



D 'après Lagercrantz et al. 1993, Morgante & Olivieri 1993, Wang et al. 1994, Powell et al. 1996

que chez les animaux sauf exceptions
(ex. tomate, orge)

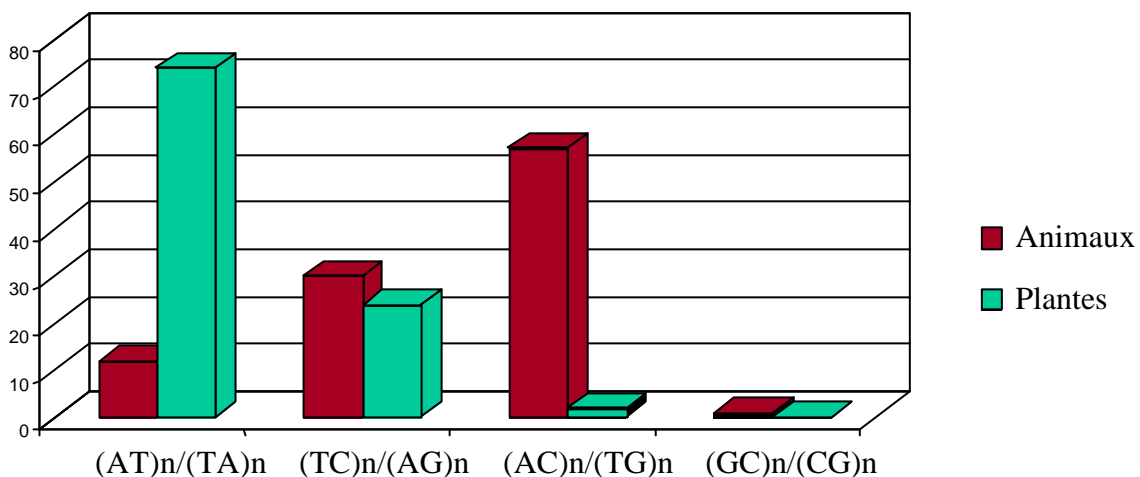
Densité

un motif > 20 pb tous les 33Kb (mais tous les 1.2 Kb chez la tomate)
Densité plus grande chez les dicotylédones (1 motif tous les 21 Kb) que
chez les monocotylédones (1 motif tous les 65 Kb)

Types de motifs (n>20 motif de 1-4 bp)

AT > A > AG > AAT > AAC > AGC > AAG > AATT > AAAT > AC
(AT)_n majoritaire = 56% (Homme : (AC)_n = 81%)

Pourcentage des différents types de dinucléotides



Utilisation des organelles en génétique des populations végétales

	Structure	Ploïdie	Hérédité	Recombinaison
Noyau	chromosomes linéaires	diploïde ou +	Biparentale	oui
Chloroplaste	chromosome circulaire	Haploïde	Uniparentale -maternelle = angiosperme -paternelle = gymnosperme	non
Mitochondrie	chromosome multi-circulaire	Haploïde	Uniparentale maternelle	non (intra-génomique)

D 'après Ennos et al. 1999



Marqueurs de migration différentielle des graines ou pollen

Développement amorces universelles dans des zones codantes encadrant des régions non codantes : polymorphisme supra-spécifique et intra-spécifique

Développement de marqueurs microsatellites (connus pour leur important polymorphisme dans le noyau)

Les microsatellites chloroplastiques :

présence, motifs, organisation moléculaire

Acquisition

Pas de criblage de banques ADNcp spécifique
Recherche dans les bases de données (EMBL, Genbank...)

Séquences complètes de plus en plus nombreuses

03/2000 : 16 disponibles cf site http://megasun.bch.umontreal.ca/ogpm/projects/other/cp_list.html

1986	<i>Marchantia polymorpha</i>	Bryophyte	Ohyama et al.
1986	<i>Nicotiana tabacum</i>	Dicotylédone	Shinozaki et al.
1989	<i>Oryza sativa</i>	Monocotylédone	Hirasuka et al.
1992	<i>Epifagus virginiana</i>	Non-photosynthétique	Wolfe et al.
1994	<i>Pinus thunbergii</i>	Gymnosperme	Wakasugi et al.
1995	<i>Zea mays</i>	Monocotylédone	Maier et al.

Séquences partielles très nombreuses



505 motifs microsatellites (n>10)

Provan et al. (1999)

Types de motifs

505 motifs :

n>9	$(A)_n/(T)_n$	$(G)_n/(C)_n$	$(AT)_n/(TA)_n$	$(TC)_n/(AG)_n$	$(ATT)_n/(TAA)_n$
	485	6	12	1	1
	96%	1.2%	2.4%	0.2%	0.2%

Plus précisément :

	<i>Marchantia polymorpha</i>	<i>Pinus thunbergii</i>	<i>Epifagus virginiana</i>	<i>Nicotiana tabacum</i>	<i>Oryza sativa</i>	<i>Zea mays</i>	<i>Euglena gracilis</i>	Other
$(A)_n/(T)_n$	82 94.3%	19 95%	25 96.2%	39 100%	12 100%	30 76.9%	53 100%	225 98.2%
$(G)_n/(C)_n$	0	1 5%	0	0	0	2 5.1%	0	3 1.4%
$(AT)_n/(TA)_n$	5 5.7%	0	1 3.8%	0	0	5 13%	0	1 0.4%
$(TC)_n/(AG)_n$	0	0	0	0	0	1 2.5%	-	0
$(ATT)_n/(TAA)_n$	0	0	0	0	0	1 2.5%	-	0
Total	87	20	26	39	12	39	53	229
Génome (kb)	121	120	70	156	135	135	143	
Densité	0.72/kb	0.16/kb	0.37/kb	0.25/kb	0.08/kb	0.28/kb	0.37/kb	

Abondance

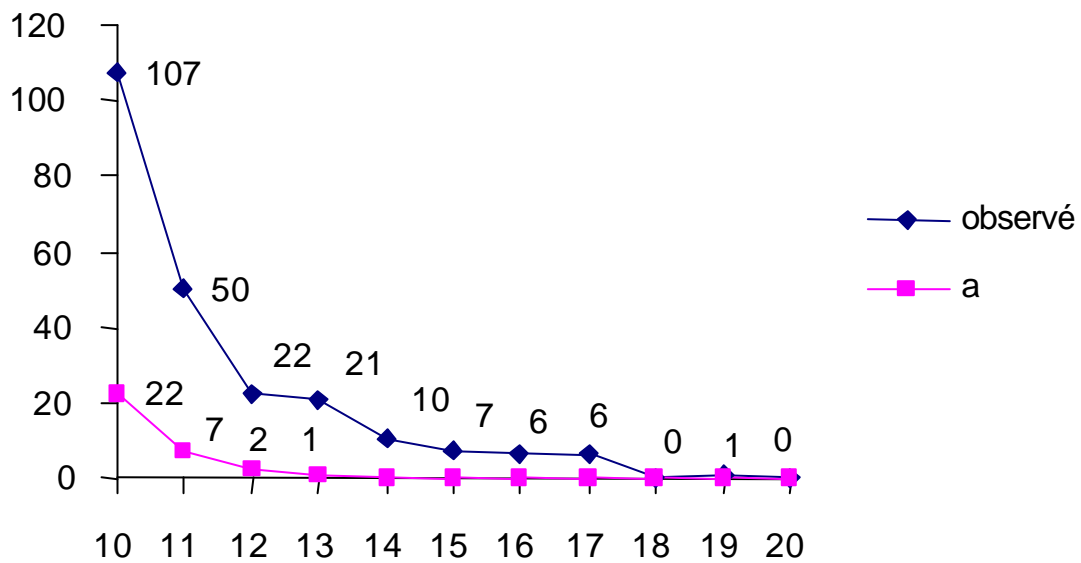
Densité moyenne = 1 répétition tous les 3.2 Kb

En excès par rapport aux attendus théoriques

(données=composition en base des génomes complètement séquencés)

par ex. pour $n=10$, $N_{\text{attendu}} = 22$ $N_{\text{observé}} = 107$

Décroissance exponentielle avec n

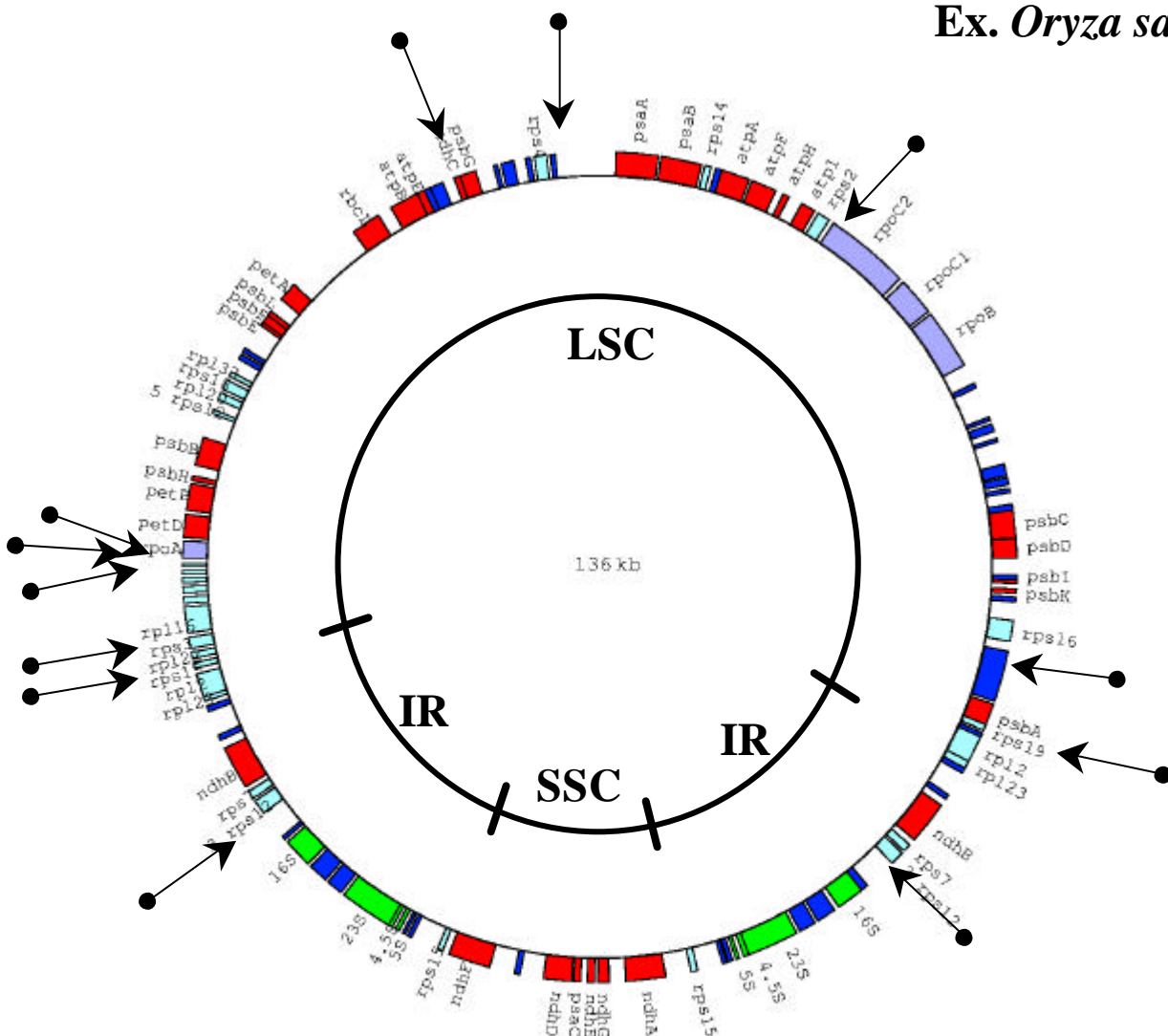


Localisation

Génome chloroplastique

- Molécule circulaire stable en structure
- Taille varie de 120 à 220 Kb
- LSC+SSC+(IR)
- gènes / photosynthèse, ARNt, ARNr

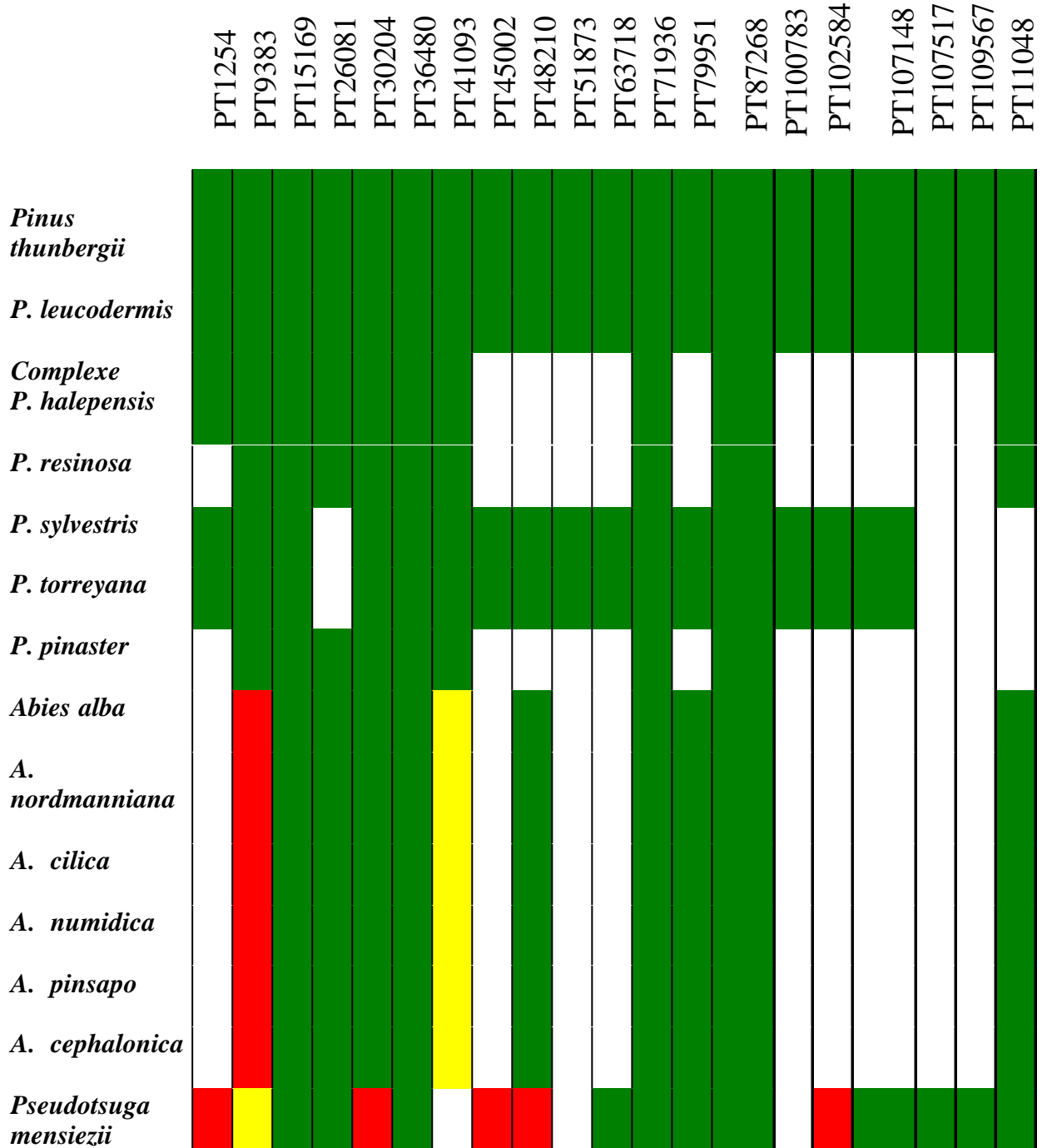
Ex. *Oryza sativa*



KEY	
Photosynthesis gene	Ribosomal RNA gene
Ribosomal protein gene	transfer RNA gene
RNA polymerase gene	

Conservation

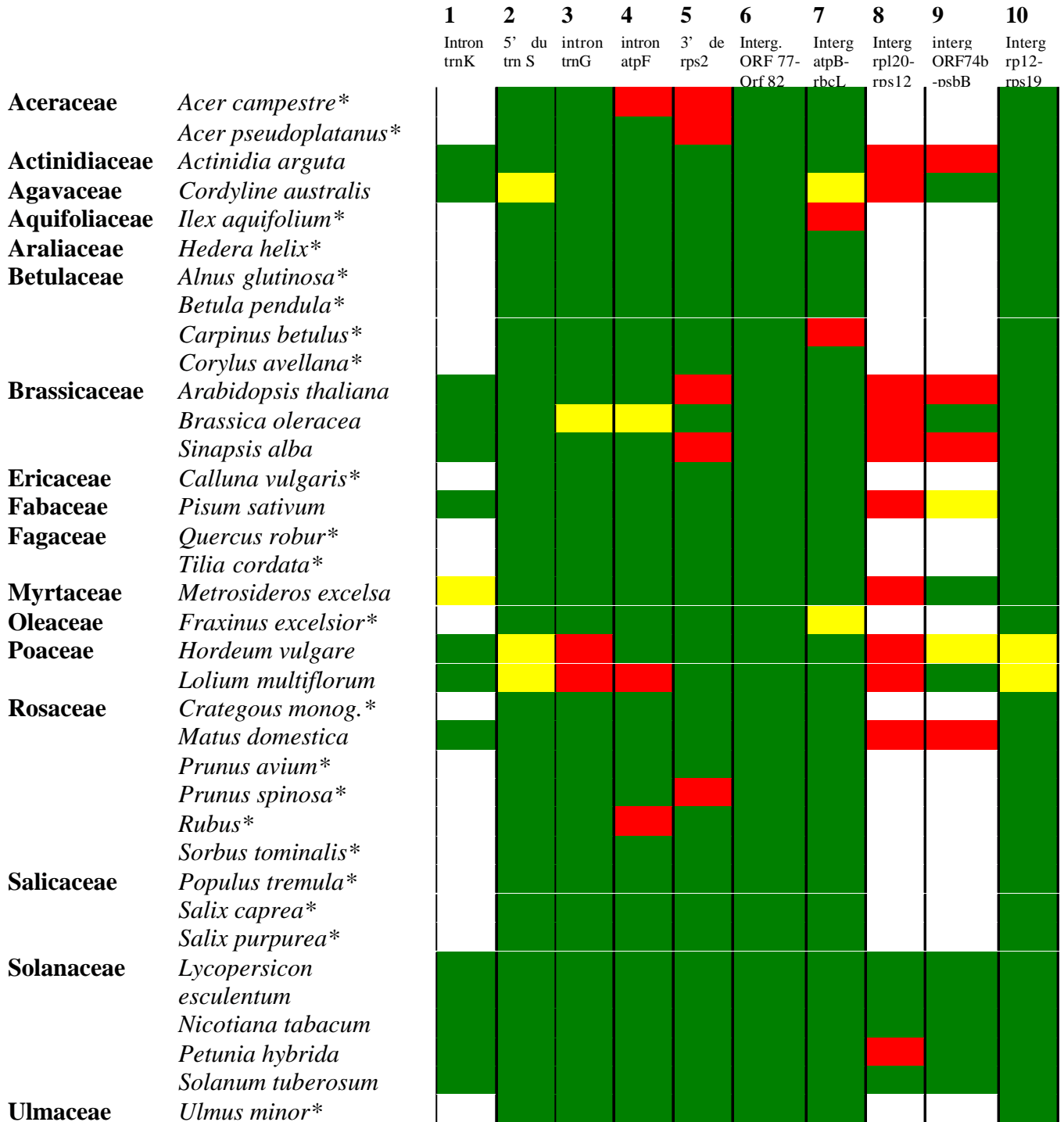
Exemple chez les Pinaceae



White	Données manquantes ou locus non testé
Green	Amplification – interprétable
Red	Pas d'amplification
Yellow	multibandes ou faible amplification

D'après Bucci et al. 1998, Echt et al. 1998, Powell et al. 1995, Provan et al. 1998, Provan et al. 1999, Vendramin et al. 1996, Vendramin & Ziegenhagen 1997, Vendramin et al. 1998, Vendramin et al. 1999, Viard & Ritland, unpublished

Exemple chez les angiospermes



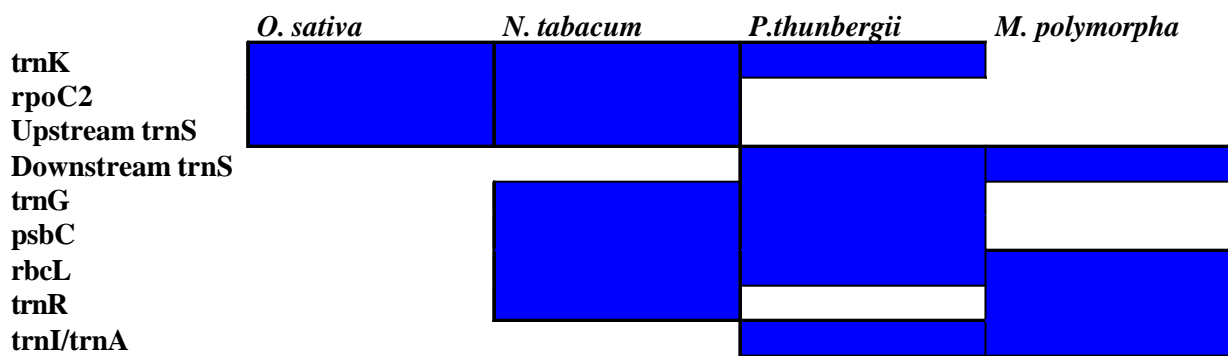
	Données manquantes ou locus non testé
	Amplification – interprétable
	Pas d'amplification
	multibandes ou faible amplification

D'après Vendramin et al. (non publié)*, Weising & Gardner 1999

Conservation

Conservation d'amorces entre des angiospermes & gymnospermes

Des régions très conservées : régions candidates (Provan *et al.* 1999)



2ième cas : motif complexe et variation du nombre de répétitions

Séquences d'allèles microsatellites - Locus Pt30204

(Vendramin & Ziegenhagen 1997)

Extrémité 3' de l'amorce F

A.p	A T A C C - - - - - G G G T T A T T A T G A A A T G A A T C A C T
A.a1	A T A C C - - - - - G G G T T A T T A T G A A A T G A A T C A C T
A.a2	A T A C C - - - - - G G G T T A T T A T G A A A T G A A T C A C T
A.a3	A T A C C A T A T C A G G T G A T T A T G A A A T G A A T C A C T
P.t	A T A C C A T A T C A G G T G A T T A T G A A A T G A A T C A C T

juxtaposition de deux SSRs

A.p	T T - - - - C C C C C T T T T T T T T T T T T T T T - A G G G A A C A
A.a1	T T - - - - C C C C C T T T T T T T T T T T T T T T A G G G A A C A
A.a2	T T - - - - C C C C C T T T T T T T T T T T T T T T - A G G G A A C A
A.a3	T C C C C C C C C C C T T T T T T T T T T T T T T T - - - A A G G A A C A
P.t	T C C C C C C C C C C T T T T T T T T T T T T T T T - - - - G - A A - A

A.p	- - T A - - - - G A G A T C A - - A A T T A C A G T C A T T C A T
A.a1	- - T A - - - - G A G A T C A - - A A T T A C A G T C A T T C A T
A.a2	- - T A - - - - G A G A T C A - - A A T T A C A G T C A T T C A T
A.a3	- - A A C A A A G A G A T A A C A G T T T A C A G T C A T T C A T
P.t	G G A A C A A A G A G A T C A C A G T T T A C A G T C A T T C A T

Mononucléotide non reconnu chez *P. thunbergii* ((A)n avec n<10)

Début amorce R

A.p	T - T A A A A A - G A A A T G A A A A A A A A A A A A A A G A G G A
A.a1	T - T A A A A A - G A A A T G A A A A A A A A A A - - - - G A G G A
A.a2	T - T A A A A A - G A A A T G A A A A A A A A A A A - - - G A G G A
A.a3	T A T A A A A A A T A A A T T A A A A A A - - - - - - - G A G G A
P.t	T A T A A A A A - T A A A T T A A A A A A - - - - - - - G A G G A

3ième cas : motif complexe, variation du nombre de répétitions, indels

Séquences d'allèles microsatellites - Locus PCP36567

(Provan et al. 1998)

indel de 9 pb

P. t	C A T T		T T C T C T C A T T	A G G A A C A A A C
P. s₁₀₇	C A T T		T T C T C T C A T T	A G G A A C A A A C
P. s₁₁₆	C A T T	T T C T T C A T T	T T C T C T C A T T	A G G A A C A A A C

Mononucléotide

P. t	C C T A T C A A A A G T T T A T A G G		A T G
P. s₁₀₇	C C T A T C A A A A G T T T A T A G G	T T T T T T T T	A T G
P. s₁₁₆	C C T A T C A A A A G T T T A T A G G	T T T T T T T T	A T G

P.s = *Pinus sylvestris*, P. t . = *Pinus thunbergii*

Conclusions

- cp : microsattellites abondants également chez les mitochondries de conifères (Sorenzo et al. 1999)
- source de la variation : surtout nombre de répétition du motif de base (1 pb!)
- type de variation pouvant générer de l'homoplasie

Problèmes éventuellement posés : hétéroplasmie (ex. *A. alba* : liée à des « fuites dans la transmission uniparentale »)

Questions non abordées :

- niveau de polymorphisme (en fonction de la localisation ou de la longueur de la répétition?)
- attendus théoriques (polymorphisme + faible / noyau)
- applications
- avantages/inconvénients pour des études en biologie des populations

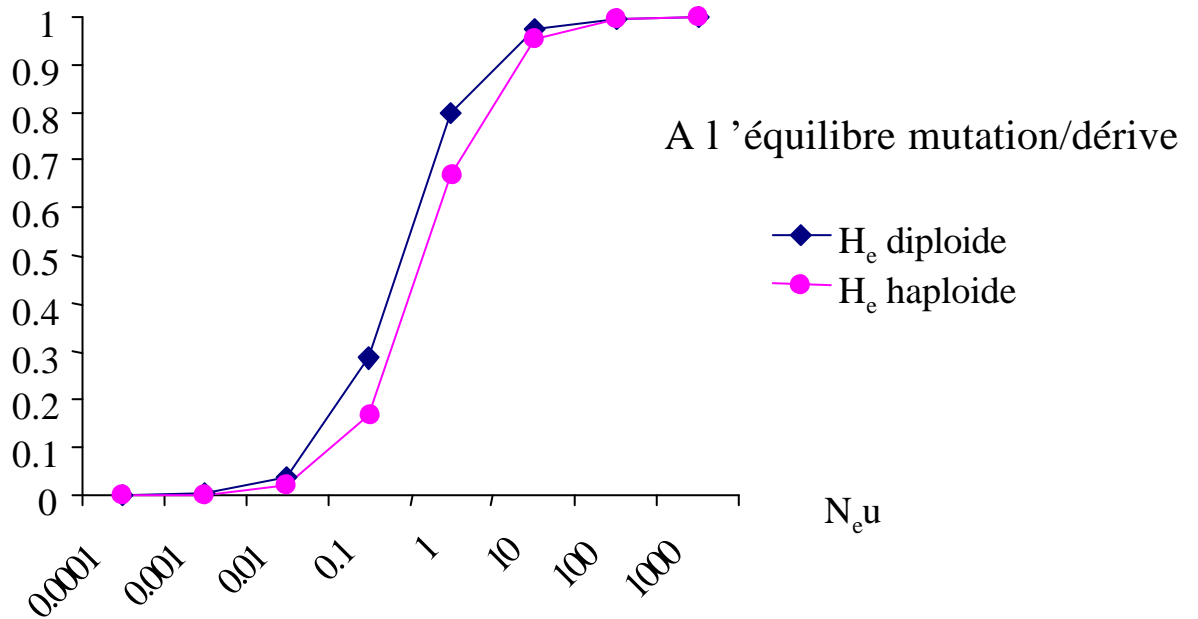
Utilisations en génétique des populations

Rappel : recherche de polymorphisme intra- et inter-populations de marqueurs à hérédité uniparentale

A- Attendus par rapport à des marqueurs nucléaires

1- Trois raisons de perte de diversité

1.1- Diminution de la taille efficace (hérédité uniparentale)



2- Source d 'introduction de diversité/ noyau : Captures

Si hérédité maternelle « pollen swamping »
même fonds nucléaires mais cyto différents

Si hérédité paternelle
même fonds nucléaires mais cyto différents

3- Attendus sur la diversité génétique / aux locus nucléaires

en général, diversité plus faible mais
variance sur plus importante (selective sweep, hybridation-capture)

B- Objectifs

- Identifier des cultivars, histoire de la domestication : esp. Cultivées angiospermes
- Retracer les évènements d'introgession et de ploïdisation : esp. cultivées angiospermes et conifères
- Conservation et ressources génétiques « gestion durable » : esp. Forestières (conifères)

Ex. 1. Relation taxons cultivés- taxons sauvages

Histoire et effets de la domestication

Conservation des ressources génétiques

Provan et al. 1999. *Molecular Ecology*, 8: 505-511. Systematics and population studies in the Genus *Hordeum*

	<i>Hordeum</i>	<i>H. vulgare</i> <i>spontaneum</i>	<i>H. v. vulgare</i> <i>Var. pop.</i>	<i>H. v. vulgare</i> <i>Var. lignées</i>
$N_{\text{accession}}$	31	51	125	101
N_{loc}	7	7	7	7
N_{locpoly}	7	5	1	0
$N_{\text{all/loc}}$	3.7 (2-7)	2 (1-3)	1.14 (1-2)	1
N_{haplo}	25	11	2	1
H_e	0.95	0.75	0.47	0.00

- Très polymorphes | cpRFLPs 254 accessions Israël-3 haplo
cpSSR 12 accessions Israël-6 haplo
- Effets de la domestication | H_e et N_{haplo} chutent
- Histoire de la domestication | Séparation majeure *Hordeum/H. vulgare*
(idem nucléaire RAPD, RFLP)
Mise en évidence d'évènements de capture dans les accessions polyploides

Autres études-conclusions identiques

Powell et al. 1996 : *Glycine max* (cultivé)/*Glycine soja* (apparenté sauvage supposé)

Provan et al. 1996 : *Oryza sativa*

Ex. 2. Analyse de complexes d'espèces forestières : le complexe « halepensis »

- Hybridation entre taxons proches : commun chez les arbres
- Complexe *halepensis* = *P. brutia*, *P. eldarica*, *P. halepensis*
- Hybridations (croisements) entre *P. halepensis* (donneur) et *P. brutia* or populations en sympatrie

	N _{pop}	N _{individu}	H _{e/locus}	N _{haplo} popspecific	F _{st}
<i>P. brutia</i>	8	72	0.297	40	0.29
<i>P. eldarica</i>	2	48	0.272	13	0.07
<i>P. halepensis</i>	10	127	0.222	28	0.31
<i>Total</i>	20	247	0.257	81-	0.56
				72 (88.8%)	
<i>P. brutia/P. halepensis</i>	1	2*60		10 (7 brutia/3 halep.)	

- Fort polymorphisme : assignation/provenance, contrôle des lots de graine
 - Centre de la diversification du pin d'Alep = Grèce
 - Hybridations *in natura*: (megagametophyte = mère)
- 15 embryons ont 1 haplotype « brutia » alors que les megagametophytes sont de type « halepensis ».

Un trait commun à toutes les études réalisées chez les conifères = polymorphisme élevé des SSRcp

	N_{pop}	$N_{individu}$	$N_{locpoly}/N_{loc}$	N_{all}	N_{haplo} popspecific	$H_e/haplo$	F_{st}
<i>P. brutia</i>	8	72	8/9		40		0.29
<i>P. eldarica</i>	2	48	8/9		13		0.07
<i>P. halepensis</i>	10	127	8/9	38 (2-8/loc)	28		0.31
Total	20	247	8/9		81 72 (88.8%)		0.56
<i>P. resinosa</i>	7	159	9/9	25 (2-3/loc)	23 12 (52.1%)	0.62 0.54/pop	0.12
<i>P. sylvestris</i>	7	330	13/17	- (2-6/loc)	174 >50%, 72%indspe	0.99 0.97/pop	0.32
<i>P. pinaster</i>	10	240	7/9	24 (2-6/loc)	34 25 (73.5%)	0.81 0.74/pop	0.23
<i>P. leucodermis</i>	7	-	10/10	29	48		
<i>Abies alba</i>	17	714	2/2	26 (8-18/loc)	90 38 (42%)	0.85	0.13

Mais des exceptions

	N_{pop}	$N_{individu}$	$N_{locpoly}/N_{loc}$	N_{all}	N_{haplo} popspecific	$H_e/haplo$	F_{st}
<i>P. torreyana</i> Endémique californie <10000indiv.	1	64	0/17	1	1 -	0	-
<i>Pseudotsuga menziesii</i>	11	323	3/11	6 (2/loc)	5 0	0.38	0.02

Conclusions

- Peu d'études
essentiellement sur les arbres forestiers quand il s'agit
d'approches en populations
ou transmission paternelle
- Néanmoins polymorphisme très élevé quand les locus sont
dans des régions non-codantes du cp (ex. oryza)
- Pas de corrélation entre la taille de la répétition et le
polymorphisme
- Sources de la variation???? Pas de transposons dans le cp, pas
seulement dû à des glissements de polymérase (duplication),
points chauds de mutations?