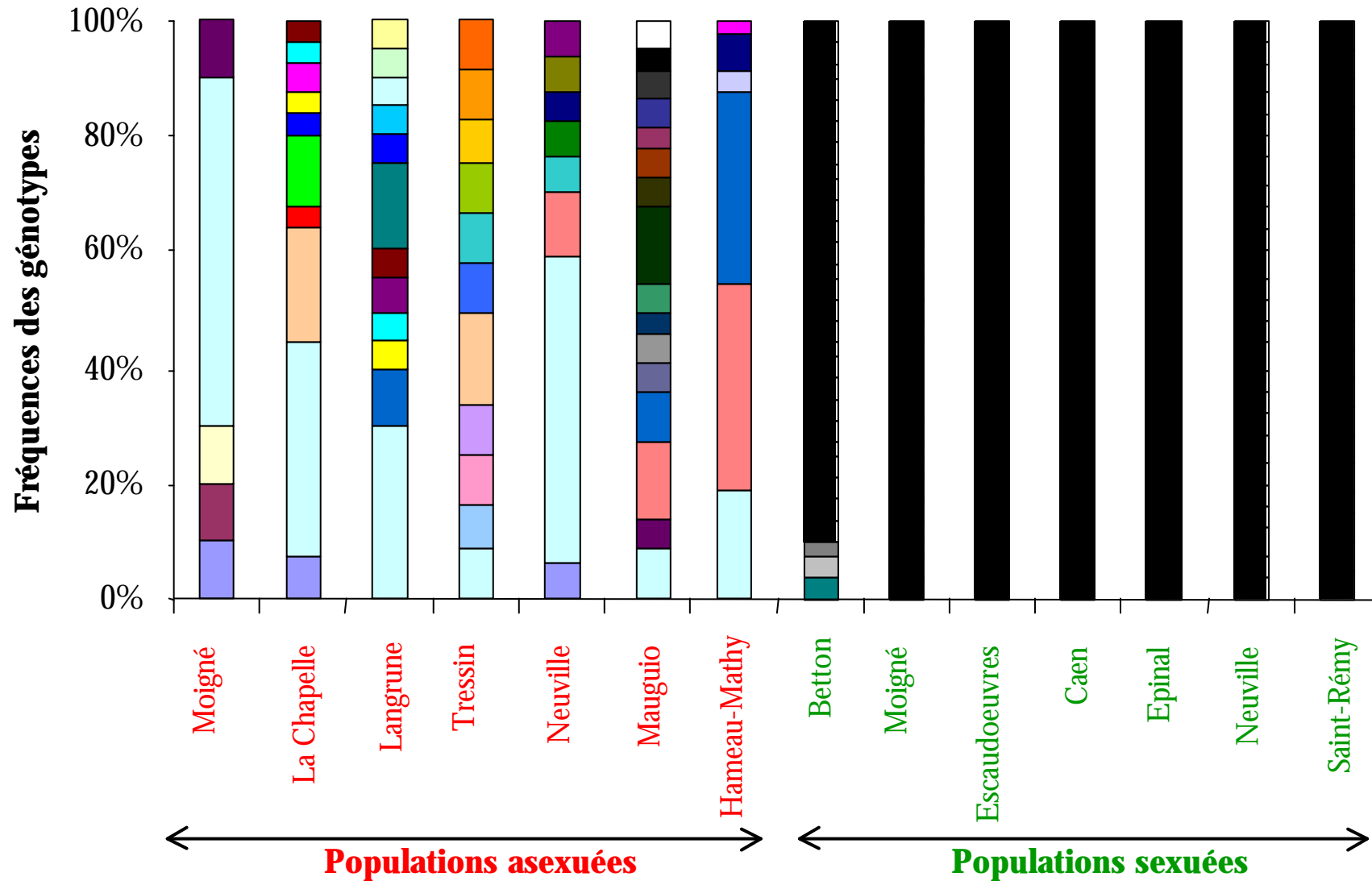
## Diversité génétique des populations sexuées et asexuées de *R. padi* au locus microsatellite R5.10



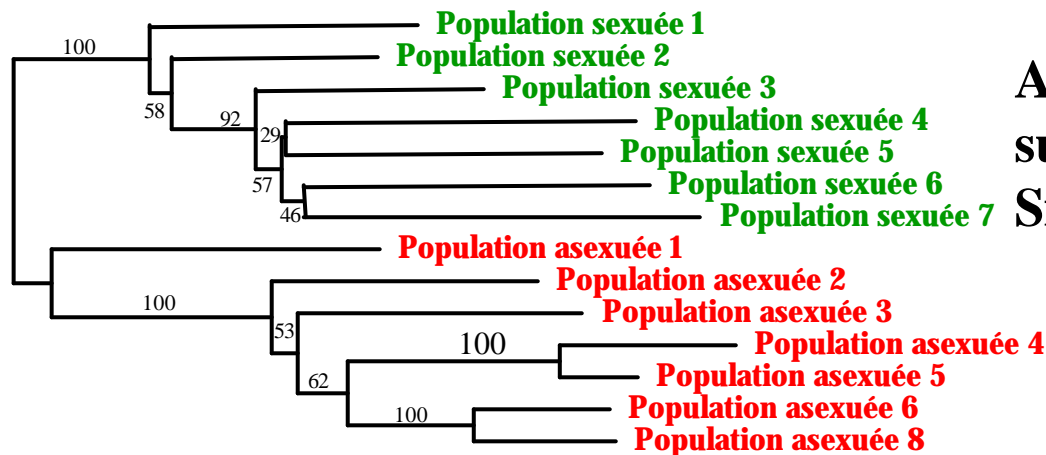
**Populations à  
parthénogenèse obligatoire**

**Populations à  
parthénogenèse cyclique**

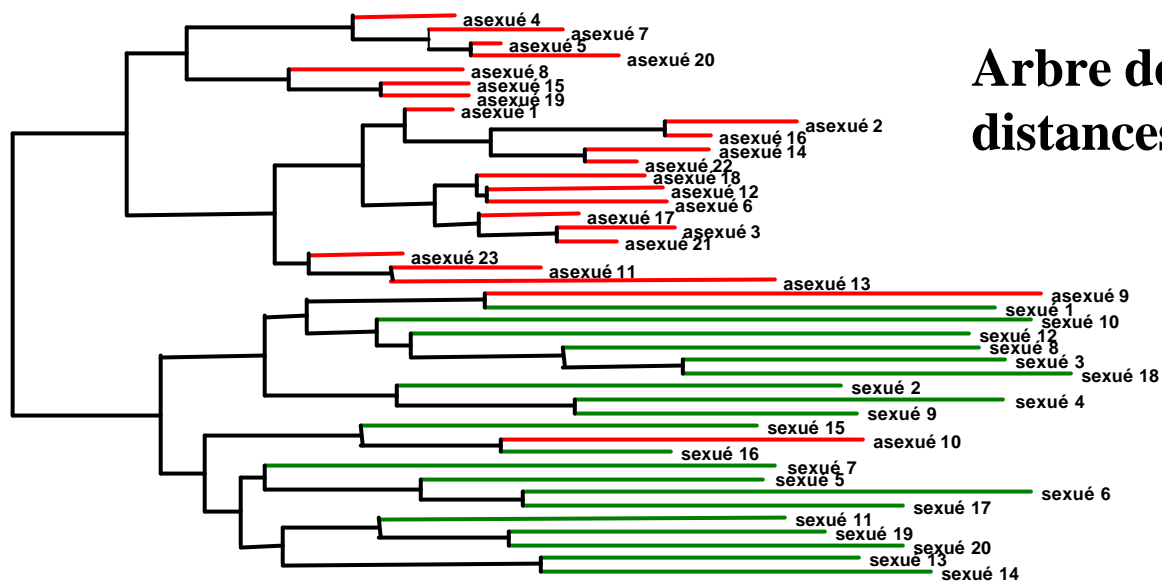
# Diversité génotypique des populations sexuées et asexuées du puceron *R. padi*



# Relations phylogénétiques entre lignées sexuées et asexuées de *R. padi*



Arbre des populations (NJ sur distances de Cavalli-Sforza & Edwards)



Arbre des génotypes (NJ sur distances des allèles partagés)

## Conclusion sur les organismes combinant reproduction sexuée et asexuée

- Organismes à parthénogenèse cyclique stricte, structure génétique proche des organismes pleinement sexués
- Possibilité de mesurer l'effet des pressions évolutives pendant la phase sexuée et clonale (ex. des rotifères)
- Identification du mode de reproduction à l'échelle des populations voire des individus lorsque coexistent lignées sexuées et asexuées (ex. de *Zostera*, plante marine et des pucerons)

# Organismes autogames et taux d'autofécondation

- Organismes se reproduisant par autofécondation = autogames ou hermaphrodites
- Autogamie fréquente chez les champignons, les plantes et chez certains groupes d'animaux (vers plats, gastéropodes)
- Variabilité du taux d'autofécondation entre espèces ou populations

# Conséquences attendues de l'autogamie sur la structure génétique des populations

- Faible niveau d'hétérozygotie
- Maintien de forts déséquilibres gamétiques
  - diminution du taux de recombinaison efficace
- Perte de polymorphisme
  - diminution de la taille efficace des populations
  - effets d'auto-stop génétique
  - sélection généralisée contre les allèles délétères
- Forte différenciation génétique des populations
  - limitation de flux géniques liée à l'autogamie

# Confrontation aux données empiriques

## Cinq modèles biologiques autogames étudiés avec des microsatellites

- Le champignon pathogène des silènes, *Microbotryum violaceum* (Bucheli *et al.*, 1999, 2000)
- Le complexe de *Mimulus guttatus*, espèces végétales de la famille des Scrofulariacées (Awadalla & Ritland, 1997)
- Le complexe d'espèces de **betteraves** (Viard *et al.*, non publié)
- Le **sorgho**, céréale d'origine tropicale (Djé *et al.*, 1999)
- Le gastéropode d'eau douce *Bulinus truncatus*, vecteur de bilharzioses (Viard *et al.* 1996, 1997ab)

# Structure génétique d'espèces allogames et autogames: cas des betteraves (Viard *et al.*, com. pers.)

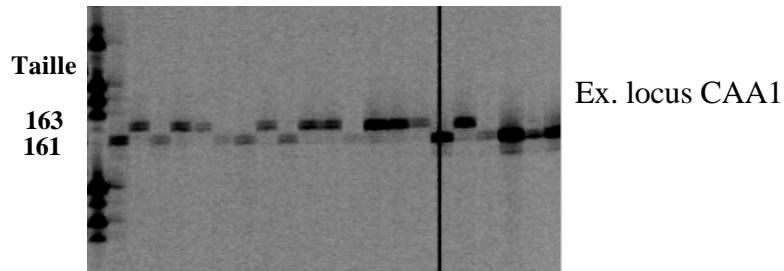


## Échantillonnage de *Beta maritima* (allogame) et *B. macrocarpa* (autogame)

	<i>B. v. maritima</i>	<i>B. macrocarpa</i>
Los Arenetes	100%	
Crevillente	100%	
Lamas	50%	50%
La Hoya champ	90%	10%
La Hoya ruines		100%
Albox	70%	30%
Cabo de Gata	90%	10%
Fuseta	5%	95%

# Diversité et structure génétique

## *B. macrocarpa*

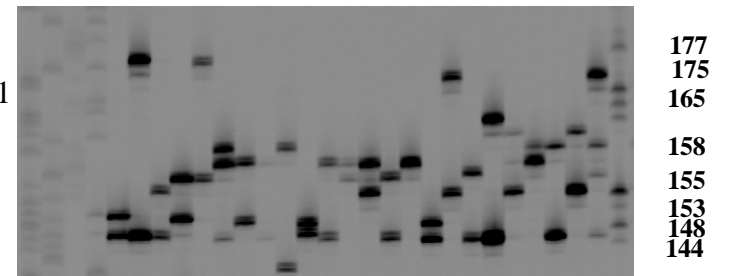


	Dans l'espèce	Écarts entre populations
Ap	1.8	1.3 à 3.0
Ho	0.04	0 à 0.10
He	0.19	0.03 à 0.44
Fis	0.88	0.68 à 1
S	0.92	0.80 à 1
Fst	0.35	



- Faible diversité nucléaire
- Grand déficit en hétérozygotes
- Forte différenciation entre les populations

## *B. vulgaris maritima*



	Dans l'espèce	Écarts entre populations
Ap	6.0	4.0 à 7.6
Ho	0.58	0.52 à 0.64
He	0.61	0.53 à 0.65
Fis	0.05	-0.10 à 0.16
S/CB	0.02	
Fst	0.05	



- Forte diversité nucléaire
- Faible déficit en hétérozygotes
- Faible différenciation entre les populations

# Synthèse des études microsatellites sur organismes autogames

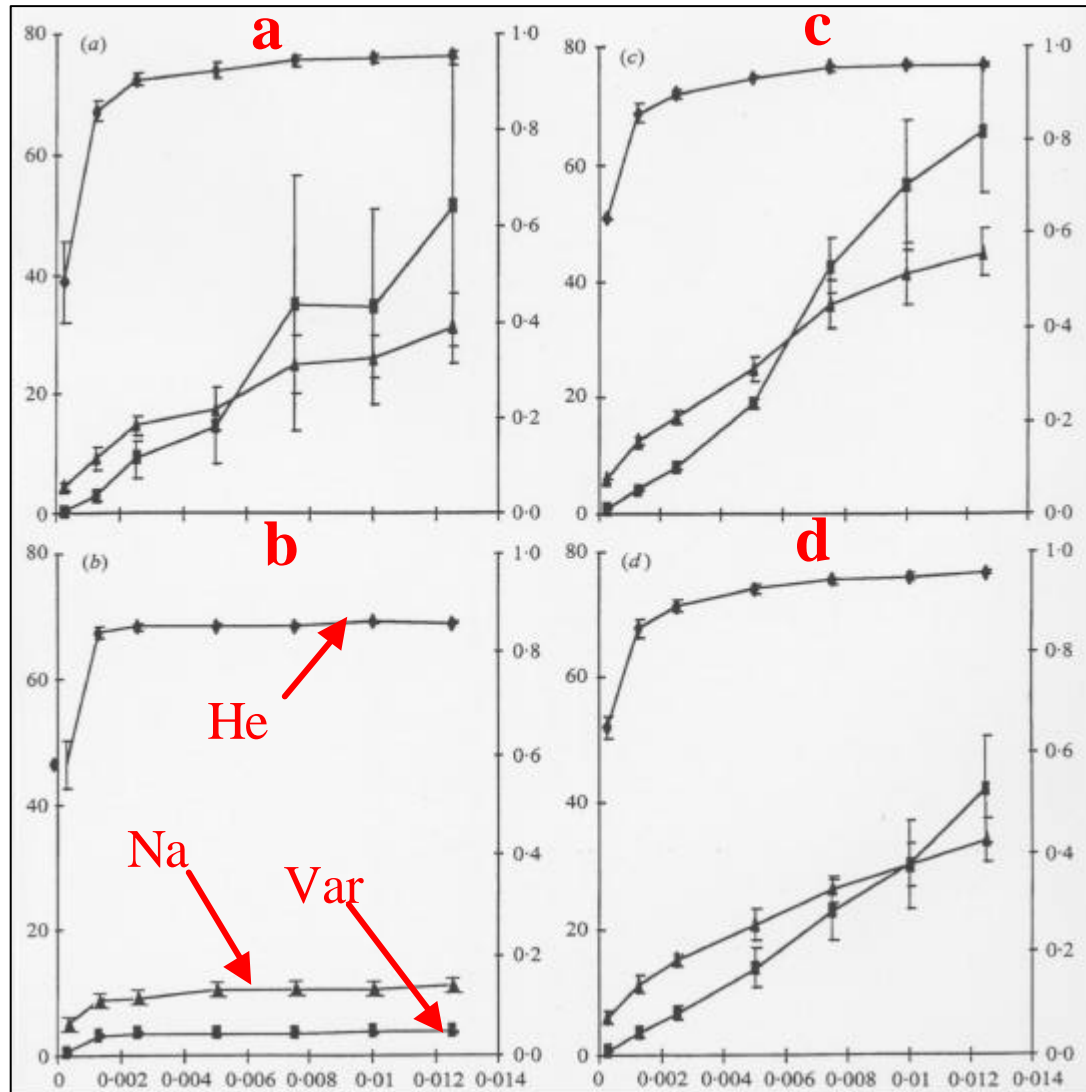
Taxons	N	NI	Na	H <sub>e</sub>	H <sub>b</sub>	S	θ	Mode reproducteur
<i>Microbotryum violaceum</i>	120	5	2,2	0,14	0,07	0,73	0,75	autogame
<i>Sorghum bicolor</i>	300	3	6	0,72	0,27	0,82	0,14	autogame
<i>Mimulus</i>								
<i>M. guttatus</i>	42	6	3,9	0,50	0,34	0,49	0,32	allogame
<i>M. nasutus</i>	38	6	4,0	0,49	0,41	0,44	—	autogame facultatif
<i>M. laciniatus</i>	36	6	2,4	0,33	0,10	0,88	0,60	autogame
<i>M. depauperatus</i>	34	6	2,7	0,27	0,10	0,80	—	autogame
<i>Beta</i>								
<i>B. macrocarpa</i>	90	6	1,8	0,19	0,04	0,92	0,35	autogame
<i>B. v. maritima</i>	163	6	6,0	0,61	0,58	0,02	0,05	allogame
<i>Bulinus truncatus</i>								
Niger	399	4	4,7	0,52	0,11	0,93	0,42	hermaphrodite
Afrique de l'Ouest	1210	4	4,2	0,36	0,05	0,94	0,54	hermaphrodite

# Systemes de reproduction et modalités évolutives des microsatellites

- Deux hypothèses sur le mécanisme générant les variations de taille d'allèles
  1. erreurs de réplication de type "glissement"
  2. recombinaisons entre chromosomes homologues
- Si 1<sup>er</sup> mécanisme prépondérant:
  - peu d'influence du régime reproducteur (sexué ou asexué) sur la variation allélique
- Si 2<sup>ème</sup> mécanisme prépondérant:
  - variabilité de taille d'allèle sexués > asexués
- Sélection vs allèles de grande taille ou différences de taille entre allèles homologues
  - Effets sélectifs différents selon le mode de reproduction

# Simulation de l'influence du système reproducteur sur la variabilité des microsatellites (Samadi *et al.* 1998)

a) Reproduction sexuée panmictique sans sélection



b) Reproduction sexuée panmictique et sélection contre les différences de taille d'allèles

c) Reproduction clonale sans sélection

d) Reproduction clonale et sélection contre les différences de taille d'allèles

# Confrontation avec les données empiriques

Taxons	Nl	Na	H <sub>e</sub>	H <sub>o</sub>	Δ	Mode reproducteur
Protozoaires						
<i>Trypanozoma cruzi</i>	8	9,1	0,79	0,49	33,8	C, diploïde
Plante marine						
<i>Zostera marina</i>	6	4,7		0,5	24,4	S+MV, diploïde
Bryozoaires						
<i>Cristatella mucedo</i>	10	15,4	0,73	0,14	15,4	C, diploïde
<i>Celleporella hyalina</i>	6	8,3	?	0,33	45,7	C, diploïde
Rotifères						
<i>Brachionus plicatilis</i>	7	4,9	0,48	0,48	26,6	PC, diploïde
Plathelminthes						
<i>Dugesia polychroa</i>	8	14,9	?	0,32	128,3	H+PT, polyploïde
Insectes						
Homoptères						
<i>Aphis gossypii</i>	8	7,0	?	0,45	25,0	PT, diploïde
<i>Rhopalosiphum padi</i>	6	11,8		0,72	26,0	PC+PT, diploïde
<i>Sitobion avenae</i>	5	8,2	0,57	0,57	31,2	PC+PT, diploïde
<i>Sitobion miscanthi</i>	12	5,2	?	0,68	28	PT, diploïde
Hyménoptères						
<i>Diplolepis spinosissimae</i>	3	5,0	?	0,01-0,87	14,7	S+PT, haplodiploïde
<i>Platythyrea punctata</i>	5	2,8	0,52	0,51	9,6	PT, diploïde
Gastéropodes						
<i>Bulinus truncatus</i>	4	4,7	0,44	0,11	85,3	H, allotétraploïde
<i>Melanoides tuberculata</i>	3	40	?	?	88,3	H+PT, polyploïde

# Conclusion

- **Les microsatellites, outils de choix pour:**
  - caractériser le système reproducteur des populations naturelles
  - étudier l'influence des régimes de reproduction sur la structure génétique
- **Trop peu de modèles biologiques analysés**
  - dégager des tendances claires de modifications de structure génétique en fonction du mode reproducteur
  - assez claires pour les espèces autogames, beaucoup moins pour les espèces clonales
- **Aide à la compréhension des mécanismes impliqués dans l'évolution des systèmes reproducteurs**
  - modalités de perte de sexualité
  - variation des taux d'autofécondation
- **Manque de données empiriques dans l'évaluation de l'influence du mode reproducteur sur les modalités évolutives des microsatellites**