



HAL
open science

CONTROLE GENETIQUE DE LA RECOMBINAISON HOMEOLOGUE CHEZ LES HAPLOIDES DE COLZA (BRASSICA NAPUS L.)

Stéphane D. Nicolas

► **To cite this version:**

Stéphane D. Nicolas. CONTROLE GENETIQUE DE LA RECOMBINAISON HOMEOLOGUE CHEZ LES HAPLOIDES DE COLZA (BRASSICA NAPUS L.). Génétique des plantes. Ecole Nationale Supérieure Agronomique de Rennes, 2007. Français. NNT : 2006NSARH069 . tel-01689186

HAL Id: tel-01689186

<https://hal.science/tel-01689186>

Submitted on 21 Jan 2018

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.



Distributed under a Creative Commons Attribution - NonCommercial - ShareAlike 4.0 International License

N° d'ordre : 2007-12
N° de série : C-94

THESE

Présentée devant

L'ECOLE NATIONALE SUPERIEURE AGRONOMIQUE DE RENNES

POUR OBTENIR LE TITRE DE DOCTEUR DE L'ENSAR

Mention Biologie et Agronomie

par

Stéphane NICOLAS

CONTROLE GENETIQUE DE LA RECOMBINAISON HOMEOLOGUE CHEZ LES HAPLOIDES DE COLZA (*BRASSICA NAPUS L.*)

Préparée à l'unité d'Amélioration des Plantes et de Biotechnologies Végétales
UMR INRA-Agrocampus Rennes, 35653 LE RHEU

Sous la direction d'**Eric Jenczewski et d' Anne-Marie Chèvre**

Soutenue le 11 mai 2007 devant le jury :

Grégoire Thomas
Malika Ainouche
Denise Zickler
Jacques David
Eric Jenczewski
Anne-Marie Chèvre

Président du jury
Rapporteur
Rapporteur
Examineur
Directeur de thèse
Co-directeur de thèse

REMERCIEMENTS

Une thèse est avant tout une aventure humaine faite de rencontres, de voyages (vive les congrès), de combats intellectuels jalonnés de victoires mais surtout de défaites (dur, dur d'avoir raison avec Anne-Marie et Eric), de découvertes (sur quelques centaines idées, il y en a toujours trois ou quatre de valables), de désespoirs (bon, plus que 290 gels, soit cent litres d'acrylamide à couler), d'euphories (mon projet de recherche c'est le meilleur), de nuits blanches (encore 18 diapos à faire pour la présentation le lendemain), et de beaucoup de travail.

Mon aventure a commencé en DEA. Parmi tous les sujets de stage proposés, il y en avait un de « bizarre », auquel personne ne comprenait rien et qui ne ressemblait pas aux autres avec marqué DIFFICILE et ORIGINAL. Il ne parlait pas de rendement, de résistance, de qualité, de gènes, de QTL, mais de recombinaison HOMEOLOGUE. Je me suis dit, ça c'est pour moi!!!! Vu que je n'y comprend rien, ça va être intéressant et je vais apprendre plein de nouvelles choses... J'étais un peu fou! Eric m'a présenté le sujet, j'étais toujours un peu perdu, mais je me suis dit : « il a l'air sympa et passionné ». En plus Eric, c'est le prénom de mon meilleur copain, c'était sans doute un bon présage (un peu de superstition pour se rassurer)... Et effectivement, ça s'est avéré payant : j'ai obtenu ma thèse (brillamment à ce qu'il paraît), j'ai écrit de bons papiers, j'ai fait des découvertes, mon travail m'a passionné, j'ai énormément appris et progressé, enfin j'ai été irrémédiablement contaminé par le virus de la recherche (je me soigne, mais ça me paraît bien incrusté).

Commençons par le commencement, Eric... Reconnaissons que j'étais son premier doctorant, alors il m'a un peu chouchouté et toléré pas mal de mes « défauts », notamment ma manie de tout faire à la dernière minute, mon intolérance à toute forme d'autoritarisme (voire d'autorité), mon esprit de contradiction permanent (à ce qu'il paraît, c'est bien vu dans la recherche), et surtout ma sainte horreur d'avoir tort (ça aussi, ça fait partie du package chercheurs, semble-t-il)... Parmi toutes les qualités d'Eric, il y en a quelques unes que j'admire tout particulièrement... J'ai toujours adoré discuter avec Eric, car il ne considère pas que toutes tes idées fumeuses, mal formulées et mal étayées sont bonnes à jeter à la poubelle. Il va plutôt essayer de comprendre, de reformuler, et de te faire avancer pour voire si cette idée en vaut la peine. Résultats, tu te sens très intelligent et tu as l'impression d'avoir eu des supers idées alors qu'il a fait la moitié du chemin à ta place. Ensuite, c'est toujours agréable de discuter avec lui car lorsque tu apportes une idée, tu en reviens avec quatre dans ta besace. La contrepartie, c'est qu'il y a toujours des tonnes d'hypothèses à tester à l'aide de toute sorte d'analyses statistiques biscornues et inconnues et ceci jusqu'à la dernière minute. Cela génère pas mal de la frustration aussi car il est impossible d'explorer toutes les pistes de recherche durant une thèse. De ce point de vue, je crois qu'Eric m'a

généreusement transmis cette volonté de torturer mes données avec des outils statistiques suffisamment raffinés pour qu'elles nous révèlent tout ce qu'elles ont à dire !!! Par ailleurs, il a toujours été disponible et présent pour parler science et très attentif à me remonter le moral. La devise d'Eric pourrait être tendre avec les humains mais dur avec les données! Eric est aussi très DIPLOMATE lorsqu'il s'agit de ménager ton égo... Il commence toujours par les mêmes phrases lorsqu'il veut te corriger un plan, un rapport, un résumé, une présentation ou un article sur lequel tu as beaucoup travaillé : « C'est un super boulot, j'ai énormément aimé cette partie, cette idée, c'est très bien écrit MAIS je t'ai fait QUELQUES propositions d'amélioration qui ne modifient en RIEN ce que tu as dit, juste quelques changements de forme et de structure qui mettraient mieux en valeur TES IDEES ». Et là, tu reçois ton texte tout gribouillé de partout en rouge ... Le pire pour moi, ce n'était pas de recevoir toutes ces critiques car après tout cela fait partie du métier de chercheur que d'exercer son esprit critique, et de les accepter pour améliorer son travail. C'était de devoir reconnaître que c'était mieux construit et plus clair en tenant compte de toutes ses propositions de modifications!!! Pour avoir eu trop souvent raison Eric, je t'en ai beaucoup voulu! Après 4 ou 5 cycles de contre propositions et de luttes intenses pour préserver quelques unes de mes idées de la noyade définitive, me voilà à peu près satisfait... lorsque tu dois passer maintenant sous les fourches caudines d'Anne-Marie mais cela est une autre histoire... Pour finir de régler son compte à Eric, je voudrais insister sur le fait qu'il a toujours été présent et m'a accompagné tout au long de ma thèse. Il m'a notamment beaucoup aidé pour la rédaction de mes articles, de ma thèse et de mes présentations tout en veillant scrupuleusement à ne pas s'approprier mon travail, à préserver mes idées et mon style, à me faire progresser et surtout à me former alors qu'il aurait sans doute eu plus vite fait de tout réécrire. Il m'a donc consacré énormément de temps et s'est investi considérablement dans ma thèse sans me priver de la liberté nécessaire au développement de mon esprit d'investigation et de recherche ce qui, je crois, sont des qualités assez rares et précieuses. Pour toutes ces raisons, je recommande donc chaudement Eric comme directeur de thèse, c'est une crème et vous ferez une super thèse. Bon, vu que je sais qu'après tous ces compliments dithyrambiques et très mérités, Eric va se sentir mal à l'aise, je vais m'arrêter mais il y aurait beaucoup de choses encore à dire!!!

J'ai aussi énormément apprécié de travailler avec Anne-Marie. En dehors de ses qualités scientifiques, il est difficile d'être plus intègre et passionné de sciences qu'Anne Marie. Elle est toutefois loin du chercheur enfermé dans son laboratoire et préoccupé uniquement par ses questions de recherche. Elle m'a montré à quel point il était important et enrichissant pour un chercheur d'être ouvert sur la société, de dialoguer des multiples problèmes éthiques posés par nos travaux et par l'organisation du monde de la recherche, et de conserver une vue d'ensemble des recherches dans

les sciences du vivant. J'ai pris ainsi énormément de plaisir à discuter avec Anne-Marie de ces questions éthiques et scientifiques jusqu'à des heures parfois indues. Ces discussions m'ont aidé à me forger une éthique et une déontologie en matière de recherche, car comme dirait Rabelais « science sans conscience n'est que ruine de l'âme ». Cette ouverture d'esprit, ce soucis des autres et cette éthique sont bien résumés par le temps qu'Anne-Marie consacre aux jeunes chercheurs du département de Génétique et d'Amélioration des Plantes de l'INRA au travers de l'organisation des journées jeunes chercheurs, des cahiers des résumés et ses autres activités notamment de vulgarisation... Je crois que l'ensemble des doctorants peut témoigner du plaisir et de l'intérêt de ces rencontres entre jeunes chercheurs ainsi que de la reconnaissance pour tous ceux qui les organisent : Anne-Marie, Fabien Nogué Joëlle Ronfort... Malgré toutes ses occupations, Anne-Marie a toujours su garder son bureau ouvert et une grande disponibilité lors des moments importants. J'ai enfin toujours été impressionné par sa capacité en toutes circonstances et quelques soient les sujets à poser des questions pertinentes et intéressantes. Cet art du questionnement est précieux lorsqu'on est doctorant quand il s'agit de progresser dans ses réflexions scientifiques car il oblige à construire rigoureusement son raisonnement et à élargir son champs de réflexion.

Parlons maintenant d'Anne-Marie et d'Eric ensemble. Anne-Marie et Eric, c'est un peu le chat et la souris, sauf que chacun joue à tour de rôle le chat et la souris, mais t'es à peu près sûr d'être la souris lorsque t'es avec eux. En effet, vu qu'ils tombent rarement d'accord du premier coup, tu peux être sûr qu'ils ne seront jamais convaincus par ce que tu dis au premier abord. Tu as donc intérêt à avoir des arguments en béton armé, car s'il y a une faille dans ton raisonnement, tu peux être sûr qu'ils vont la débusquer. C'est donc une bonne école pour faire ses griffes scientifiques, car une fois que tu les as convaincu tous les deux, c'est généralement que tu tiens le bon bout. En plus, ils se complètent bien tous les deux. Eric est très créatif, et sait organiser et mettre en valeur les idées ainsi qu'analyser les données, Anne-Marie a l'art de la synthèse et du questionnement en mettant souvent le doigt là où ça fait mal et voit rarement une question de la même façon qu'Eric. Travailler avec eux est donc une école de la modestie et de la rigueur. Je voudrais donc les remercier chaleureusement tous les deux pour m'avoir tant donné et appris au cours de ces 4 ans mais aussi pour leur gentillesse et leurs multiples qualités humaines.

La science, ce n'est pas non plus rester tout seul dans son coin (dixit Anne-Marie), et ma thèse n'aurait pas été ce qu'elle est sans les nombreuses personnes qui ont contribué de près ou de loin à ce travail. Je voudrais donc tout d'abord très chaudement remercier Frédérique sans qui il n'y aurait pas eu d'observations cytogénétiques et cytologiques dans ma thèse et Jean-Claude sans qui mes petites plantes n'aurait pas existé ce qui aurait été bien dommage. Un grand merci aussi à Guillaume, mon premier stagiaire que j'ai exploité féroceement et tellement traumatisé qu'il a choisi

de continuer en thèse. Il a grandement contribué à la mise au point de la technique du dosage d'allèle et à mon premier article. Par ailleurs, son enthousiasme pour la recherche, sa bonne humeur, ses multiples « aventures » notamment ses pertes régulières et répétées de portables ont bien égayé son passage dans l'unité... Je voudrais aussi remercier chaleureusement Hervé pour avoir supporté avec patience mes questions de novice en statistiques, pour avoir mis au point le script informatique ainsi que la méthode statistique rigoureuse de détection des duplications au sein de mes populations. Il m'a aussi considérablement aidé dans mes analyses statistiques notamment en me faisant découvrir les joies de R et des modèles linéaires généralisés. Je voudrais aussi remercier toutes les personnes qui m'ont donné un coup de main, notamment Vanessa qui a passé, avec Raymonde, plusieurs marqueurs moléculaires récalcitrants lorsque la fin de thèse approchait à grand pas, et qui a construit de nombreuses cartes génétiques, notamment le St Graal de la carte génétique de la station regroupant presque tous les marqueurs moléculaires de la carte *Darmor-bzh x Yudal*. Je voudrais aussi remercier Régine ma dealeuse officielle de marqueurs moléculaires malgré un « cochon rose » pas très coopératif et toutes les autres personnes qui ont contribué à leur mise au point et à leur cartographie sur la population d'haploïdes doublés dérivée de la F1 *Darmor-bzh x Yudal*: Vanessa, Nicolas, Raymonde.... Sans eux mon projet de recherche n'aurait pas existé. Je crois que j'aurais contribué à ramener à la vie quelques marqueurs perdus au fin fond des tiroirs. Enfin, une partie de ma thèse aurait perdu de sa saveur sans la cytogénétique TEAM, Olivier et Virginie qui ont réalisé les hybridations in situ. Merci aussi à Antoine pour m'avoir appris, à moi et Guillaume, à utiliser les robots Hamilton et le Capillaire ABI-PRISM et fait tourner la plateforme Génopole. On oublie aussi souvent les hommes de l'ombre qui traquent les bugs et qui ont toujours eu à cœur de résoudre les problèmes des thésards. Par exemple : « Est ce qu'il ne serait pas possible d'installer R et R commander sur le serveur demain ? ». Je voudrais donc remercier Gilles pour l'absence quasi complète de problème durant ses 4 ans sur le réseau de la station, excepté celui de la mise en ligne d'un document photo confidentiel, et pour son aide. Une dernière salve de remerciements pour l'ensemble des secrétaires et plus particulièrement Asma et Martine, qui nous facilitent la vie au jour le jour et nous libèrent des tracas quotidiens et administratifs.

Une thèse c'est aussi une histoire de sous et de matériel, je remercie donc le CETIOM et son représentant Xavier Pinochet sans qui je n'aurais pas mangé pendant 3 ans. Je remercie aussi Michel Renard de m'avoir accueilli dans ce très beau laboratoire et de m'avoir permis de travailler dans un environnement technologique agréable et moderne.

Je voudrais aussi remercier les membres de mon comité de thèse qui ont contribué à la réussite de cette thèse par leurs questionnements, leurs idées et leur aide dans la rédaction des articles, notamment : Mathilde Grelon et Christine Mézard du laboratoire Méiose de versailles pour

avoir patiemment relus et corrigés mon premier article et pour leurs commentaires avisés concernant la méiose et la recombinaison, Hervé Monod pour ses précieux apports dans l'analyse de mes données, Jacques David pour ses nombreuses bonnes idées, notamment le dosage d'allèles et sa passion communicative sur les gamètes non réduits, Xavier Pinochet et Maria Manzanares pour m'avoir poussé à trouver des applications concrètes à mon travail en amélioration des plantes. Je voudrais aussi remercier tout particulièrement les rapporteurs de ma thèse, Malika Aïnouche et Denise Zickler, mais aussi les examinateurs qui ont eu la gentillesse et la patience de relire et de corriger mon manuscrit. Enfin, un grand merci à Karine pour ces remarques judicieuses sur mon premier papier.

Je ne voudrais pas oublier tous les enseignants qui ont contribué à aiguïser mon esprit et à me faire aimer les sciences. Je voudrais tout particulièrement remercier Grégoire Thomas pour son investissement et sa très grande disponibilité pour ses étudiants de DEA et les élèves de l'ENSAR, et notamment pour m'avoir offert la possibilité de partir en année de césure durant ma formation d'ingénieur, fait aimer l'amélioration des plantes, et m'avoir poussé à continuer dans la recherche lorsque j'ai douté de mon orientation professionnelle.

Comme il est bon de se sentir bien où l'on travaille, je voudrais remercier les gens qui ont contribué à ma bonne humeur et mon moral au cours de ces quatre années au sein du labo, notamment grâce aux pauses caféistes. Je voudrais donc remercier Angélique pour ses obsessions masculines et culinaires, Bathilde pour ses histoires de tunning, Cécile pour sa prévenance notamment en matière de café, Céline pour avoir repris vaillamment le flambeau de l'ATIR en amélioration des plantes, Guéna pour sa gentillesse, Julie pour sa joie de vivre et son joli accent, Martine pour son humour caustique, Mélanie pour sa touche réunionnaise, Nathalie pour ses connaissances « indochinoises », Vanessa pour sa bonne humeur et ses extorsions répétées de gâteaux à chaque anniversaire pour notre plus grand bonheur à tous, Virginie pour ses potins et ses histoires de jumeaux, Véro pour son accueil chaleureux et ses potins de première main, Steph pour son aide dans les moments difficiles durant mon DEA, Solène pour ses cours de domptage de chat enragé. Je voudrais aussi remercier les quelques rares hommes de la pause café, notamment mes deux compères Julien et Christophe N., pour leurs petites blagues et jeux de mots à ne pas mettre dans les oreilles des enfants, Guillaume pour ses aventures incroyables notamment de foot et de portables, Arnel pour nos nombreuses discussions politiques et son aide à l'ATIR, Gwenn pour ses malameks, Christophe J. pour ses histoires burlesques de marches à pied. Enfin, une mention spéciale pour les thésards et postdocs du bureau Arnel, Martine, Liu, Méli et Céline qui ont supporté stoïquement et patiemment mes multiples et longues discussions téléphoniques avec Eric... Je voudrais aussi remercier les autres personnes qui m'ont côtoyé au laboratoire et qui ont

toujours eu à cœur de rendre service ou de se préoccuper de nous qui étions de passage et plus particulièrement Marie-Thérèse (speedy MT pour les intimes), Christine pour ses chocolats, Maxime pour ses conseils statistiques, Bernard pour ses infos de concerts sur Rennes, Françoise pour son attention envers les doctorants, Anne pour m'avoir fait découvrir les joies de la leçon et son aide pour ma présentation orale...

Cette thèse n'aurait pas eu ce goût savoureux et festif sans le mouvement « Sauvons la recherche », l'ATIR et la CJC, les nombreuses rencontres, soirées débats et combats qui l'ont jalonné et accompagné notamment avec Amélie, Boris, Olivier, Samuel, Maela, Seb et tous les autres. Ils ont occupé une bonne partie de ma thèse et ont contribué à leur manière à sa réussite. Je me rappelle notamment avec émotion les rendez vous au Sablier à prévoir les actions du lendemain ou les communiqués, les soirées « Sauvons la Recherche », les manifs où nous portions des sacs poubelles avec « chercheurs jetables » marqués dessus ou les sitting allongés place du commerce !!! Une mention toute spéciale à Seb, Maela et Samuel et les autres doctorants de l'ATIR, la fameuse Association des Thésards de l'INRA de Rennes avec qui j'ai plusieurs fois refait le monde et en particulier celui de la recherche et mené de nombreuses actions.... Cette association, que je recommande chaudement à tous doctorants de l'INRA de Rennes qui se respectent, m'a ouvert l'esprit, permis de découvrir et de rencontrer des gens et chercheurs de tout horizon, et m'a beaucoup enrichi même s'il a parfois empiété « un peu » sur mes travaux de recherches au grand désespoir de mes directeurs de thèse.

Enfin, on a rarement l'occasion de témoigner un peu de reconnaissance à sa famille et ses proches pour ce qu'ils nous ont donné au cours de notre vie. Or, de ce côté là, j'ai toujours été heureusement gâté. En effet, la vie, c'est comme le ski, il faut de bon moniteur quand tu es jeune sinon tu risques d'avoir peur de prendre de la vitesse et d'y aller alors que c'est la seule manière de donner le meilleur de toi même et de vivre pleinement. Et les moniteurs de la vie, ce sont les parents, la famille et les proches. Et j'ai eu de très bon moniteur. Par ailleurs, la thèse c'est aussi une épreuve pour les proches et plus particulièrement ma famille. Je voudrais donc dédier cette thèse à ma famille et mes proches. Tout d'abord, mes parents et ma petite sœur pour m'avoir toujours soutenu dans mes choix personnels, poussé lorsque nécessaire, avoir crû en moi lorsque je doutais, m'avoir supporté dans les deux sens du terme lorsque j'étais à bout et insupportable et m'avoir toujours accordé cette bonne louche d'amour nécessaire pour avancer, avoir confiance en moi, remonter la pente quand le moral était dans les chaussettes et escalader les montagnes russes de la vie. Ensuite, mes grands parents qui ont su construire des familles où il fait bon de se retrouver et de passer du temps ensemble. Enfin mon petit Eric pour nos discussions passionnées qui ont forgé mon art de la rhétorique, Cyrillou, Sergio et Yvan... qui sont avec Roland et Michelle un peu

REMERCIEMENTS

ma seconde famille et puis tous les autres Flo, Lili, Caro, Audrey, Vincent, Séréna, Seb, Maela, Christophe, Samuel, Johanna, Thomas, Cyril, Steph qui m'ont soutenu durant cette thèse.

Enfin, une pensée toute spéciale à ma petite méli qui a éclairé la fin de ma thèse comme un phare pour un bateau en perdition dans la nuit. Sans elle, je crois que je ne serais jamais arrivé à bon port. Elle a supporté avec douceur mes angoisses, mes dépressions multiples et m'a soutenu constamment par son amour, sa tendresse, sa confiance et ses petits plats tout en supportant ma vie monacale les derniers mois sans jamais regimber.

Bonne lecture!

LISTE DES ABREVIATIONS UTILISEES

ADN = Acide DesoxyriboNucléique

AF = Autofécondation

APH = Allèle du Parent Haploïde. Désigne le produit d'amplification PCR par des amorces spécifiques du génome de la variété du parent haploïde dans les descendants d'un croisement haploïde x euploïde.

BAC = Bacterial Artificial Chromosome

CO = Crossing-Over

CS = Complexe synaptonémal

ddl = degrés de libertés

DSBR = "Double Strand Break Repair" = Désigne un des mécanismes de réparation des cassures doubles brins qui conduit à l'échange de chromatides.

EN = Early Nodulation = nodule précoce de recombinaison

F = Statistique de test de Fisher

FDR = First Division Restitution = absence de première division de méiose

FISH = Fluorescent In Situ Hybridisation

FLC = *Flowering Locus C* = locus contrôlant la précocité de floraison

GISH = Genomic In Situ Hybridisation = Hybridation in Situ d'un génome sur un autre

GL = Groupe de Liaison

IMR = Indeterminate Meiotic Restitution

LN = Late Nodulation = Nodule tardif de recombinaison = structure multi-protéique marquant les crossing-over observable en microscopie électronique

MI = Métaphase I de division de méiose

M-SAP = Methylation-Sensitive Amplified Polymorphism = M

NCO = non crossing-over = Conversion génique simple

NHEJ = "Non Homologous End Joining" appelé aussi recombinaison illégitime. Désigne un mécanisme de réparation des cassures doubles brins qui va recoller directement les chromosomes cassés sans faire intervenir de séquence homologue

PH = Parent Haploïde

Ph1 = *Pairing homeologous 1* = locus contrôlant l'appariement homéologue chez le blé

PrBn = *Pairing regulator in Brassica napus*

QTL = Quantitative Trait Locus

RFLP = Random Fragment Length Polymorphism = Marqueurs moléculaires basé sur le polymorphisme de site de restriction

=

SCE = Somme de Carrés des Ecart

SDR = Second Division Restitution = absence de seconde division de méiose

SDSA = « Synthesis Dependant Strand Annealing » = une des voies de réparations des cassures doubles brins

SSA = « Single Strand Annealing » = une des voies de réparations des cassures doubles brins

SSD = « Single Seed Descent » = Descendance simple graine

TNR = Translocation Non Réciproque: Désigne les réarrangements chromosomiques résultant de l'échange non réciproque d'une région entre deux chromosomes. Ce type de réarrangements change le contenu génétique puisqu'il conduit à la délétion et à la duplication d'une région chromosomique

TR = Translocation Réciproque: Désigne les réarrangements chromosomiques résultant de l'échange réciproque entre deux chromosomes. Ce type de réarrangements ne change pas le contenu génétique mais l'ordre des gènes le long du génome

SOMMAIRE

SOMMAIRE

INTRODUCTION GENERALE	1
I SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE	5
I.1 Dynamiques des génomes	5
I.1.1 De nombreux réarrangements structuraux sont présents au sein des espèces et induisent des variations phénotypiques	6
I.1.2 Des réarrangements à différentes échelles et plus ou moins étendues.....	6
I.1.3 Rôle des remaniements chromosomiques, géniques et intergéniques	9
I.1.4 La vitesse des remaniements varie au cours du temps et selon les familles	12
I.2 La polyploïdie, une force promotrice des réarrangements.....	16
I.2.1 Définitions.....	16
I.2.2 Prévalence et fréquence de la polyploidie chez les plantes et autres phylums	17
I.2.3 Différents modes de formation des allopolyploïdes	18
I.2.4 Des origines multiples.....	20
I.2.5 L'hybridation interspécifique, un carrefour évolutif.....	21
I.2.6 Un génome qui bouge rapidement ?	22
I.3 La recombinaison méiotique, un mécanisme important dans la réorganisation des génomes	30
I.3.1 Méiose et recombinaison méiotique chez un diploïde	31
I.3.2 Recombinaison chez les allopolyploïdes et les hybrides interspécifiques.....	44
I.4 Le colza, un nouveau modèle pour étudier le contrôle des échanges intergénomiques.....	53
I.4.1 Une espèce cultivée d'un intérêt agronomique majeur en expansion.....	53
I.4.2 Un « jeune » allotétraploïde de la famille des <i>Brassica</i>	55
I.4.3 Des remaniements structuraux générés par des recombinaisons intergénomiques chez des colzas synthétiques	58
I.4.4 Un allopolyploïde en cours de stabilisation	59
I.4.5 Un contrôle génétique quantitatif de l'appariement homéologue chez les haploïdes....	60
I.5 Objectifs et Stratégie	62
I.5.1 Objectifs et problématiques de recherche	62
I.5.2 Stratégie	63
I.5.3 Présentation de l'étude	65
II NATURE ET TRANSMISSION DES REARRANGEMENTS GÉNÉRÉS DURANT LA MEIOSE DES HAPLOÏDES	66
II.1 Nature des gamètes viables produits par les haploïdes de colza.....	67
II.1.1 La majorité des descendants d'haploïdes dérive de gamètes à 19 chromosomes	67
II.1.2 Les gamètes à 19 chromosomes s'apparentent à des gamètes de type FDR	69
II.1.3 Quels sont les mécanismes de formation des gamètes de type FDR chez les haploïdes de colza?	69
II.2 Ces gamètes transmettent-ils des produits des crossing-overs ?.....	71
II.2.1 Quelle est la part des réarrangements structuraux dérivant d'un événement de recombinaison homéologue?	72
II.2.2 Existe-t-il de la recombinaison para(homéo)logue chez le colza ?.....	81
II.2.3 Conclusion	84
II.3 Existe-t-il une sélection « purificatrice » contre les produits des crossing-overs chez les haploïdes?.....	85
II.3.1 Analyse des fertilités mâle et femelle	85
II.3.2 Quelle est la stringence de la sélection gamétique à l'encontre des produits des crossing-over?.....	
II.4 Conclusion	93

III	CONTROLE GENETIQUE ET STRUCTURAL DE LA FREQUENCE DES REMANIEMENTS CHROMOSOMIQUES PRODUITS AU COURS DE LA MEIOSE DES HAPLOÏDES DE COLZA	95
III.1	Modélisation de la variation de la fréquence de remaniement.....	95
III.1.1	Analyse descriptive et organisation des données.....	95
III.1.2	Modèles mixtes généralisés hiérarchisés	99
III.1.3	Résultats des modèles linéaires mixtes et généralisés	106
III.2	Effet du génotype sur la fréquence de remaniement chromosomique	108
III.2.1	Nombre de remaniements sur l'ensemble des deux populations	108
III.2.2	Nombre de remaniements par individu.....	109
III.2.3	Nature et taille des remaniements	110
III.2.4	Conclusion	111
III.3	Effet du génome A ou C sur la fréquence de remaniement chromosomique	112
III.3.1	Analyse globale de la fréquence de régions non transmises.....	112
III.3.2	Analyse comparée avec la fréquence des régions dupliquées.....	113
III.3.3	Analyse qualitative des remaniements.....	113
III.3.4	Interaction avec le génotype	114
III.3.5	Conclusion	114
III.4	Des variations importantes selon les groupes de liaison.....	114
III.4.1	Analyse des variations quantitative et qualitative des remaniements entre les groupes de liaison	115
III.4.2	Influence de la colinéarité entre les chromosomes	119
III.4.3	Influence de la morphologie des chromosomes.....	121
III.5	Variations de la fréquence de remaniement au sein des groupes de liaison : effet locus et intervalle.....	124
III.5.1	La plupart des réarrangements ont lieu en position distale.....	124
III.5.2	Effet des translocations non-réciproques pré-existantes dans la chute des fréquences de non-transmission.....	127
III.5.3	Effet des variations structurales sur les réarrangements.....	128
III.6	La structure haploïde induit la recombinaison homéologue.....	130
III.6.1	Détection d'événements de recombinaison homéologue générés durant la méiose du parent euploïde dans les croisements haploïdes x euploïde.....	130
III.6.2	Comparaison de la fréquence de recombinaison homéologue entre haploïde et euploïde	131
III.7	Comparaison des fréquences de recombinaison homologue et homéologue.....	133
III.8	Conclusion	135
IV	RELATION ENTRE FERTILITE, TRANSLOCATIONS NON-RECIPROQUES ET COMPORTEMENT MEIOTIQUE.....	137
IV.1	Relation entre translocations non-réciproques et stabilité du comportement méiotique ..	137
IV.2	Les translocations non-réciproques affectent relativement peu la fertilité	139
IV.3	Conclusion	142
V	DISCUSSION GENERALE.....	144
V.1	Recombinaison et remaniements chromosomiques chez les haploïdes de colza.....	144
V.1.1	Différents types de gamètes non-réduits pour différentes conséquences génétiques ..	145
V.1.2	Peu de sélection à l'encontre des remaniements produits au cours de la méiose chez les haploïdes	146
V.1.3	Les remaniements observés chez les descendants d'haploïdes dérivent-ils tous de crossing-overs entre des régions dupliquées ?.....	151
V.1.4	Divergence des génomes, compétition et crossing-overs	157

V.1.5 Les facteurs « structuraux » faisant varier la fréquence de recombinaison chez les haploïdes	160
V.2 <i>PrBn</i> et la recombinaison, une relation complexe	164
V.2.1 Contrôle génétique de la fréquence de recombinaison chez les haploïdes	164
V.2.2 Mode d'action de <i>PrBn</i>	165
V.2.3 Architecture du contrôle génétique de la recombinaison chez les haploïdes de colza	168
V.3 Enseignements tirés sur l'évolution possible des génomes du colza et des polyploïdes en général	170
V.3.1 Gamètes non-réduits, formation et évolution des neopolyploïdes.....	170
V.3.2 Les gamètes non-réduits d'haploïdes, une source récurrente de remaniements ?	172
V.3.3 Variation structurale au sein des polyploïdes et variation phénotypique induite	174
V.4 Enseignements tirés pour l'amélioration des plantes.....	175
VI PERSPECTIVES.....	177
VI.1 Recombinaison et remaniements	177
VI.1.1 Contrôle génétique de la recombinaison homéologue	177
VI.1.2 Recombinaison paralogue.....	179
VI.2 Asymétrie des échanges entre les génomes A et C.....	180
VI.3 Rôle des plantes haploïdes dans l'évolution des génomes polyploïdes.....	181
VI.4 Rôle des gamètes non-réduits dans la formation des polyploïdes	183
VI.5 Utilisation des haploïdes en amélioration des plantes: des croisements haploïdes x euploïdes pour générer du polymorphisme structural.....	184
CONCLUSION GENERALES	187
RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES	189
LISTE DES FIGURES	204
LISTE DES TABLEAUX.....	209
ANNEXES	211

INTRODUCTION GENERALE

INTRODUCTION GENERALE

Les premiers pas de l'Homme dans l'agriculture ont été guidés par le choix de plantes dans la nature répondant le mieux à ses besoins. L'Homme s'est ensuite attaché à sélectionner, parmi les plantes qu'il avait semées, celles présentant les caractères les plus avantageux, tels que le nombre, la taille ou la qualité des fruits, des graines ou des organes qu'il utilise ou consomme. Au cours de cette domestication puis de cette sélection, les premiers agriculteurs ont donc exercé une très forte pression de sélection sur un certain nombre de caractères d'intérêt agronomique et sur un nombre restreint de plantes résultant de l'échantillonnage initial. Son action a contribué à éroder considérablement la diversité génétique des espèces cultivées comparée à celle des espèces sauvages.

Cette érosion de la diversité génétique pose un problème majeur en sélection végétale puisque l'amélioration d'un caractère d'intérêt dépend étroitement de la variabilité génétique disponible pour celui-ci. Sans diversité, il n'y a pas de progrès génétique possible.

Afin de remédier à cette perte de diversité intraspécifique au sein des espèces cultivées, le sélectionneur dispose de plusieurs sources de variabilité qui sont, par ordre croissant de difficulté d'utilisation (De Wet et Harlan, 1975):

1. **La variabilité intraspécifique** à l'intérieur du pool génique primaire de l'espèce (pas de barrière reproductive). Elle regroupe l'ensemble de la variabilité allélique (polymorphisme de séquence) et structurale (nombre de copies des gènes) disponible au sein des individus sauvages de l'espèce considérée, qui sont donc susceptibles de donner naissance, après croisement avec les variétés élites, à une descendance viable et fertile. Toutefois, dans de nombreuses espèces, notamment le colza, il n'existe pas de forme sauvage de l'espèce cultivée.
2. **La variabilité interspécifique** à l'intérieur des pools géniques secondaires et tertiaires des espèces cultivées (barrières reproductives fortes). Elle est constituée de l'ensemble des espèces apparentées susceptibles de se croiser plus ou moins facilement avec l'espèce cultivée à améliorer et de donner, naturellement (pool secondaire) ou artificiellement (sauvetage d'embryon), une descendance plus ou moins nombreuse d'individus viables et au moins en partie fertiles.
3. **La variabilité trans-spécifique** (barrières reproductives totales), constituée de l'ensemble des gènes disponibles dans le monde vivant qui ne peuvent être introduits que par transgénèse. Cette dernière voie rencontre une très forte opposition sociétale en Europe.

Exploiter la variabilité interspécifique, c'est-à-dire améliorer un caractère d'intérêt agronomique (résistances aux maladies, qualité de la graine etc.) d'une espèce cultivée à partir d'une espèce apparentée, consiste à introgresser, dans le génome de l'espèce cultivée, uniquement la partie du génome de l'espèce apparentée permettant d'améliorer ce caractère. L'amélioration du caractère dépend alors essentiellement de la capacité des deux génomes à échanger du matériel génétique de façon viable, ciblée et stable.

On peut aussi induire de la diversité au sein de l'espèce cultivée par mutagenèse (chimique ou par rayonnements) ou en favorisant la réalisation de réarrangements structuraux. De récentes études ont en effet montré que la variabilité phénotypique existante au sein des espèces ne résulte pas exclusivement d'un polymorphisme de séquence (allélique) comme on a longtemps pensé, mais peut aussi être induite par des variations structurales du génome. Le souhait du sélectionneur serait donc d'induire un très grand nombre de mutations ponctuelles ou structurales, d'en évaluer les effets et de sélectionner celles qui permettent d'améliorer les caractères auxquels il s'intéresse. La présence de plusieurs génomes au sein des espèces allopolyploïdes permet d'envisager de générer des réarrangements structuraux en favorisant les échanges génétiques entre les régions apparentées appartenant aux différents génomes, qui dérivent d'une même région ancestrale (homéologue) mais qui ont pu acquérir des caractéristiques génétiques ou génomiques propres (Osborn *et al.*, 2003; Pires *et al.*, 2004c; Zhao *et al.*, 2006).

La compréhension des phénomènes biologiques à la base du contrôle des échanges génétiques entre les différents génomes constitue donc un enjeu majeur pour l'amélioration des plantes. Or, la recombinaison méiotique est la principale voie dans les échanges génétiques entre des génomes apparentés, permettant à la fois d'introgresser du matériel génétique, de réduire la taille des introgressions et de générer du polymorphisme structural au sein des espèces allopolyploïdes. Exploiter de façon plus efficace et rationnelle les espèces apparentées et/ou le polymorphisme structural au sein des allopolyploïdes dans les programmes d'amélioration des plantes implique donc de comprendre quels sont les facteurs contrôlant la recombinaison méiotique entre des génomes différenciés (homéologues) et d'évaluer dans quelle mesure le sélectionneur peut agir sur ces facteurs en fonction de ses besoins.

Le colza (*Brassica napus*, $2n=38$, génome AACCC) constitue un bon modèle pour étudier les mécanismes moléculaires à la base des échanges intergénomiques. Cette espèce allotétraploïde est issue de l'hybridation interspécifique entre le chou (*Brassica oleracea* ; $2n=18$; génome CC) et la navette (*Brassica rapa* ; $2n=20$, génome AA). Ces deux génomes présentent une grande proximité génétique, mais ne recombinent pas (ou peu) au cours de la méiose des formes euploïdes ($2n=38$) de colza. En revanche, Renard et Dosba (1980), puis Attia et Röbbelen (1986) ont observé des

bivalents dans les cellules mères du pollen (CMP) de plantes haploïdes en métaphase I (MI) de méiose, dont le nombre varie en fonction de la variété observée. Plus récemment, Jenczewski *et al.* (2003) ont démontré que cette variation est sous le contrôle d'un gène majeur (*PrBn*) ségrégeant dans un fond polygénique. Ensuite, Liu *et al.* (2006) ont localisé ce gène et décrit l'architecture génétique de cette variation. Enfin différentes études montrent que les haploïdes donnent une descendance fertile lorsqu'ils sont croisés par des colzas euploïdes.

Mon travail de thèse a donc porté sur l'analyse des facteurs génétiques et structuraux qui influencent la fréquence et la distribution des réarrangements chromosomiques produits par des crossing-overs entre des régions apparentées (homéologues) au cours de la méiose des haploïdes de colza, afin d'évaluer dans quelle mesure ces remaniements pourraient être exploités en amélioration des plantes et plus largement participer à la dynamique de l'espèce.

Le premier chapitre de la thèse présentera l'état des connaissances (i) sur la dynamique des génomes, avec une attention particulière sur les remaniements chromosomiques ; (ii) sur la polyploidie en tant que force promotrice de la réorganisation des génomes et d'évolution des espèces ; (iii) sur les principaux mécanismes de la recombinaison méiotique et sur les facteurs qui la limitent entre des génomes apparentées au sein des allopolyploïdes ; (iv) sur mon modèle d'étude, le colza, et la stratégie adoptée pour analyser les facteurs génétiques et structuraux contrôlant la fréquence de recombinaison chez les haploïdes de colza.

Le second chapitre présentera les résultats obtenus sur la nature et la transmission des remaniements chromosomiques observés dans la descendance de deux variétés haploïdes contrastées pour leur comportement méiotique en métaphase I (*Darmor-bzh* vs *Yudal*).

Dans le troisième chapitre, j'exposerai les résultats obtenus en ce qui concerne les facteurs génétiques et structuraux influençant la fréquence des remaniements structuraux le long du génome du colza.

Dans le quatrième chapitre, j'analyserai en quoi les remaniements générés durant la méiose des haploïdes affectent la fertilité et le comportement méiotique.

Enfin dans les cinquième et sixième chapitres, je discuterai mes résultats et je les mettrai en perspective, en m'attachant dans un premier temps à préciser comment la fréquence d'appariement est contrôlée au sein des haploïdes de colza, et notamment quelle est l'influence respective de la compétition des chromosomes, de la divergence des génomes et des gènes. Dans un second temps, je replacerai mes résultats dans une optique évolutive, en examinant, compte tenu des résultats obtenus, quelle pourrait être l'influence (i) des remaniements structuraux sur les variations phénotypiques ; (ii) des haploïdes sur l'évolution structurale des génomes polyploïdes ; et (iii) des gamètes non-réduits dans la formation des allopolyploïdes. Enfin, dans un troisième temps, je

présenterai en quoi mes résultats permettent d'envisager l'utilisation des croisement haploïde x euploïde en amélioration des plantes, pour générer une nouvelle variabilité génétique et phénotypique fondées sur le polymorphisme non pas allélique mais structural.

CHAPITRE I

SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

I SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE

Cette revue bibliographique a pour objectif de décrire brièvement l'état des connaissances concernant les réarrangements génomiques et leurs rôles dans la spéciation et l'adaptation des espèces. Tout d'abord, je montrerai que toutes les espèces eucaryotes portent les stigmates de nombreux remaniements mais que la vitesse, la nature et le type de ces réarrangements varient selon les familles, les genres et les clades. Ensuite, j'étudierai en quoi la polyploïdie favorise les remaniements génomiques. Puis, je montrerai que la recombinaison homéologue est un mécanisme important dans les réarrangements chromosomiques au niveau des espèces polyploïdes et qu'elle est régulée génétiquement. Enfin, je décrirai en quoi le colza, un allotétraploïde entre le chou et la navette, est un modèle intéressant pour étudier le contrôle des remaniements génomiques.

I.1 DYNAMIQUES DES GENOMES

Le génome nucléaire est extrêmement variable. Cette diversité concerne le nombre de chromosomes, leur taille, leur morphologie ainsi que leur structure (ordre et contenu en gènes) et peut être importante, même entre des espèces apparentées. Pour autant, les remaniements chromosomiques ont longtemps été négligés et les seules mutations considérées par la théorie synthétique de l'évolution étaient celles concernant le brin d'ADN. Des études récentes ont commencé à décrire plus en détail l'étendue, la fréquence et les mécanismes à l'origine des différents types de changements du caryotype ou de la structure des chromosomes. Elles permettent de les replacer comme un moteur essentiel de l'évolution des génomes eucaryotes, permettant à la fois de brasser les allèles du pool génétique des espèces et de contribuer plus largement au processus de diversification.

Dans cette partie, je distinguerai les remaniements génomiques (duplication du génome, perte ou duplication de chromosome entier), chromosomiques (translocations et inversions détectées par la cartographie comparée), géniques (délétion ou perte locale de gènes, détectées par des comparaisons de séquence), et intergéniques (modification de la taille des génomes, détectable par la cartographie comparée et le séquençage des génomes). Tandis que les remaniements chromosomiques et géniques affectent directement l'ordre et le contenu en gènes entre les génomes (synténie), à l'échelle du génome (macroréarrangements), et à l'échelle de la séquence (microréarrangements), les remaniements intergéniques et génomiques modifient l'architecture du génome et affectent la taille des génomes.

I.1.1 De nombreux réarrangements structuraux sont présents au sein des espèces et induisent des variations phénotypiques

Pendant longtemps a prévalu l'idée que seules les mutations géniques étaient responsables de l'évolution et des variations morphologiques des organismes, et qu'excepté quelques changements caryotypiques et quelques remaniements chromosomiques ponctuels, le génome des espèces étaient relativement statique et constant. Avec l'avènement du marquage moléculaire et surtout du séquençage, cette représentation a progressivement cédé la place à une vision dynamique des génomes, où à la fois la séquence des gènes et la structure des génomes sont variables et en perpétuelle évolution au sein de chaque espèce, ces deux types de polymorphisme participant conjointement aux variations morphologiques. En effet, de récentes études ont montré d'une part que les variations structurales (nombre de copies de gènes/ordre des gènes) étaient considérables au sein d'une même espèce, et d'autre part que ce polymorphisme structural pouvait induire des variations phénotypiques importantes.

Ainsi, plus de 1447 régions, représentant près de 16% du génome et contenant des centaines de gènes, sont en nombre de copies variables sans pour autant causer de maladie chez l'Homme (Feuk *et al.*, 2006; Freeman *et al.*, 2006; Redon *et al.*, 2006). De même, il a été montré que près d'un tiers des gènes n'étaient pas communs pour une région homologue de 1,2 Mb entre deux variétés de maïs (Brunner *et al.*, 2005; Fu et Dooner, 2002). Enfin, la multiplication des cartes génétiques a révélé la présence de remaniements chromosomiques au sein des génomes de certaines espèces, notamment chez le colza (Lombard et Delourme, 2001; Osborn *et al.*, 2003; Piquemal *et al.*, 2005; Udall *et al.*, 2005), le blé (Friebe *et al.*, 1996; Friebe *et al.*, 2005) ou le pois (Ellis *et al.*, 1992; Samatadze *et al.*, 2005). L'ensemble de ces résultats indique que le polymorphisme structural (nombre de copie des gènes/ordre des gènes) au sein du génome des espèces semble la règle plutôt que l'exception.

Ainsi, la plasticité structurale du génome au sein des espèces apparaît beaucoup plus forte qu'attendu initialement.

I.1.2 Des réarrangements à différentes échelles et plus ou moins étendues

Les observations cytogénétiques ont permis très tôt de mettre en évidence la présence de remaniements chromosomiques au sein des génomes, notamment des inversions (*e.g* inversion de l'ordre des gènes au sein d'un chromosome) (Sturvetant, 1917), et des translocations (*e.g*

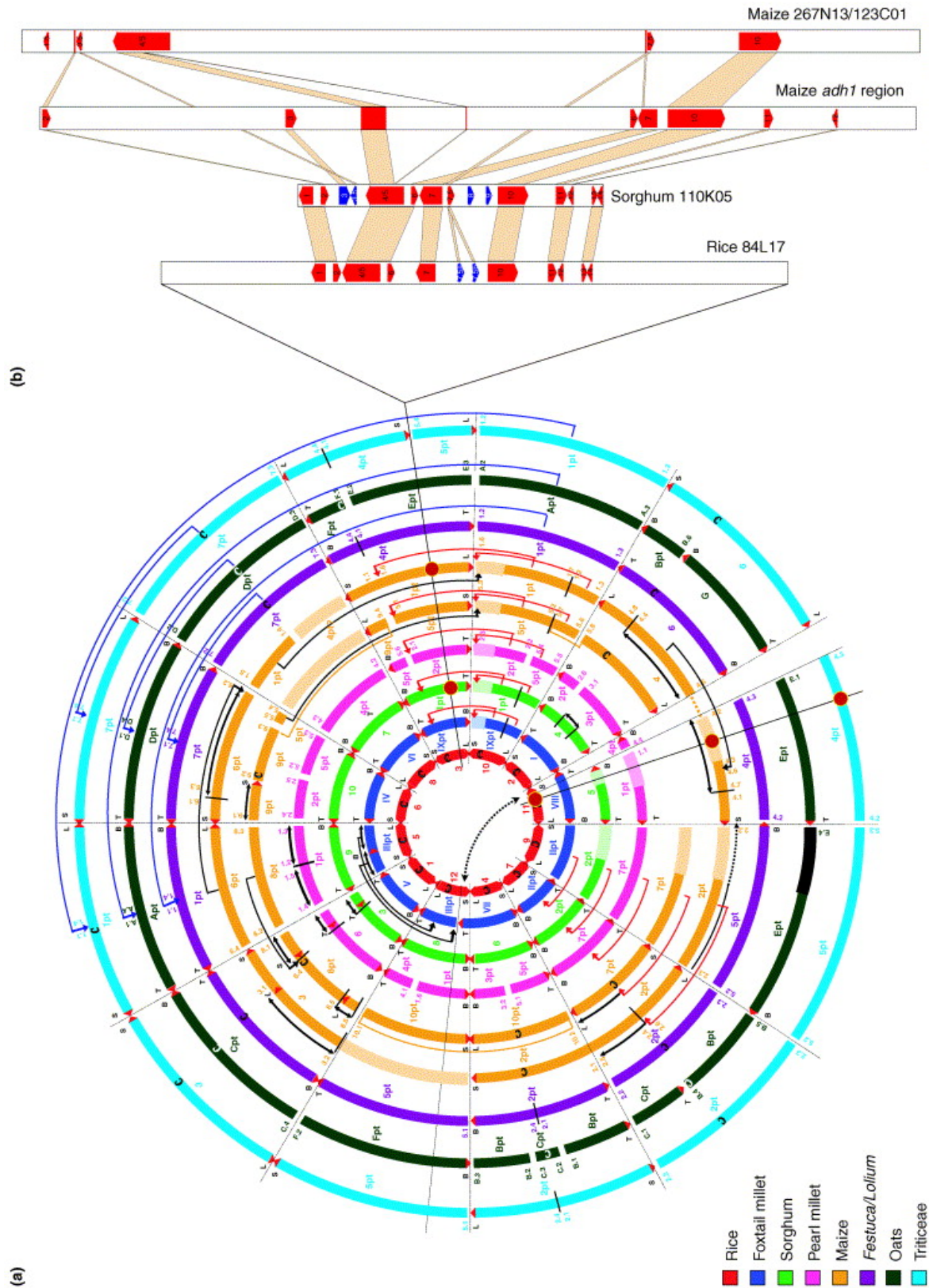


Figure 1 :Représentation schématique des relations de synténie au sein des céréales. Conservation de la macrosynténie (a) et de la microsyténie (b) chez les céréales. (a) Au centre le chromosome du riz et à l’extérieur celui des triticeées. Les triangles rouges représentent les télomères, la lettre « C » les centromères. Les flèches indiquent les réarrangements qui ont eu lieu par rapport au riz. (b) conservation du contenu en gène entre les régions orthologues *Adh* du riz, du sorgho, et de deux variétés de maïs. Les gènes sont représentés par des flèches rouges et bleues. Les blocs représentent des fragments de gènes. Les gènes communs sont connectés par des barres roses (Devos, 2005)

changement de position des gènes dans le génome) (Dobzhansky, 1930), mises en évidence au début du siècle. Toutefois, la génomique comparative, c'est-à-dire l'analyse de la conservation de l'organisation des génomes entre les espèces, n'a pris son essor qu'avec le marquage moléculaire et le séquençage des génomes.

1.1.2.1 Remaniements chromosomiques et évolution caryotypique entre les espèces

L'utilisation de marqueurs moléculaires ancrés dans les gènes (sondes RFLP) et communs aux différences espèces a permis d'aligner les cartes génétiques, et ainsi de comparer dans quelle mesure l'ordre et le contenu en gènes (colinéarité) étaient conservés entre différentes espèces. Ces études de cartographie comparée ont ainsi montré ainsi que, de façon surprenante, l'ordre et le répertoire des gènes était globalement conservé sur de larges portions du génome, entre différentes espèces végétales apparentées (Bonierbale *et al.*, 1988; Tanksley *et al.*, 1988). Ainsi, par exemple, les génomes de différentes céréales peuvent être alignés en prenant comme référence le riz, en dépit du fait que les espèces aient divergé depuis plusieurs millions d'années (Moore *et al.* 1995; Devos, 2005) (Figure 1). La comparaison des cartes génétiques a permis en outre de montrer que cette colinéarité était plus ou moins fréquemment interrompue, révélant ainsi que différents remaniements chromosomiques avaient pris place au cours de la divergence de ces espèces. L'ensemble de ces résultats a conduit Devos et Gale (2000) à proposer que les génomes sont composés de "blocs élémentaires" qui sont remaniés et réorganisés au cours de l'évolution (« Théorie du légo »). Ainsi, chez les céréales, 30 blocs élémentaires permettent de « reconstituer » les différents génomes (Devos, 2005; Devos et Gale, 2000). De la même façon, Schranz *et al.* (2006a), proposent d'utiliser 24 blocs pour reconstituer les différentes espèces de la famille des crucifères.

Les régions centromériques et les télomériques semblent être des "points chauds" de remaniements chromosomiques. En effet, les analyses de génomique comparative au sein d'*A. thaliana* montrent que 85% des 52 points de cassure détectés entre les différentes espèces concernent soit une région centromérique soit une région télomérique. De même, les études de cartographie comparée montrent, au sein de plusieurs familles, que les ruptures de la colinéarité coïncidaient souvent avec les régions télomériques et/ou centromériques (Devos et Gale, 2000; Kawabe *et al.*, 2006; Parkin *et al.*, 2003).

Différents types de remaniements chromosomiques se produisent au cours de l'évolution structurale des génomes. Afin de reconstituer l'évolution structurale d'*Arabidopsis thaliana* à partir du génome ancêtre, Lysak *et al.* (2006) ont utilisé des BAC physiquement ancrés chez *A. thaliana*

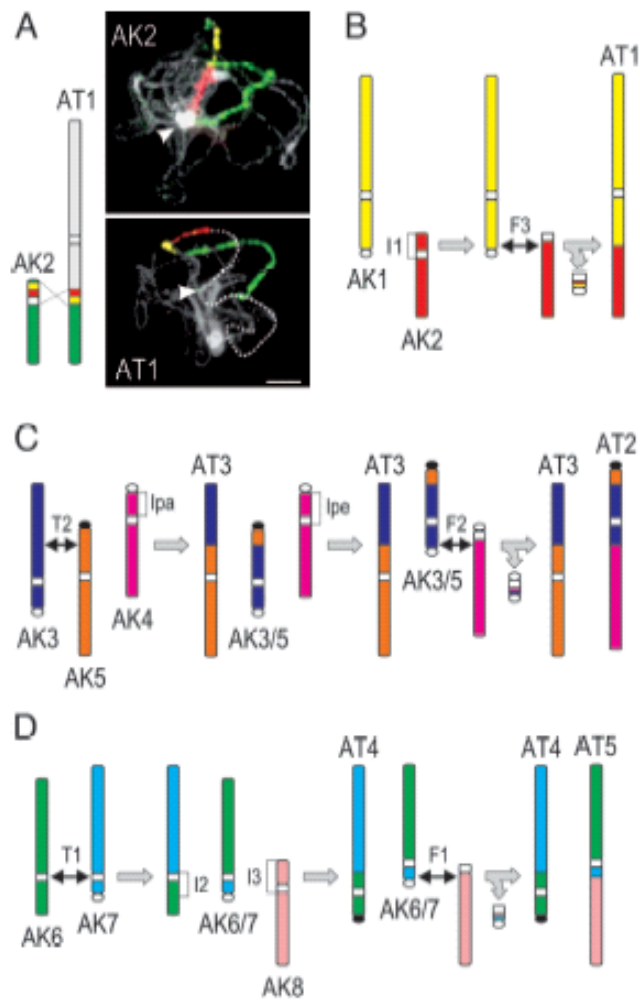


Figure 2 : Reconstitution de l'évolution structurale du génome des Arabidopsis à partir de l'hybridation in situ de BAC physiquement ancré dans le génome d'Arabidopsis. Chaque couleur représente un chromosome d'Arabidopsis. On peut voir que le nombre de chromosomes chez *Arabidopsis thaliana* a été réduit par rapport à *A. lyrata* une succession de différents remaniements chromosomiques, c'est à dire translocation, inversion, et élimination des minichromosomes générés par les échanges non-réciproques. D'après Lysak et al., (2006)

pour colorer, par hybridation *in situ*, les chromosomes des différentes espèces apparentées. Ces auteurs ont ainsi pu montrer que la réduction du nombre de chromosomes de 8 à 5 depuis la divergence avec *A. Lyrata* résultait de la succession des réarrangements suivants (Figure 2): des chromosomes acrocentriques ont été générés par des inversions péricentriques, puis des translocations réciproques entre ces chromosomes acrocentriques et/ou métacentriques ont formé de nouveaux chromosomes métacentriques et des minichromosomes, ces derniers étant ensuite éliminés. De la même façon, l'utilisation de BAC physiquement ancrés chez l'Homme et la souris a permis de reconstituer l'évolution structurale du génome chez les vertébrés (Murphy *et al.*, 2005; Wienberg, 2004).

1.1.2.2 Remaniements géniques et intergéniques entre les espèces

La comparaison des séquences des régions colinéaires entre les génomes des espèces apparentées a permis de montrer que le contenu en gènes de ces blocs colinéaires variait d'une espèce à l'autre, indiquant que différents types de remaniements géniques (délétions, insertions, inversions, duplications) s'étaient produits au cours de la divergence de ces espèces (Bennetzen, 2000; Bennetzen et Ma, 2003; Devos, 2005; Feuillet et Keller, 2002) Ainsi, tandis que pour certaines régions, l'ordre et le contenu en gènes sont très conservés (Chen *et al.*, 1997), ce n'est que très partiellement le cas pour d'autres (Ma *et al.*, 2005; Tikhonov *et al.*, 1999). Par conséquent, le degré de conservation de l'organisation des chromosomes, révélé par la cytogénétique moléculaire ou la cartographie comparée (macrosynténie), ne permet pas de prédire le degré de conservation de l'ordre et du contenu en gènes (microsynténie) au niveau de la séquence.

Ces études ont en outre montré que la taille physique de ces régions colinéaires pouvait varier de façon considérable (Figure 1), sans que le contenu ou l'ordre des gènes soient affectés, indiquant que, tandis que l'ordre des gènes est globalement conservé, les régions intergéniques sont très profondément remaniées et modifiées au cours de l'évolution. L'analyse plus précise de la composition de ces régions intergéniques montre que ces changements de taille résultent principalement de la variation des quantités de rétrotransposons (Bennetzen *et al.*, 2005, SanMiguel *et al.*, 1996). Plus largement, la très forte variation des tailles des génomes au sein des céréales indiquent d'une part que ces remaniements intergéniques affectent l'ensemble du génome et peuvent modifier en profondeur son architecture, d'autre part que la vitesse des remaniements au sein des régions intergéniques semblent beaucoup plus importante que celle des remaniements chromosomiques et géniques.

Paradoxalement, compte tenu des variations structurales existantes au sein des espèces, on aurait pu s'attendre à ce que la réorganisation des génomes soit extrêmement importante entre les

génomés apparentées. Or, bien que de nombreux remaniements puissent être observés, tant au niveau de la séquence que des chromosomes, l'organisation des génomes est fortement conservée au cours de l'évolution. Ces résultats suggèrent que, tandis que certaines régions/gènes peuvent évoluer rapidement, d'autres régions/gènes ont au contraire un potentiel d'évolution structural faible.

I.1.3 Rôle des remaniements chromosomiques, géniques et intergéniques

Les remaniements chromosomiques, géniques et intergéniques, en modifiant l'architecture du génome, l'organisation des chromosomes, l'environnement des gènes et la balance entre les gènes pourraient (i) changer leur capacité à s'apparier et à échanger du matériel génétique de façon viable, contribuant ainsi à la spéciation ; et (ii) participer aux variations phénotypiques des organismes, contribuant ainsi à leur adaptation

I.1.3.1 Rôle des remaniements dans la spéciation

L'analyse des génomes montre que les remaniements chromosomiques et géniques sont intimement liés à la spéciation. En effet, la réduction de la fertilité chez des hybrides interspécifiques montre sans ambiguïté que ces différents remaniements contribuent à l'isolation reproductrice des espèces, en limitant fortement les échanges génétiques entre ces espèces. Toutefois, tandis que la contribution des remaniements géniques à la spéciation est largement acceptée, celle des remaniements chromosomiques est fortement contestée.

En effet, le rôle des remaniements chromosomiques dans la spéciation fait encore l'objet de nombreux débats, notamment pour déterminer s'ils sont une cause (Levin, 2002; Patterson et Givnish, 2004; Rieseberg, 2001; White, 1978), ou une conséquence de la spéciation (Coyne et Orr, 1998). La théorie classique est que ces remaniements réduisent fortement la fertilité et la fitness des plantes à l'état hétérozygote, contribuant ainsi à leur isolement reproductif (Barton et Bengtsson, 1986; King, 1993; White, 1978). Cette hypothèse est fortement contestée notamment du fait que (i) de nombreux remaniements n'affectent ni la fertilité ni la fitness des plantes (Coyne *et al.*, 1993; Sites et Moritz, 1987) ; (ii) la fixation des remaniements à l'état hétérozygote, pose des difficultés théoriques, excepté lorsque la population est réduite (Lande, 1985; Walsh, 1982) ; et (iii) plusieurs auteurs proposent que les barrières écologiques et reproductives se mettent en place avant la formation des remaniements chromosomiques (Schemske, 2000; Schluter, 2001). Plusieurs solutions ont été proposées pour améliorer le modèle de spéciation chromosomique (Rieseberg, 2001): (i) les modèles en cascade, où l'isolation reproductrice résulte de l'accumulation de

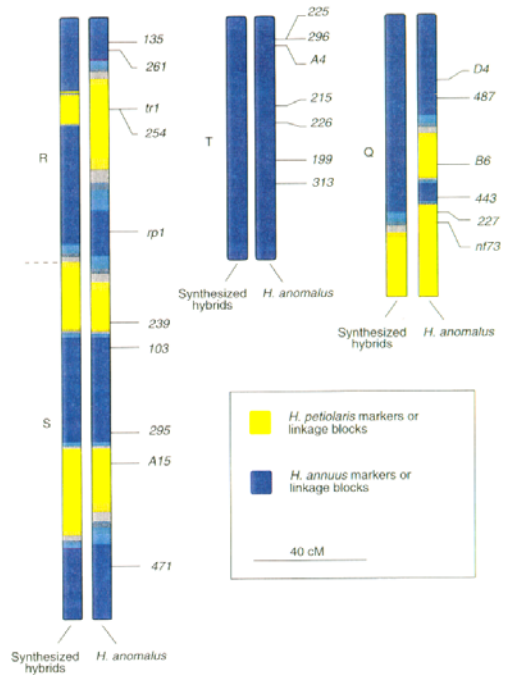


Figure 3 : Comparaison des régions introgressées dans un hybride naturel et synthétique entre *H. annuus* et *H. petiolaris* soumis à des pressions de sélection identique. Les introgressions ne se font pas au hasard dans le génome d'après Rieseberg *et al.* (2003)

remaniements affectant faiblement la fertilité séparément mais générant une très forte barrière reproductive en combinaison (White, 1978) ; et (ii) les modèles basés sur la suppression de la recombinaison induite par des remaniements (Livingstone et Rieseberg, 2004; Navarro et Barton, 2003; Noor *et al.*, 2001; Rieseberg, 2001). Brièvement, cette dernière théorie propose que les remaniements chromosomiques, à l'état hétérozygote, réduisent fortement les échanges génétiques entre les chromosomes réarrangés et non réarrangés, conduisant à une évolution divergente des régions réarrangées et à une accumulation de gènes contribuant à l'isolation reproductive jusqu'à la formation d'une barrière reproductive définitive. Différentes études montrent en effet que les chromosomes réarrangés recombinent moins que les chromosomes colinéaires (Rieseberg *et al.*, 1995) et que les régions réarrangées ont divergé depuis plus longtemps que les régions non réarrangées entre des espèces apparentées (Navarro et Barton, 2003; Schaeffer *et al.*, 2003). Enfin, les remaniements chromosomiques pourraient permettre aux plantes de transgresser l'habitat naturel de leurs parents, contribuant d'une part à leur isolation reproductive, d'autre part à la fixation des remaniements chromosomiques du fait d'une pression de sélection positive à l'encontre des plantes remaniées dans ce nouvel habitat (Rieseberg *et al.*, 2003; Rieseberg *et al.*, 1999) (Figure 3). Il est vraisemblable que c'est la combinaison des différents effets des remaniements chromosomiques (réduction de la recombinaison, variation phénotypique, réduction de la fertilité) qui contribuent à la spéciation chromosomique. Ainsi, les remaniements chromosomiques peuvent contribuer à la fois à l'établissement de barrières prézygotiques, en faisant varier l'habitat et la phénologie de la plante réduisant ainsi les possibilités de croisements, et postzygotiques en induisant une réduction de la fertilité et/ou des échanges génétiques entre les individus conduisant à l'individualisation des pools géniques.

Le rôle des remaniements géniques (délétion/duplication) dans la spéciation (modèle Bateson-Dobzhansky-Muller) est plus largement accepté (Lynch et Conery, 2000; Lynch et Force, 2000; Taylor *et al.*, 2001) En effet, chez la levure, il a été montré que la perte réciproque de gènes dupliqués entre différentes espèces à la suite de la duplication du génome était concomitante à la divergence entre trois espèces de levure et avait donc vraisemblablement contribué à l'isolation reproductive des espèces (Scannell *et al.*, 2006). Par ailleurs, certains gènes semblent définitivement perdus ou avoir évolué différemment entre les espèces de levure (Cliften *et al.*, 2006). Ce phénomène de perte de gènes après duplication des génomes ou d'une partie des génomes semble être un processus général affectant l'ensemble des eucaryotes, puisqu'on l'observe aussi bien chez les plantes, les levures ou les animaux. Il pourrait avoir contribué à la spéciation de la même manière que chez la levure (Paterson *et al.* 2004; Taylor *et al.* 2001; Volff, 2005).

1.1.3.2 Rôle des remaniements dans les variations phénotypiques

Différentes études montrent que les remaniements chromosomiques sont impliqués dans les variations phénotypiques. Ainsi, le remplacement d'une région par une région orthologue d'une espèce apparentée (introgression) a été utilisé en agriculture pour introduire des gènes de résistance, et d'autres caractères d'intérêt agronomique (Badaeva *et al.*, 1994; Dutrillaux, 1979; Friebe et Gill, 1994; Friebe *et al.*, 1996; Konishi et Linde-Laursen, 1988; Linder *et al.*, 1998; Naranjo et Fernández-Rueda, 1991). Par ailleurs, plusieurs études montrent que ce polymorphisme structural induit de la variabilité phénotypique (Osborn *et al.*, 2003; Pires *et al.*, 2004b; Zhao *et al.*, 2006). Ainsi, Pires *et al.* (2004b) observent que des changements dans la précocité de floraison chez le colza peuvent être induits des variations structurales (Translocations non réciproques) au sein du génome.

Les remaniements géniques, notamment la perte et la duplication de gènes, affectent la balance entre les gènes et sont impliqués dans des variations du phénotype (Birchler *et al.*, 2005). Ainsi, les mutations des gènes en simple copie dans les espèces diploïdes sont à la base de la génétique, permettant de déterminer la fonction des gènes. Différents auteurs ont montré que la balance entre les gènes pouvaient affecter le phénotype, en modifiant les interactions entre les gènes et/ou modifiant leur expression s'ils sont sensible à la dose (Birchler *et al.*, 2005; Riddle et Birchler, 2003; Veitia 2003; Veitia 2004; Veitia 2005). Par ailleurs, différents auteurs proposent que les variations du nombre de copies entre les régions homologues soient à la base de l'hétérosis chez le maïs et de la vigueur hybride (Brunner *et al.* 2005a; Fu et Dooner, 2002), et plus largement des variations phénotypique chez l'Homme (Feuk *et al.*, 2006; Freeman *et al.*, 2006; Redon *et al.*, 2006).

Le rôle des remaniements intergéniques demeure relativement mystérieux, excepté que ces remaniements induisent des changement de la taille du génome très importants (Baack *et al.*, 2005; Bennetzen et Kellogg, 1997; Bennetzen *et al.*, 2005; Leitch *et al.*, 2005) et qu'ils affectent vraisemblablement l'expression des gènes en modifiant leur environnement et les facteurs de régulation (Meagher et Vassiliadis, 2005). Toutefois, ces variations de la taille des génomes ne sont pas neutres d'un point de vue sélectif. En effet, l'augmentation de la taille accroît le coût métabolique de la réplication de l'ADN alors même que les nutriments utilisés pour la réplication sont rares dans la nature. Cette augmentation peut donc avoir des conséquences phénotypiques désavantageuses d'un point de vue sélectif. Ainsi, les variations de la taille des génomes sont corrélés négativement entre autre avec le taux de divisions cellulaires, la taille des graines, le taux

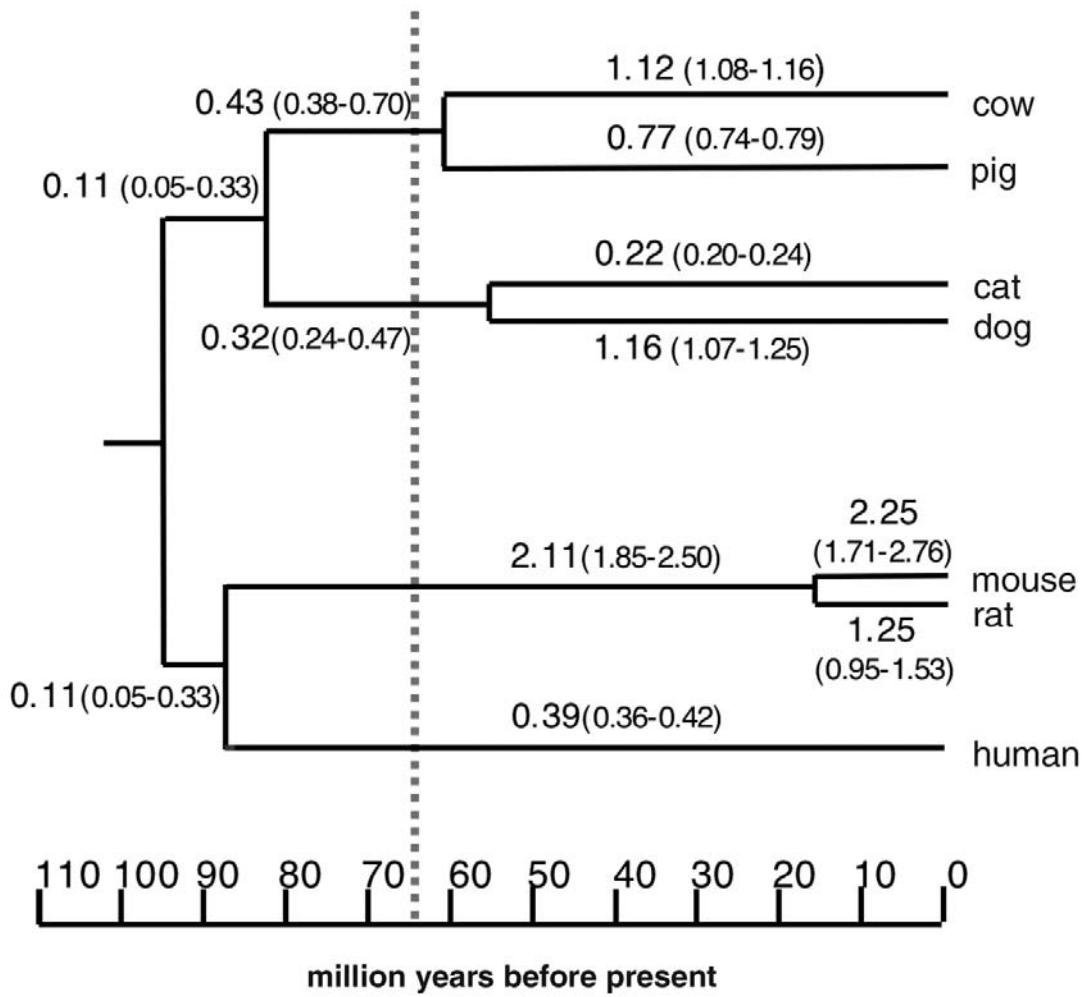


Figure 4 : Variation du taux des remaniements chromosomiques au cours de l'évolution des mammifères. D'après Murphy *et al.*, (2005).

de photosynthèse, le taux de croissance, et le temps de génération (Knight *et al.*, 2005).

Ainsi, les remaniements à différentes échelles et le polymorphisme structural qu'ils induisent contribuent à la spéciation, mais aussi aux variations phénotypiques au sein des espèces. La combinaison des différents remaniements aux différentes échelles pourrait donc contribuer à la diversification des espèces et à l'adaptation des eucaryotes à leur environnement.

I.1.4 La vitesse des remaniements varie au cours du temps et selon les familles

La combinaison des techniques de génomique comparative (cartographie comparée, hybridation *in situ*) avec la phylogénie moléculaire a permis de reconstituer l'historique des remaniements chromosomiques séparant les différentes espèces, et de mesurer la vitesse des remaniements chromosomiques et son évolution au cours du temps.

I.1.4.1 Vitesse des remaniements chromosomiques

La vitesse à laquelle les génomes sont remaniés (inversions, translocations, fusions, fissions, duplications) varie considérablement chez les eucaryotes (Coghlan *et al.*, 2005; Coghlan et Wolfe, 2002; Eichler et Sankoff, 2003; Fischer *et al.*, 2000; Lagercrantz, 1998). Ainsi, les taux de remaniements chromosomiques varient de 0,02 à 2 par million d'années au sein des vertébrés alors qu'ils varient entre 7 et 50 millions d'années chez les invertébrés (Eichler et Sankoff, 2003). Au sein des crucifères, le taux de remaniements chromosomiques basé sur les données de cartographie comparée apparaît particulièrement variable: respectivement 0,09 ; 1,3 et 6,5 à 9,7 remaniements par million d'années de divergence dans respectivement *Capsella*, *Arabidopsis*, et *Brassica* (Koch et Kiefer, 2005).

La vitesse des remaniements évolue au cours du temps. Ainsi, chez les vertébrés, Burt *et al.* (1999) distinguent plusieurs phases : une première avec une vitesse de remaniement faible entre 300 et 100 millions d'années (0,2 remaniements fixés par million d'années) ; une seconde avec une vitesse de remaniement élevée entre 100 et 65 millions d'années (>1,1 remaniements fixés par million d'années) ; une troisième depuis la diversification des vertébrés où la vitesse de remaniement est très variable selon les familles. Cette variation de la fréquence de remaniement dans le temps a été confirmée par différents auteurs, bien qu'ils diffèrent dans la datation des différentes périodes ou sur le nombre de périodes (Froenicke, 2005; Murphy *et al.*, 2005) (Figure 5). Par conséquent, le nombre de remaniements chromosomiques séparant deux espèces et les distances phylogénétiques ne sont que très partiellement corrélés, et ne permettent pas d'inférer depuis combien temps deux espèces ont divergé.

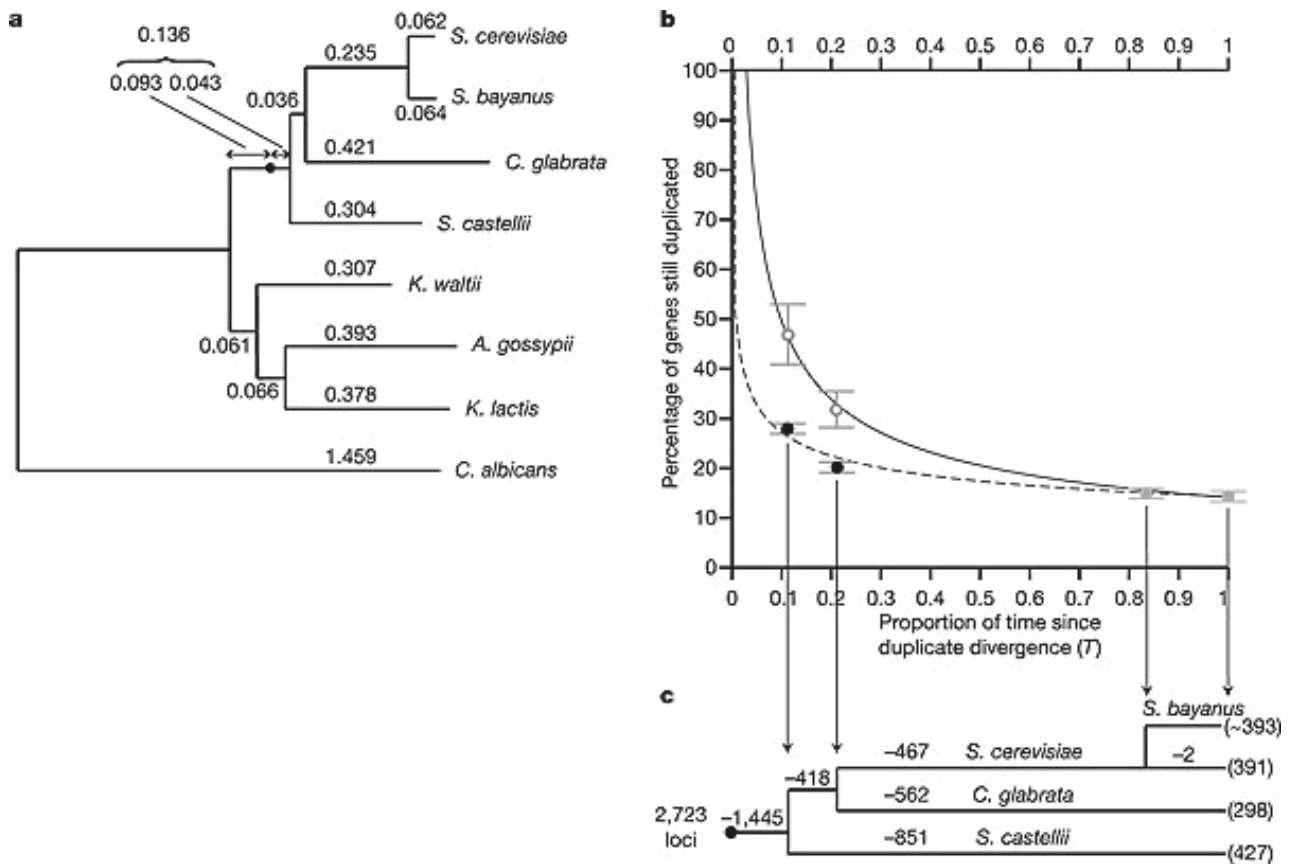


Figure 5 : Evolution de la fréquence des remaniements géniques au cours du temps et selon les phylums chez les levures. D'après Scannell *et al.*, (2006).

1.1.4.2 Vitesse des remaniements géniques

L'analyse de la vitesse des remaniements géniques apparaît plus complexe dans la mesure où seule la comparaison complète des séquences génomiques des blocs colinéaires entre les différentes espèces permettrait de déterminer à quelle vitesse sont remaniés les gènes.

L'analyse comparée de l'évolution des régions dupliquées au sein des génomes (régions paralogues) a permis d'en estimer approximativement la vitesse. Ce taux de délétion apparaît relativement constant à travers les règnes puisque 88% des gènes dupliqués ont été perdus au bout de 80 millions d'années dans la levure (Kellis *et al.*, 2004), 70% en moins de 86 millions d'années chez *A. thaliana* (Bowers *et al.*, 2003), 79% dans les céréales en 61 à 67 millions d'années (Paterson *et al.*, 2004), soit un taux de perte compris entre 0,5 et 1,5% selon les espèces.

Ce taux de perte de gènes pourrait varier dans le temps et notamment être stimulé par la duplication des génomes. En effet, la comparaison du taux de perte de gènes entre différentes espèces de levure montre que celui-ci décroît de façon exponentielle après l'événement de duplications des génomes (Figure 5) (Scannell *et al.*, 2006). Par ailleurs, la comparaison du taux de délétion et de duplication des gènes entre les régions orthologues en simple copie des espèces diploïdes progénitrices du blé et les régions homéologues du blé tétraploïde et hexaploïde montre que la perte de gènes semble « stimulé » par la duplication, que ce soit de l'ensemble du génome (polyploïdisation), ou de segments chromosomiques (duplication segmentaire) puisqu'elle est accrue d'un facteur 10 dans les régions dupliquées des polyploïdes par rapport aux régions colinéaires en simple copie des diploïdes (~0,21 à 0,3 vs 1 à 3% des gènes par million d'années) (Dvorak *et al.*, 2004). Cette observation est fortement soutenue par les observations sur les polyploïdes synthétiques qui montrent une perte massive de séquences géniques dès les premières générations (Ozkan *et al.*, 2003).

Toutefois, tous les gènes ne semblent pas égaux face à la délétion. En effet, différentes études montrent que certains gènes sont préférentiellement retenus après un événement de duplication génomique et plus particulièrement les gènes sensibles aux variations de la dose (Blanc et Wolfe, 2004a; Thomas *et al.*, 2006).

1.1.4.3 Vitesse des remaniements intergéniques

De la même façon, les fréquences des remaniements intergéniques semblent varier dans le temps et selon les phylums (Eichler et Sankoff, 2003; Liu *et al.*, 2003). Ainsi, la taille du génome du maïs a doublé après une invasion de rétrotransposons massive il y a 3 millions d'années

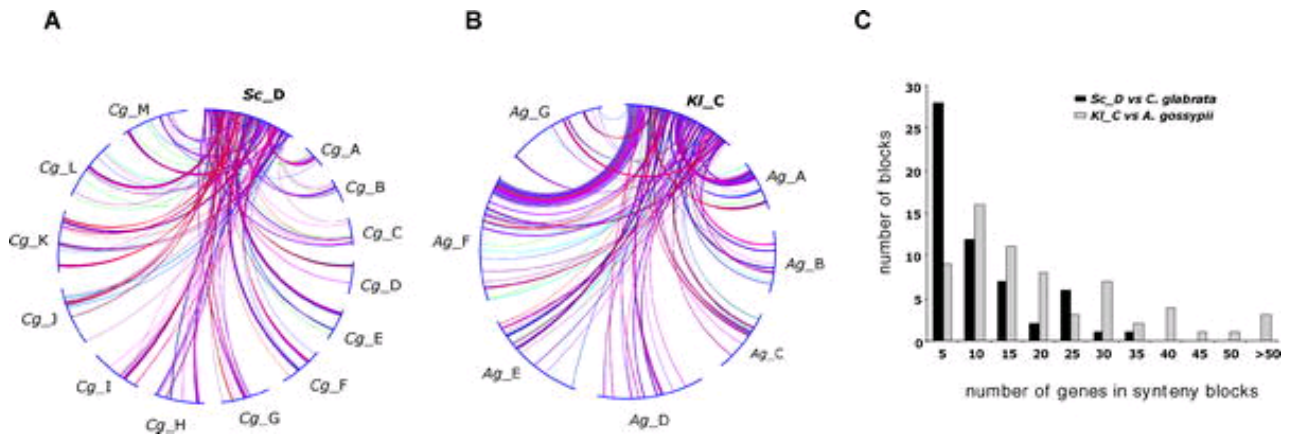


Figure 6 : Conservation de la synténie chez les levures. D’après Fisher *et al.* (2006).

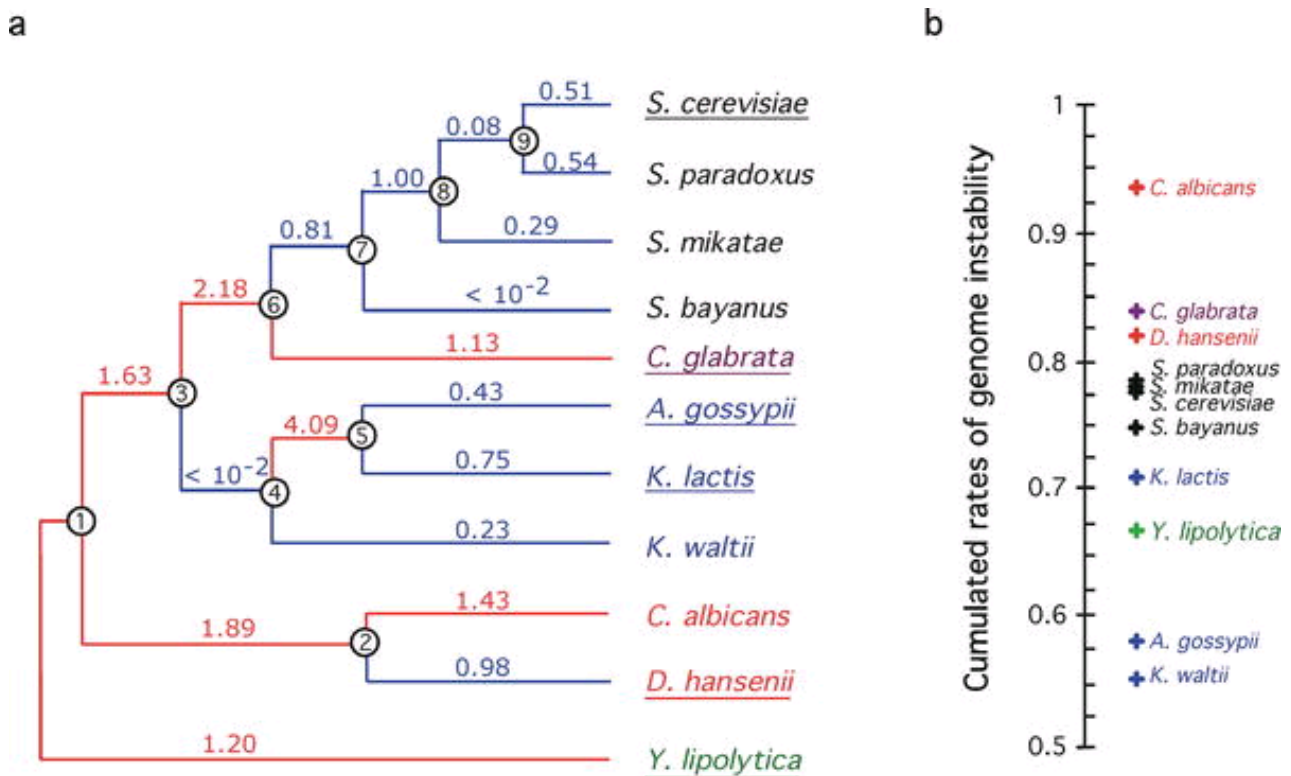


Figure 7 : Evolution de la fréquence des macroréarrangements au cours du temps et stabilité du génome au sein des phylums. D’après Fisher *et al.*, (2006).

après que le maïs et l'orge aient divergé (SanMiguel *et al.*, 1996), cette invasion ayant eu lieu plusieurs fois au cours de l'évolution de la taille du maïs (Gaut, 2002). Un pic d'activité concernant les rétrotransposons Alu SINE a été mis en évidence il y a 30 à 40 millions d'années chez les primates. Par ailleurs, l'absence d'homologie entre les régions orthologues entre les espèces apparentées dans les régions intergéniques indique que ces régions sont vraisemblablement remaniées beaucoup plus rapidement que les gènes.

1.1.4.4 Remaniements et perte de synténie

L'accumulation des remaniements chromosomiques et géniques va conduire à réorganiser les génomes et changer l'ordre des gènes, entraînant une perte progressive de la synténie entre les génomes des espèces (Eichler et Sankoff, 2003; Fischer *et al.*, 2006; Vision, 2005, Llorente *et al.* 2000)(Figure 6).

De ce fait, il est difficile, pour des espèces très éloignées, de discriminer la part respective des remaniements chromosomiques et géniques dans la conservation de la synténie. L'analyse comparée des séquences complètes ou quasi-complètes des génomes des levures (Hemiascomycètes) a permis de déterminer qu'entre des espèces phylogénétiquement proches, le mécanisme principal à l'origine de la perte de synténie semble être la perte alternative de gènes entre les régions dupliquées puisqu'il représente près de 90% des points de cassure entre deux couples de gènes voisins, alors que les translocations (remaniements chromosomiques) ne représentent que 10% des ruptures de synténie entre des couples de gènes voisins (Fischer *et al.*, 2001). Toutefois, le mécanisme principal de réorganisation des génomes entre des espèces éloignées phylogénétiquement semble être les remaniements chromosomiques chez les levures (Fischer *et al.*, 2006)

Dans une étude pionnière, Fisher *et al.* (2006) ont comparé la conservation de l'ordre des gènes à partir de la séquence complète de 11 espèces de levure différentes, appartenant à l'ordre des Hemiascomycètes, afin de déterminer quelle était la part des macroréarrangements (réarrangements chromosomiques) et des microréarrangements (inversions au sein des blocs de synténie) dans l'évolution de l'ordre des gènes pour des espèces ayant divergé depuis plus ou moins longtemps (Figure 7). Les auteurs montrent que (i) cette fréquence de remaniement chromosomique est hautement variable dans le temps et selon les phylums (Figure 7), (ii) les fréquences des macroréarrangements (remaniements chromosomiques) et microréarrangements (remaniements géniques) sont corrélées à l'intérieur d'un même phylum ;

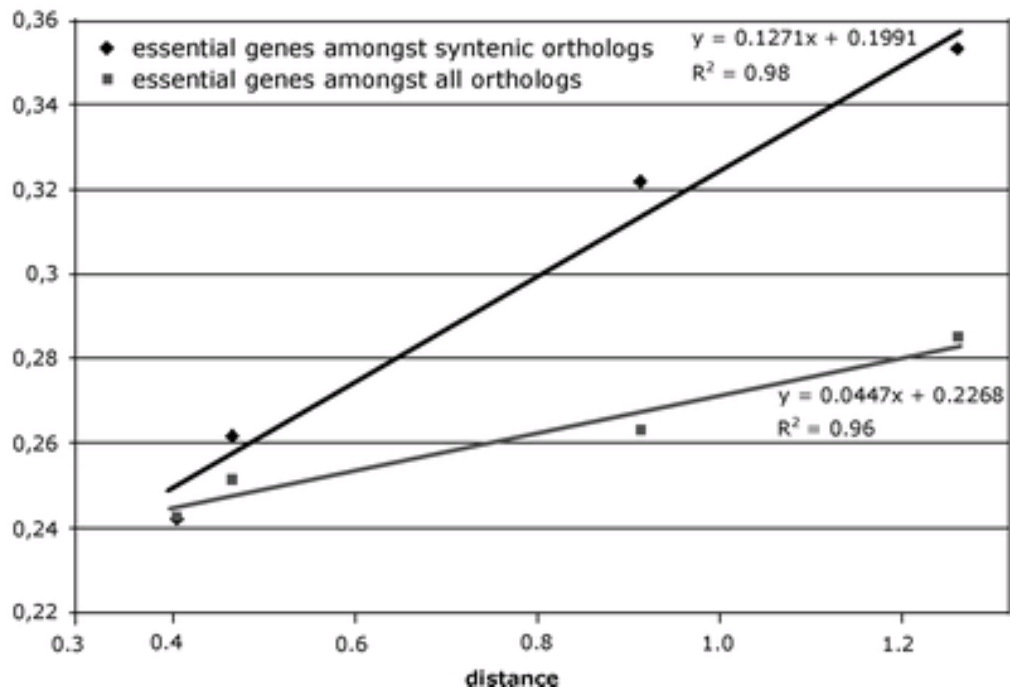


Figure 8 : Conservation de l'ordre des gènes en fonction des distances phylogénétiques au sein de cluster selon que les gènes soient essentiels aux microorganismes (sa suppression est délétère) ou pas. D'après Fisher et *al.*, (2006)

(iii) des clusters de gènes synténiques essentiels à la levure (délétères lorsque le gène est délété) sont conservés malgré la très forte réorganisation de l'ordre des gènes dans le génome (Figure 8) dans des régions faiblement recombinogènes ; et (iv) la fréquence des remaniements était plus forte pour les levures pathogènes soumises à une forte pression de sélection que pour les levures non pathogènes.

La conservation de l'ordre des gènes sous forme de clusters et l'accroissement parmi ces clusters de la proportion de gènes essentiels à la vie des levures au cours de l'évolution soutient fortement l'idée que l'ordre des gènes est soumis à des contraintes sélectives et n'est donc pas aléatoire (Hurst *et al.*, 2004). Cette distribution non aléatoire de l'ordre des gènes au sein des génomes avait été préalablement suggérée par le fait que (i) chez les mammifères, moins de réarrangements chromosomiques étaient observés au sein des clusters de gènes co-exprimés qu'ailleurs dans le génome (Singer *et al.*, 2005) ; et (ii) des gènes voisins sont plus fréquemment co-exprimés qu'attendu par le hasard chez *A. thaliana* (Williams et Bowles, 2004). Par ailleurs, AKHUNOV (2003) montre que la perte de synténie observée entre les régions homéologues était corrélée positivement avec la variation de la fréquence de recombinaison le long des chromosomes. La conservation de l'ordre de certains gènes, la corrélation entre recombinaisons et remaniements géniques, la fréquence élevée de point de cassure des remaniements au niveau des centromères et des télomères suggèrent fortement que la réorganisation des génomes n'est pas totalement aléatoire à l'échelle de la séquence comme du chromosome, et qu'il existe des points chauds et froids de remaniements.

Ainsi, les génomes sont remaniés à différents niveaux (Agashe *et al.*, 2002), de différentes façons (inversions, tranlocations, duplications, délétions). Ces différents remaniements contribuent vraisemblablement à l'isolation reproductive des espèces, en réduisant la fertilité des croisements interspécifiques et, par conséquent, les échanges génétiques, mais aussi à leur adaptation aux variations environnementales, en créant de la variabilité phénotypique. Enfin, il ressort clairement de ces différentes études que la vitesse des remaniements évolue au cours du temps, varie selon les phylums et qu'elle est très vraisemblablement stimulée par la duplication des génomes que ce soit chez la levure (Fischer *et al.*, 2006; Scannell *et al.*, 2006) ou chez le blé (Akhunov *et al.*, 2003a; Dvorak et Akhunov, 2005).

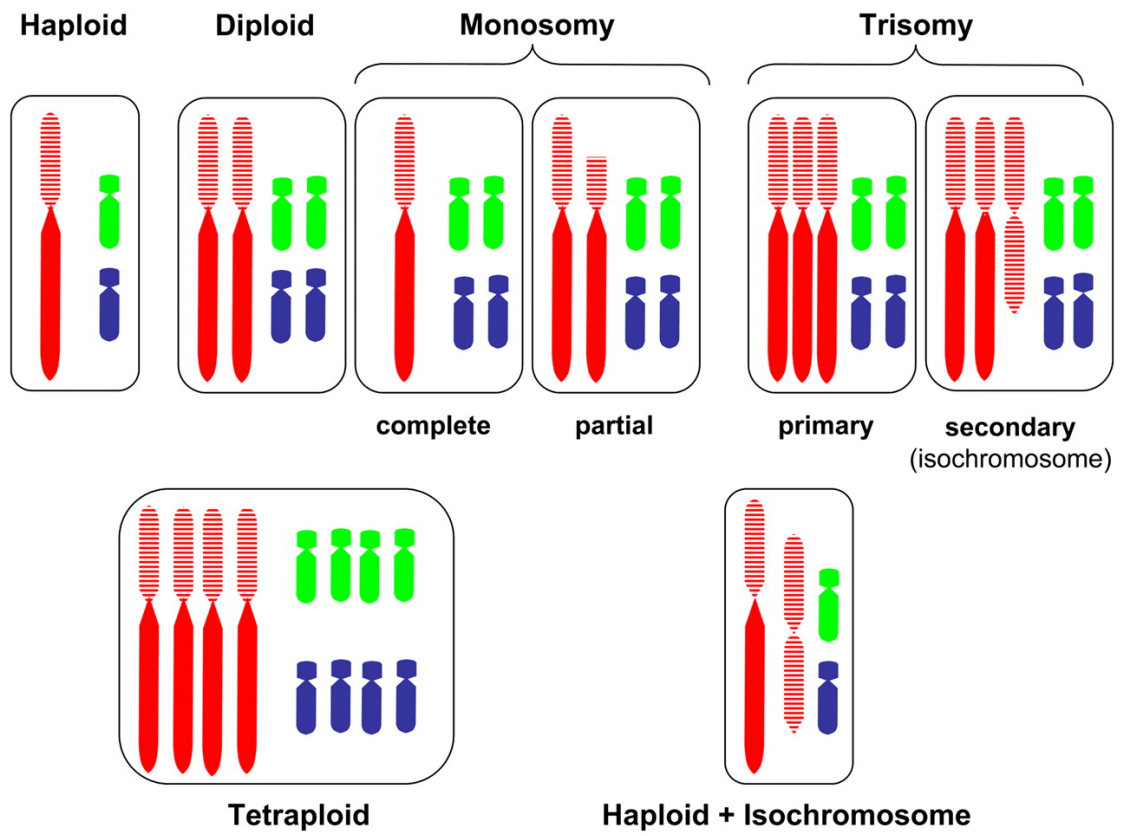


Figure 9 : Différents types de remaniements. D'après Birchler et Veitia, (2007)

I.2 LA POLYPLOÏDIE, UNE FORCE PROMOTRICE DES REARRANGEMENTS

I.2.1 Définitions

La ploïdie se définit comme le degré de réplication d'un jeu complet de chromosomes. Les organismes dotés d'un mode de reproduction sexué produisent des gamètes qui ne contiennent qu'une seule copie du génome de l'espèce ; ces cellules sont dites *haploïdes*. Suite à la fécondation, la fusion des deux noyaux gamétiques donne naissance à un embryon *diploïde* qui présente deux équivalents génomes : l'embryon contient deux exemplaires de chaque chromosome, on parle de paires de chromosomes homologues. Une cellule est dite *polyploïde* quand elle contient plus de deux équivalents génome [*e.g.*, (Leitch et Bennett, 1997b; Ramsey et Schemske, 2002)], c'est-à-dire plus de deux jeux complets de chromosomes. Notons que le statut diploïde d'une espèce n'exclut pas la présence de cellules polyploïdes qui résultent d'endomitoses (divisions cellulaires amputées de la phase au cours de laquelle se produit la séparation des deux lots de chromosomes fils, ou anaphase). Et rappelons enfin qu'un organisme ou une cellule qui possède un jeu complet de chromosomes de l'espèce est dit *euploïde* par opposition aux organismes ou cellules *aneuploïdes* qui contiennent soit un jeu incomplet de chromosomes de l'espèce, soit un ou des chromosomes surnuméraires. Les formes d'aneuploïdie les plus couramment rencontrées sont les trisomies (un chromosome surnuméraire), les monosomies (un chromosome en moins) et les nullisomies (une paire de chromosomes en moins) (Figure 9).

On distingue les organismes *autopolyploïdes* qui possèdent plus de deux jeux complets de chromosomes provenant d'une même espèce parentale et les espèces *allopolyploïdes* qui combinent des jeux complets de chromosomes hérités d'au moins deux espèces parentales apparentées. Les espèces *allopolyploïdes* dérivent donc d'un ou de plusieurs événements d'hybridation interspécifique, suivis ou précédés d'un doublement chromosomique (Stebbins, 1971). Leur noyau réunit des génomes / chromosomes / régions plus ou moins différenciés qui ont conservé un certain degré de similitude du fait de leur origine commune directe. Ces génomes / chromosomes / régions apparentés, qui sont qualifiés d'*orthologues* dans les espèces parentales (on parle d'*espèces progénitrices* ou plus simplement de *progéniteurs*), sont dits *homéologues* dès lors qu'ils sont réunis au sein d'un même noyau. A ces termes s'oppose celui de *paralogues* qui désigne des gènes ou régions séparés de leur ancêtre commun par un événement de duplication (Fitch, 1970)] alors que les *orthologues* et *homéologues* ont divergé de leur ancêtre commun à la suite d'un événement de spéciation. Ces régions / gènes paralogues peuvent provenir de duplications segmentaires ou d'événements anciens de polyploïdisation (on touche alors à la limite des définitions !).

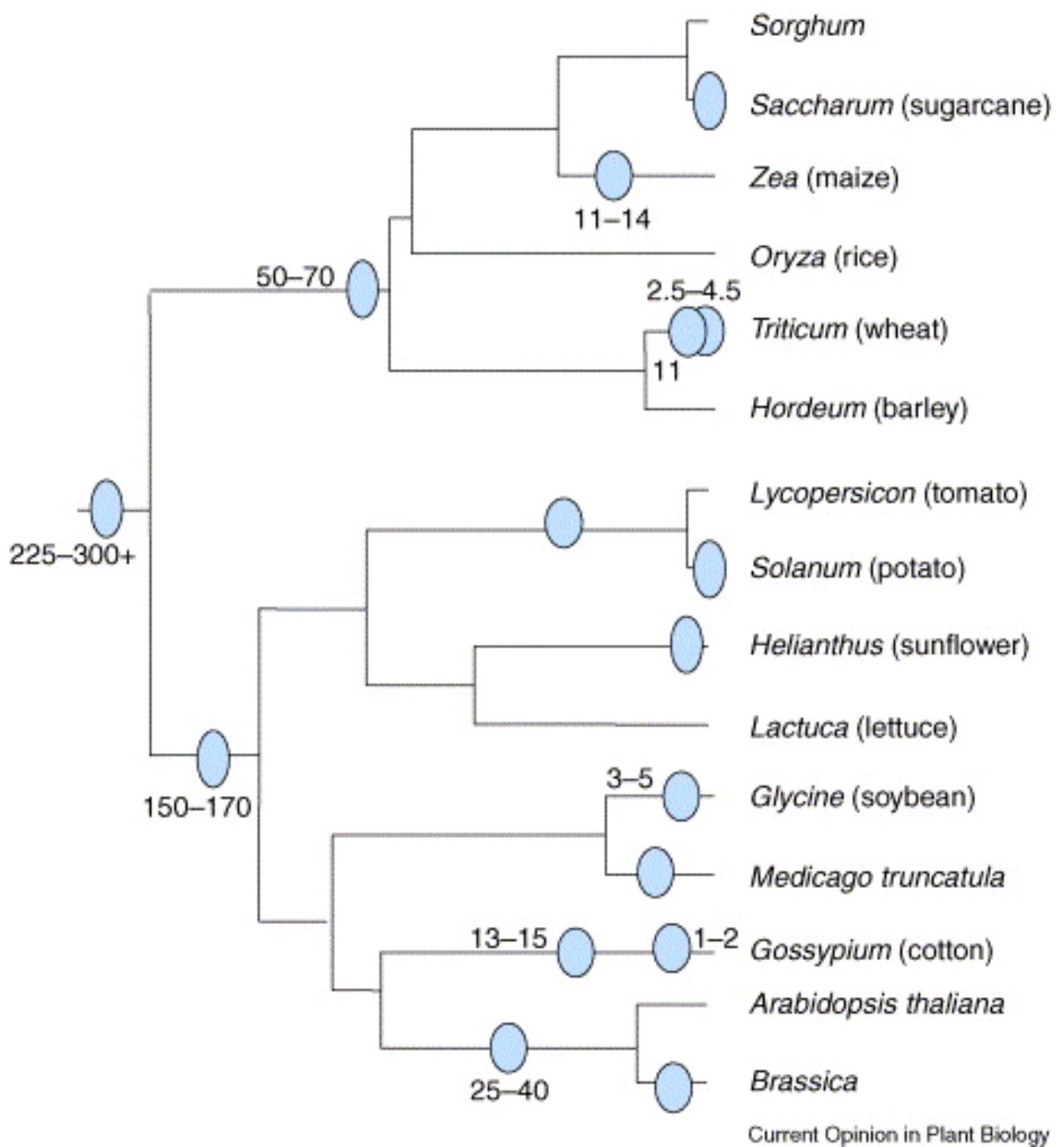


Figure 10 : Occurrence et datation des événements de polyploïdisation au cours de la diversification des angiospermes (cercles en bleu sur l'arbre phylogénétique). D'après Adams et Wendel, (2005)

Les définitions que je viens de noter sont établies sur la base de l'histoire évolutive des régions / gènes et non sur leur degré de similitude.

Historiquement, le terme *homéologue* a été introduit par Huskins (1931) et popularisé par Sears (1954) qui a montré que l'absence de certains chromosomes de blés hexaploïdes pouvait être compensée fonctionnellement par la duplication des chromosomes correspondant provenant des autres génomes. Ces chromosomes sont en outre susceptibles de s'apparier et de recombiner au cours de la méiose en l'absence du gène *Ph1* (Sears, 1954) – voir I.3.2.4.2). L'utilisation des données de cartographie comparée permet de reconnaître aisément les régions apparentées qui ont conservé un même contenu et ordre en gènes. Elle a notamment permis la première de montrer que de nombreuses espèces diploïdes sont vraisemblablement *paléopolyploïdes*, *i.e.* elles dérivent d'un ancêtre polyploïde et ont subi un processus de diploïdisation (*e.g.* évolution structurale des chromosomes dupliqués et divergence des séquences dupliquées – I.2.6.3). On peut donc utiliser les résultats de cartographie comparée pour identifier les régions homéologues au sein d'un génome allopolyploïde, même si cette approche ne permet pas à coup sûr de distinguer les régions dupliquées séquentiellement au cours du temps.

I.2.2 Prévalence et fréquence de la polyploidie chez les plantes et autres phylums

La polyploïdie a joué et joue toujours un rôle crucial dans l'évolution des eucaryotes (Aury *et al.*, 2006; Christoffels *et al.*, 2004; Dehal et Boore, 2005; Eichler et Sankoff, 2003; Otto et Whitton, 2000; Panopoulou et Poustka, 2005; Wolfe et Shields, 1997; Wong *et al.*, 2002), en particulier chez les angiospermes (Soltis, 2005; Wendel, 2000b). Masterson (1994) a tout d'abord utilisé la corrélation qui existe entre le volume des cellules de garde des stomates et la quantité d'ADN dans le noyau pour estimer que 70% des angiospermes et 95% des ptéridophytes ont une origine polyploïde récente. Otto et Whitton (2000) ont estimé que 3 et 7% des événements de spéciation dans ces deux embranchements sont associés à un événement de polyploïdisation. Très récemment, l'analyse du niveau de duplication intragénomique (en utilisant des Expression Sequence Tag : EST), ainsi que des taux de substitution entre paralogues, ont permis de montrer que la majorité, si ce n'est l'intégralité des angiospermes, ont connu un ou plusieurs cycles de duplication totale ou partielle du génome (Blanc et Wolfe, 2004c; Cui *et al.*, 2006; Wendel, 2000a)(Figure 10). Ces analyses ont de plus confirmé que des espèces diploïdes comme le maïs, l'arabette et le riz portent encore des restes de duplications ancestrales (Blanc et Wolfe, 2004b) (Figure 10). La proportion des espèces contemporaines polyploïdes n'est pas connue mais on peut constater que de nombreuses espèces cultivées de grande importance telles que le blé, le coton, le

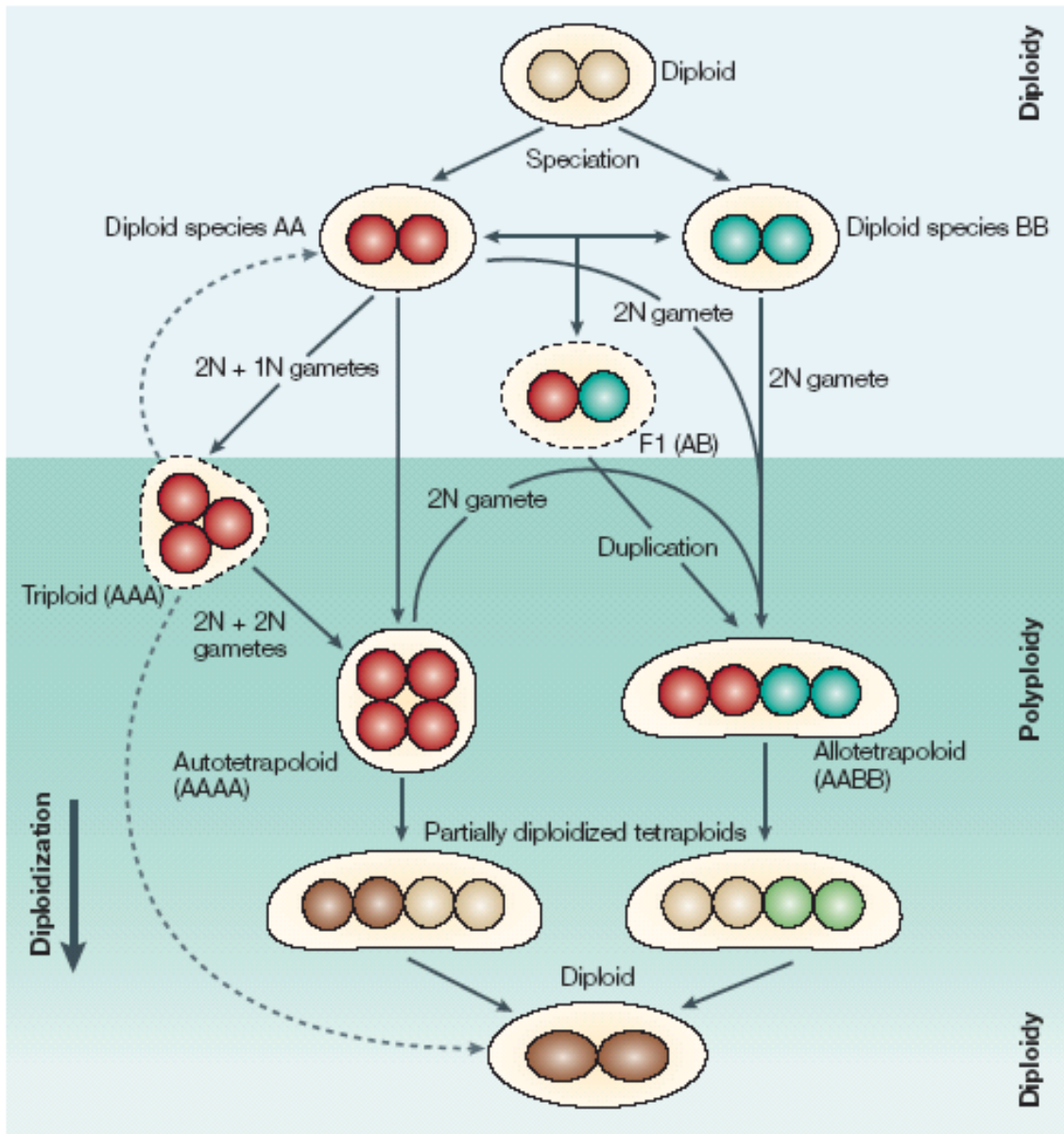


Figure 11: Différentes voies de formation des polyplôïdes. D'après Comai (2005)

colza, le café, l'arachide ou la canne à sucre sont polyploïdes (Bennett, 2004; Hilu, 1993).

La fréquence et la récurrence des événements de duplication génomique (polyploïdie) semblent très variables selon les règnes, les ordres, voire même les familles. Ainsi, selon les espèces, trois à six événements de polyploïdisation ont eu lieu depuis la diversification des angiospermes il y a environ 300 millions d'années (Adams *et al.*, 2003; Blanc et Wolfe, 2004b; Cui *et al.*, 2006) (Figure 10) alors que seulement un à trois événements de polyploïdisation ont eu lieu au cours de la diversification des vertébrés il y a environ 500 millions d'années (Coghlan *et al.*, 2005; Gu *et al.*, 2002; Panopoulou et Poustka, 2005). La polyploïdie est donc plus rare chez les animaux que chez les végétaux. Toutefois, on peut noter qu'elle est assez courante chez les insectes parthénogénétiques et qu'elle affecte essentiellement trois groupes de vertébrés : les reptiles, les amphibiens et les poissons, parmi lesquels on trouve des centaines d'espèces polyploïdes. On peut noter la découverte récente d'un rongeur tétraploïde (*Tympanoctomys barrerae*, $2n = 4x = 102$) (Gallardo *et al.*, 2004), susceptible de remettre en question la vision classique d'une polyploïdie interdite aux espèces mammaliennes (Orr, 1990). Plusieurs hypothèses ont été formulées pour expliquer ces variations selon les phylums : les irrégularités de recombinaison ou d'appariement ont des effets contrastés sur la viabilité des cellules méiotiques entraînant par exemple l'apoptose des cellules chez les animaux alors qu'elles sont mieux tolérées chez les plantes ; les barrières à l'hybridation interspécifique sont d'autant plus fortes que la quantité de gamètes et la probabilité de rencontre de ces gamètes avec ceux d'autres espèces sont faibles... (cf. Otto et Whitton, 2000)

1.2.3 Différents modes de formation des allopolyploïdes

Plusieurs voies de formation des polyploïdes ont été décrites chez les plantes (Ramsey et Schemske, 1998). Deux étapes successives sont nécessaires pour former un allopolyploïde : l'hybridation interspécifique, qui permet de réunir au sein d'un même noyau les génomes provenant des espèces parentales ; et le doublement du stock chromosomique. Seule cette dernière étape est nécessaire pour former un autopolyploïde.

On distingue en général deux voies principales de formation des espèces polyploïdes :

1. La voie somatique dans laquelle le doublement du stock chromosomique a lieu soit dans les cellules méristématiques conduisant à la formation des gamètes (doublement prézygotique), soit dans le zygote ou le jeune embryon (doublement postzygotique) (Figure 11).
2. La voie méiotique ou voie des gamètes non-réduits dans laquelle le doublement du stock chromosomique a lieu au cours de la méiose. Les gamètes sont dit non-réduits car ils contiennent le même nombre de chromosomes que la plante dont ils sont issus (Figure 11).

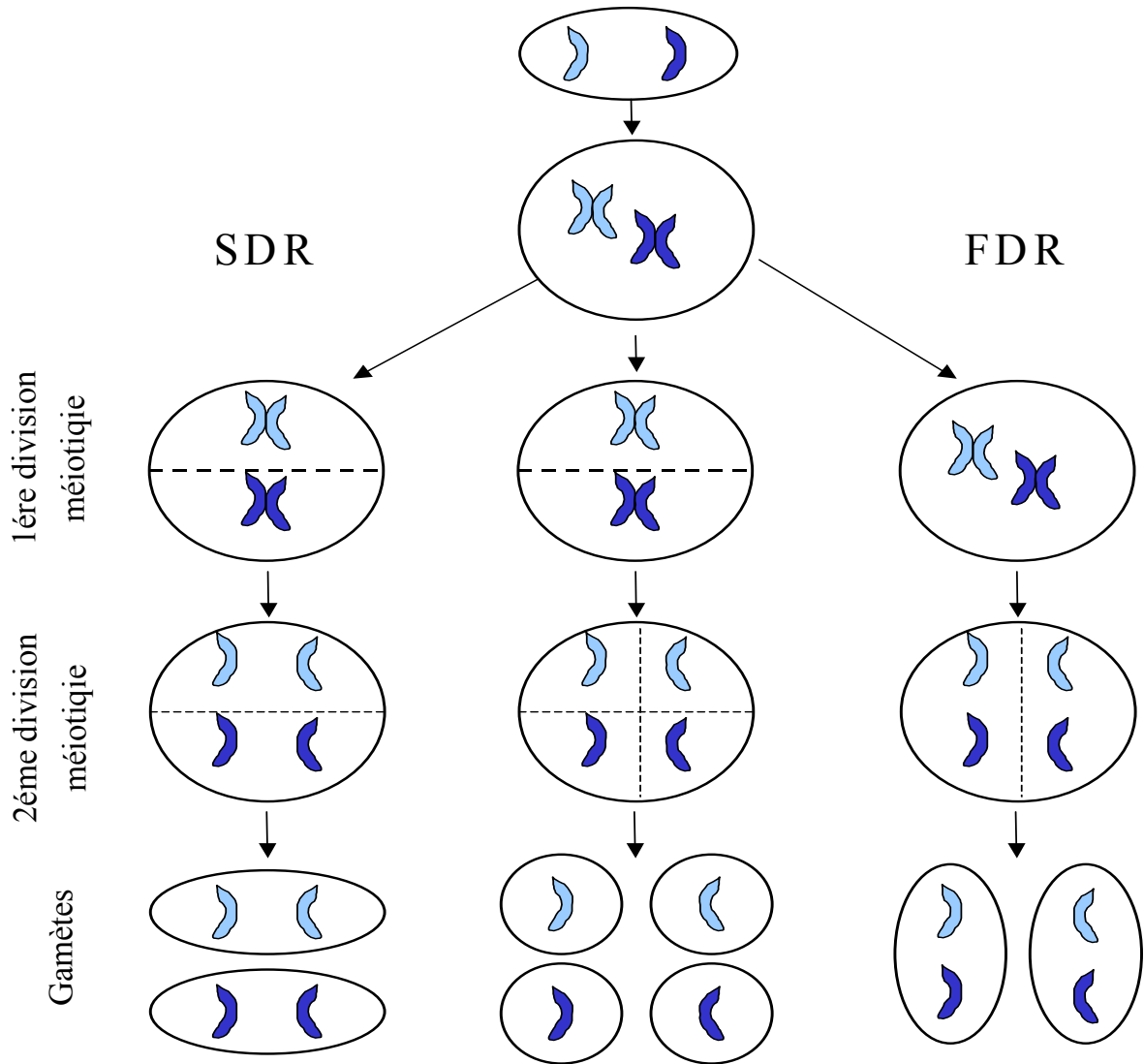


Figure 12 : Représentation schématique des deux voies de formation principales des gamètes non-réduits (possédant le même niveau de ploïdie que la plante mère) et des conséquences sur le contenu chromosomique des gamètes. L'absence de seconde division méiotique (SDR) aboutit à la non ségrégation des chromatides sœurs, le gamète non réduit possède alors deux chromosomes fortement homologues (pas entièrement à cause des recombinaisons). L'absence de première division méiotique (FDR) aboutit à la non ségrégation des chromosomes homologues, les gamètes possèdent alors la quasi intégralité de l'information génétique des parents (moins les recombinaisons).

Bien que quelques exemples de formation d'allopolyplœides par doublement somatique prézygotique ou postzygotique aient été décrits (Ramsey et Schemske, 1998) et que le doublement somatique soit couramment utilisé pour générer des polyplœides synthétiques au laboratoire (doublement à la colchicine), il est admis que la plupart des polyplœides ont été formés par la voie des gamètes non-réduits (Bretagnolle et Thompson, 1995; Harlan et De wet, 1975; Ramsey et Schemske, 1998). Plusieurs types de gamètes non-réduits ont été décrits dans la littérature (Bretagnolle et Thompson, 1995; Ramsey et Schemske, 1998; Veilleux, 1985):

1. Les gamètes de type SDR (Second Division Restitution = absence de seconde division de méiose) qui résultent de mécanismes équivalents à la non disjonction de toutes les chromatides sœurs au cours de la méiose (Figure 12),
2. Les gamètes de type FDR (First Division Restitution = absence de première division de méiose) qui résultent de mécanismes équivalents à la non disjonction des chromosomes lors de la première division méiose(Figure 12),
3. Les gamètes de type IMR (Indeterminate Meiotic Restitution) qui résultent de la séparation et de la migration simultanées de part et d'autre de la plaque métaphasique des chromosomes sous forme de bivalents et des chromatides sœurs des chromosomes restés sous forme d'univalents. Ainsi, tandis que les chromosomes sous forme d'univalents subissent une FDR (disjonction des chromatides sœurs), les chromosomes sous forme de bivalents font une SDR (non disjonction des chromatides sœurs) (Lim *et al.*, 2001).
4. Les gamètes produits suite à une absence totale (au moins d'un point de vue génétique) de division et qui résultent donc de la non disjonction des chromosomes et de celle des chromatides soeurs lors des deux division méiotiques.

Ces définitions renvoient surtout aux conséquences génétiques, et non aux bases cytologiques de leur formation. Ainsi, les gamètes SDR produits par une plante diploïde se reconnaissent d'un point de vue génétique par leur homozygotie alors que les gamètes FDR sont hétérozygotes (aux événements de recombinaison près). De même, chez un hybride interspécifique, les gamètes de type FDR transmettent l'intégralité de la garniture chromosomique (aux remaniements près) alors que les gamètes de type SDR conduisent à la perte/duplication de certains chromosomes et génèrent donc dans leur descendance la formation d'aneuploïdes. Ces conséquences génétiques ne permettent pas nécessairement de présager des anomalies méiotiques à l'origine de la production de ces gamètes. Ainsi, la formation de fuseaux parallèles ou tripolaires lors de l'anaphase II est susceptible de générer des gamètes non-réduits de type FDR bien que la première division ait eu lieu (Bretagnolle et Thompson, 1995). Il faut bien reconnaître que l'on connaît peu de choses des mécanismes susceptibles de générer des gamètes non-réduits (décrits

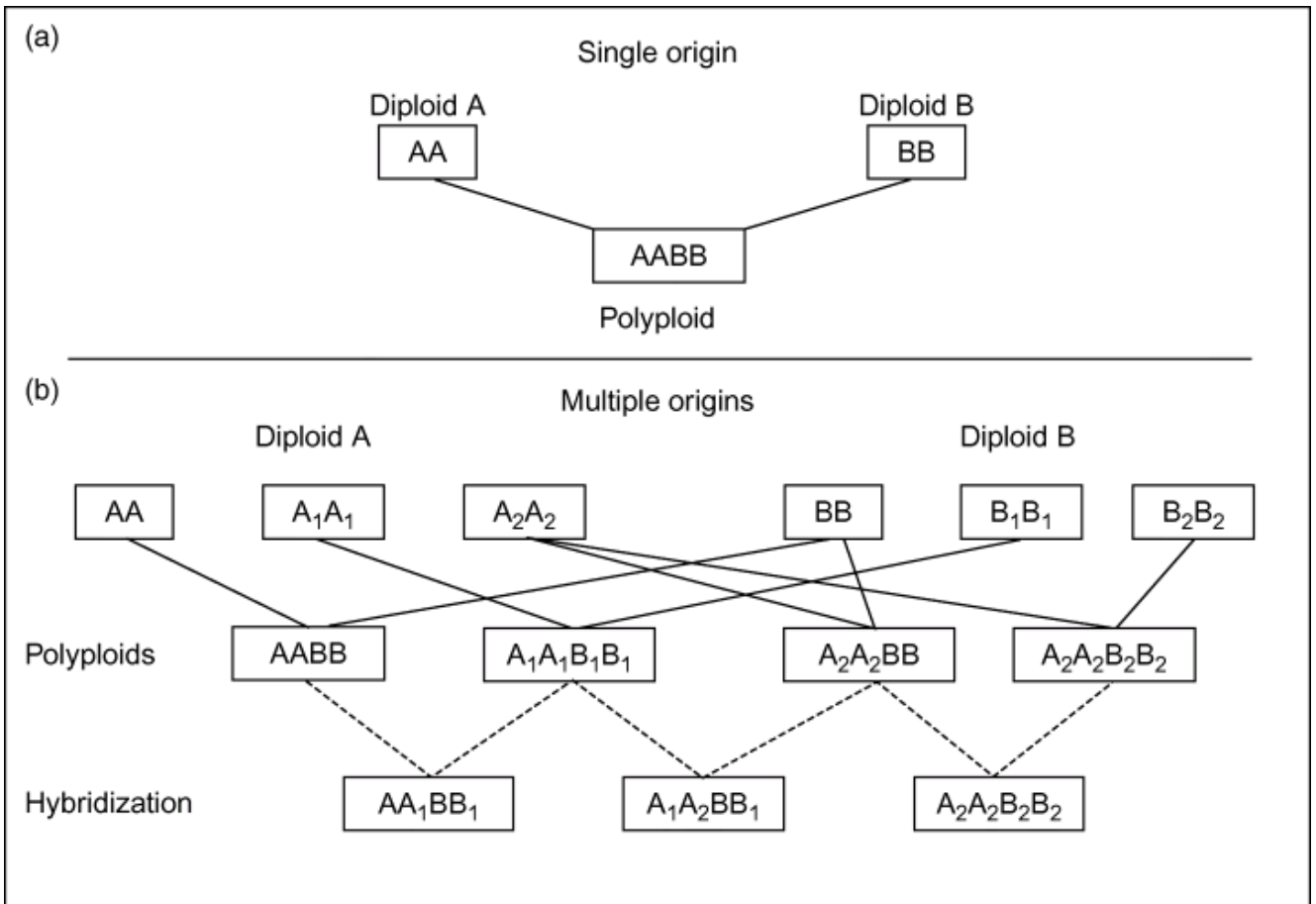


Figure 13 : Origine simple (a) ou multiple (b) des espèces allopolyploïdes. D'après Soltis et Soltis (2003)

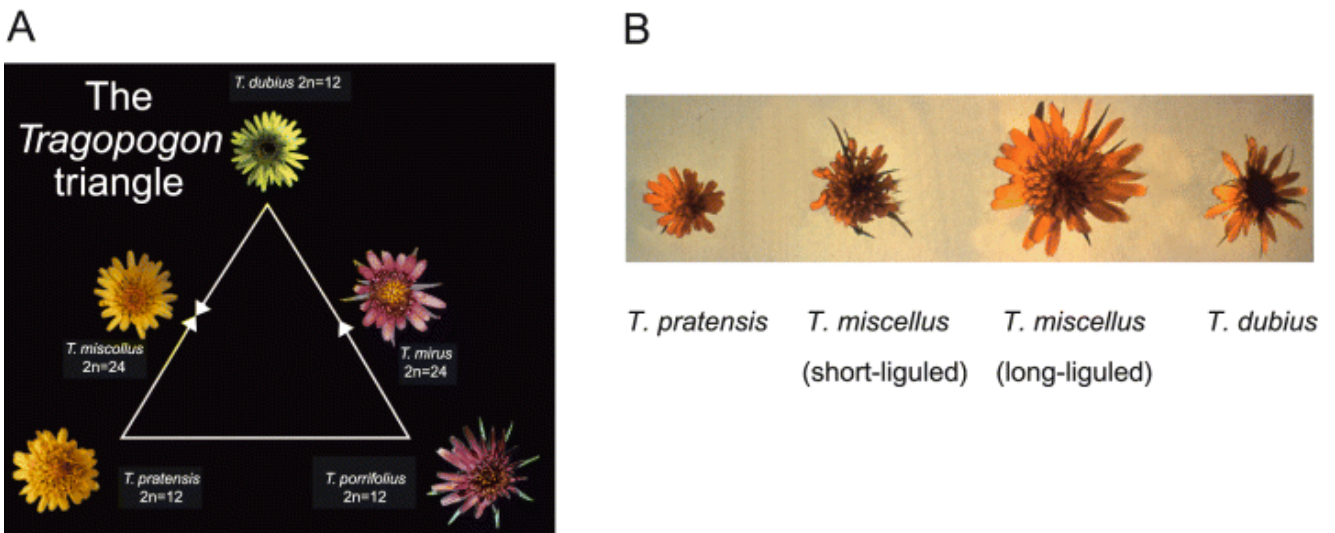


Figure 14 : Origine des jeunes allotétraploïdes *Tragopogon*. D'après Soltis et Soltis, (2004).

sous forme d'hypothèses dans (Bretagnolle et Thompson, 1995; Veilleux, 1985) et aucun gène contribuant à la formation de tels gamètes n'a encore été caractérisé d'un point de vue moléculaire, bien que des mutants par insertion d'ADN-T aient été identifiés (Carputo *et al.*, 2003 ; R. Mercier et E. Jenczewski comm. pers). Pourtant, plusieurs études ont permis de montrer que la production des gamètes non-réduits répondait très bien à la sélection et était héritable. En règle générale, les gamètes non-réduits ne forment qu'une partie des gamètes générés au cours de la méiose, mais ils en constituent souvent chez des hybrides interspécifiques la seule partie viable et fonctionnelle (Ramsey et Schemske, 1998).

Les allopolyploïdes peuvent alors être formés de manière directe, par la fusion de deux gamètes non-réduits produits par l'hybride interspécifique ou de gamètes non-réduits produits par les deux espèces diploïdes, ou de manière indirecte par la formation d'hybrides triploïdes qui, par autofécondation ou en croisement avec l'une des espèces parentales, peuvent former des allotétraploïdes.

1.2.4 Des origines multiples

Contrairement à la vision traditionnelle qui supposait que les espèces polyploïdes résultent généralement d'un unique événement de polyploïdisation (origine monophylétique), les différentes études moléculaires menées ces dernières années démontrent au contraire que la plupart d'entre elles ont une origine multiple (Figure 13), l'événement de polyploïdisation s'étant produit à plusieurs reprises (Soltis *et al.*, 2004b). C'est notamment le cas des espèces polyploïdes du genre *Glycine*, *Draba*, *Tragopogon*, *T. miscollus* résultant même d'au moins 21 événements d'hybridation distincts entre *T. dubius* et *T. pratensis*, qui est dans la plupart des cas le parent maternel (Soltis et Soltis, 1995)(Figure 14). De la même manière, l'étude des marqueurs chloroplastiques et mitochondriaux montre que le colza (*B. napus*) est issu de plusieurs croisements réciproques entre le chou (*B. oleracea*) et la navette (*B. rapa*), cette dernière ayant alternativement servi de parent mâle ou femelle lors de l'hybridation interspécifique. Le cas de la spartine (Ainouche *et al.*, 2004b) ou du blé tendre (Levy et Feldman, 2002), qui semblent avoir une origine unique, constituent donc des exceptions.

On peut penser que la formation récurrente de formes polyploïdes permet d'élargir la base génétique de ces espèces, même si la formation d'une nouvelle espèce polyploïde passe nécessairement par un important goulot d'étranglement lié au petit nombre de génotypes impliqués (Ramsey et Schemske, 2002). Cette faible diversité génétique est vraisemblablement partiellement compensée par la dynamique importante du génome de ces espèces.

1.2.5 L'hybridation interspécifique, un carrefour évolutif

L'hybridation interspécifique est la première étape de formation des allopolyploïdes. Elle est aussi à l'origine d'un autre mécanisme de spéciation, appelé spéciation homoploïde, car elle ne conduit pas à un changement de ploïdie (Rieseberg, 1997; Templeton, 1981), mais plus généralement à des échanges génétiques entre espèces apparentées (introgressions). Elle constitue donc un mécanisme fondamental dans l'évolution des plantes. Deux revues très complètes, par Rieseberg et Carney (1998) et Hegarty et Hiscock (2005) font le tour des connaissances sur l'hybridation interspécifique. De ces différentes études se dégagent quelques idées importantes que nous retiendrons.

La fréquence d'hybridation interspécifique varie d'une famille à l'autre: de 0,4 à 1,5% au sein des *Brassicaceae*, elle peut atteindre 4 à 7,5% au sein des *Helianthus* et même 31,7% chez les *Quercus* (Rieseberg et Carney, 1998). Ces différences au sein ou entre familles tiennent bien sûr à la définition même des espèces mais aussi à l'existence et la distribution de barrières pré-zygotiques, qui limitent la formation des hybrides (*e.g.* compétition gamétique, incompatibilité pollinique, séparation géographique ou temporelle, spécificité de pollinisateurs, etc.) ou post-zygotiques, qui réduisent la viabilité ou la fertilité des hybrides (*e.g.* remaniements chromosomiques). La fertilité, la viabilité et la vigueur des hybrides interspécifiques sont très variables à la première génération ainsi que dans les suivantes, même lorsqu'elle dérive d'une seule et même plante, mais elles répondent bien à la sélection.

Les hybrides interspécifiques ne présentent pas systématiquement un phénotype intermédiaire entre celui des espèces parentales (c'est le cas de 45% des hybrides traités dans la revue de Ellstrand *et al.* (1996). Ils peuvent également présenter de nouveaux caractères transgressifs (10% des hybrides de première génération d'après Rieseberg et Ellstrand (1993). Le nombre de caractères morphologiques transgressifs s'accroît au fil des générations suivantes et peut même atteindre 30% des caractères étudiés.

L'hybridation interspécifique s'apparente à un choc génomique qui stimule la réalisation de nombreux changements géniques (élimination de séquences), transcriptionnels (nouvelles interactions) ou épigénétiques (méthylation) (Hegarty *et al.*, 2006; Hegarty et Hiscock, 2005; Lai *et al.*, 2006). Elle stimule également l'activation des éléments transposables qui peuvent eux-mêmes entraîner la survenue de nouvelles modifications structurales et fonctionnelles et participer à l'expansion du génome comme cela a été montré chez les espèces homoploïdes *Helianthus anomalus*, *H. deserticola* and *H. paradoxus* (Ungerer *et al.*, 2006). On peut noter que dans ce dernier cas l'expansion du génome n'a pas suivi immédiatement l'événement d'hybridation

interspécifique puisque la taille du génome des hybrides ne change pas entre la première et la sixième génération suivant l'événement d'hybridation interspécifique (Baack *et al.*, 2005). Une partie de ces modifications peut contribuer à l'apparition et à la fixation des caractères transgressifs observés chez les hybrides. Dans certains cas, des échanges intergénomiques peuvent également se produire au cours de la méiose des hybrides et conduire eux aussi à des variations phénotypiques transgressives par rapport aux espèces parentales, qui peuvent s'avérer avantageuses. Ainsi, dans une remarquable série d'études sur des hybrides interspécifiques au sein du genre *Helianthus*, le groupe de Loren Rieseberg a montré que (i) de nombreux réarrangements structuraux ont lieu entre les génomes des espèces progénitrices *H. petiolaris* et *H. annuus*; (ii) la fixation de ces remaniements chromosomiques (translocations) est à l'origine de caractères phénotypiques transgressifs; et (iii) ces caractères ont vraisemblablement permis à *H. anomalus*, *H. deserticola* et *H. paradoxus* de s'adapter à trois niches écologiques différentes.

En dépit de la récurrence des événements d'hybridation interspécifique au cours de l'évolution des nombreux complexes d'espèces (*Gossypium*, *Glycine*, *Gilia*, *Quercus*, *Brassica*: Cronn *et al.*, 2003; Doyle *et al.*, 2004), les cas de spéciation homoploïde restent relativement rares. Le plus souvent, le doublement du stock chromosomique permet de restaurer une meilleure fertilité et de perpétuer sur le plus long terme les événements d'hybridation interspécifique. C'est certainement une des principales raisons qui ont fait le succès des espèces polyploïdes et qui ont poussé de nombreux auteurs à s'intéresser à la dynamique du génome de ces espèces.

1.2.6 Un génome qui bouge rapidement ?

De très nombreuses études ont aujourd'hui démontré que le génome des espèces allopolyploïdes est très dynamique et qu'il subit de nombreux changements génétiques et épigénétiques, qui modifient tout à la fois la structure des génomes et l'expression des gènes. La nature, l'étendue et la vitesse à laquelle se produisent ces différents changements sont très variables d'une espèce à l'autre (Wendel, 2000b). L'objectif de cette partie n'est pas de donner un compte rendu exhaustif de la nature, de la diversité, de l'étendue ou des conséquences connues et supposées de tous ces mécanismes qui, en outre ont été très bien résumés dans des revues récentes (Adams et Wendel, 2005; Bennetzen, 2005; Chen et Ni, 2006; Comai, 2005; Soltis, 2005).

On distingue en général trois phases dans l'évolution d'un polyploïde: la phase de formation, d'établissement, puis de diploïdisation. Cette distinction est bien sûr artificielle car le processus est continu dans le temps et parce qu'il est souvent difficile de savoir *a posteriori* quand les remaniements ont eu lieu. Cette distinction reste néanmoins une façon pratique de structurer

les idées. La dynamique des génomes polyploïdes au cours de ces trois étapes peut être appréhendée par trois approches complémentaires. La première est fondée sur l'analyse de polyploïdes synthétiques formés à partir des espèces progénitrices, ou sur celle des très jeunes polyploïdes naturels (Spartine, Seneçon, Tragopogon) (Figure 14) qui permet d'étudier l'effet de la polyploïdisation sur le court terme. La seconde porte sur l'analyse des régions dupliquées au sein d'espèces polyploïdes plus ou moins récentes et permet, par comparaison avec les espèces progénitrices, d'analyser dans quelle mesure les deux génomes parentaux ont évolué sur le moyen terme depuis leur réunion. La troisième concerne l'étude du génome des espèces paléopolyploïdes qui amènent à s'interroger sur l'évolution à long terme des génomes polyploïdes. Dans les paragraphes qui suivent, je me concentrerai surtout sur les changements affectant la structure des génomes polyploïdes puisqu'ils constituent un des cœurs de cible de ma thèse. J'évoquerai plus brièvement les modifications génétiques et épigénétiques de l'expression des gènes et des génomes.

1.2.6.1 Changements précoces – Analyse des très jeunes polyploïdes et des formes synthétiques.

Si rien ne se passe, le génome d'un polyploïde récemment formé devrait être équivalent à l'addition des génomes de ses progéniteurs. Cette hypothèse « d'additivité des génomes » peut servir d'hypothèse nulle, que l'on peut tester expérimentalement pour mesurer la dynamique précoce du génome des très jeunes polyploïdes. Concernant l'évolution structurale, plusieurs auteurs ont ainsi analysé dans quelle mesure des marqueurs moléculaires spécifiques des espèces progénitrices étaient transmis de façon additive au cours des premières générations faisant suite à l'événement d'hybridation interspécifique et de polyploïdisation. Les résultats sont contrastés et montrent que la réponse immédiate à l'allopolyplodie n'est pas la même selon les taxons. On peut très schématiquement distinguer deux ensembles.

Il y a d'une part les allotétraploïdes synthétiques des genres *Brassica*, *Triticum*, *Aegilops*, et *Nicotiana*, ainsi que les hybrides *Secale* x *Triticum*, chez lesquels l'hybridation interspécifique ou l'allopolyplodie entraîne de nombreux remaniements structuraux, notamment des pertes et plus rarement des gains de séquences (Feldman *et al.*, 1997; Han *et al.*, 2005b; Kashkush *et al.*, 2002; Liu *et al.*, 1998a; Ma *et al.*, 2004; Ozkan *et al.*, 2001; Ozkan *et al.*, 2002; Ozkan *et al.*, 2003; Shaked *et al.*, 2001; Skalicka *et al.*, 2005; Song *et al.*, 1995b). Le nombre de séquences concernées par ces modifications génétiques (et épigénétiques !) peut parfois être important. Han *et al.* (2003) ont ainsi observé que 40 à 65% des profils RFLP étudiés chez des hybrides et allopolyplodes synthétiques de Triticées sont non-additifs et Ma *et al.* (2004) ont montré que près de 70% des

séquences de seigle sont rapidement éliminées au cours des premières générations d'évolution de triticales (hybrides blé-seigle) hexaploïdes et octoploïdes. Dans le détail toutefois, les types de séquences remaniées et les mécanismes responsables de ces réarrangements sont de nature différente.

D'autre part, le temps de réponse peut être différent. Ainsi, pour les allopolyploïdes synthétiques produits dans les genres *Triticum* et *Aegilops*, 7 à 15% des pertes de séquences résultent directement de l'événement d'hybridation interspécifique et peu de changements génomiques sont observés après la troisième génération d'autofécondation (Feldman *et al.*, 1997; Ozkan *et al.*, 2001; Shaked *et al.*, 2001). Au contraire, chez les *Brassica* synthétiques, très peu ou pas de pertes de séquences interviennent à la première génération et la plupart intervient après trois générations d'autofécondation (Lukens *et al.*, 2006; Song *et al.*, 1995a). D'autres études révèlent toutefois que des éliminations de séquences sont observées avec des fréquences analogues à celles observées chez le blé à la première génération d'autofécondation chez des colzas synthétiques (Chèvre, comm. pers.).

Enfin, les changements peuvent être aléatoires ou dirigés. Ainsi par exemple, si la perte de séquences codantes semble aléatoire chez des allopolyploïdes synthétiques de *Triticum* et d'*Aegilops*, certaines séquences non codantes semblent éliminées de façon dirigée. Les mêmes séquences sont en effet éliminées dans différents polyploïdes synthétiques et sont de même absentes des polyploïdes naturels (Feldman *et al.*, 1997; Han *et al.*, 2005a; Liu *et al.*, 1998a; Liu *et al.*, 1998b; Salina *et al.*, 2004; Zhang *et al.*, 2004). De plus, les pertes de séquences peuvent affecter différemment les deux génomes progéniteurs (Feldman *et al.*, 1997; Ozkan *et al.*, 2001). Ainsi, dans un allopolyploïde synthétique produit entre *Ae. sharonensis* et *Ae. umbellulata* 14% des locus de *Ae. sharonensis* sont éliminés alors que ce n'est le cas que de seulement 0,5% des locus de *Ae. umbellulata* (Ozkan *et al.*, 2001). Dans cet exemple, l'élimination préférentielle des marqueurs apportés par *Ae. sharonensis* ne dépend ni du sens de croisement, ni du génotype. Song *et al.* (1995) ont au contraire montré en comparant des allopolyploïdes synthétiques de *Brassica juncea* produits à partir de croisements réciproques entre *B. rapa* et *B. nigra* que ce sont les séquences du parent paternel qui sont préférentiellement éliminées. Les mêmes auteurs montrent également dans la même étude que le sens du croisement n'affecte pas le niveau et le sens des éliminations chez des colzas synthétiques qui sont pourtant très proches des *B. juncea* considérés préalablement ! Des éliminations dirigées de séquences répétées ont également été observées sur l'un des génomes de formes synthétiques de *Nicotiana* (Skalicka *et al.*, 2005).

Contrairement à ces exemples, très peu de remaniements structuraux semblent accompagner

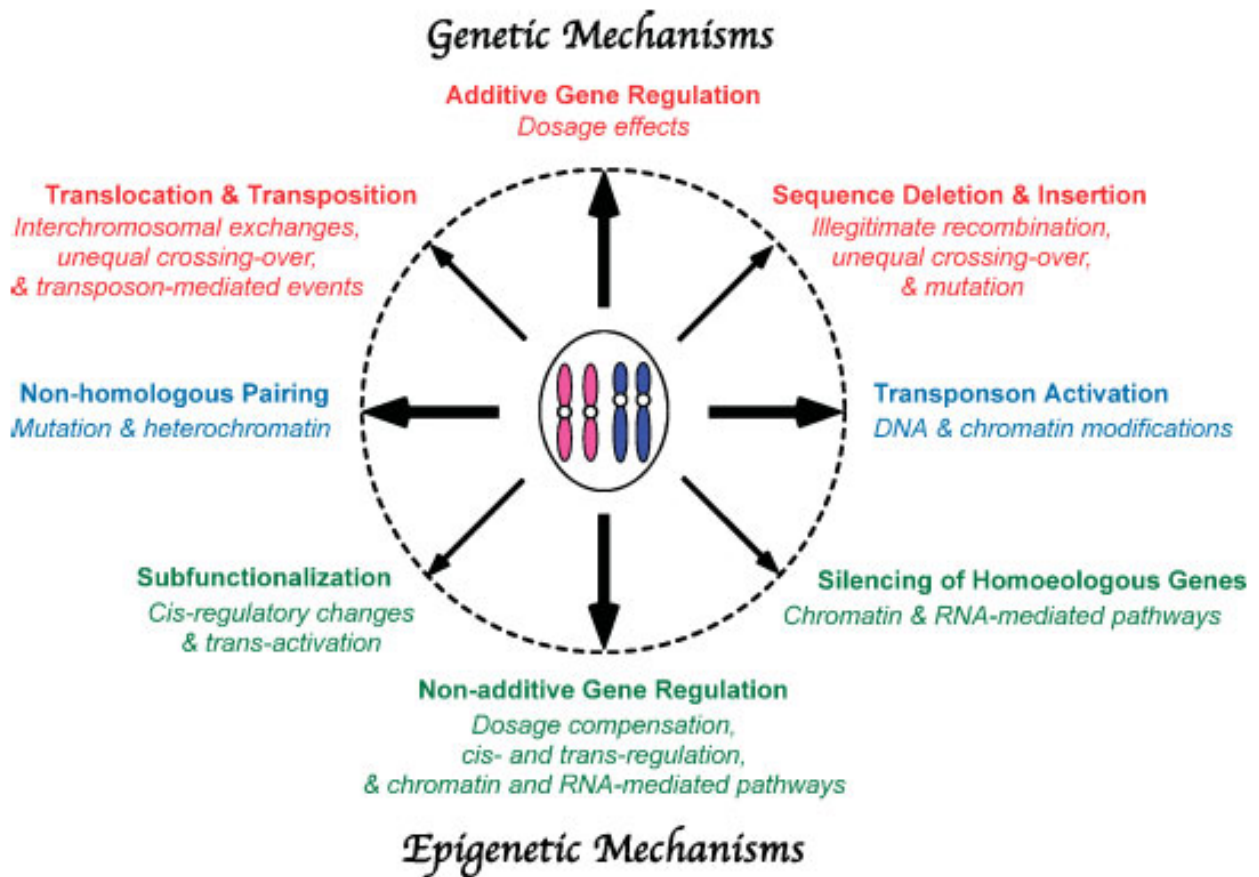


Figure 15 : Les différents mécanismes moléculaires à l'origine des changements génétiques et épigénétiques. D'après Chen et Zhongfu (2006)

l'hybridation interspécifique ou l'allopolyplœdie chez les très jeunes espèces des genres *Spartina* et *Tragopogon*, ainsi que chez les cotons synthétiques (Ainouche *et al.*, 2004a; Liu *et al.*, 2001; Pires *et al.*, 2004a; Salmon *et al.*, 2005). En revanche, chez les spartines, de très nombreuses modifications épigénétiques ont été détectées puisque près de 30% des séquences parentales sont différenciellement méthylées chez la forme allopolyplœide (Salmon *et al.*, 2005). On ne constate en revanche pas d'évolution notable des patrons de méthylation à l'échelle du génome chez les cotons synthétiques (Liu *et al.*, 2001).

Les fréquences de changements génomiques chez les allopolyplœides synthétiques d'*Arabidopsis suecica* sont intermédiaires (~1%) entre ces deux groupes et surtout très variables, les régions contenant les ADN ribosomiques étant très fortement réarrangées (Madlung *et al.*, 2005; Pontes *et al.*, 2004).

Conjointement, ou indépendamment de ces modifications de la structure des génomes, une modification des profils de transcription a également été documentée chez les très jeunes polyploïdes et les formes synthétiques (Bottley *et al.*, 2006). Kashkush *et al.* (2002.) rapportent ainsi que sur 3072 gènes analysés chez un blé synthétique, 48 voient leur transcription réprimée, et 12 sont activés en comparaison avec les progéniteurs diploïdes. Des taux de répression et d'activation de la transcription de l'ordre de 5% chacun ont également été observés chez *Tragopogon miscellus* (Soltis *et al.*, 2004a; Tate *et al.*, 2006), *Senecio cambrensis* (Hegarty *et al.*, 2006; Hegarty et Hiscock, 2005) et chez des formes synthétiques d'*Arabidopsis suecica* avec des taux plus faibles (Lee *et al.*, 2001; Wang *et al.*, 2006). De même, 5% des transcrits analysés chez un coton synthétique AAGG présentent une suppression partielle ou totale de leur expression (Adams *et al.*, 2004). On peut aussi noter que des modifications immédiates de l'expression d'une dizaine de gènes homéologues ont également été observées chez l'allotétraploïde *Gossypium hirsutum*, l'activité transcriptionnelle d'un gène au détriment de l'autre dépendant des tissus considérés (sous-fonctionnalisation ; (Adams *et al.*, 2004)).

Au fil du temps, de nombreuses hypothèses ont été faites quant aux mécanismes moléculaires susceptibles d'être à l'origine des remaniements structuraux observés (Figure 15).

Dans certains cas, des démonstrations plus formelles de l'implication de certains mécanismes ont été apportées. Les échanges intergénomiques au cours de la méiose constituent ainsi l'origine probable d'une bonne partie des pertes de séquences observées chez les *Brassica* synthétiques (Sharpe *et al.* 1995, Pires *et al.*, 2004 ; Udall *et al.*, 2006), bien que certaines résultent

aussi de délétions ou de changements de méthylation (Lukens *et al.*, 2006; Song *et al.*, 1995a). Les conversions géniques ou les crossing-overs inégaux sont les mécanismes les plus souvent invoqués pour expliquer l'évolution, parfois concertée (Wendel *et al.*, 1995 ; Belyayev *et al.*, 2000 ; Wendel 2000) des séquences d'ADN répétées en tandem (comme les ADN ribosomiaux). Je reviendrai sur les détails moléculaires de ces mécanismes dans les parties I.3.1.3 et I.3.1.4). Il est de même probable que l'activation des éléments transposables (qui a été démontrée chez des formes synthétiques de blé ou d'*Arabidopsis suecica* (Kashkush *et al.*, 2003; Madlung *et al.*, 2005) pourrait faciliter la réorganisation du génome en dispersant celui-ci de nombreuses séquences susceptibles de servir de matrice pour des recombinaisons ectopiques (Montgomery *et al.*, 1991). La réactivation des éléments transposables pourrait être liée à un remodelage de la chromatine et/ou à des changements de méthylation des génomes lors de l'hybridation interspécifique (Madlung et Comai, 2004; Madlung *et al.*, 2002). Il a également été démontré que l'activation transcriptionnelle des rétrotransposons peut contribuer à modifier l'activité des gènes adjacents (Kashkush *et al.*, 2003). Il est de même admis que des changements épigénétiques de la conformation de la chromatine ou des patrons de méthylation constituent des réponses rapides au choc génomique produit par la réunion de deux génomes différents suite à l'hybridation interspécifique (Lukens *et al.*, 2006; Madlung *et al.*, 2002; Rapp et Wendel, 2005; Salmon *et al.*, 2005; Shaked *et al.*, 2001; Wang *et al.*, 2004; Lukens *et al.*, 2006). Ces modifications structurales, dont la fréquence est très variable selon les taxons, pourrait induire la mise sous silence de certains gènes et contribuer ainsi à l'altération de l'expression observée dans les génomes des néopolyploïdes. D'autres mécanismes, comme les ARN interférents, pourraient jouer un rôle important dans la régulation de l'expression des gènes dupliqués et notamment dans la mise sous silence réciproque des gènes homéologues et dans la sub-fonctionnalisation des copies homéologues (Chen et Ni, 2006; Kashkush *et al.*, 2003).

1.2.6.2 Evolution à moyen terme – Comparaison entre les polyplœïdes et leurs progéniteurs contemporains.

L'analyse des génomes des espèces allopolyploïdes contemporaines montre qu'ils présentent souvent les stigmates d'une évolution structurale plus ou moins prononcée.

La présence de translocations intergénomiques semble relativement courante chez les espèces allopolyploïdes. L'analyse par FISH de trois génotypes de *Nicotiana tabaccum* démontre la

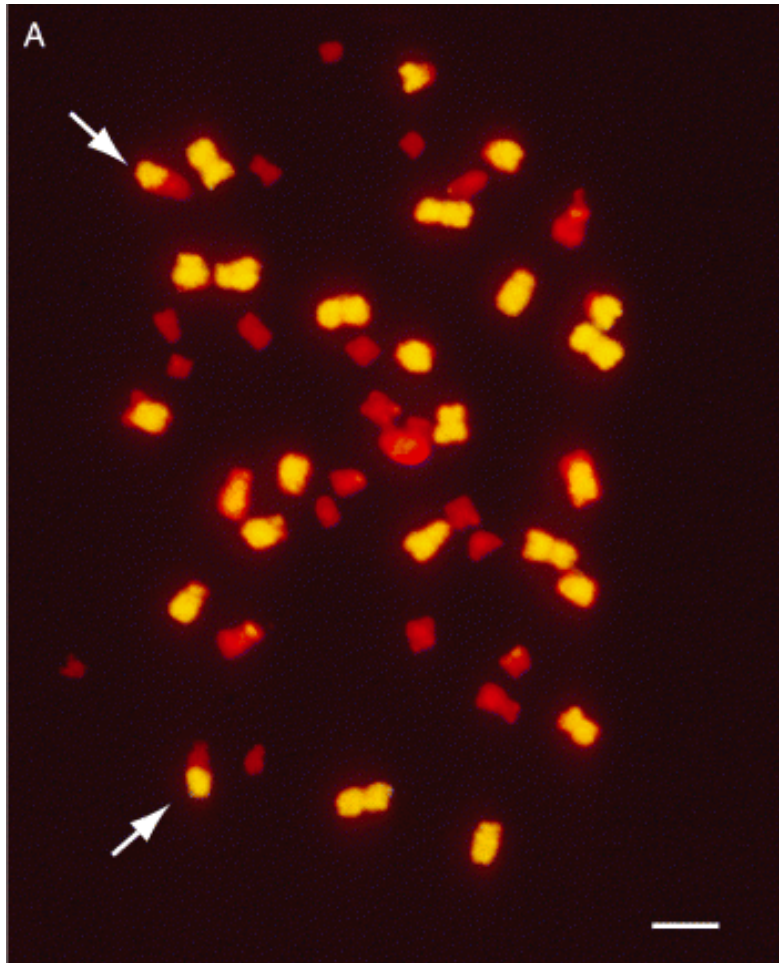


Figure 16 : Recombinaisons intergénomiques chez le tabac. D'après Leitch et Bennett (1997).

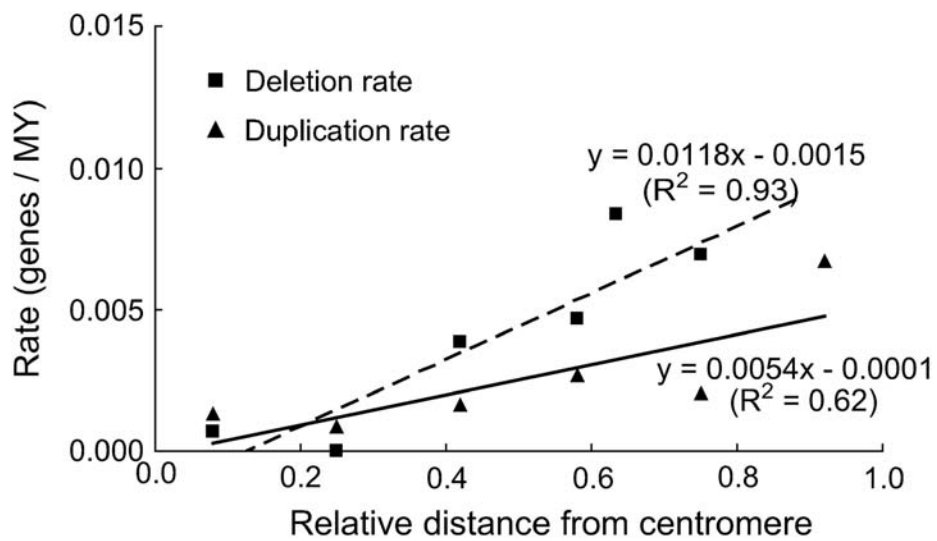


Figure 17 : Taux de pertes et de duplications des gènes en fonction de la distance au centromère chez le blé. D'après Akhunov *et al.*, (2003).

présence de neuf translocations réciproques et non réciproques, une seule étant commune au trois génotypes analysés (Leitch et Bennett, 1997)(Figure 16). Des translocations ont également été détectées chez le blé (Badaeva *et al.*, 1994; Friebe *et al.*, 1996; Joppa *et al.*, 1995; Lange *et al.*, 1987), le coton (Brown *et al.*, 1981; Menzel *et al.*, 1986), le colza (Lombard et Delourme, 2001; Piquemal *et al.*, 2005; Udall *et al.*, 2006), *Avena sativa* et *A. marocanna* (Leggett *et al.*, 1994; Linares *et al.*, 2000; Leitch et Bennett, 1997a). Tandis que certaines translocations sont communes à tous les génotypes d'une espèce donnée et ont donc été vraisemblablement fixées au cours de l'évolution de cette espèce, d'autres ne sont observées que pour une partie des génotypes, ce qui indique qu'il existe un polymorphisme structural au sein de la plupart des espèces allopolyploïdes (Jiang et Gill, 1994). On peut, comme Pires *et al.* (2004), faire l'hypothèse que les translocations communes à tous les génotypes d'une espèce ont été générées lors de la phase de formation des polyploïdes ou peu après. On ne sait pas par contre si les translocations encore polymorphes ont été générées lors de cette même étape et n'ont pas été encore fixées, ou si elles ont été produites ultérieurement.

La mobilisation des éléments transposables peut également stimuler l'évolution structurale entre les génomes d'un polyploïde et ceux de ses progéniteurs. Zhao *et al.*, (1998) et Hanson *et al.*, (1998) ont ainsi montré que des séquences spécifiques du génome A chez les *Gossypium*, parmi lesquelles on compte de nombreux éléments transposables, ont envahi le génome D de l'espèce allotétraploïde *G. hirsutum*. De même, d'importantes restructurations des populations de rétroéléments ont été observées chez le tabac (Petit 2006).

Chez le blé, des délétions et des duplications plus ponctuelles sont couramment détectées (26 délétions pour 155 locus analysés ; Dvorak *et al.*, 2004) et semblent assez bien corrélées avec la position sur le génome et la fréquence de recombinaison homologue (qui sont elles mêmes très interdépendantes). Ainsi, la perte de gènes est plus rapide dans les régions distales, fortement recombinogènes que dans les régions plus proximales où il y a peu de crossing-overs (Dvorak *et al.*, 2004)(Figure 17). Il semble de même que le degré de synténie entre chromosomes homéologues décline au fur et à mesure que l'on se rapproche des télomères (Akhunov *et al.*, 2003b) et il est possible que cette divergence localisée entre homéologues contribue à leur reconnaissance et à leur tri. Récemment, Dvorak et Akhunov (2005) ont mesuré le tempo de pertes et de duplications chez le blé (en le comparant à la séquence de ses progéniteurs) et estimé que les délétions se faisaient à un taux de $1,8 \times 10^{-2}$ par locus et par million d'années (contre $2,1 \times 10^{-3}$ chez les diploïdes) alors que les duplications avaient lieu à un taux de $1,8 \times 10^{-3}$ par locus et par million d'années (contre $2,9 \times 10^{-3}$ chez les diploïdes). On connaît mal les mécanismes à l'origine de ces délétions mais il est

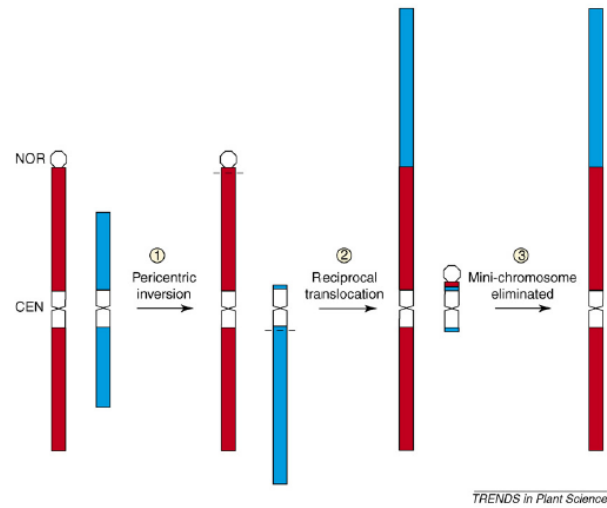


Figure 18 : Evolution du nombre de chromosomes par inversion paracentrique et translocation.
D'après Schranz *et al.* (2006a).

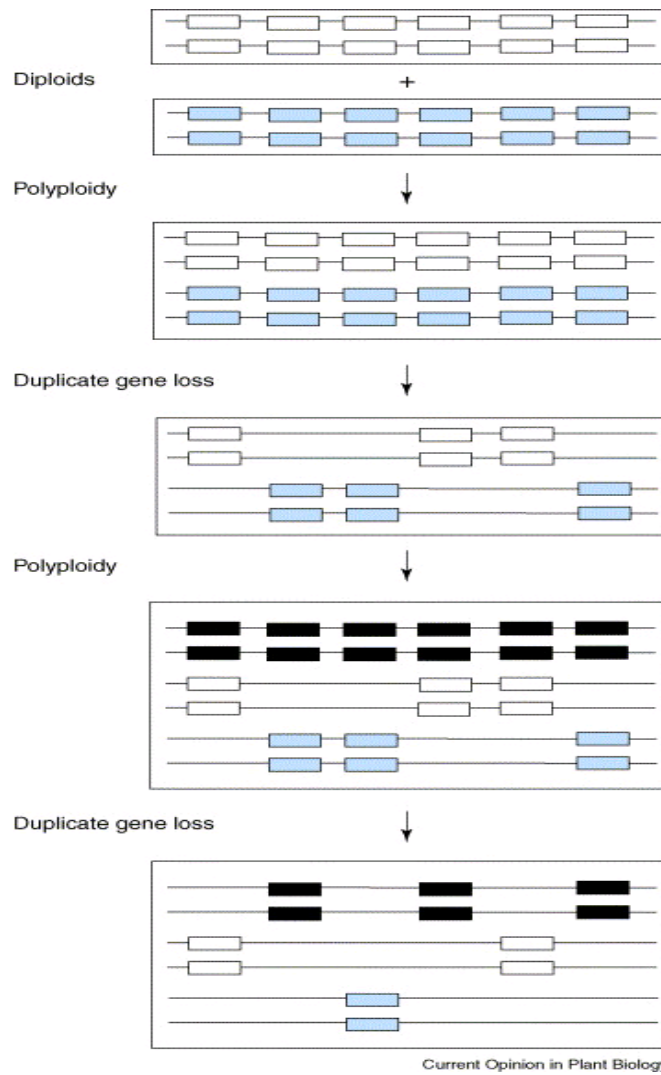


Figure 19 : Cycle de polypléidisation – diploïdisation. Au cours de ce cycle, les gènes sont dupliqués puis perdus conduisant à la formation et à la réorganisation de l'ordre des gènes dans le génome. D'après Adams et Wendel (2005)

possible qu'une partie d'entre elles résulte de recombinaisons illégitimes intra-chromosomiques en lien avec l'insertion d'éléments transposables comme cela a été proposé dans le cas du locus Hardness (Chantret *et al.*, 2005).

Ces pertes répétées de gènes constituent un des mécanismes à l'origine du phénomène plus global de diploïdisation des espèces polyploïdes.

1.2.6.3 Evolution à long terme – réversion vers la diploïdie

L'ensemble des modifications structurales et fonctionnelles que connaît un génome polyploïde au cours de son évolution lui permet de retourner progressivement vers un état diploïde. Cette réversion se fait ou s'accompagne d'une réduction de la taille relative des génomes et du nombre de gènes (Figure 19).

On peut d'une part constater que chez certaines espèces, ou dans certaines familles, le retour vers la diploïdie s'accompagne d'une restructuration importante des chromosomes et du caryotype suite à de nombreuses fissions et fusions de chromosomes. Ce type d'évolution a notamment été décrit chez les *Brassica* diploïdes (*B. nigra*, *B. oleracea* et *B. rapa*) (Lagercrantz et Lydiate, 1996a) (voir I.4.2) et comme l'explique Lagercrantz (1998), l'évolution structurale dans cette famille de crucifères semble particulièrement rapide. Des mécanismes assez similaires semblent également avoir contribué au passage d'une espèce à $n=8$ telle que *Arabidopsis lyrata* ou *Capsella rubella* à une espèce à $n=5$ telle que *Arabidopsis thaliana* (Lysak *et al.*, 2006b; Schranz *et al.*, 2006a) (Figure 18 - voir I.1.2.1).

L'analyse des régions dupliquées au sein des génomes paléopolyploïdes démontre sans ambiguïté que la plupart des gènes dupliqués sont progressivement perdus au cours de l'évolution (Adams et Wendel, 2005; Lynch et Conery, 2000). Ainsi, les régions paralogues au sein du génome du chou (Town *et al.*, 2006) ou de la navette (Yang *et al.*, 2006a) qui ont été dupliquées il y a environ 13 à 17 millions d'années ont perdu près de 25% des gènes qu'elles partageaient au départ (voir I.4.2). De même, environ 15% des gènes de levure sont encore membres d'une paire de gènes dupliqués localisée dans des régions elles-mêmes dupliquées (Seoighe et Wolfe 1999). Ces pertes de gènes ne semblent pas se faire de façon complètement aléatoire mais elles concernent parfois une région dupliquée plutôt qu'un autre (Thomas *et al.*, 2006).

Une analyse plus exhaustive révèle toutefois que certaines catégories de gènes, notamment ceux impliqués dans des complexes multi-protéiques ou dans les régulations sont préférentiellement retenus (Thomas *et al.*, 2006).

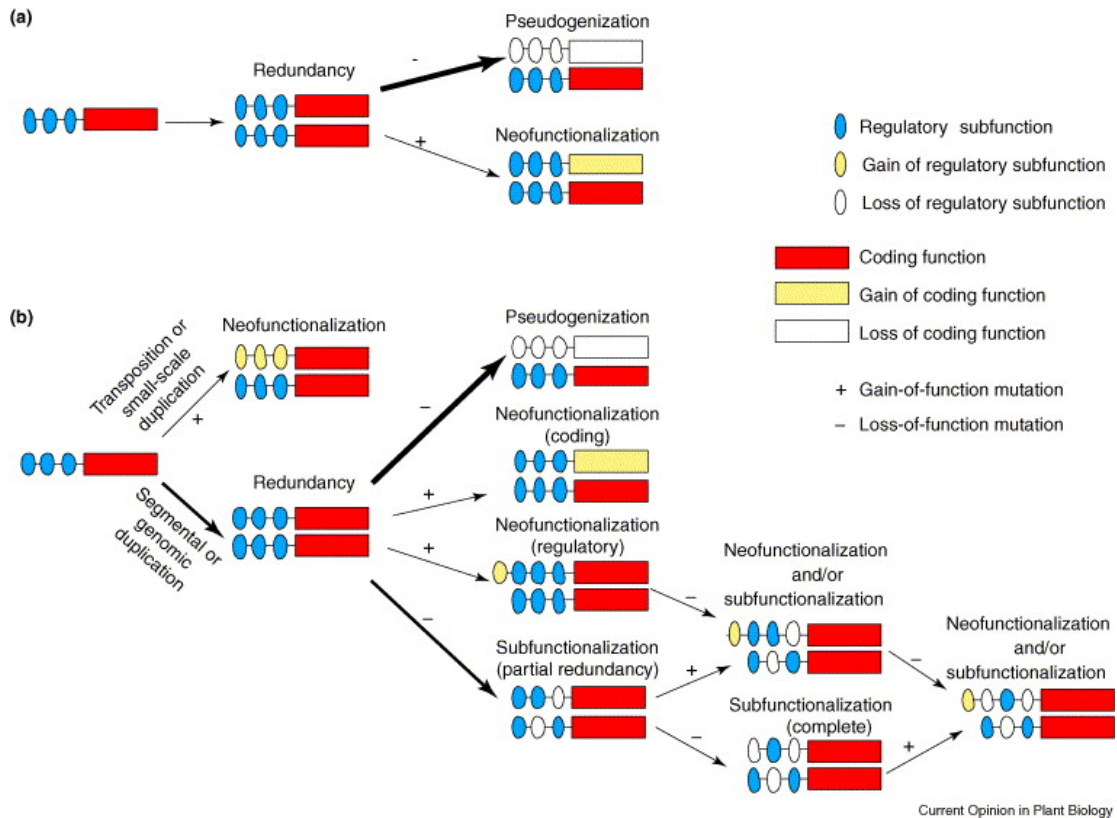


Figure 20 : Devenir des gènes dupliqués chez les espèces polyploïdes. D'après Moore et Purugganan (2005)

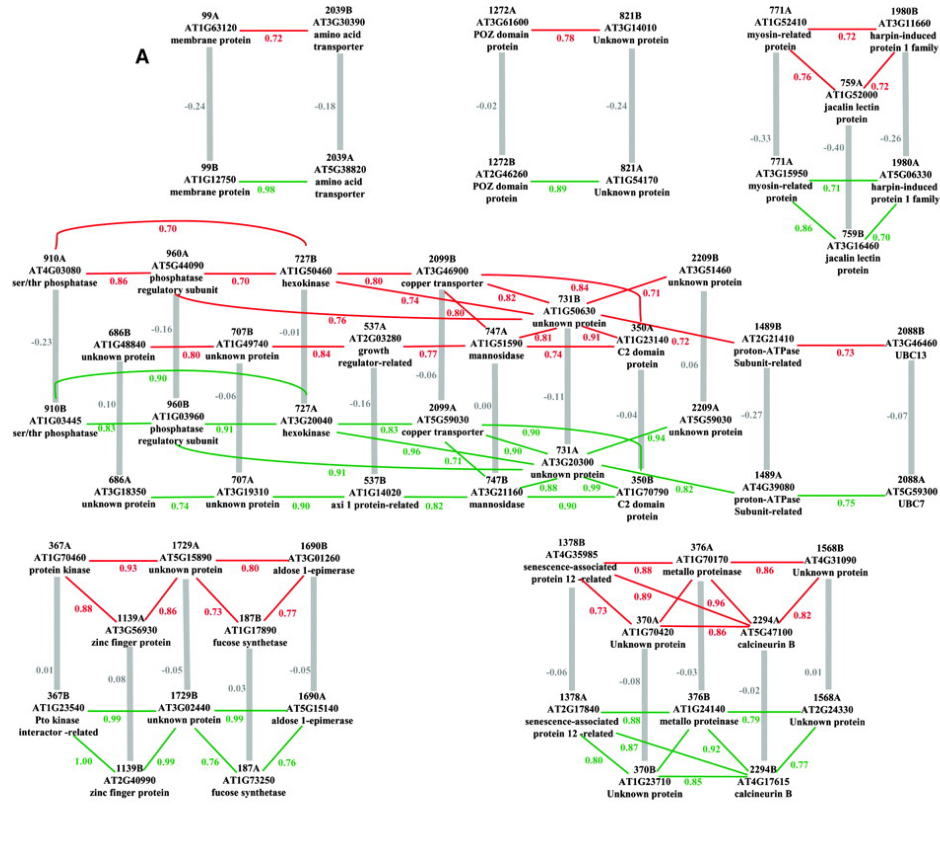
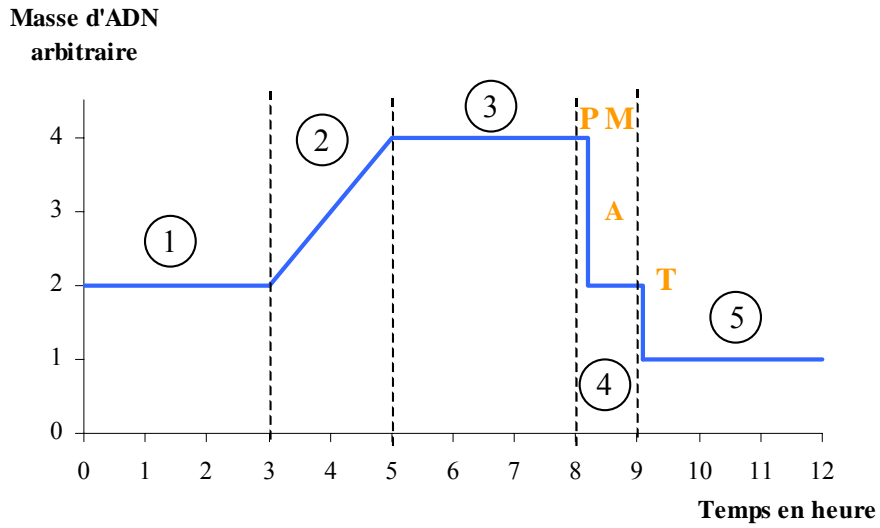


Figure 21 : Divergence fonctionnelle et concertée de réseaux de gènes paralogues. Les corrélations pour l'expression des différentes copies de gènes paralogues sont indiqués à côté des traits. D'après Blanc *et al.*, (2004a)

Ainsi donc, selon leur fonction, leur position ou les aléas, un gène dupliqué suite à un événement de polyploïdie peut avoir plusieurs « destins » (Figure 20)(Moore et Purugganan, 2005) :

- les copies homéologues continuent à s'exprimer de façon additive sans que leur profil d'expression n'ait évolué par rapport à celui qu'elles ont chez les progéniteurs,
- un des deux gènes est éliminé (perte de gènes) ou sa séquence est altérée (pseudogénéisation). Ce scénario est certainement le plus vraisemblable et s'explique par le fait que la redondance d'information initiale contribue à relâcher les pressions de sélection sur une des deux copies, favorisant l'accumulation de mutations puis son élimination,
- on peut aussi imaginer que certaines mutations peuvent avoir un effet « bénéfique » et conduire à l'acquisition d'une nouvelle fonction (on parle alors de néo-fonctionnalisation),
- enfin, les copies homéologues peuvent se spécialiser et s'exprimer différemment selon les tissus ou le stade de développement (sous-fonctionnalisation) en lien avec une altération des régions régulatrices. Il existe de nombreux exemples de gènes dupliqués ayant acquis une « spécialisation ». On peut par exemple citer le cas des gènes *Dmc1* et *Rad51* qui codent tous les deux des recombinaisons correspondant à la protéine RecA d'*Escherichia coli*. Si *Rad51* est impliqué dans la réparation de toutes les cassures double-brins dans les cellules somatiques et méiotiques, *Dmc1* n'a de rôle que durant la méiose. Cette protéine semble de plus avoir acquis une spécialité supplémentaire : elle inhibe la recombinaison sur la chromatide sœur (voir I.3.1.3).

Le maintien « à l'identique » des copies homéologues est peu probable sur le long terme mais il peut contribuer à mettre en place de réseaux de régulation et d'interaction plus complexes et à créer un effet dosage ou à « fixer l'hétérozygotie ». La néo-fonctionnalisation et la sous-fonctionnalisation permettent elles aussi d'expliquer la rétention des gènes dupliqués (Adams et Wendel, 2005). Bien que certains auteurs proposent que la néo-fonctionnalisation prenne place immédiatement après la polyploïdisation, il est plus vraisemblable que l'évolution de la fonction des gènes, et de réseaux de gènes participant à la même voie métabolique, est un processus lent car elle nécessite la mutation et la co-évolution de nombreux gènes (Adams et Wendel, 2005). Cette divergence fonctionnelle et concertée de réseaux gènes a été observée chez *A. thaliana*, les auteurs montrant que les expressions des gènes entre des réseaux de gènes paralogues sont peu ou pas corrélées (Blanc et Wolfe, 2004a)(Figure 21).



- | | |
|---|---|
| ① Cellule diploïde à 2n chromosomes monochromatidiens | ④ Méiose: passage à une cellule à n chromosomes bichromatidiens |
| ② Synthèse d'ADN = duplication | ⑤ Cellule haploïde à n chromosomes monochromatidiens |
| ③ Cellule diploïde à 2n chromosomes bichromatidiens | |

Figure 22 : Evolution de la quantité d'ADN au cours des différentes étapes de la méiose. P: prophase, M: métaphase, A: anaphase, T: télophase

Ainsi, à la réorganisation rapide des génomes lors des premières générations suivant la formation d'un hybride interspécifique ou d'un polyploïde succède un lent processus de réorganisation qui va conduire cet hybride ou ce polyploïde à retrouver un comportement de diploïde, ne conservant sur le long terme que les aspects positifs qui ont vu le jour lors de la réunion et de l'évolution « concertée » des différents génomes. Les mécanismes présidant à cette réorganisation sont relativement mal connus. Toutefois, il apparaît que la méiose, en générant de très nombreuses cassures double-brins sur les chromosomes, joue un rôle important dans cette réorganisation des génomes en stimulant les remaniements.

I.3 LA RECOMBINAISON MEIOTIQUE, UN MECANISME IMPORTANT DANS LA REORGANISATION DES GENOMES

La méiose est le processus biologique par lequel une cellule diploïde ($2n$), contenant deux jeux de chromosomes homologues, l'un maternel, l'autre paternel, donne naissance à une cellule haploïde (n), possédant un unique jeu de chromosomes recombinants (Figure 22). Cette cellule haploïde se développe par la suite en gamète. La fusion d'un gamète mâle et d'un gamète femelle lors de la fécondation rétablit le niveau de ploïdie ($2n$) et donne naissance à un nouvel individu. La méiose est donc un événement central dans le cycle de vie des eucaryotes à reproduction sexuée. Elle assure en outre un double brassage de l'information génétique, en réassortissant les chromosomes maternels et paternels au cours de leur ségrégation et en induisant des échanges entre chromosomes homologues par le biais de la recombinaison méiotique.

La stratégie retenue par l'évolution pour obtenir une ségrégation correcte des chromosomes est simple : regrouper pour mieux séparer. Cette stratégie implique que les chromosomes homologues se reconnaissent précocement et qu'ils recombinent afin d'être correctement séparés lors de la méiose. Cette étape est plus compliquée chez les espèces polyploïdes du fait de la présence de plusieurs jeux de chromosomes apparentés (chromosomes homologues et homéologues) qui présentent souvent suffisamment de similitudes pour se reconnaître et recombiner. Je rappellerai donc brièvement les principales étapes et les principaux mécanismes intervenant au cours de la méiose et de la recombinaison chez un organisme diploïde, puis je montrerai en quoi la méiose des espèces allopolyploïdes a réclamé des adaptations.

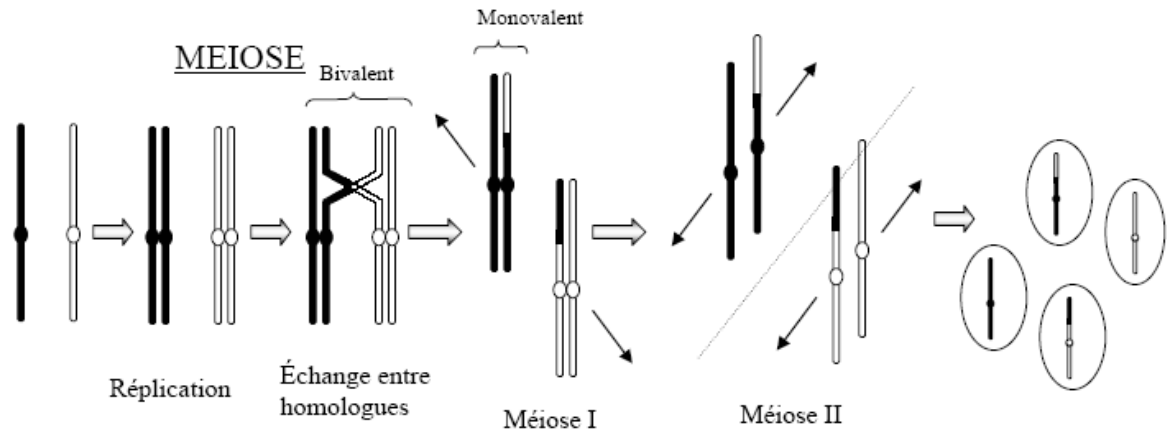


Figure 23 : Représentation schématique de la ségrégation des chromosomes en méiose. Lors de la méiose les chromosomes sont répliqués (phase S), s'apparient et forment des chiasmas. Ensuite, les homologues puis les chromatides soeurs se séparent au cours de deux divisions successives donnant naissance à 4 cellules filles.

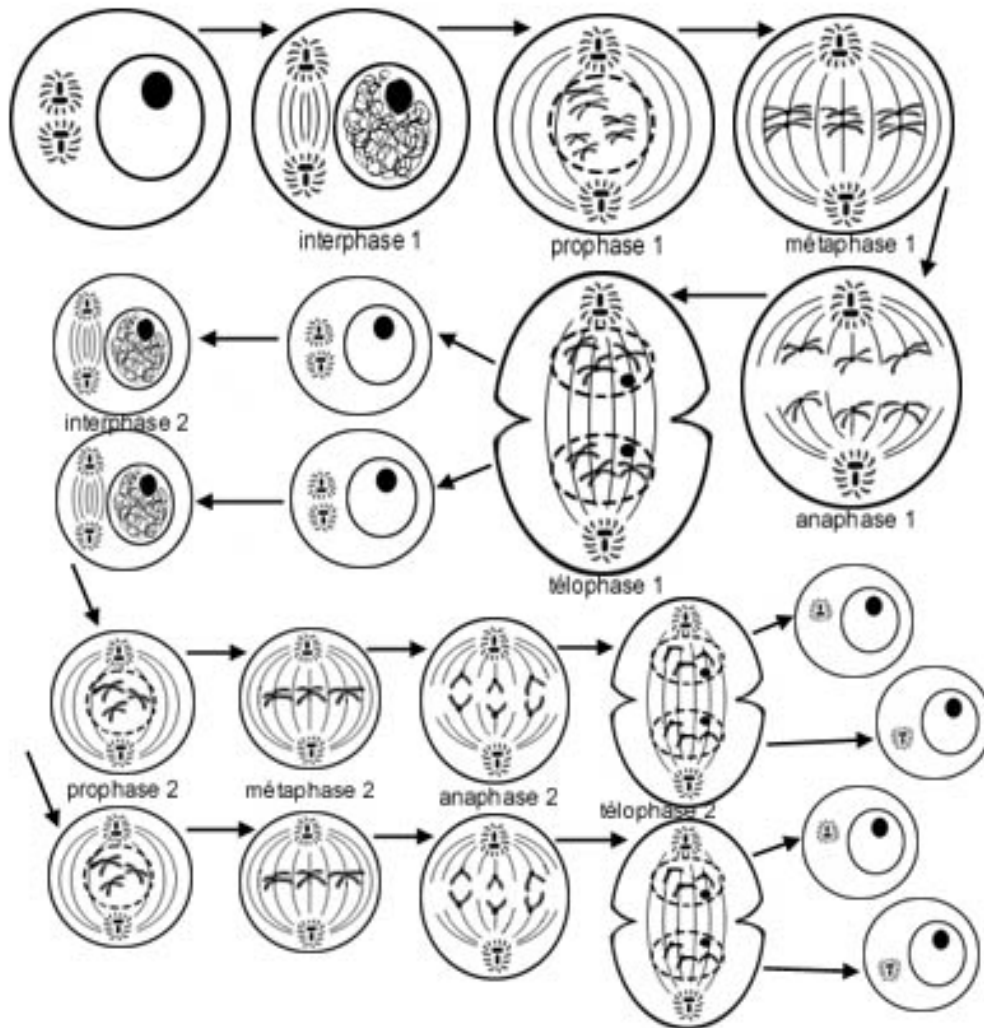


Figure 24 : Les différentes étapes de la méiose : le ballet chromosomique des chromosomes au cours des différentes étapes de la méiose pour une cellule ($2n=6$)

1.3.1 Méiose et recombinaison méiotique chez un diploïde

Je vais expliciter rapidement le ballet des chromosomes à la méiose conduisant à la ségrégation, ainsi que le processus de recombinaison méiotique, avant de montrer que les deux phénomènes sont imbriqués.

1.3.1.1 *Le ballet méiotique, réunir pour mieux séparer*

La méiose consiste en une réplication de l'ADN suivie de deux divisions cellulaires successives. Les chromosomes homologues sont répliqués durant la phase S pré-méiotique. Au cours de la première division de méiose, les chromosomes homologues se reconnaissent, s'associent par paires et recombinent, forment des bivalents puis migrent dans des directions opposées le long des fuseaux achromatiques. Cette première division méiotique est dite réductionnelle puisqu'elle divise le nombre de chromosomes par deux. A leur tour, les chromatides sœurs se séparent et ségrégent au cours de la seconde division, dite équationnelle, qui s'apparente à une mitose classique (Figure 23).

Chaque division comprend quatre étapes successives : la prophase, la métaphase, l'anaphase et la télophase. A partir d'observations cytologiques sur les ovaires de lapin, Von Winiwarter décomposa la chronologie de la prophase I, l'étape la plus complexe de la méiose, en cinq sous étapes : le leptotène, le zygotène, le pachytène, le diplotène et la diacinèse. Des observations ultérieures permirent de préciser chacune de ces étapes, très conservées chez les eucaryotes supérieurs à reproduction sexuée. (Anderson et Stack, 2002) (Figure 24).

1.3.1.2 *La prophase de première division méiotique*

La prophase de première division de méiose est l'étape au cours de laquelle les chromosomes s'individualisent, se reconnaissent et recombinent (Figure 25).

Au sortir de la phase S pré-méiotique de réplication de l'ADN, les chromosomes sont formés de deux chromatides sœurs parfaitement identiques, reliées entre elles par le centromère et maintenues ensemble par des cohésines sur toute leur longueur. Chez de nombreuses espèces (mais pas chez toutes), les chromosomes sont polarisés, avec les centromères en cluster d'un côté et les télomères associés plus ou moins lâchement de l'autre. Cette configuration, appelé Rab1, résulte de la migration des centromères à un même pôle lors de l'anaphase précédant la méiose.

Au stade leptotène, les chromosomes se condensent et s'individualisent progressivement sous forme de minces filaments (Figure 25). Un complexe protéique, appelé élément axial, se met

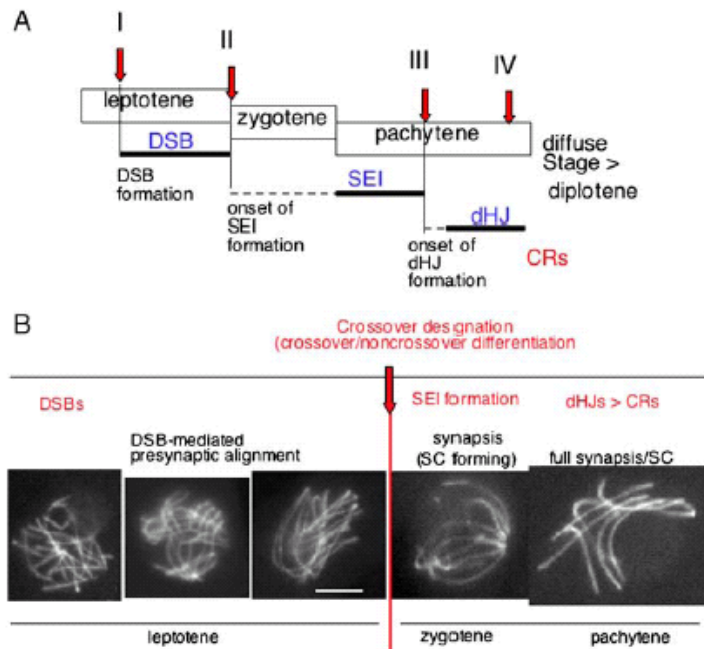


Figure 25 : Chronologie des différentes étapes dans la formation des crossing-over et du complexe synaptonémal au cours de la prophase I avec les différents intermédiaires produits ; DSB = cassures double-brins ; SEI = invasion simple brin ; dHJ = double jonction de holiday, SC = complexe synaptonémal ; CRs = crossing-over ; D'après Kleckner (2006).

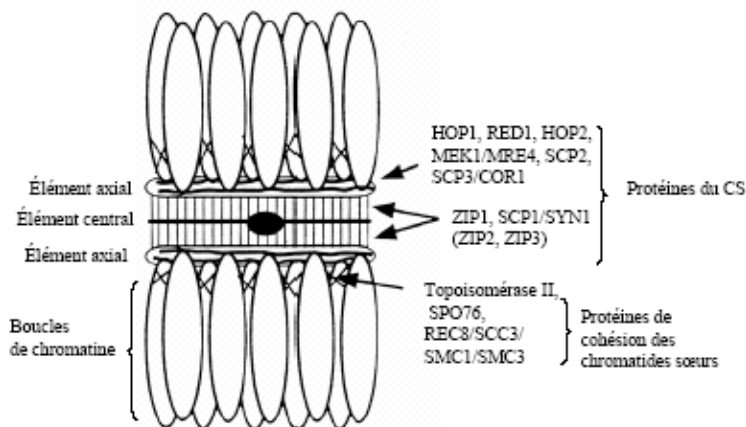


Figure 26 : Représentation schématique du bivalent au pachytène. Les différentes protéines impliquées dans la réalisation du complexe synaptonémal (CS) et la cohésion des chromatides sœurs. D'après Mercier (2001)

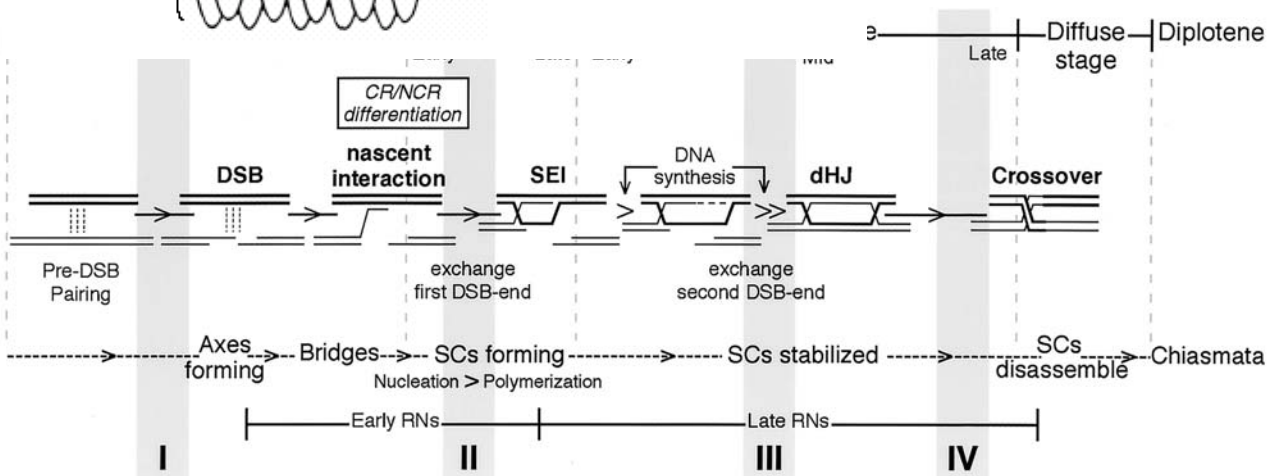


Figure 27 : Représentation schématique des différentes étapes de la recombinaison et de la formation du complexe synaptonémal durant le prophase I méiose (Hunter et Kleckner, 2001). SC= complexe synaptonémal, RN = nodule de recombinaison ; DSB= cassure double brins ; SEI Envahissement simple brins ; dHJ double jonction de holliday

en place le long de chaque chromosome entre les chromatides sœurs, à partir duquel des boucles de chromatines s'étendent dans toutes les directions (Moens, 1988)(Figure 26). Dans le même temps, les télomères des chromosomes s'attachent à la membrane nucléaire et se regroupent progressivement pour former un « bouquet télomérique » chez la plupart des espèces (Bass *et al.*, 2000; Martinez-Perez *et al.*, 1999; Scherthan, 2007)(Figure 25), mais à l'exception semble-t-il d'*A. thaliana* (Armstrong *et al.*, 2001) chez qui les télomères se regroupent sur le pourtour de l'organisateur nucléolaire. Au milieu du leptotène, des nodules précoces de recombinaison (EN) (Figure 27), d'environ 50 à 200 nm, commencent à apparaître le long des éléments axiaux (Anderson *et al.*, 2001) et « marquent » les sites où la recombinaison est initiée. En fin de leptotène, les chromosomes homologues apparaissent relativement proches (>300 nm), et alignés sans pour autant être appariés, on parle alors d'alignement présynaptique (Loidl, 1990)(Figure 25 et Figure 27).

La transition entre le leptotène et le zygotène est marquée par le début de la formation du complexe synaptonémal (revue par Kleckner, 2006)(Figure 25 et Figure 27). Il s'agit d'un complexe multiprotéique qui unit progressivement les paires de chromosomes homologues, mais qui peut aussi se former entre des chromosomes non-homologues (Jimenez *et al.*, 1994) (Figure 26). Chaque complexe synaptonémal est constitué de deux éléments latéraux (EL), qui correspondent aux éléments axiaux de l'étape précédente, d'un élément central formé à équidistance des deux EL et de fibres transversales reliant les EL à l'élément central (Figure 26). La distance entre les deux chromosomes homologues est alors d'environ 100 nm (Zickler, 2006). Plusieurs études suggèrent que le complexe synaptonémal est initié au niveau des télomères et des cassures double-brins destinées à former des crossing-overs (CO) (Anderson et Stack, 2005; Zickler, 2006). La formation du complexe synaptonémal dépend en effet de la formation des cassures doubles brins chez de nombreux organismes, comme la levure, *A. thaliana*, la souris ou *Sordaria* (Zickler, 2006).

Le pachytène débute lorsque les chromosomes homologues sont complètement appariés l'un à l'autre, c'est-à-dire lorsque le complexe synaptonémal s'étend sur la toute la longueur de chaque paire de chromosomes homologues. La plupart des nodules précoces de recombinaison disparaissent peu après le début du pachytène et il ne reste plus au milieu de celui-ci qu'un faible nombre de nodules, appelés alors nodules tardifs de recombinaison (LN) et qui sont associés au complexe synaptonémal (Figure 27). Le nombre et la localisation des LN sont très fortement corrélés avec les événements de crossing-over, qui marquent l'un des aboutissements du processus de recombinaison.

Au diplotène, les complexes synaptonémaux se dépolymérisent progressivement (Figure 27). C'est la conjonction entre la présence systématique de crossing-overs (Jones, 1984), visualisables en

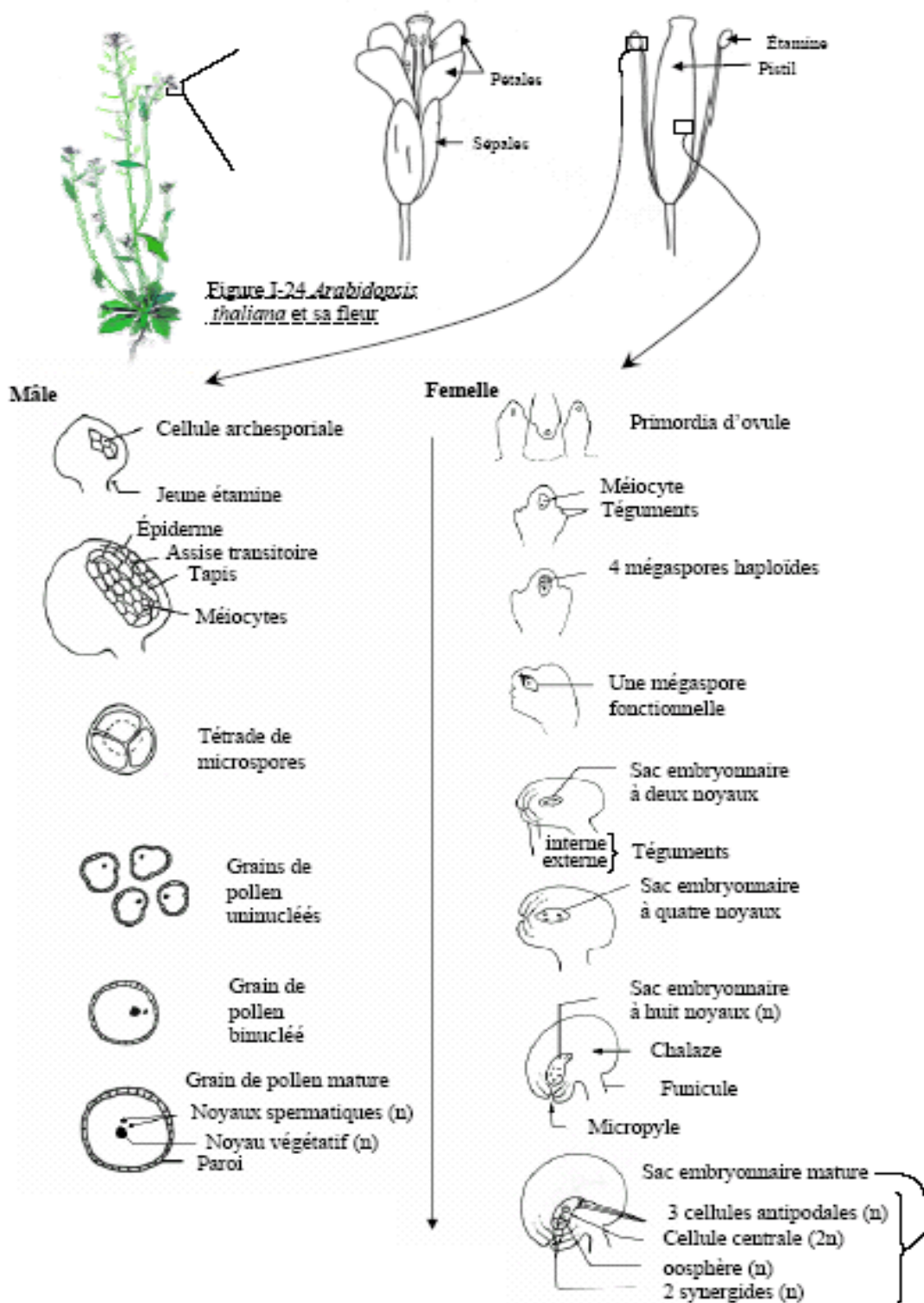


Figure 28 : Sporogénèse et gamétogénèse chez *Arabidopsis thaliana*. D'après Mercier et al. (2001)

cytologie sous forme de chiasmas, et la cohésion des chromatides sœurs qui maintient associés les chromosomes homologues sous forme de bivalents.

Au cours de la diacinèse, la chromatine est condensée à nouveau et les chromosomes homologues migrent vers le plan métaphasique.

Il existe quelques espèces qui font exception à ce schéma général. C'est notamment le cas de *Schizosaccharomyces pombe* et d'*Aspergillus nidulens*, qui ne forment pas de complexe synaptonemal, ou de nombreux insectes qui ne forment pas de CO chez l'un des sexes mais où le complexe synaptonémal sert de lien entre les homologues

1.3.1.3 De la métaphase I à la formation des gamètes : disjonction des chromosomes, puis des chromatides sœurs et cytodierèse.

En métaphase I, les centromères des deux chromosomes homologues s'attachent à des microtubules issues de pôles opposés par une structure protéique appelée kinétochore. Les chromosomes homologues réunis par paires (bivalents) se positionnent correctement de part et d'autre du plan métaphasique grâce à la mise sous tension des chiasmas du fait de la « traction » dans deux directions opposées des centromères des chromosomes homologues par les microtubules attachés aux kinétochores. La cohésion des chromatides sœurs est relâchée (sauf au niveau du centromère), libérant les chromosomes homologues de leur étreinte. En anaphase I, les deux chromosomes homologues migrent le long du fuseau achromatique vers deux pôles opposés ; ils ségrègent. Enfin, en télophase I les chromosomes se décondensent de nouveau.

Selon les espèces, la cytodierèse, c'est à dire la séparation physique des chromosomes homologues et la répartition du cytoplasme et des organites dans les cellules filles intervient successivement après chacune des deux divisions méiotiques ou simultanément à la fin de la seconde division de méiose.

La seconde division méiotique s'apparente à une mitose classique. A la prophase, les chromosomes constitués de deux chromatides sœurs sont condensés. A la métaphase, les centromères sont regroupés sur la plaque métaphasique. La cohésion centromérique est alors perdue. A l'anaphase, les centromères de chacune des chromatides sœurs s'attachent à des fibres de microtubules issues de deux pôles différents et migrent vers deux pôles opposés, les chromatides sœurs ségrègent à l'anaphase. A la télophase, les chromosomes se décondensent et l'enveloppe nucléaire est reformée. Enfin, le cytoplasme est divisé entre les deux cellules filles durant la cytokinèse. Ces cellules filles (appelées mégaspores du côté femelle et microspores côté mâle) se développent au sein de la plante mère pour former deux gamétophytes différenciés : le grain de pollens côté mâle et le sac embryonnaire du côté femelle (Figure 28).

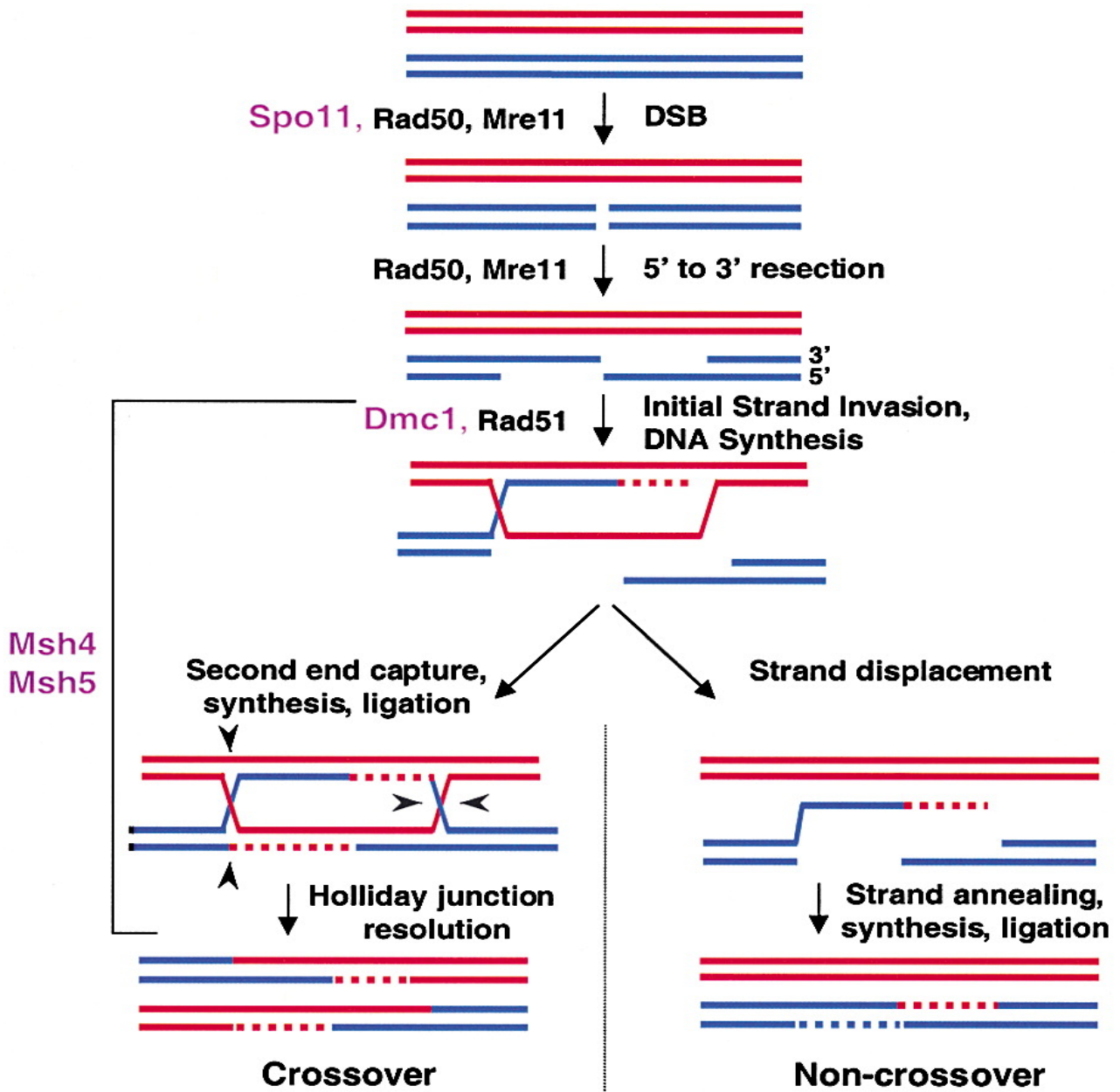


Figure 29 : Modèle Double-Strand Break. Dans ce modèle, l'aiguillage entre le CO (Crossover sur la figure) et la conversion génique (Non-crossover sur la figure) a lieu avant la formation des double jonctions de holiday. Les principales protéines connues et impliquées dans la formation des intermédiaires de la recombinaison ont été marquées. D'après Villeneuve et Hillers (2001).

Comme on a pu le voir brièvement, le déroulement correct d'un certain nombre d'étapes de la méiose et la ségrégation des chromosomes dépendent intimement du processus de recombinaison (Figure 27), que je vais aborder maintenant.

1.3.1.4 Recombinaison méiotique : casser puis réparer, le modèle « cassures double-brins »

Je restreindrai ici mon propos à la description du modèle de réparation des cassures double-brins de la molécule d'ADN («Double Strand Break Repair») proposé initialement par Szostak *et al.* (1983) et récemment actualisé par Bishop et Zickler (2004) et Hunter (2006). Ce modèle qui fait l'objet d'un large consensus peut être décomposé en trois étapes (Figure 29) :

1. Initier : générer des cassures double-brins

La recombinaison méiotique est initiée au stade leptotène (Cervantes *et al.*, 2000; Sun *et al.*, 1989) par la formation de cassures double-brins catalysées par la topoisomérase Spo11 (Keeney *et al.*, 1997)(Figure 25). Cette protéine et sa fonction sont très conservées chez différentes espèces telles que *Sordaria*, *Neurospora*, *Coprinus*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Drosophila melanogaster*, *Caenorhabditis elegans*, *Schizosaccharomyces pombe*, *Arabidopsis thaliana* ainsi que chez les mammifères (Keeney, 2001). Dix autres protéines sont requises chez *S. cerevisiae* pour former les cassures double-brins, dont certaines sont des partenaires de Spo11, mais elles semblent assez peu conservées.

Deux protéines (Rad50 et Mre11) relativement bien conservées à travers les règnes forment alors un complexe qui catalyse la dissociation de Spo11 de l'extrémité 5' du brin d'ADN (Keeney *et al.*, 1997) et la dégradation 5'-3' du brin cassé (Liu *et al.*, 1995; Nairz et Klein, 1997); (Tsubouchi et Ogawa, 1998). Cette réaction a pour conséquence de former des extrémités simple brin recombinogènes.

2. Envahir la molécule d'ADN homologue au moyen d'une extrémité simple brin

Deux enzymes agissant de concert, Rad51p et Dmc1p (cette dernière n'est pas présente chez toutes les espèces), catalysent alors l'interaction entre les extrémités simple brin préalablement formées sur l'ADN de la chromatide « lésée » et la molécule d'ADN intacte portée par le chromosome homologue, qui va servir de matrice pour réparer la cassure double-Brins. Une des deux extrémités 3' simple brin (bleu) envahit la molécule d'ADN homologue (rouge) formant un structure asymétrique appelé "single end invasion" (SEI). L'association complémentaire des deux molécules d'ADN homologues sous forme d'un hétéroduplex catalyse la synthèse d'un nouveau brin d'ADN (pointillé) à partir de la molécule d'ADN homologue envahie (rouge), *via* la synthèse d'un

brin d'ADN complémentaire aboutissant à la formation d'une structure appelé "D-loop" (Hunter et Kleckner, 2001). C'est aussi à cette étape que se met en place la partie centrale du complexe synaptonémal (Figure 25).

Il a été montré par immunolocalisation que Rad51p et Dmc11p faisait partie des nodules précoces de recombinaison (Anderson *et al.*, 1997 ; Moens *et al.*, 1997). Ceux-ci sont en très large excès par rapport au nombre de CO constatés (20 à 100 fois). Ceci indique que les deux protéines interviennent précocement ; elles pourraient ainsi jouer un rôle important la reconnaissance d'homologie et dans l'alignement pré-synaptique des chromosomes (Zickler, 2006). Dmc1 favoriserait de plus les interactions avec le chromosome homologue et contribuerait ainsi à inhiber les recombinaisons entre les chromatides sœurs qui sont fréquentes dans les cellules somatiques.

3. Réparer la cassure double brin

Les étapes plus tardives de la recombinaison sont moins bien connues et font intervenir plus de voies que prévues par le modèle de Szostack (1983). Il semblerait en effet que la réparation des cassures double-brins sans CO se fasse par un mécanisme différent de celui générant des CO. Ainsi,

- i. Si l'extrémité 3' simple brin (bleu) est capturée par la boucle d'ADN homologue ("D-Loop"), le brin est réparé en utilisant le brin homologue comme matrice. La ligation des extrémités 5' et 3' des brins homologues aboutit à la formation d'un double brin d'ADN hétérologue appelé double jonction de Holliday encadrant un hétéroduplex d'ADN (Holliday, 1964). La double jonction de Holliday est ensuite résolue, entraînant la formation d'un crossing-over, c'est-à-dire par l'échange réciproque des brins appartenant à des chromosomes homologues, excepté la séquence contenue dans "la D-loop" qui fait l'objet d'un échange non réciproque entre les deux brins homologues. Cette voie de réparation fait intervenir un complexe multiprotéique ZMM dont l'action précise n'est pas encore totalement déterminée (Schuermann *et al.*, 2005). Chez la levure, la mutation de deux protéines appartenant à ce complexe (MSH4 et MSH5) fait chuter le taux de CO d'un facteur 2 à 3 sans affecter le taux de conversion génique (Hollingsworth *et al.*, 1995; Ross-Macdonald et Roeder, 1994, Börner *et al.*, 2004). Des mutations affectant une autre protéine de ce complexe, Mlh1p (Mut-L homolog 1), réduisent le nombre de CO d'un facteur 10 à 100 (Zickler et Kleckner, 1999; Hoffmann et Borts, 2004).
- ii. La D-loop peut également être coupée par des endonucléases (complexe *Mus81-Mms4* chez les levures) qui coupent ensuite la jonction de Holliday, empêchant ainsi la formation d'une double jonction de Holliday. Ce processus s'accompagne néanmoins d'un échange des chromatides et donc d'un crossing-over. Cette voie ne représente toutefois qu'une minorité des CO (0% chez *Caenorabditis elegans*, ~15% chez *Arabidospis*, ~30% chez la tomate et la levure (Mezard *et al.*, 2007).

iii. Si l'extrémité 3' simple brin (bleu) n'est pas capturée par la boucle d'ADN homologue (D-Loop), l'association entre les brins homologues est rompue par le déplacement et le détachement du brin néosynthétisé (rouge) qui est alors réparée en utilisant le brin complémentaire (bleu) comme matrice pour la synthèse d'ADN. Une portion de la molécule homologue néosynthétisée (rouge) est intégrée dans le brin cassé (bleu), on parle alors de conversion génique simple ou NCO (Figure 29), le brin néosynthétisé dans la "D-loop" faisant l'objet d'un échange non réciproque entre les deux brins homologues. Cette voie de réparation est souvent appelée SDSA pour « *Synthesis Dependant Strand Annealing* » (Paques et Haber, 1999).

La recombinaison méiotique peut donc générer deux types d'événements : les CO, dont un au moins est présent sur chaque bivalent (CO obligatoire - Jones, 1984 ; Jones et Franklin, 2006), et les NCO qui sont très largement majoritaires. Chez la levure et la souris, des données récentes soutiennent fortement l'idée selon laquelle le choix entre CO et NCO interviendrait avant ou de façon concomitante à l'invasion des simples brins (transition leptotène-zygotène) (Bishop et Zickler, 2004; Borner *et al.*, 2004). Notons qu'il existe d'autres protéines telles que par exemple les hélicases SGS1 ou SRS2, dont la fonction est mal connue, mais qui réduisent les recombinaisons illégitimes et semblent intervenir dans le choix CO vs NCO (Storey et Tibshirani, 2003).

La reconnaissance directe de l'homologie de séquence peut intervenir à deux étapes différentes au cours du processus de recombinaison. Une première fois lors de l'envahissement de la molécule homologue par une molécule d'ADN simple brin, l'interaction entre les molécules homologues ne pouvant vraisemblablement être maintenue que si la complémentarité est suffisante. Et une seconde fois lors de la formation de l'hétéroduplex d'ADN. Plusieurs études ont montré chez les bactéries et la levure que des enzymes impliquées dans la réparation des mésappariements (Mut S et homologues) empêchaient la formation d'hétéroduplex si les séquences divergent de façon trop importante entre les brins hétérologues. Des homologues de ces gènes existent chez tous les eucaryotes supérieurs.

1.3.1.5 Réparation des cassures double-brins et formation de remaniements structuraux

La recombinaison homologue méiotique remplit deux fonctions : elle est indispensable à la ségrégation des chromosomes et elle permet le maintien de l'intégrité du génome en utilisant la séquence allélique portée par le chromosome homologue pour réparer une cassure double-brins induite. Un mécanisme équivalent permet de réparer les cassures double-brins générées aléatoirement dans le génome des cellules somatiques ou lors de la réplication de l'ADN, en

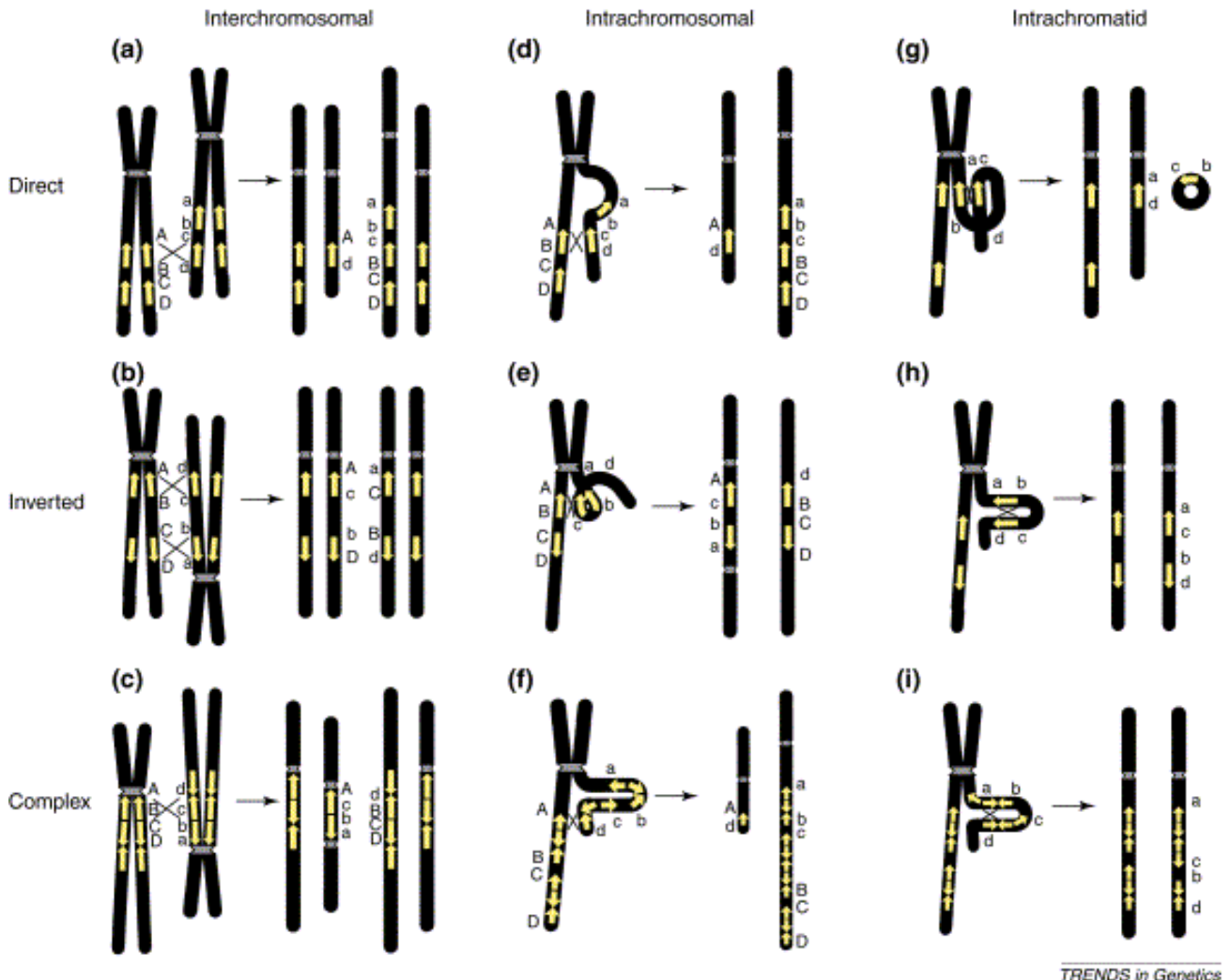


Figure 30 : Représentation schématique des différents types de remaniements susceptibles d'être générés par des recombinaisons entre des séquences répétées dans le génome. D'après Stankiewicz et Lupski (2002).

utilisant la séquence de la chromatide sœur comme matrice. Mais la réparation de cassures double-brins somatiques ou méiotiques peut aussi se faire en utilisant comme matrice des séquences homologues dispersées le long du génome (Lichten *et al.* 1987; Kupiec et Petes 1988; Lichten et Haber 1989; Montgomery *et al.* 1991; Lim and Simmons 1994; Parket *et al.* 1995; Goldman and Lichten 1996; Robertson *et al.* 1997; Virgin and Bailey 1998; Fischer *et al.* 2000). Ces événements, appelés selon les cas recombinaison intrachromosomique ou ectopique (Figure 30), peuvent induire la non disjonction des chromosomes durant la division méiotique ou conduire à des remaniements géniques ou chromosomiques (Figure 30), notamment des duplications, des translocations et des délétions (Montgomery *et al.* 1991; Goldman and Lichten 1996; Jinks-Robertson *et al.* 1997; Virgin and Bailey 1998; Fischer *et al.* 2000). Il est évident que la probabilité pour que de tels événements aient lieu n'est pas uniforme dans le génome et qu'elle dépend principalement de la présence d'une séquence homologue suffisamment longue (Goldman et Lichten, 1996; Schlecht *et al.*, 2004).

Il existe deux autres mécanismes « dérivés » de la recombinaison homologue susceptibles de générer des remaniements structuraux (Figure 31). Leur description détaillée n'aurait pas de sens ici, mais retenons en toutefois le principe et les conséquences attendues :

1. BIR : *Break Induced Replication*. Dans ce mécanisme, la « D-loop » est « convertie » en une fourche de réplication permettant la synthèse d'un nouveau brin d'ADN sur une région importante et ainsi de restaurer le chromosome lésé (Chen et Kolodner, 1999; Kogoma, 1996, 1997; Mosig, 1987). Cette réplication se poursuit jusqu'à la fin du chromosome, excepté si elle rencontre une seconde fourche de réplication formée par exemple par une autre D-Loop. Contrairement aux mécanismes précédents qui affectent généralement des séquences assez courtes, la BIR, ou réplication induite par cassure, s'applique à des séquences beaucoup plus grandes (quelques centaines de kb) pouvant s'étendre sur plusieurs gènes voire sur un chromosome entier. La BIR est également le mécanisme tenu pour responsable de la maintenance des télomères dans les cellules dépourvues de télomérase, l'enzyme qui normalement ajoute les courtes séquences répétées télomériques à la fin des chromosomes (McEachern et Haber, 2006).
2. SSA : *Single Strand Annealing* (Figure 31). Ce mécanisme n'a lieu que dans les cas où une cassure double-brins intervient entre deux séquences homologues répétées, et en l'absence d'un brin donneur (Vilenchik et Knudson, 2003). Dans un premier temps, les extrémités de la cassure sont dégradées de façon extensive dans le sens 5'→ 3'. Ces longues queues 3' simple brin peuvent s'hybrider lorsqu'une région d'homologie - importante (~400 pb) est exposée sur les deux brins libres. Ce mécanisme conduit à la

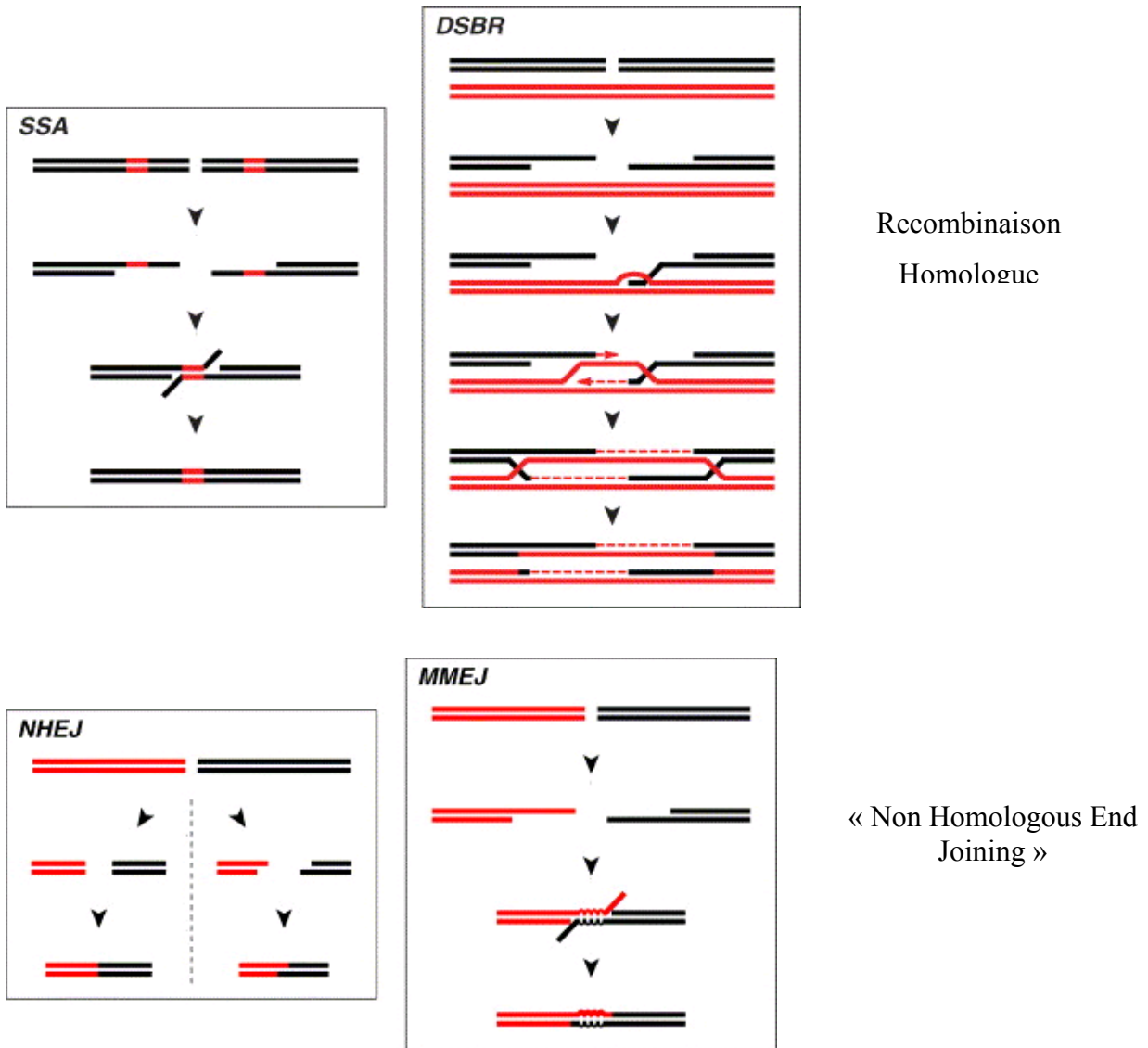


Figure 31 : Les différents mécanismes de réparation des cassures doubles brins. NHEJ = « Non Homologous End Joining » fidèle ; MMEJ = « NHEJ » génératrice d'erreurs ; DSBR = « voie de réparation des crossing-overs » SSA= « Single Strand Annealing » d'après Bleuyard *et al.* (2006).

disparition d'une des répétitions et à celle de la séquence entre les deux répétitions c'est à-dire à des délétions lorsqu'elle survient au niveau d'un même chromosome (intra-chromosomique) ou à des translocations si elle a lieu entre deux chromosomes différents.

Je ne pouvais pas non plus faire l'économie de citer ici deux autres mécanismes complémentaires qui sont indépendants de l'homologie de séquence, notamment la jonction non homologue des extrémités, encore appelée NHEJ pour « *Non Homologous End Joining* » ou recombinaison illégitime (Bleuyard *et al.*, 2006; Paques et Haber, 1999; Puchta, 2005) (Figure 31). Le NHEJ consiste à recoller les extrémités des cassures double-brins, que celles-ci soient ou non complémentaires. Il est donc un moteur important de remaniements puisqu'il est capable de rabouter des extrémités non homologues, éventuellement portées par des chromosomes différents, conduisant à des délétions et des translocations. Diverses protéines comme Xrcc4, cofacteur essentiel de la DNA ligase IV, l'hétérodimère K70/Ku80 ou encore le complexe Rad50/Mre11/Nbs1 sont impliquées dans la voie NHEJ. Il existe deux types de NHEJ : la NHEJ fidèle dépendante de l'hétérodimère Ku (Tamura *et al.*, 2002) et la NHEJ génératrice d'erreur (Heacock *et al.*, 2004) qui est indépendante de Ku (Khanna et Jackson, 2001; Pastwa et Blasiak, 2003). Notons pour conclure que la NHEJ génératrice d'erreur nécessite la présence de micro-homologies (1-10 pb) de part et d'autre de la cassure afin d'assurer la réparation par jonction des deux extrémités.

L'ensemble de ces mécanismes de réparation des cassures double-brins co-existent dans la cellule où ils sont en compétition (Figure 31). Le « choix » entre ces différents mécanismes est influencé par la phase du cycle cellulaire dans laquelle se trouve la cellule lors de l'induction des dommages et également des différentes protéines cellulaires présentes. Le NHEJ prédomine ainsi dans les cellules de mammifère et est important durant la phase G0/G1 et le début de la phase S du cycle cellulaire. Les cassures double-brins (notamment somatiques) sont des lésions très mutagènes car lors de cassures double-brins, chaque extrémité de la cassure est hautement recombinogène du fait de sa capacité à envahir un duplex d'ADN à chaque site de séquence plus ou moins homologue. De plus, elles mettent en jeu des mécanismes de réparation plus ou moins fidèles (Khanna et Jackson, 2001) qui sont capables de générer des altérations chromosomiques. Ainsi, la SSA ainsi que la NHEJ génératrice d'erreur produisent obligatoirement des délétions plus ou moins étendues ainsi que des réarrangements chromosomiques (Pfeiffer, 1998). La NHEJ produit également des mutations ponctuelles aux points de cassure, comme des substitutions de base ou de petites insertions. Comme on l'a vu, la réparation des cassures double-brins par des mécanismes de recombinaison *a priori* fidèles peut donc conduire à la formation de remaniements structuraux

quand la matrice utilisée pour la réparation des cassures double-brins n'est pas localisée sur le chromosome homologue (ou la chromatide soeur dans les cellules somatiques)(Figure 30).

1.3.1.6 Trouver le bon partenaire au cours de la méiose !

Une des questions non résolues concerne le ou les mécanisme(s) qui permettent aux chromosomes homologues de se reconnaître très précocement et de s'apparier au cours de la méiose (Zickler, 2006). Le rapprochement précoce des chromosomes homologues, conduisant à leur alignement présynaptique, implique qu'il existe des mécanismes précoces permettant leur reconnaissance mutuelle « à longue distance ». Plusieurs hypothèses ont été formulées quant au support physique de cette reconnaissance « longue distance »: la morphologie des chromosomes, l'interaction directe entre les molécules d'ADN, la distribution de « centres d'appariement » le long des chromosomes (Sybenga, 1999), la présence de motifs de séquences répétées spécifiques de chaque chromosome (Richards *et al.*, 1993), le repliement spécifique des boucles d'ADN induits par les facteurs de transcription (Cook, 1997).

Certains auteurs ont proposé que l'association pré-méiotique (voire somatique) des centromères par paires lors de l'interphase pré-méiotique (chez le blé et les diptères) favoriserait la reconnaissance de l'homologie et le rapprochement des homologues durant la phase pré-méiotique, et donc de façon indirecte l'alignement présynaptique des chromosomes homologues. (Aragon-Alcaide *et al.*, 1997; Martinez-Perez *et al.*, 1999; Moore, 2000). On peut toutefois argumenter que l'organisation des chromosomes est perdue au cours de la réplication de l'ADN.

Il existe un large consensus autour du fait que l'alignement présynaptique résulte d'un processus d'essais et d'erreurs au cours duquel les interactions entre homologues sont maintenues tandis que les interactions entre hétérologues sont cassées (Ding *et al.*, 2004). Différentes observations indiquent que l'initiation de la recombinaison (intermédiaires de réparation des cassures double-brins conduisant aux CO et aux NCO) au cours du leptotène participe à l'alignement présynaptique (Peoples-Holst et Burgess, 2005; Tesse *et al.*, 2003). Il est possible que les NCO facilitent et/ou stabilisent les interactions et la reconnaissance tardive entre les chromosomes homologues en connectant les séquences ADN des chromosomes homologues (Carpenter, 1987; Smithies et Powers, 1986). Dawe (1998) propose également que les déplacements très rapides des chromosomes observés du leptotène au début pachytène permettraient, par de multiples contacts fortuits, de tester l'homologie. Cette observation est fortement soutenue par le fait qu'en absence d'oscillation des chromosomes, l'alignement des chromosomes homologues est très fortement réduit chez *S. pombe* (Ding *et al.*, 2004).

On peut enfin noter que les chromosomes connaissent au cours de la prophase, des phases de condensation / décondensation qui impliquent des modifications importantes de la structure de la chromatine (Dawe *et al.*, 1994; Prieto *et al.*, 2005b). On comprend bien que des chromosomes différents peuvent présenter des « paysages » hétérochromatiques différents (quantité, position) au cours de ces phases de condensation / décondensation ce qui peut contribuer à leur tri. Chez le maïs, Dawe *et al.* (1994) ont observé une structure particulière de la chromatine des méiocytes juste avant que le complexe synaptonémal ne se mette en place et ont conclu que cette organisation pourrait contribuer à la reconnaissance des homologues, *une fois qu'ils se sont rapprochés*. De même, les résultats de Prieto *et al.* (2005) suggèrent que le synchronisme de la décondensation des chromosomes pourrait être une conséquence, et non une cause première, de leur reconnaissance.

D'une manière générale, on pense que le regroupement des télomères sous la forme d'un « bouquet » pourrait favoriser les contacts entre chromosomes, les tests de l'homologie; et ainsi l'alignement des chromosomes homologues (Hamant *et al.*, 2006; Moore, 2000). Ainsi, la synapse est fortement retardée dans des mutants du gène *Ndj1*, qui codent une protéine de structure des télomère impliquée dans l'attachement des télomère à l'enveloppe nucléaire ce qui a pour effet secondaire d'empêcher la formation du bouquet (Rockmill et Roeder, 1998; Trelles-Sticken *et al.*, 2000). De la même façon, on observe de même que la fréquence de recombinaison homologue est fortement réduite, alors que la recombinaison ectopique est quant à elle accrue, dans des mutants ne formant pas de bouquet télomérique (Schlecht *et al.*, 2004; Davis et Smith; Niwa *et al.*, 2000). Enfin, en absence de bouquet télomérique la réduction des appariements homologues est d'autant plus forte que l'on s'éloigne du centromère chez *S. pombe* (Ding *et al.*, 2004). Le rôle du bouquet télomérique n'en demeure pas moins mal compris. Il intervient vraisemblablement dans le rapprochement des homologues en favorisant les interactions entre les chromosomes et/ou en déstabilisant les recombinaisons homéologues et ectopiques (séquences répétées) et/ou la résolution de l'entrelacement/emboîtement des chromosomes ou des bivalents (Zickler, 2006).

On peut enfin noter que les télomères ne sont pas les seuls « points de rencontre » précoces des chromosomes car les centromères interagissent eux aussi et forment des couples durant la méiose chez de nombreux organismes. Ainsi chez *S. cerevisiae*, l'interaction et l'« appariement » entre centromères dépend de la protéine Zip1. Les paires formées réunissent d'abord les centromères de chromosomes non-homologues. Ces paires illégitimes sont progressivement corrigées (au profit de paires réunissant les centromères de chromosomes homologues) par un

mécanisme qui dépend de l'activité de *Spo11*, la protéine impliquée dans l'initiation de la recombinaison (Tsubouchi et Roeder, 2005). De la même manière, les centromères associés par paires non homologues sont aussi progressivement triés pour être associés par paires homologues durant la progression de la méiose chez le blé (Martinez-Perez *et al.*, 2003). Enfin, chez *S. pombe*, les paires de centromères homologues sont formées indépendamment de la formation du bouquet télomérique ou des cassures double-brins mais pas en absence d'oscillations des chromosomes (Ding *et al.*, 2004)

1.3.1.7 Correspondance entre appariements, chiasmas et crossing-overs

Notons pour commencer que le terme « appariement des chromosomes » est employé indifféremment (mais pas par les mêmes personnes !) pour décrire des processus différents qui ont lieu à stades différents de la prophase I: le rapprochement et l'alignement présynaptique des chromosomes homologues (leptotène), l'association des chromosomes homologues *via* le SC (zygotène-pachytène), ou la présence de chiasmas (diacynèse, MI). Dans toute ma thèse, j'emploierai le terme appariement pour désigner l'association chiasmatisque des chromosomes sous forme de bivalents en métaphase I.

Chez le plupart des espèces ou des individus ayant une méiose en situation *a priori* normale (pas d'hybride interspécifique, pas de mutant), les bivalents observés en MI de méiose résultent de la présence de chiasmas. Il a par ailleurs été clairement démontré que ces chiasmas sont le reflet cytologique des CO, et par conséquent d'événements de recombinaison (Jones, 1984). Ainsi, lorsque la méiose se déroule en situation *a priori* régulière, la fréquence des chiasmas mesurées en MI équivaut à la fréquence de recombinaison dans la descendance (Schwarzacher, 2003; Sherman et Stack, 1995). Cette règle générale souffre très peu d'exceptions.

Une première exception tient au fait que la formation des crossing-overs et le maintien de la cohésion des chromatides sœurs sont deux mécanismes totalement indépendants. Maguire Marjorie (1978) a en effet observé un mutant désynaptique de maïs chez lequel des échanges entre chromosomes homologues ont lieu (il y a donc eu CO) sans pour autant que ces chromosomes restent reliés par un chiasma en métaphase I. Il n'est donc pas impossible que certains CO ne se traduisent pas par des chiasmas si ceux-ci ne sont pas maintenus jusqu'en MI en raison par exemple d'un relâchement trop précoce de la cohésion comme dans les mutants de la cohésine SMC1 β ; Hodges *et al.*, 2005.

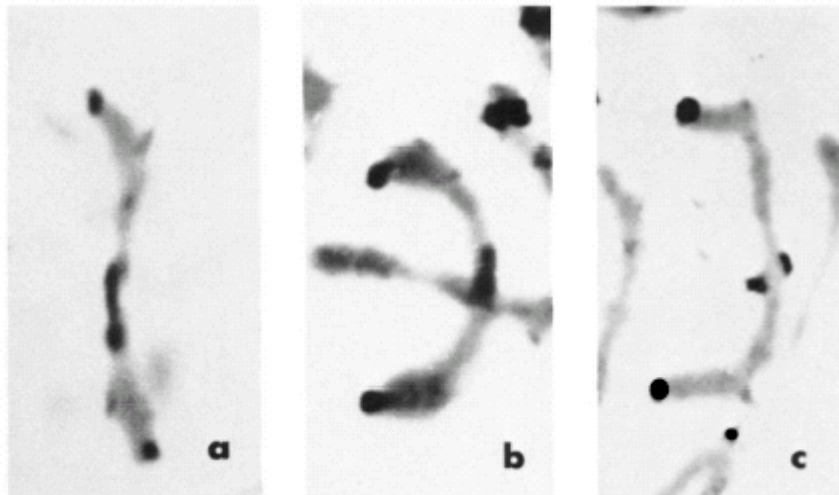


Figure 32 : Associations non chiasmatisques des chromosomes en MI de méiose (end to end) chez des haploïdes de blé. D'après Orellana *et al.* (1985).

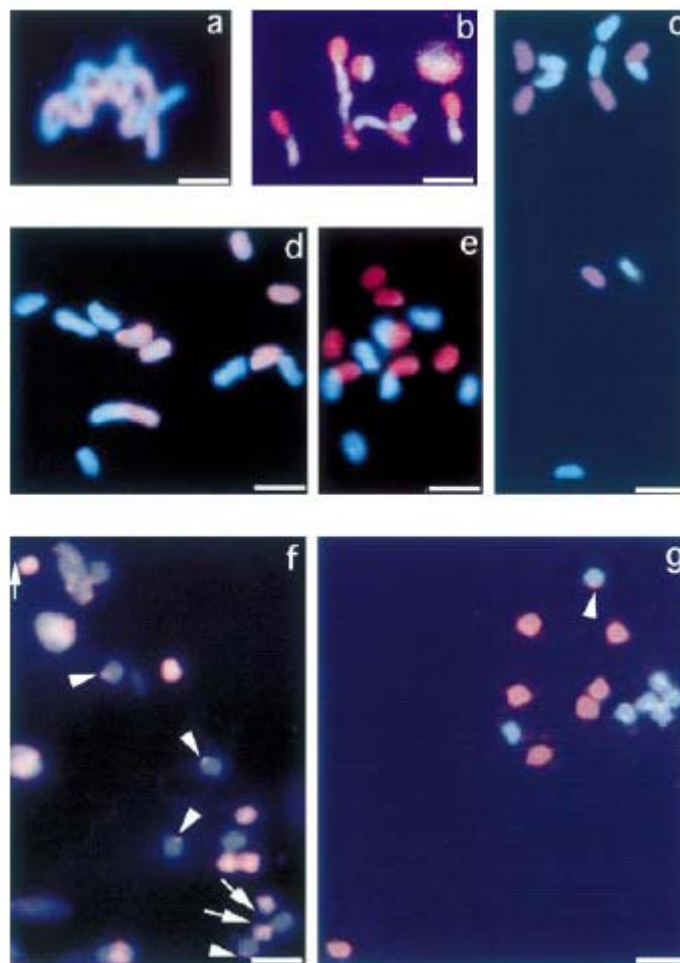


Figure 33 : Associations non chiasmatisques des chromosomes en MI de méiose chez des hybrides interspécifiques issus du croisement de *Hordeum bulbosum* par *H. vulgare* . D'après Zhang *et al.*, (1998)

Il a par ailleurs été clairement démontré que des associations entre chromosomes (end-to-end, side-by-side) observées en métaphase I de méiose chez des plantes haploïdes de blé et chez des hybrides interspécifiques ne sont pas chiasmatisques (Benavente *et al.*, 1996; Orellana, 1985). Ainsi, la fréquence d'associations entre chromosomes en métaphase I de méiose chez des hybrides interspécifiques blé×seigle ou *Hordeum bulbosum*×*H. vulgare* est beaucoup plus élevée que la fréquence de recombinaison établie par GISH / C-Banding sur les anaphases I de méiose, cette disparité résultant vraisemblablement de la présence d'associations secondaires end-to-end (Benavente *et al.*, 1996; Zhang *et al.*, 1999) (Figure 32 et Figure 33).

De même, Zhang *et al.* (1999) ont montré que près de la moitié de la variation pour la fréquence d'« appariement » observée en MI entre deux hybrides interspécifiques *Hordeum bulbosum*×*H. vulgare* provenait d'une différence pour la fréquence des associations secondaires non-chiasmatisques. Dans cet exemple, plus la fréquence d'appariement était élevée en MI, plus la fréquence des associations non chiasmatisques était importante (Zhang *et al.*, 1999). Comme en attestent ces études, il est théoriquement possible de distinguer en cytologie les bivalents chiasmatisques des associations secondaires. Il convient donc de rester prudent lorsqu'on observe la méiose de plantes hybrides ou haploïdes, d'autant plus lorsque les chromosomes sont nombreux et de petite taille.

Enfin, il existe de rares cas dans lesquels la fréquence des CO effectifs et le nombre de chiasmas ne se correspondent pas (revue par Sybenga (1996)). Une partie d'entre eux s'explique aisément par le fait que des échanges répétés sur des segments courts (en dépit de l'interférence ou parce qu'elle est localement relâchée) ou des échanges ayant lieu simultanément dans une même région sur les 4 chromatides ne peuvent pas être aisément détectés au moyen du comportement méiotique (car les chiasmas sont alors trop proches et confondus). Ainsi, peu d'espèces permettent un dénombrement clair des chiasmas à partir d'un comportement méiotique.

1.3.1.8 Facteurs influençant la distribution et la fréquence des crossing-overs

Il existe plusieurs contraintes concernant la distribution et le nombre de crossing-overs.

D'une part, un crossing-over est systématiquement formé par paire de chromosomes homologues (on parle de CO obligatoire) et ceci quels que soient la taille des chromosomes ou le nombre total de crossing-overs (Jones, 1984; Stack et Anderson, 2002; Jones et Franklin, 2006). Cette règle vaut pour la plupart des organismes bien que quelques exceptions existent. Les bases génétiques et moléculaires de ce mécanisme ne sont pas connues.

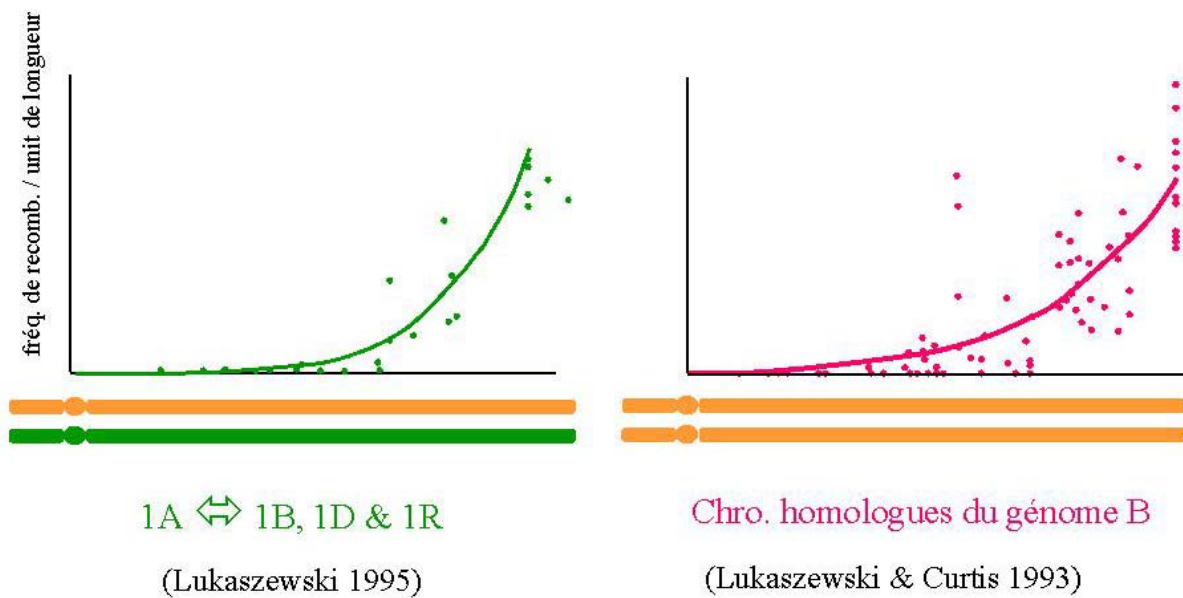


Figure 34 : Variation de la fréquence de la fréquence de recombinaison homologue et homéologue en fonction de l'éloignement physique du centromère chez le blé. La fréquence de recombinaison croît de façon exponentielle lorsqu'on s'éloigne du centromère.

Il semblerait d'autre part qu'il existe une régulation homéostatique du nombre de crossing-overs durant la méiose. Ainsi, Martini *et al.* (2006) ont observé en utilisant des mutants de levures hypomorphes pour Spo11 que le nombre de crossing-overs est maintenu même en présence d'un nombre réduit de cassures double-brins. Il semblerait donc que la balance entre CO/NCO varie en fonction du nombre de cassures double-brins. On peut noter en outre que la présence d'univalents ou de tranlocations conduit à une augmentation du nombre de CO sur les chromosomes présents sous forme de bivalents dans le même méiocyte (Carlton *et al.*, 2006; Parker, 1975; Tease et Jones, 1976; Leflon *et al.*, en prép.). La présence de chromosomes B (au contenu très majoritairement hétérochromatique) conduit de même à des modifications de la fréquence ou de la stringence avec laquelle se fait la recombinaison (Evans et Macefield 1972, 1973 ; Taylor et Evans 1976).

Par ailleurs, les CO ne se distribuent pas indépendamment les uns des autres sur les chromosomes, la présence d'un CO à un locus donné réduisant la probabilité d'observer un second CO dans le voisinage. Ce phénomène, appelé interférence (Muller, 1916), a été observé chez la plupart des espèces étudiées (Mezard *et al.*, 2007). Seuls les CO dérivant d'une double jonction de holliday (complexe ZMM) sont soumis à l'interférence ; les CO dépendant de *Mus81-Mms4* sont en effet non interférents (Mezard *et al.*, 2007).

Notons enfin que les crossing-overs ne sont pas distribués de façon homogène le long du génome et des chromosomes. De manière générale, la présence de CO est inhibée dans les régions centromériques, importantes d'hétérochromatine et riches en AT (Baudat et Nicolas, 1997 ; Gerton et al., 2000). Il ne semble pas exister d'autres règles générales. Tandis que chez certaines espèces, la fréquence de CO croît du centromère vers le télomère (Akhunov *et al.*, 2003b; de Massy, 2003; Lukaszewski et Curtis, 1993) (Figure 34), elle ne semble pas dépendre de l'éloignement au centromère chez quelques autres, comme *A. thaliana* (Drouaud *et al.*, 2006). La fréquence de recombinaison peut enfin varier très fortement localement. Une partie de ces variations résulte vraisemblablement de variations de la structure de chromatine (euchromatine vs hétérochromatine) car les cassures double-brins catalysées par Spo11 ont lieu de façon privilégiée dans les régions ouvertes de la chromatine (Wu et Lichten, 1994; Fan et Petes, 1996), et par conséquent dans les régions contenant des gènes en simple copie plutôt que dans des régions riches en séquences répétées (Civardi *et al.*, 1994; Baudat et Nicolas, 1997). Il existe par ailleurs des variations locales du rapport CO/NCO de sorte que certaines cassures vont être plus fréquemment réparées sous forme de CO que d'autres (Mezard *et al.*, 2007).

Il existe enfin toute une série de paramètres physiologiques [*e.g.* le sexe (Lenormand et Dutheil, 2005), l'âge, la position de l'inflorescence (Francis *et al.*, 2007)], « écologiques » [*e.g.* traits du cycle de vie : (Koella, 1993)], environnementaux [*e.g.* température (Francis *et al.*, 2007)],

« démographiques » [e.g. taille des populations (Barton et Otto, 2005; Otto et Barton, 2001; Ross-Ibarra, 2004)], ou bien sûr génétiques (Cornu *et al.*, 1989; Sanchez-Moran *et al.*, 2002) qui peuvent modifier la fréquence des CO.

Les processus décrits jusqu'ici concernaient le déroulement de la méiose et de la recombinaison entre des chromosomes homologues chez une espèce diploïde. Or, les introgressions chez des hybrides interspécifiques, et les échanges génétiques entre chromosomes homéologues chez les espèces polyploïdes, doivent se faire entre des génomes différenciés par des CO en situation d'homéologie. Quels sont les effets de la divergence des génomes sur les processus méiotiques ?

I.3.2 Recombinaison chez les allopolyploïdes et les hybrides interspécifiques

Les espèces allopolyploïdes possèdent au moins deux jeux de chromosomes homéologues qui, du fait de leur origine commune, se ressemblent et ont conservé une affinité suffisante pour recombiner comme en attestent les nombreux bivalents observés en MI chez des formes « mutantes » et/ou haploïdes produites à partir des espèces polyploïdes. Les allopolyploïdes naturels ont malgré tout un comportement méiotique strictement diploïde (exclusivement des bivalents) et une hérédité disomique ce qui démontre que les « appariements » ont lieu entre chromosomes homologues, au détriment des « appariements » homéologues. Cette « adaptation » du comportement méiotique est indispensable pour assurer la ségrégation correcte des chromosomes, la stabilité du génome et la fertilité des plantes. En effet, les crossing-overs entre chromosomes homéologues, si ils avaient lieu, perturberaient la méiose (non disjonction I ou II) et aboutiraient à la production de gamètes aneuploïdes (Sanchez-Moran *et al.*, 2001) et/ou de gamètes avec des chromosomes ayant subi des réarrangements chromosomiques. Une fréquence élevée de crossing-over entre homéologues réduirait à la fois la fertilité et la fitness des descendants (Ramsey et Schemske, 2002). J'ai parlé d'« adaptation » du comportement méiotique parce que les néopolyploïdes synthétiques formés à partir des espèces progénitrices des allopolyploïdes naturels ont en général un comportement méiotique plus instable (formation de multivalents, d'univalents, de bivalents homéologues) qui génère un nombre plus élevé de remaniements génomiques (translocations, aneuploïdies) que chez les allopolyploïdes naturels.

La stabilisation du comportement méiotique, et par conséquent l'inhibition de la recombinaison homéologue constitue donc une condition *sine qua non* pour la pérennité et la réussite d'un polyploïde. Si la différenciation des chromosomes au travers des divergences de

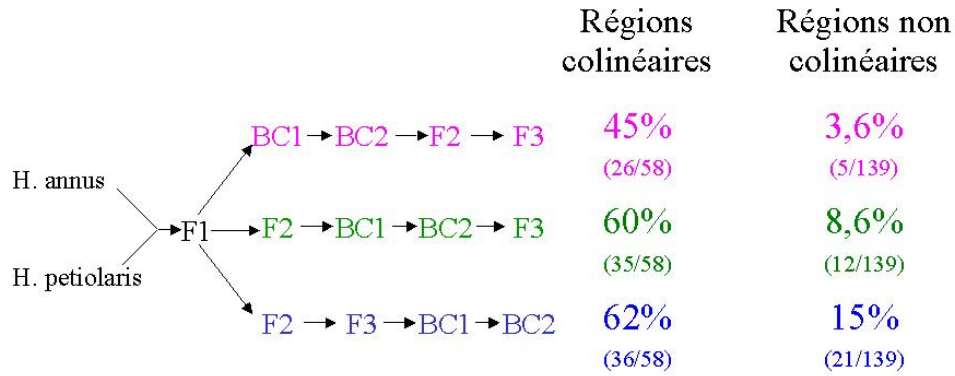


Figure 35 : Effet de la structure du génome et du schéma de croisement sur la fréquence d'introgession (recombinaison). On peut observer que la fréquence d'introgession est systématiquement plus faible au sein des régions colinéaires que non colinéaires et que le schéma de croisement change les fréquences d'introgessions D'après Rieseberg, (1995).

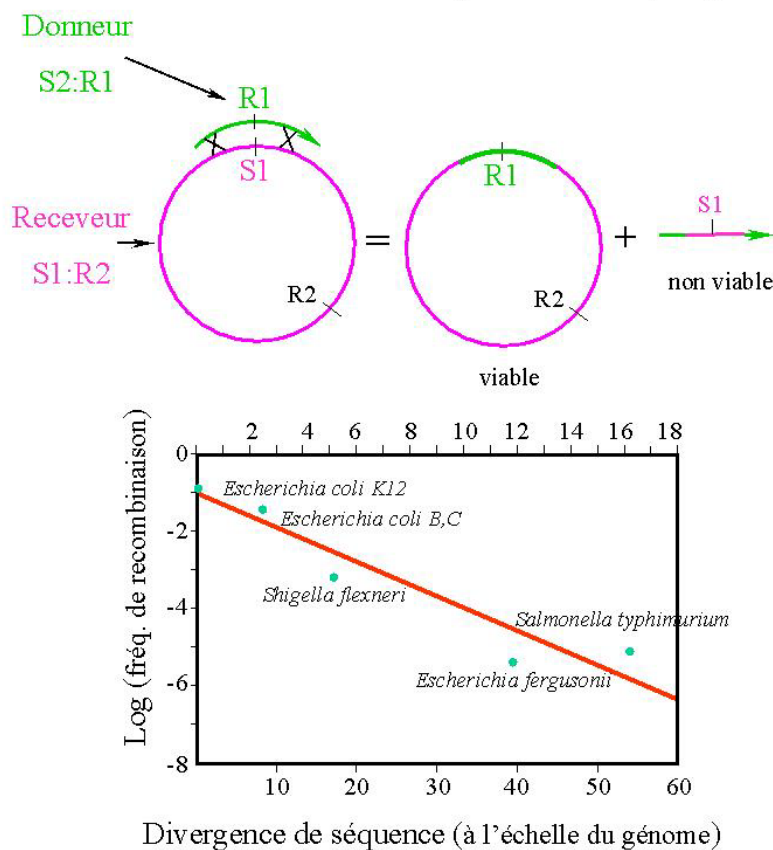


Figure 36 : Effet de la divergence des génomes exprimée en % sur le logarithme de la fréquence de recombinaison chez les entoréobactéries. La fréquence de recombinaison diminue de façon exponentielle avec le pourcentage de divergence des génomes. D'après Vulic *et al.*, (1997).

structure (réarrangements structuraux) et de séquence (mutations) conduit spontanément à une affinité différentielle, la mise en place de facteurs génétiques limitant l'appariement et la recombinaison homéologue semble nécessaire pour achever la diploïdisation des allopolyploïdes (Jenczewski et Alix, 2004). C'est notamment le cas des « gènes » *Ph1* chez le blé et *PrBn* chez le colza.

1.3.2.1 Influence de la différenciation des génomes sur la recombinaison et l'appariement

La plus faible fréquence d'« appariement » homéologue observée chez des allopolyploïdes euploïdes synthétiques ou naturels par rapport à celle mesurée chez les formes hybrides ou haploïdes correspondantes démontre qu'il existe une affinité différentielle entre les chromosomes au sein des génomes, c'est à dire une aptitude plus ou moins forte des chromosomes à recombiner avec un partenaire en fonction du degré de divergence structurale (remaniement) et de séquence (homologie) qui les sépare (Darlington, 1928). L'affinité des chromosomes est dite différentielle car elle ne dépend pas uniquement de l'aptitude intrinsèque des chromosomes à recombiner avec un partenaire mais de la différence d'aptitude à recombiner avec ce partenaire dans un contexte génétique et génomique donné. Cette notion est bien illustrée chez des hybrides interspécifiques *Saccharum officinarum* x *S. spontaneum* chez lesquels les chromosomes recombinent soit de façon exclusive, soit avec un groupe de chromosomes selon un gradient d'affinité préférentielle (Janoo et al., 2004). Ainsi, l'aptitude à recombiner est relative et dépend des différences existantes entre les chromosomes, tant structurales qu'au niveau de la séquence.

1.3.2.2 Effet des divergences de structure

Différentes études ont permis de montrer que des réarrangements structuraux empêchent l'appariement et la recombinaison entre des chromosomes homéologues (Naranjo et Fernández-Rueda, 1996; Rieseberg et al., 1996; Rieseberg et al., 1995) (**Erreur ! Source du renvoi introuvable.**, Figure 36). Il est clair notamment que la présence de translocations réduit la fréquence des CO dans leur voisinage immédiat mais peut l'augmenter dans les régions adjacentes (Parker et al., 1982; Sybenga, 1975). Ainsi Naranjo et al. (1997) ont observé qu'une translocation en position télomérique réduisait de façon très significative la fréquence de recombinaison entre des chromosomes homéologues et que la taille de la translocation détermine sa capacité à prévenir ces recombinaisons. De même, Rieseberg et al. (1995, 1996) ont observé une différence significative pour le taux d'introgession et la longueur des fragments introgressés entre régions synténiques et non synténiques chez des hybrides *H. annuus* x *H. petiolaris*. Cet exemple me permet d'introduire

Analyse des mutants

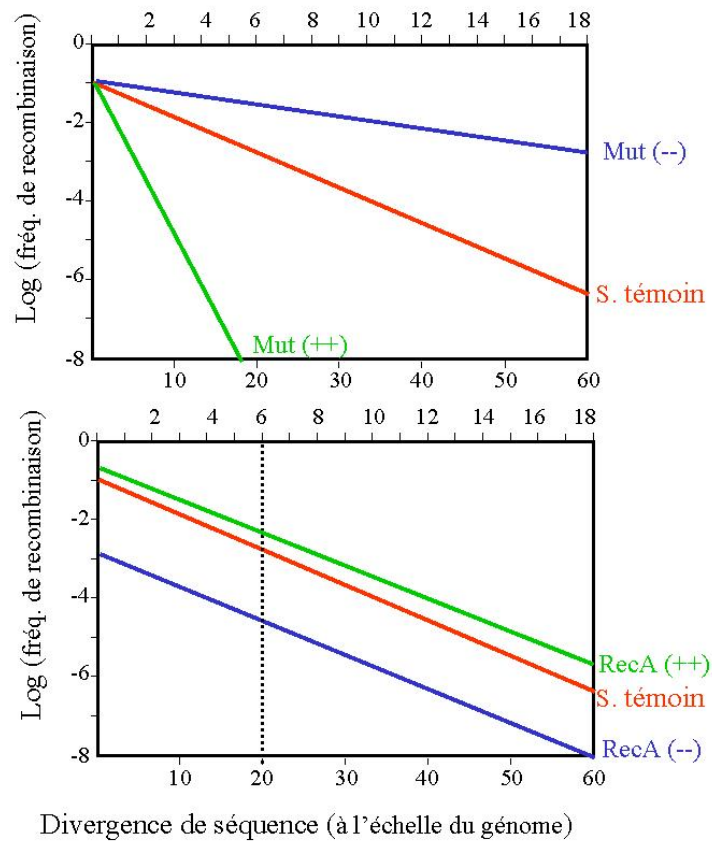


Figure 37 : Effet des gènes contrôlant les mésappariements Mut et de la recombinaise RecA sur la fréquence de recombinaison. D'après Vulic *et al.*, (1997).

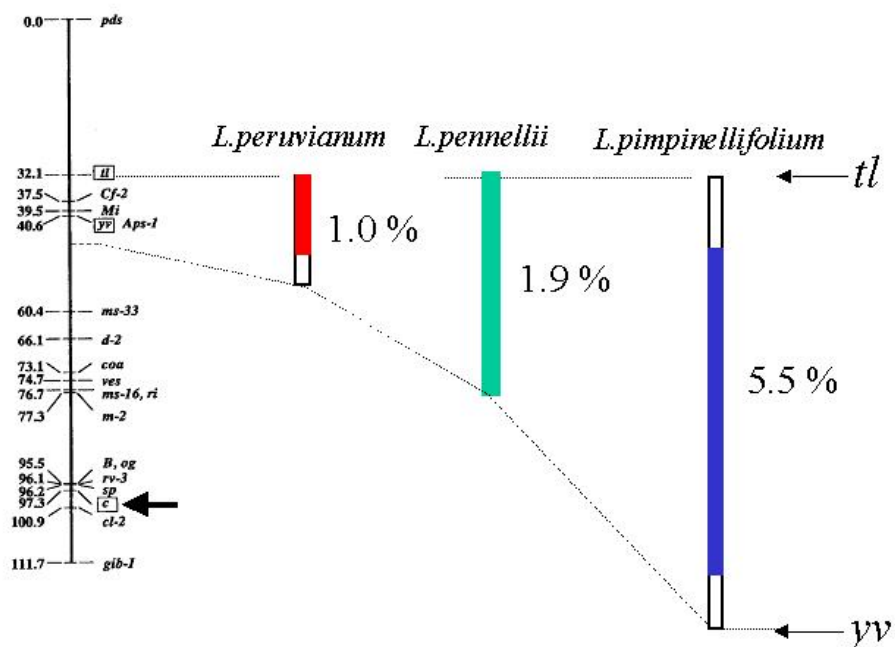


Figure 38 : Relation entre le degré de divergence entre les espèces sur la fréquence de recombinaison chez *Lycopersicum*. La fréquence de recombinaison diminue avec le degré de divergence. D'après Liharska (1996).

une autre notion, celle de la balance entre recombinaison (CO) et sélection. Car une partie de la réduction du nombre et de la taille des introgressions entre *H. annuus* et *H. petiolaris* pourrait résulter non pas d'une diminution probable du nombre de CO dans les régions réarrangées entre les deux génomes, mais d'une sélection contre les produits de ces CO qui pourraient conduire à une ségrégation déséquilibrée des chromosomes ou à des combinaisons génétiques et structurales délétères.

1.3.2.3 Effet des divergences de séquence

Des études chez les procaryotes et la levure ont clairement démontré que la fréquence de recombinaison entre séquences divergentes diminuait de façon exponentielle avec le degré de divergence des séquences (Datta *et al.*, 1997; Vulic *et al.*, 1997; Chen et Jinks-Robertson, 1999) (Figure 36). Cette réponse de la fréquence de recombinaison vis-à-vis du degré de divergence dépend néanmoins du contexte génétique et notamment de l'activité d'un certain nombre de gènes dont *RecA* et ses orthologues (*Rad51* et *DMC1*) ou les gènes impliqués dans le système de réparation des mésappariements (système MMR, famille d'enzyme MutS, et ses orthologues) (Vulic *et al.*, 1997) (Figure 37).

Compte tenu de la taille des génomes végétaux et de leurs chromosomes, il est difficile d'évaluer directement l'influence de la divergence de séquence sur la fréquence de recombinaison méiotique. Williams *et al.* (1995) ont par exemple montré que la fréquence de recombinaison génétique dans des hybrides entre le maïs et la téosinte était réduite par rapport à celle dans des hybrides entre deux variétés de maïs. Liharska *et al.* (1996) ont également montré dans que la fréquence de recombinaison entre un fragment introgressé et la région homéologue du génome receveur (*Lycopersicum esculentum*) diminuait d'autant plus fortement que le degré d'apparement entre les génomes donneur et receveur était faible (Figure 38). Plus récemment, chez *A. thaliana*, l'étude d'une séquence de 600 pb a permis de montrer que la fréquence de recombinaison décroissait de façon exponentielle avec le degré de divergence (Li *et al.*, 2006; Opperman *et al.*, 2004). Toutefois, la fréquence de recombinaison semble décroître nettement moins vite chez *A. thaliana* que chez la levure puisque celle-ci est quasi nulle pour une divergence de 1% chez la levure alors qu'elle n'est réduite que de 80% chez *Arabidopsis*. Les auteurs suggèrent que le système de reconnaissance des mésappariements serait plus tolérant chez les plantes que chez la levure. On pourrait aussi imaginer que la présence d'un plus grand nombre de séquences répétées chez *Arabidopsis* pourrait accroître la fréquence d'appariement facilitant ainsi la recombinaison.

En réalité, la recherche d'un effet de la divergence globale de séquence sur la recombinaison n'a pas grand sens. En effet, différentes observations chez *E. coli* et la levure ont permis de montrer

qu'il existait une taille minimale d'identité stricte de séquence pour initier une recombinaison, respectivement 30 paires de bases pour *E. coli* et 300 paires de bases pour la levure. (Jinks-Robertson *et al.*, 1993; Shen et Huang, 1986; Vulic *et al.*, 1997). Une fois la recombinaison initiée, de larges séquences hétérologues peuvent être échangées. Ainsi, Haber *et al.* (1991) ont montré que des blocs d'un kilobase dont la divergence au niveau de la séquence n'excède pas 10%, enchâssés dans des régions hétérologues, étaient suffisants pour engager des recombinaisons. L'homologie semble donc nécessaire de façon discrète pour engager des recombinaisons. Plusieurs observations suggèrent que c'est principalement l'alignement des chromosomes avant la formation des crossing-overs ou des conversions géniques qui réduit la fréquence de recombinaison entre des régions homologues dispersées dans le génome.

Notons enfin que certains auteurs ont proposé que la différenciation entre les génomes pouvait être accentuée très rapidement dans des hybrides interspécifiques par des réarrangements structuraux et par l'élimination dirigée de certaines séquences (Feldman *et al.*, 1997). Cette sur différenciation suivant un événement de polypléidisation permettrait de stabiliser le comportement méiotique des néo-polypléides en diminuant l'affinité entre chromosomes homéologues. A ce jour, aucun résultat expérimental n'est venu confirmé cette prédiction.

1.3.2.4 Des gènes pour contrôler l'appariement et la recombinaison

1.3.2.4.1 Quelques généralités

De nombreuses observations suggèrent qu'il existe des gènes limitant l'appariement et la recombinaison homéologue chez de nombreuses espèces allopolyploïdes (revue par Jenczewski et Alix, 2004). Des preuves indirectes ont été apportées (1) en comparant le comportement méiotique de formes aneuploïdes par rapport à celui de formes euploïdes (ex. blé, fétuque, avoine) ; (2) en comparant le comportement méiotique de formes synthétiques par rapport à celui des formes naturelles (ex. coton) ; (3) en analysant jusqu'où certaines espèces sont capables de compenser l'absence de régulateurs connus dans des hybrides interspécifiques (ex. *Aegilops*) ; ou (4) en observant que des comportements méiotiques différents ségrègent de façon mendélienne (ex. colza). Ainsi, il ne fait ainsi aucun doute que des gènes préviennent efficacement les appariements et recombinaisons entre chromosomes homéologues chez le blé (locus *Ph1* et *Ph2*), l'avoine, la fétuque, le coton et le colza (gène *PrBn*).

Très peu de choses sont connues quant à la fonction ou au mode d'action de ces gènes et la compréhension actuelle que l'on a du contrôle des appariements et recombinaisons entre chromosomes homéologues reste descriptive même chez le blé, qui est de loin l'espèce qui a été la plus travaillée. Toutefois, et sans que les mécanismes précis aient été précisément identifiés, il a été montré que ce contrôle pouvait se faire (revue par Jenczewski et Alix, 2004) :

1. lors de l'interphase préalable au début de la méiose (ex. blé),
2. au cours du zygotène, en prévenant la mise en place du complexe synaptonémal entre des chromosomes homéologues (ex. avoine),
3. à la fin du zygotène, en corrigeant des associations illégitimes entre chromosomes homéologues (dissolution et ré-assemblage du complexe) (ex. fétuque, *lolium*, blé en microscopie électronique),
4. au pachytène, en empêchant la réalisation de crossing-overs entre chromosomes homéologues (ex. coton).

Il semblerait que chez la plupart des espèces, la régularisation de l'appariement chromosomique fasse intervenir une combinaison de ces différents mécanismes et qu'il y ait une relation entre l'efficacité des gènes impliqués et le stade (ou le nombre de stades) auquel s'opère le contrôle. De même, il existe vraisemblablement une relation entre l'efficacité des gènes contrôlant l'appariement homéologue et le degré de divergence entre homéologues.

1.3.2.4.2 Le locus *Ph1* chez le blé

Le blé tendre (*Triticum aestivum* L. ; $2n=42$; génome AABBDD) est une espèce allohexaploïde issue de l'hybridation interspécifique de trois espèces diploïdes très apparentées *T. urartu* (génome A), *T. speltoïdes* (génome B) et *T. tauschi* (génome D).

En dépit de leur très grande colinéarité, les chromosomes homéologues de blé ne recombinent pas au cours de la méiose (*i.e.* pas de bivalent allosyndétique en MI de méiose), et le comportement du blé tendre est strictement diploïde (Moore, 2000). Deux études indépendantes, par Riley et Chapman (1958) et Sears et Okamoto (1958), ont montré que le chromosome 5B est indispensable pour prévenir les appariements homéologues dans des lignées haploïdes ou des hybrides interspécifiques entre *T. aestivum* et *T. monococcum*. Ce locus, positionné sur le bras long, est appelé *Ph1*, pour *Pairing homeologous 1* (Wall *et al.*, 1971). L'induction de délétions par irradiation a permis d'obtenir deux mutants récessif *ph1* (*ph1b* chez *T. aestivum* : Sears *et al.*, 1977 ; *ph1c* chez *T. durum* : Giorgi 1978) qui ont permis d'étudier les effets de *Ph1* et qui ont été utilisés en amélioration des plantes. La présence de locus ayant un effet similaire a de même été montrée chez

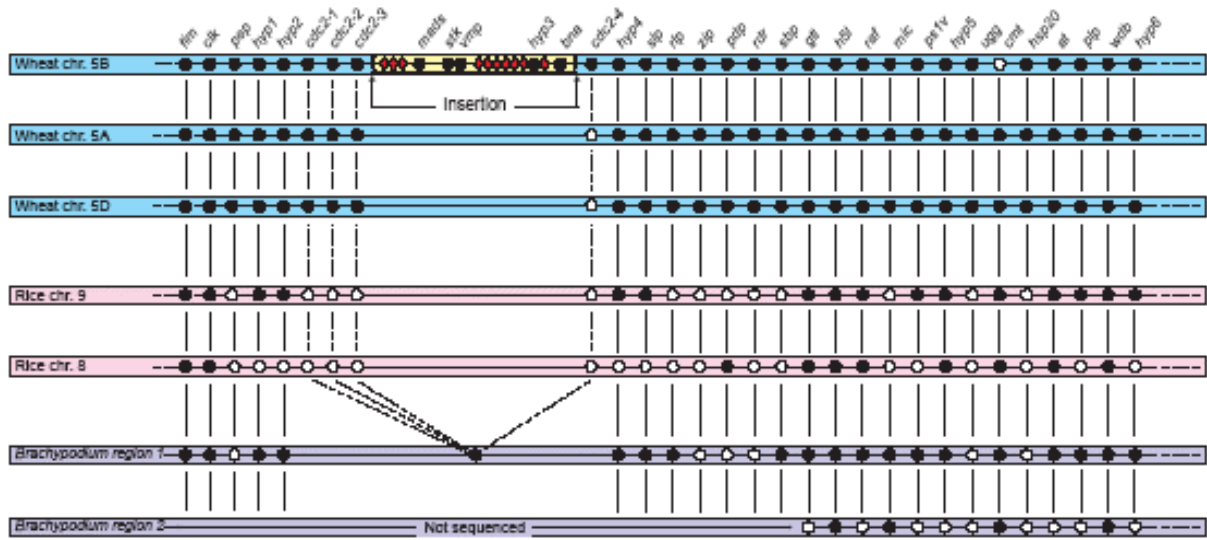


Figure 39 : Caractérisation du Locus *Phl* chez le blé. D'après Griffith *et al.*, (2006)

les espèces polyploïdes apparentées aux blés cultivés (voir Jenczewski et Alix, 2004).

Plus récemment, la région de 2,4 Mb contenant le locus *Ph1* a été séquencée et caractérisée par l'équipe de G. Moore (Griffiths *et al.*, 2006). Le locus *Ph1* correspond à un cluster de trois gènes *cdc2* du cycle cellulaire interrompu par un bloc d'hétérochromatine correspondant pour partie à celui trouvé dans la région subtélomérique du chromosome 3A (l'autre partie correspondant à des répétitions en tandem présentant aucune homologie avec une séquence répétée connue), l'insertion de ce bloc d'hétérochromatine s'étant accompagnée de la création d'un pseudogène *cdc2-4*, spécifique du chromosome 5B (Figure 39). Il ne fait aucun doute que ce locus est bien le locus *Ph1*, car on retrouve à l'identique la même structure (si originale qu'elle est unique) chez toutes les espèces de blé ou apparentées qui présentent un locus *Ph1* actif. Il semblerait également que l'activité de *Ph1* est intimement liée à l'insertion du bloc d'hétérochromatine, ou au pseudogène *cdc2-4* qui sont les seules caractéristiques spécifiques du chromosome 5B. Pour autant, le clonage et la caractérisation moléculaire du locus *Ph1* n'a donc pas permis d'en élucider le mode d'action et de proposer un mécanisme général expliquant l'ensemble des observations cytogénétiques et génétiques qui ont été obtenues au fil des années.

Il a été démontré que le locus *Ph1* agit sur plusieurs processus méiotiques, à différents stades : (1) en début de méiose, il intervient sur le tri des chromosomes associés par leur centromère (Aragon-Alcaide *et al.*, 1997; Martinez-Perez *et al.*, 1999) ; (2) au stade leptotène, il intervient dans l'alignement présynaptique des homologues et homéologues (Feldman, 1993) et dans la synchronisation de condensation des chromosomes en fin de leptotène (Mikhailova *et al.*, 1998; Prieto *et al.*, 2005b) ; (3) ensuite, il joue sur le temps de formation du « bouquet télomérique » et par conséquent sur la synapse (Moore, 2000) ; et (4) au pachytène, il corrige les appariements entre les homéologues formés au zygotène (Wettstein *et al.*, 1984 ; Holm, 1986 ; Wang et Holm, 1988) ; et enfin (5) il discrimine les segments homologues et homéologues durant la recombinaison (Dubcovsky *et al.*, 1995; Luo *et al.*, 1996).

Différentes observations indiquent que *Ph1* pourrait agir sur le tri des centromères durant le leptotène. L'utilisation de sondes fluorescentes marquant les centromères et les télomères a permis d'étudier la dynamique d'association des centromères et des télomères durant la phase pré-méiotique et le leptotène chez le blé dur (AABB), le blé tendre (AABBDD) et un hybride entre le blé tendre et le seigle (AABBDDRR). Ces travaux ont permis de montrer que les centromères sont associés par paires, qui regroupent généralement des chromosomes non homologues, au cours de la phase pré-méiotique. Seuls 20 à 30% des chromosomes homologues sont associés par le centromère à ce stade (Aragon-Alcaide *et al.*, 1997; Maestra *et al.*, 2002). Ce regroupement des centromères

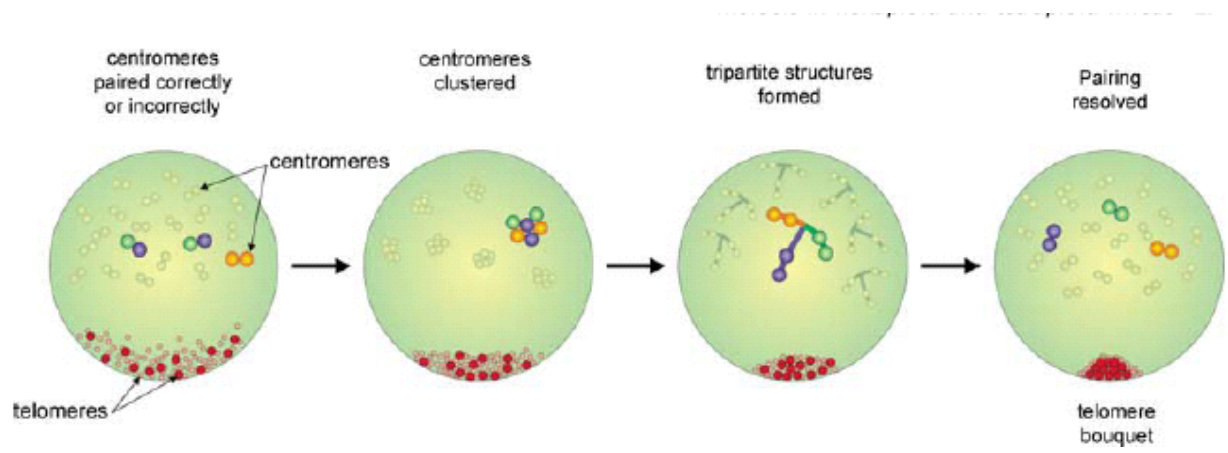


Figure 40 : Proposition de modèle d'appariement via les centomères chez le blé. D'après Martinez-Perez *et al.*, (2003).

semble être une réponse assez générale à la polyploïdie chez les triticiées (Martinez-Perez *et al.*, 1999) et est indépendant de la présence de *Ph1*.

Les paires de centromères vont progressivement s'associer entre elles pour former sept clusters réunissant tous les centromères des chromosomes appartenant à un même groupe d'homéologie (Martinez-Perez *et al.*, 2003; Naranjo et Corredor, 2004; Prieto *et al.*, 2005b). Durant le regroupement des télomères au leptotène, des paires de centromères appartenant à chaque cluster forment des structures allongées bipartites chez le blé dur, tripartites chez le blé tendre et quadripartites chez l'hybride interspécifique (Naranjo et Corredor, 2004) (Figure 40). Lorsque le regroupement des télomères est achevé en fin de leptotène (bouquet télomérique), les chromosomes sont de nouveau associés par paires chez le blé, qui regroupent presque systématiquement des chromosomes homologues (Aragon-Alcaide *et al.*, 1997; Maestra *et al.*, 2002; Martinez-Perez *et al.*, 2003; Martinez-Perez *et al.*, 1999). Il semblerait que *Ph1* agisse sur la correction des appariements des centromères non homologues au début de la méiose, associations qui sont converties en paires de centromères homologues, vraisemblablement lorsque se forment les sept clusters de centromères (Figure 40). En effet lorsque le bouquet télomérique est formé, les centromères d'un hybride entre le seigle et le blé sont séparés en présence de *Ph1*, alors qu'ils sont toujours sous forme de paires homéologues en son absence (Martinez-Perez *et al.*, 2001). Cette correction des appariements homéologues formés durant le zygotène ne se limitent pas aux régions centromériques mais concernent la totalité des chromosomes et a lieu au pachytène (Holm, 1986, Wang et Holm, 1988). L'ensemble de ces observations fait écho à d'autres résultats. Ainsi, l'application de colchicine ou d'autres agents chimiques bloquant la polymérisation des microtubules conduit à l'appariement des homéologues (Feldman, 1966) uniquement si ces produits (i) sont appliqués durant l'interphase de méiose et (ii) affectent la polymérisation des microtubules attachés au centromère (Dover et Riley, 1973, 1977; Loidl, 1990). Par ailleurs, la durée de la méiose est plus courte chez les blés polyploïdes que chez leurs progéniteurs diploïdes, alors même que le nombre de chromosomes est plus important et que la présence de chromosomes homéologues rend le tri plus difficile (Bennett et Smith, 1972). L'association pré-méiotique des centromères, en permettant le tri précoce des chromosomes homologues et homéologues, pourrait expliquer ce paradoxe d'autant plus qu'aucune association pré-méiotique n'a été observée chez les espèces diploïdes de triticiées.

Cependant, bien que l'organisation et la séquence des régions centromériques puissent être différentes entre les chromosomes homologues et homéologues (Ananiev *et al.*, 1998; Henikoff *et al.*, 2001; Jiang *et al.*, 2003; Langdon *et al.*, 2000), il est peu vraisemblable que la discrimination des homologues et des homéologues ait lieu au niveau des centromères (Dvorak *et al.*, 2004). Ainsi,

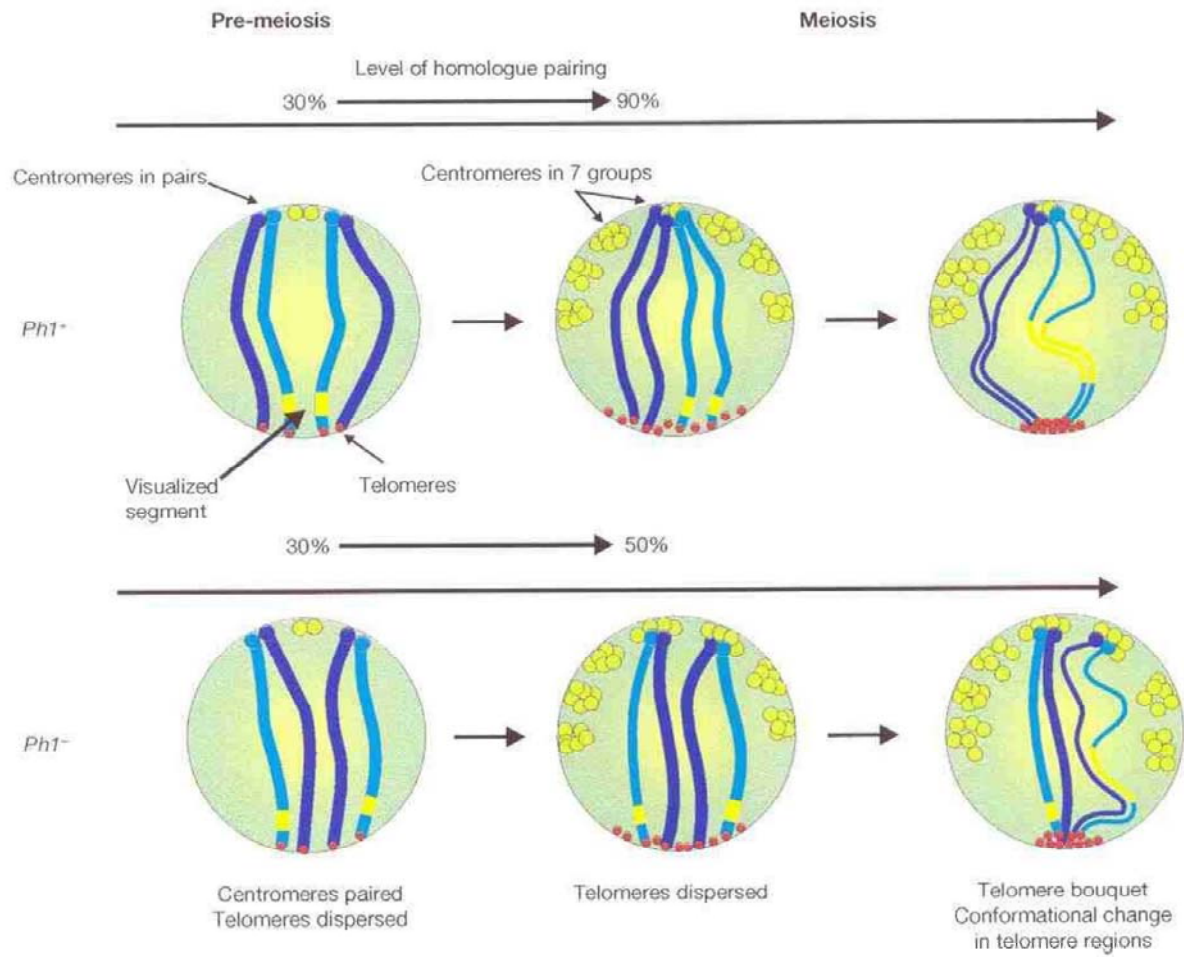


Figure 41 : Proposition de mécanisme d'action de *Ph1* chez le blé. D'après Griffith *et al.* (2006)

les deux bras d'un homéo-isochromosome 2BL.2RL ne recombinent jamais en présence de *Phl* (bien qu'ils soient réunis par un même centromère !) alors qu'ils le font fréquemment en l'absence de *Phl*. Cette interprétation est cohérente (i) avec le fait que la correction des mésappariements s'effectue sur la totalité du chromosome et non pas uniquement dans les régions centromériques (Holm, 1986 ; Wang et Holm, 1988) et (ii) avec les observations rapportées précédemment sur la levure, chez qui la correction des associations de centromères non-homologues formées sous l'influence de Zip1 dépend de l'initiation de la recombinaison (Tsubouchi et Roeder, 2005)

Phl pourrait donc agir, non pas spécifiquement sur la stringence de l'association pré-méiotique des centromères, mais plus généralement sur la stringence de reconnaissance d'homologie (de séquence). Cette hypothèse permet d'expliquer les résultats obtenus par Dubcovsky *et al.* (1995) et Luo *et al.* (1996). Ces auteurs, en étudiant comment se fait la recombinaison sur des chromosomes A de blé portant des fragments introgressés à partir d'*Aegilops monoccocum*, ont observé que la recombinaison est quasi-absente des segments introgressés quand *Phl* est actif alors qu'elle a lieu normalement dans les segments homologues adjacents, et ceci quels que soient la position ou la longueur du segment introgressé, (Dubcovsky et al., 1995; Dvorak et al., 1995; Luo et al., 1996; Lukaszewski, 1997; Dvorak and Lukaszewski, 2000). Cette reconnaissance pourrait s'effectuer durant le zygotène, puisque les interactions entre les homéologues sont corrigées au pachytène (Holm, 1986, Wang et Holm, 1988).

Prieto *et al.* (2004) ont récemment proposé une hypothèse alternative. Ces auteurs ont montré qu'un changement dans la conformation de la chromatine est associé au début de la méiose avec la reconnaissance des chromosomes amenés à s'apparier. Ainsi, le pourcentage d'homologues appariés de façon correcte correspond au pourcentage de chromosomes homologues ayant une conformation identique au début de la méiose (Figure 41). Prieto *et al.* (2004) ont également observé qu'en présence de *Phl* la conformation des chromosomes homologues était identique au début de la méiose et changeait immédiatement avant la formation du bouquet (décondensation), alors qu'en l'absence de *Phl*, la conformation des chromosomes homologues au début de la méiose pouvait être différente et leur décondensation asynchrone. De plus, seule la conformation de l'euchromatine dans les régions subtélomériques change en présence de *Phl* alors qu'en absence de *Phl*, à la fois la conformation de l'euchromatine et celle de l'hétérochromatine changent. Les auteurs proposent que *Phl* pourrait agir sur la spécificité des interactions entre régions subtélomériques au début de la méiose, conduisant à une reconnaissance précoce qui se traduit par un changement coordonné de l'état de la chromatine propre à assurer la suite de l'appariement.

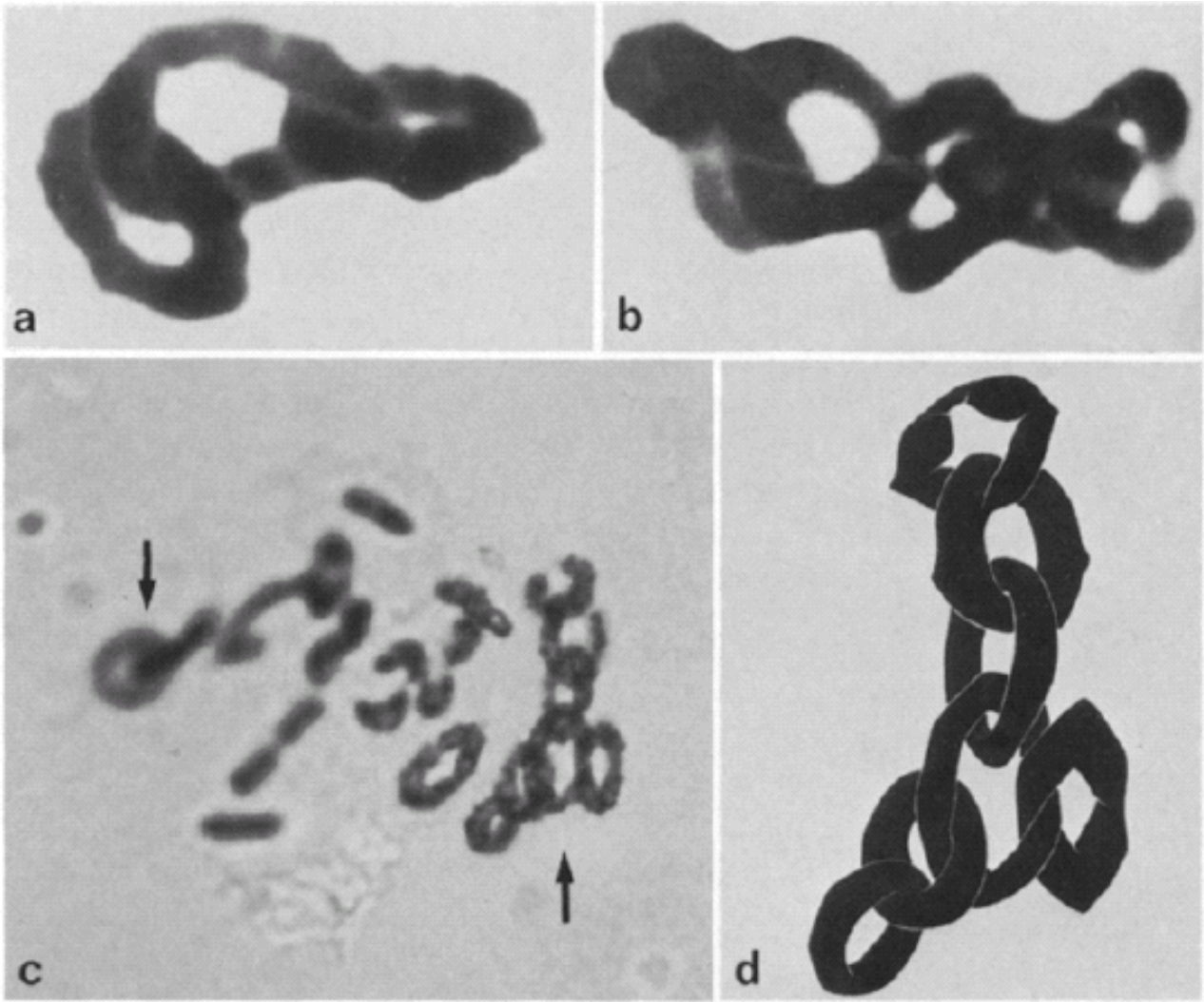


Figure 42 : Chromosome de blés en « interlocking ». Les bivalents en anneaux MI forment des anneaux associés sous forment des chaines au lieu d'être séparés. D'après Yacobi et *al.*, (1985).

Prieto *et al.* (2005) ont en effet observé qu'il n'y a pas de propagation des changements de conformation à partir des télomères le long des chromosomes de seigle (dans des hybrides blé×seigle) lorsque *Ph1* est présent, ce qui limite les changements de conformation de l'hétérochromatine contenant les séquences hautement répétées.

L'hypothèse proposée par G. Moore et son équipe est la suivante : l'aptitude à initier des événements de recombinaison et à former des crossing-overs entre deux chromosomes dépend de l'identité de l'état de conformation de leur chromatine (sur toute leur longueur). *Ph1*, en contrôlant le degré de synchronisation des changements de conformation de la chromatine chez les chromosomes homologues et homéologues, permet de favoriser leur reconnaissance. Bien que très similaires, les chromosomes homologues et homéologues présentent en effet des contenus et des « paysages » hétérochromatiques différents, l'hétérochromatine servant en quelque sorte de code barre de l'identité chromosomique (voir aussi Renauld et Gasser, 1997). Ce changement coordonné permet aux chromosomes qui ont les mêmes paysages de poursuivre leurs interactions, alors que les interactions entre des chromosomes qui présentent localement des différences de conformation sont rompues ou limitées. Sous cette hypothèse, les résultats de Dubcovsky *et al.*, (1995) et de Luo *et al.*, (1996) s'expliqueraient, selon G. Moore, par le fait que des segments homéologues présents à l'état hémizygote chez le blé n'auraient vraisemblablement pas une conformation identique à celle de leur homologue ce qui les empêcherait de recombiner. Cette hypothèse est également soutenue par le fait que l'on observe plus de crossing-overs dans les régions euchromatiques riches en gènes que des régions pauvres en gènes. Le contrôle de la conformation des chromosomes pourrait donc partiellement réconcilier les deux hypothèses (association pré-méiotique vs inhibition de la formation des crossing-overs) sur le mode de fonctionnement de *Ph1*.

Rappelons avant de conclure que l'action du gène *Ph1* sur les appariements varie en fonction du nombre de dose de *Ph1*. Ainsi, lorsque le nombre de copie de *Ph1* s'écarte de la dose normale (2 doses), le nombre de chromosomes en « interlocking » s'accroît (Figure 42), le nombre de chiasmas est réduit et la discrimination entre homologues et homéologues perdue (revue par Zicler et Kleckner, 1999). Ainsi en présence de 6 doses de *Ph1* 45 à 75% des CMP en MI contiennent des chromosomes en « interlockings » contre 4% avec une dose normale (2 doses), et le nombre d'univalents s'accroît considérablement indiquant que les échanges entre les homologues sont réduits (Yacobi *et al.*, 1982).

L'action de *Ph1* sur les appariements homéologues peut être modulée par d'autres locus notamment par des gènes présents chez des espèces diploïdes apparentées comme *Aegilops mutica* (Dover et Riley, 1972) ou *Ae. speltaoides* (Dvorak *et al.*, 2006). Notons enfin que d'autres

régulateurs ont été identifiés chez le blé (Cuadrado *et al.*, 1991; Sears, 1976), qui présente donc un réseau complexe de gènes limitant ou au contraire promouvant les appariements et/ou recombinaisons homéologues. La variabilité non contrôlée de ces autres régulateurs et leur interaction avec *Ph1* (qui lui n'est pas polymorphe) pourrait expliquer les légères variations du comportement méiotique observées chez le blé (Martinez *et al.*, 2005) ou ses apparentés (Martinez *et al.*, 2001; Ozkan et Feldman, 2001) ainsi qu'une partie de la diversité des effets observés. Certains de ces autres régulateurs pourraient avoir un effet général sur la méiose et non pas un effet spécifique sur l'appariement et / ou recombinaison homéologue. C'est vraisemblablement le cas du locus *Ph2* (Mello-Sampayo, 1968; Mello-Sampayo et Cannas, 1973 ; Wall *et al.*, 1971), qui est localisé sur le bras court du chromosome 3D et agirait plutôt sur la progression de la synapse, le mutant étant partiellement asynaptique (Martinez *et al.*, 2001). A ce jour, le colza est la seule autre espèce allopolyploïde pour laquelle le contrôle génétique des appariements homéologues est étudié (*PrBn* : Jenczewski *et al.*, 2003). Je reviendrai sur ce modèle au chapitre II.4. dans la présentation de mon modèle d'étude.

I.4 LE COLZA, UN NOUVEAU MODELE POUR ETUDIER LE CONTROLE DES ECHANGES INTERGENOMIQUES

I.4.1 Une espèce cultivée d'un intérêt agronomique majeur en expansion

Le colza (*Brassica napus L.*) est une espèce annuelle appartenant aux crucifères et essentiellement cultivée pour l'huile contenue dans ces graines, les tourteaux (protéines) étant un coproduit utilisé en alimentation animale. Avec 12% de la production totale d'huile et 26 millions d'hectares d'assolement dans le monde, le colza est la troisième espèce cultivée pour l'huile après le soja et le palmier à huile. Mais, pour des raisons historiques (restriction de la culture du soja suite à un accord Etats-Unis - Europe) et écologiques, c'est la plus importante culture oléagineuse au niveau européen (45%). Dans les systèmes de culture actuels, le colza est généralement cultivé en tête d'assolement afin de préparer la culture principale (blé, maïs).

Actuellement, le principal débouché économique du colza est l'alimentation animale et humaine, car d'une part l'huile de colza possède d'excellentes qualités nutritionnelles (équilibre en acide gras, richesse en oméga 3), d'autre part son coût de production est relativement faible comparé aux autres cultures oléiques européennes (olivier et tournesol). Toutefois, l'usage industriel se développe très rapidement notamment avec l'incorporation d'huile dans le diesel

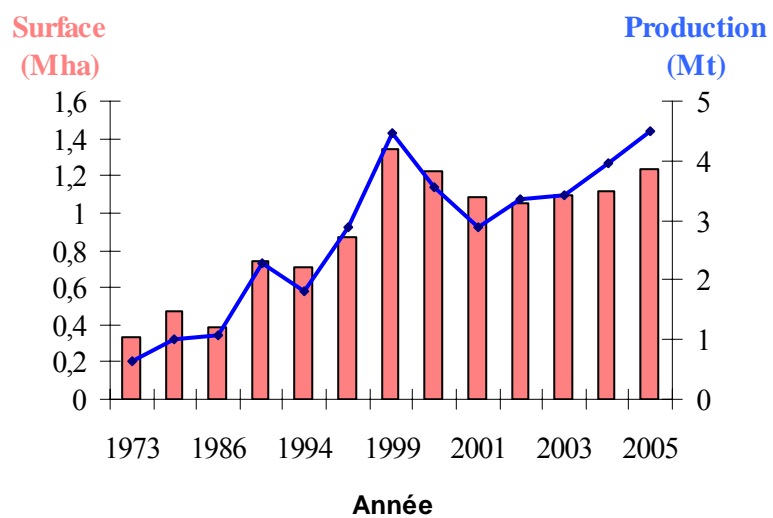


Figure 43 : Evolution des surfaces (histogramme) et de la production (courbe) de colza en France entre 1973 et 2005

(directive européenne biocarburant) ce qui offre des perspectives de développement très importantes pour les surfaces cultivées en Europe et particulièrement en France.

Historiquement, la culture du colza a très fortement varié en France en fonction des aléas politiques. Très importante au début du XIX^{ème} siècle car l'huile de colza était destinée à l'éclairage public, elle a fortement décliné suite à la colonisation et au développement des importations d'huiles tropicales moins chères. Le blocus des importations provenant de ces pays durant la seconde guerre mondiale a fortement relancé sa culture mais cet élan a été interrompu après la guerre. Enfin, suite à la décolonisation des années 50-60 et du fait de la volonté politique d'assurer l'autosuffisance alimentaire de la France et de l'Europe (Politique Agricole Commune), la culture du colza a été fortement relancée afin de remplacer les importations d'huiles provenant des pays tropicaux décolonisés (palmier à huile, arachide). De nombreux programmes de sélection ont été mis en place pour améliorer le colza, portant principalement sur le rendement, la qualité de la graine (acide érucique, glucosinolate,...) et la résistance aux maladies (phoma, hernie, etc.). Les rendements sont ainsi passés de 23 q/ha en 1962 à 36,5 q/ha en 2005 (Figure 43). Suite à des polémiques concernant la composition en acide gras des huiles de colza dans les années 70 et la volonté de diversifier les débouchés de l'huile de colza, des programmes destinés à la modifier ont été développés. Ainsi, la première variété à faible teneur en acide érucique (<1%) a été obtenue en 1977 (lignées simple zéro). Enfin, plus récemment l'amélioration de la qualité nutritionnelle des tourteaux de colza destinée à l'alimentation du bétail est également devenu un critère de sélection afin de diversifier ces débouchés. Ainsi, la diminution de la teneur en glucosinolate des tourteaux de colza a rendu possible son utilisation dans l'alimentation des monogastrique alors qu'ils n'étaient auparavant utilisés que pour les ruminants. Les premières lignées à faible teneur en acide érucique et en glucosinolates (lignée dites double 0) ont été commercialisées en 1984. Ainsi, durant ces cinquante dernières années, les débouchés de l'huile de colza et de ces coproduits (tourteaux) se sont fortement diversifiés notamment en ce qui concerne les usages industriels (lubrifiant biodégradables, solvant, carburants) et alimentaires (alimentation humaine, animales). Avec ces nouveaux débouchés, les critères de sélection se sont diversifiés. Ainsi, aux critères habituels que sont le rendement, la résistance aux maladies, la qualité alimentaire de l'huile sont venus s'ajouter la qualité nutritionnelle des tourteaux et des critères spécifiques des industriels. Les objectifs sont parfois contradictoires. Ainsi, les lubrifiants nécessitent des variétés riches en acide érucique alors que c'est le contraire pour les variétés à destination de l'alimentation humaine.

Bien qu'il soit complexe à travailler du fait de son génome polyploïde, le colza offre des perspectives très intéressantes en sélection végétale, car :

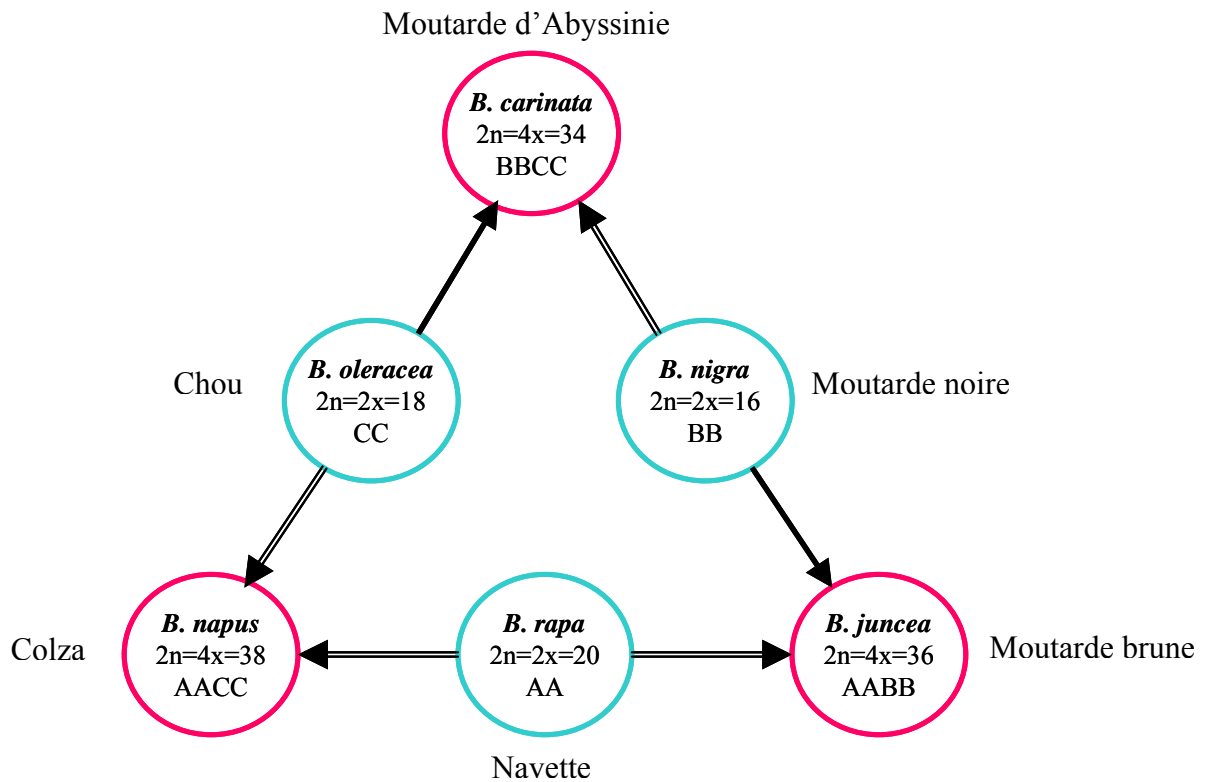


Figure 44 : Le triangle de U. Les doubles flèches indiquent le(s) donneur(s) de cytoplasme des espèces allotétraploïdes. D'après U (1935) et Soltis & Soltis (1993).

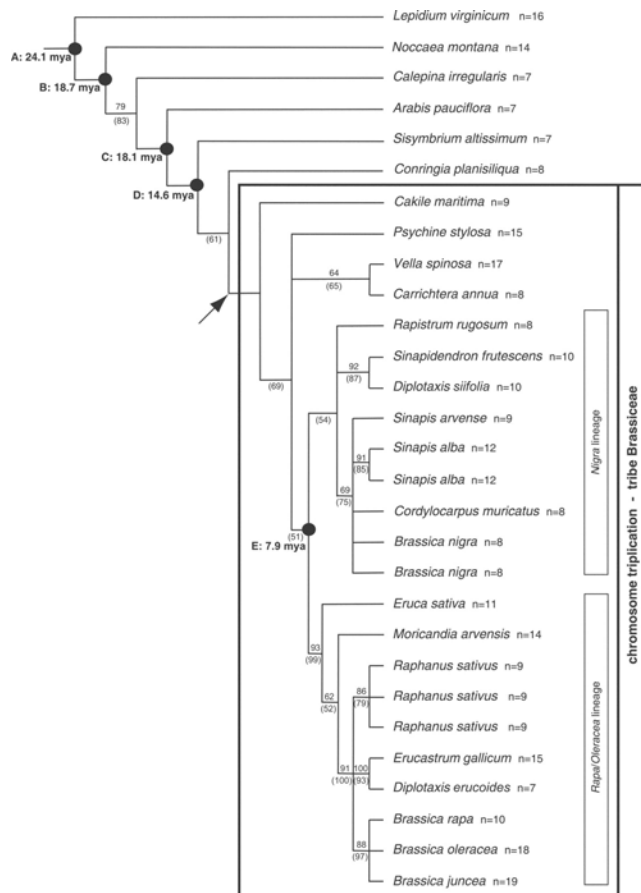


Figure 45 : Phylogénie des Brassicacées. D'après Lysak *et al.*, (2005).

- 1 Il existe un système de stérilité mâle cytoplasmique permettant de valoriser la vigueur hybride et de protéger les obtentions végétales (système Ogura)
- 2 Il répond très bien à la transgénèse
- 3 Il répond bien à la culture de microspores permettant l'utilisation de l'haplodiploïdisation dans les programmes de sélection.

Cependant, du fait de sa formation récente, la variabilité intraspécifique du colza est relativement faible par rapport à d'autres espèces d'intérêt agronomique comme le maïs ou le soja. Par ailleurs, l'utilisation d'organismes génétiquement modifiés rencontre actuellement une très forte opposition en Europe ce qui limite fortement le développement de colza transgénique. Or, la variabilité génétique disponible au sein du complexe d'espèce est très importante, compte tenu de la diversité génétique des espèces progénitrices (le chou et la navette) et des possibilités d'hybridations interspécifiques. Ainsi, l'utilisation d'hybrides interspécifiques chou x navette, issus de différentes variétés de chou et de navette, de colza x navette ou de colza x chou, permet d'accéder aux variabilités intraspécifiques du chou et de la navette. Cette variabilité interspécifique a été relativement peu exploitée, excepté pour introgresser des résistances aux maladies. L'utilisation de la variabilité intergénomique du colza via la substitution des allèles d'un gène du génome A par des allèles des gènes homéologues du génome C ou paralogues du génome A au sein du génome du colza semble être une autre voie prometteuse pour accroître la variabilité intraspécifique disponible. (Gènes impliqués dans la précocité de floraison; Pires *et al.*, 2004b).

1.4.2 Un « jeune » allotétraploïde de la famille des *Brassica*

Le colza (*Brassica napus*) appartient à la famille des *Brassicaceae* qui regroupe plus 3000 espèces dans environ 350 genres, largement distribués à travers le monde et dont fait partie la plante modèle *A. thaliana* (Lysak *et al.*, 2005) (Figure 45).

Le colza appartient au genre *Brassica* qui regroupe plusieurs espèces cultivées diploïdes ayant un nombre variable de chromosomes : la navette (*B. rapa* ; AA ; 2n=20), le chou (*B. oleracea* ; CC ; 2n=18), et la moutarde noire (*B. nigra* ; BB ; 2n=16). L'hybridation spontanée entre ces espèces diploïdes a donné naissance à 3 espèces cultivées allotétraploïdes, comme illustré dans le triangle de U (Figure 44) (U, 1935) : le colza (*B. napus* ; AACC ; 2n=38), la moutarde d'Abyssinie (*B. carinata* ; BBCC, 2n=34) et la moutarde brune (*B. juncea* ; AABB ; 2n=36).

Différentes études de génomique comparative ont permis de montrer que les génomes A, B et C des espèces diploïdes progénitrices des allopolyploïdes sont hautement répliqués indiquant

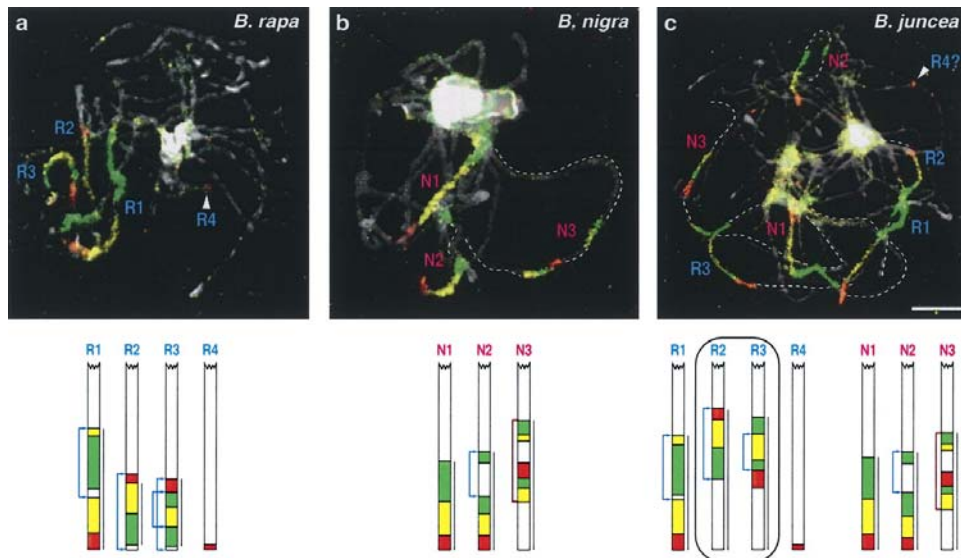


Figure 46 : Triplification des segments chromosomiques au sein des *Brassica* révélée par hybridation *in situ* au moyen de BAC physiquement ancré dans *Arabidopsis*. De gauche à droite, l'hybridation de chromosomes en pachytène de *B. rapa* (R), *B. nigra* (N) et de l'allopolyploïdes *B. juncea* (R+N). D'après Lysak et al., (2005)

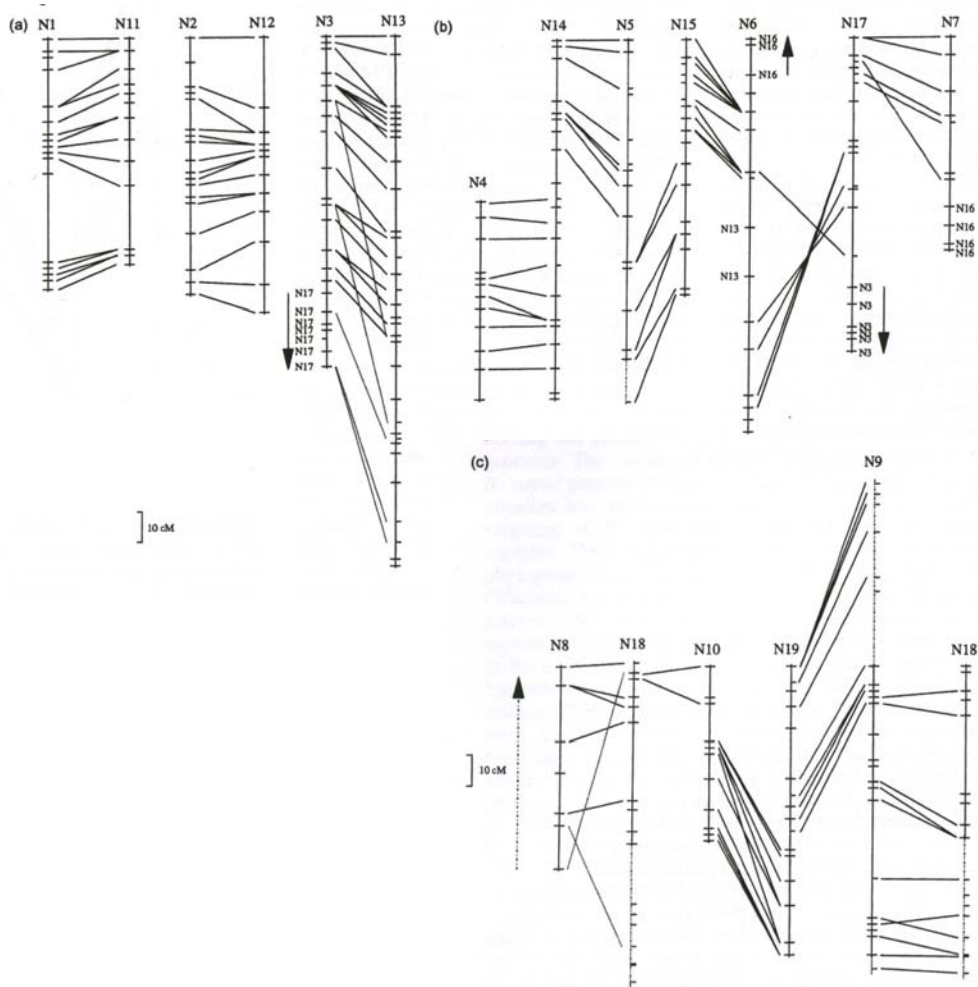


Figure 47: Cartographie comparée entre les groupes de liaison des génomes A et C mettant en évidence les relations d'homéologie. D'après Parkin et al. (2003).

qu'ils dérivent vraisemblablement d'un ancêtre commun polyploïde (Kowalski *et al.*, 1994; Lagercrantz et Lydiate, 1996b; Lukens *et al.*, 2004; Lysak *et al.*, 2005; Parkin *et al.*, 2005; Parkin *et al.*, 2003; Town *et al.*, 2006; Truco *et al.*, 1996; Yang *et al.*, 2006a). Plusieurs observations soutiennent l'idée que cet ancêtre commun était hexaploïde (Lysak *et al.*, 2005; Parkin *et al.*, 2005) mais on ne peut pas totalement exclure que le génome des *Brassica* ait évolué par duplications segmentaires à partir de deux génomes ancestraux (Truco *et al.*, 1996). En effet, bien que de nombreux segments chromosomiques soient tripliqués au sein du génome des *Brassica* (Figure 46), certains segments sont présents en une seule ou en cinq copies indiquant que certaines régions ont vraisemblablement été éliminées tandis que d'autres ont été dupliquées au cours de la divergence des *Brassica* (Parkin *et al.*, 2005). Les analyses phylogénétiques montrent que l'événement supposé de polyploïdisation des *Brassica* a eu lieu dans une fourchette située entre 8 et 14 millions d'années (Koch et Kiefer, 2005), d'autres études situant plutôt cet événement entre 13 et 17 millions d'années (Town *et al.*, 2006) voire il y a 30 millions d'années (Yang *et al.*, 2006a).

On peut penser que l'évolution du caryotype des espèces paléopolyploïdes de *Brassica* résulte de très nombreux remaniements structuraux (Lagercrantz et Lydiate, 1996b; Schranz *et al.*, 2006b), dont vraisemblablement des fissions et des fusions de chromosomes (Lysak et Lexer, 2006; Quiros *et al.*, 1995). Ainsi, au cours de leur différenciation, les génomes A et C ont subi des réarrangements structuraux identiques en nombre mais localisés à des endroits différents (Lagercrantz et Lydiate, 1996b; Parkin *et al.*, 2005; Parkin *et al.*, 2003). Sur la fourchette de temps la plus basse (8 à 4 millions d'années), Koch et Kiefer (2005) ont calculé que le taux de remaniements chromosomiques au sein des *Brassica* est compris entre 6,5 et 10 réarrangements par million d'années depuis l'événement de polyploïdisation. Il n'en demeure pas moins vrai que les génomes A et C présentent une grande proximité génétique et qu'ils n'ont divergé que depuis environ 4 millions d'années (Inaba et Nishio, 2002). Des estimations récentes (mais ponctuelles) montrent que moins de 5% des gènes portés par les régions homéologues ont été remaniés chez le colza (Rana *et al.* 2004 ; O'Neill et Bancroft, 2000). Ces génomes présentent à peu près les mêmes séquences d'ADN répété (nature, distribution et quantité) de sorte qu'on ne peut pas les distinguer en GISH (Snowdon *et al.*, 1997).

Chez le colza, des analyses de synténie ont permis de positionner les différentes régions dupliquées au sein des génomes A et C et entre ces deux génomes, permettant d'identifier les régions vraisemblablement homéologues (qui dérivent le plus directement d'une région ancestrale commune par spéciation et réunion). Parkin *et al.* (2003) ont proposé une carte schématique résumant les relations d'homéologie entre les chromosomes des génomes A et C de *B. napus* (Figure 47) ainsi que les duplications intra-génomiques (Figure 48). Ces travaux ont récemment été

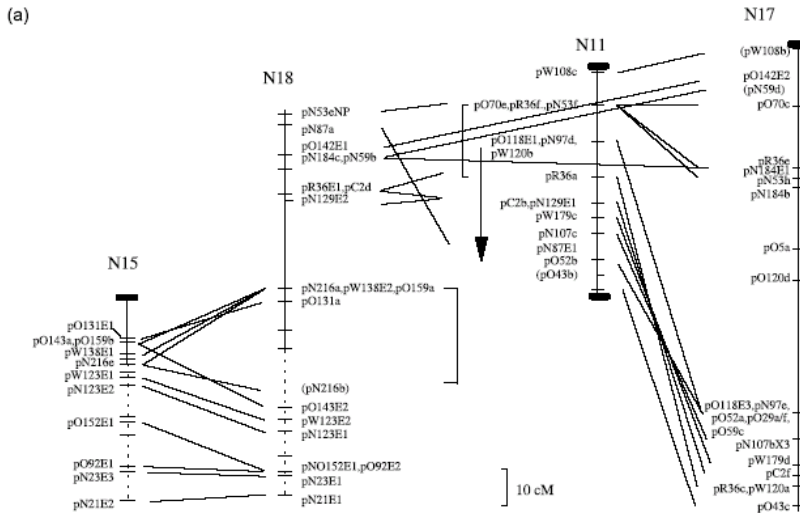


Figure 48: Duplications intragénomiques au sein du génome du colza. N15, N18, N11 et N17 appartiennent au génome C de *B. napus* et entretiennent des relations de colinéarité indiquant la présence de duplications au sein de ce génome. D'après Parkin *et al.* (2003).

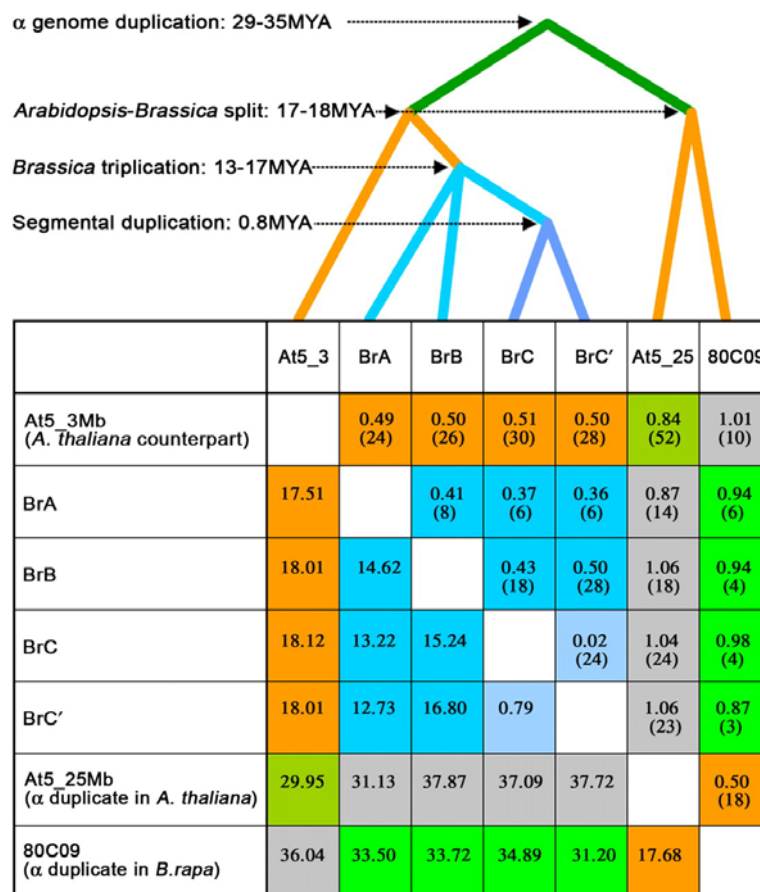


Figure 49 : Perte de gènes et temps de divergence entre les régions paraloues contenant les locus FLC (Flowering Locus C) chez *B. rapa* et la région orthologue sur *A. thaliana*. Sur le triangle du bas, les temps de divergence estimés entre les régions, sur le triangle du haut le pourcentage de perte de gènes différentielle entre les régions. En orange la comparaison des régions orthologues, en bleu des régions paraloues de *B rapa*. D'après Yang *et al.* (2006.)

confirmés et étendus par un alignement complet d'une carte génétique de colza sur le génome d'*Arabidopsis thaliana* } (Parkin *et al.*, 2005).

Comme on peut le constater sur la figure 46, hormis deux paires d'homéologues qui sont colinéaires sur la totalité de leur longueur, les autres chromosomes ne le sont que de façon segmentaire. On peut classer les chromosomes (en réalité, leur représentation sous forme de groupes de liaison) de la façon suivante :

- a. Les chromosomes fortement synténiques, c'est-à-dire synténiques sur toute leur longueur et qui ne montrent pas de divergence structurale majeure (N1-N11, N2-N12),
- b. Les chromosomes synténiques sur presque la totalité de leur longueur, mais qui présentent localement des divergences structurales importantes (N3-N13),
- c. Les chromosomes partiellement synténiques, qui entretiennent des relations de synténie avec deux groupes de liaison (un pour chaque bras chromosomique) (N4-N14-N5-N15, N7, N18-N9-N19-N10)
- d. Les chromosomes faiblement synténiques, qui entretiennent de multiples relations de synténie avec plusieurs groupes de liaison et qui semblent donc très remaniés (N17, N6, N8).

Il semblerait en outre que les génomes du colza aient très peu divergé vis-à-vis de ceux présents dans les formes contemporaines de ses progéniteurs (Parkin *et al.*, 1995; Rana *et al.*, 2004).

La divergence entre les régions paralogues (dupliquées au sein du génome A ou du génome C) et para-homéologues (dupliquées entre les génomes A et C, mais différentes des homéologues) est bien supérieure. Comme on l'a vu, ces régions ont divergés depuis 4 à 5 fois plus longtemps que les régions homéologues. Elles présentent un degré de synténie (conservation du contenu et de l'ordre des gènes) beaucoup moins important que les régions homéologues, qui traduit le processus de diploïdisation des génomes. Le séquençage de différentes régions paralogues au sein du colza (RANA *et al.* 2004; (O'Neill et Bancroft, 2000) ou chez les espèces diploïdes progénitrices (Town *et al.*, 2006; Yang *et al.*, 2006) montrent que de nombreux remaniements géniques ont eu lieu depuis l'événement de polyploïdisation dans l'ancêtre des *Brassica*, puisqu'environ 60% des gènes ont été différentiellement perdus et dupliqués au cours de l'évolution des régions paralogues. Il est toutefois difficile de déterminer dans quelle mesure ces résultats sont généralisables à l'ensemble du génome car très peu de régions ont été étudiées à ce jour. Par ailleurs, certaines duplications intra-génomiques, générées par des événements récents de duplication segmentaire postérieurs à l'événement de spéciation entre *B. rapa* et *B. oleracea*, peuvent présenter une plus grande proximité génétique que les régions homéologues. Town *et al.* (Town *et al.*, 2006) ont en effet montré qu'une duplication segmentaire avait pris place chez *B. rapa* il y a environ 0,8 millions d'années et

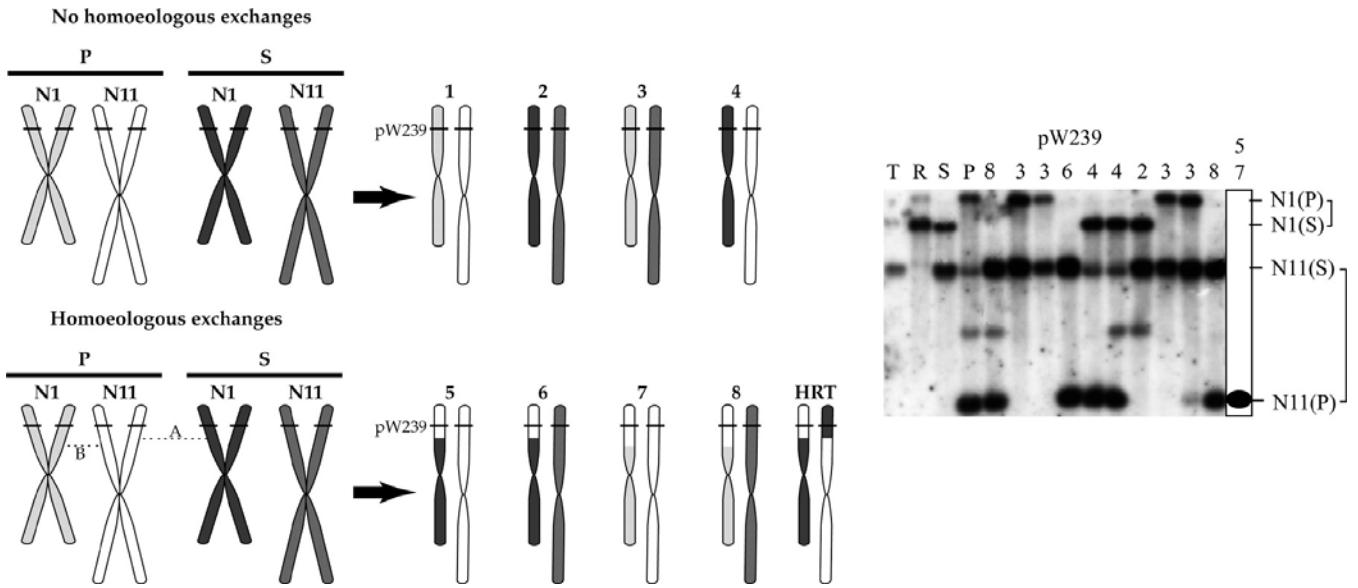


Figure 50 : Détection de translocations non-réciproques homéologues via la perte et duplication de marqueurs portés par les régions homéologues. D'après Udall *et al.* (2005).

que très peu de remaniements géniques séparaient ces régions paralogues. (Figure 49) (Yang *et al.*, 2006a). L'analyse comparée de l'évolution des régions dupliquées au sein des génomes (régions paralogues) a permis d'en estimer approximativement la vitesse. L'analyse de quatre régions paralogues (trois issues de l'événement de triplication, une provenant d'une duplication segmentaire) au sein du génome de *B. rapa* montre qu'environ 56% des 96 gènes initialement présents ont été différenciellement perdus entre les différentes régions paralogues. Compte tenu du temps de divergence estimée entre ces régions (13 à 17 millions d'années) le taux de perte de gènes est compris entre 0,4% à 1% de gènes par millions d'année (YANG *et al.* 2006).

I.4.3 Des remaniements structuraux générés par des recombinaisons intergénomiques chez des colzas synthétiques

Différentes études sur des colzas synthétiques dérivant d'hybrides interspécifiques entre le chou et la navette doublés à la colchicine ont permis de montrer que des remaniements chromosomiques sont générés durant la méiose des néopolyploïdes et que ceux ci résultent de recombinaisons intergénomiques.

Ainsi, dans une étude pionnière sur la dynamique des génomes polyploïdes, Song *et al.* (1995) ont montré que certains fragments RFLP disparaissent alors que d'autres au contraire apparaissent dans la descendance de différents polyploïdes synthétiques homozygotes en autofécondation du genre *Brassica*. Ces disparitions / apparitions se produisent parfois de façon simultanée dans la descendance. Song *et al.* (1995) proposent plusieurs hypothèses concernant les mécanismes à l'origine de ces changements (méthylation, mutations, conversions géniques, réarrangements structuraux...) mais ils considèrent que la recombinaison intergénomique est le principal facteur impliqué dans ces apparitions / disparitions. Sharpe *et al.* (1995) ont montré dans des lignées dérivant de polyploïdes synthétiques de colza, que des pertes et duplications simultanées de marqueurs se produisent entre des régions homéologues avec une fréquence comprise entre 0,00014 et 0,003 événements par chromatide et par individu (ce qui représentait de 0,26 à 0,49% de la fréquence de recombinaison homologue). Sharpe *et al.* (1995) ont interprété les pertes et duplications simultanées comme le résultat de translocations non réciproques produites par des crossing-overs entre chromosomes homéologues (Figure 50). Udall *et al.* (2005) ont récemment montré que 1,60% de tous les événements de recombinaison détectés dans une population d'haploïdes doublés dérivant d'un polyploïde synthétique résultent de CO entre homéologues.

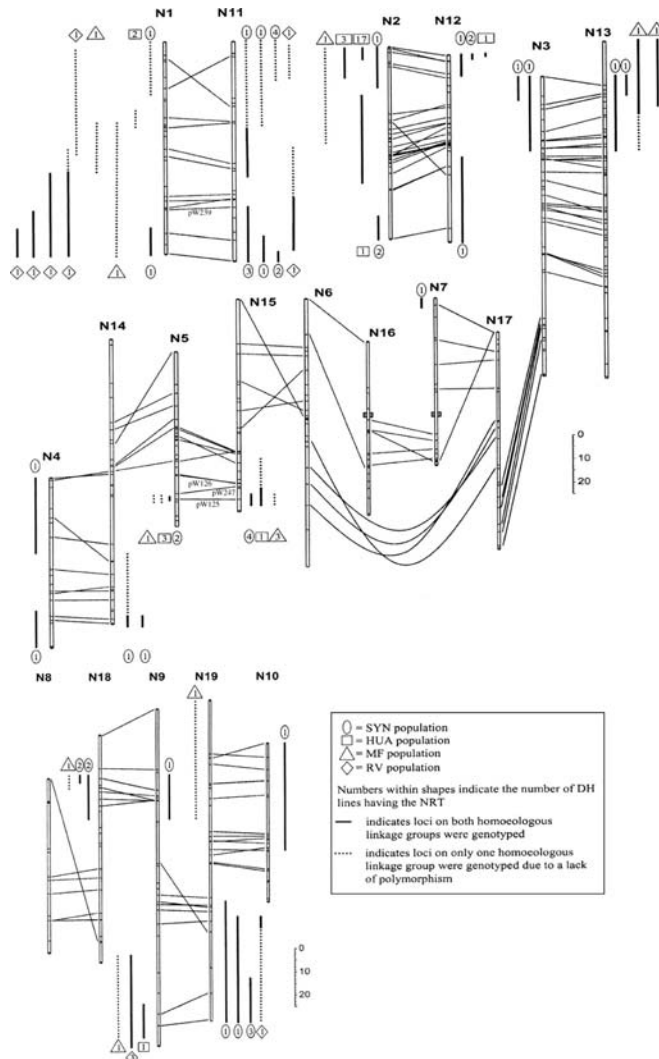


Figure 51 : Distribution et quantification des événements de Translocations Non-Réiproques Homéologues *de novo* générés au cours de la méiose de 4 génotypes différents de colza (3 colzas naturels et un synthétiques SYN). Environ 160 plantes ont été examinées pour chaque génotype. D'après Udall et al., (2005).

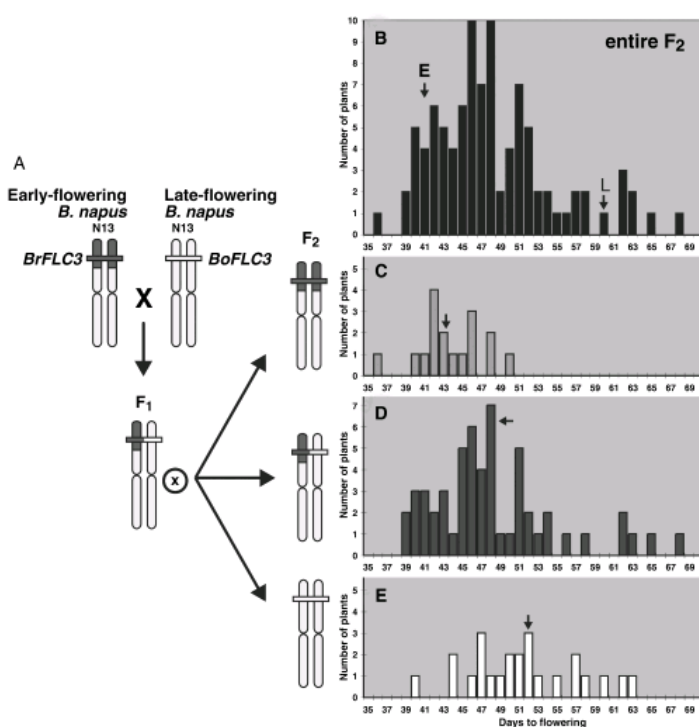


Figure 52 :Variation de la précocité de floraison en fonction de la ségrégation dans la descendance d'une translocation non réciproque homéologue de *B. rapa* dans *B. oleracea* contenant des gènes de précocité de floraison respectivement de *B. rapa* (transloquée) ou *B. oleracea* (non transloquée) D'après Pires et al., (2004).

1.4.4 Un allopolyploïde en cours de stabilisation

Sous sa forme euploïde, le colza forme quasi exclusivement des bivalents en métaphase I de méiose et possède une hérédité de type disomique. Seuls les chromosomes homologues s'associent et recombinent.

Toutefois de nombreuses observations montrent que le génome de colza continue d'évoluer. La comparaison des cartes génétiques a permis de mettre évidence la présence de nombreuses translocations non réciproques (TNR) homéologues pré-existant naturellement dans le génome de plusieurs variétés de colza (Lombard et Delourme, 2001; Piquemal *et al.*, 2005; Udall *et al.*, 2005). Udall *et al.* (2005) ont notamment détecté un total de neuf TNR qui pré-existent dans le génome de quatre lignées de colza entre N1 et N11, N2 et N12, N13 et N3, N15 et N9, N10 et N19. Chacune de ces lignées possèdent une composition de TNR pré-existantes différentes. Le nombre moyen de translocations non réciproques par individu dans l'ensemble des 4 populations étudiées est d'environ 0,15 (Figure 51). Ces remaniements semblent stimuler en outre la formation de nouvelles translocations dans leur voisinage. Udall *et al.* (2005) ont également estimé que la fréquence de recombinaison homéologue représente un peu moins de 1% de la fréquence de recombinaison homologue (sauf si le parent utilisé est un colza synthétique, voir au dessus).

Il a par ailleurs été montré que des variations phénoypique peuvent être induites par des recombinaisons intergénomiques conduisant à la formation de translocations non réciproques entre les génomes A et C du colza. Ainsi, Pires *et al.* (2004) a montré que deux lignées dérivées d'un même colza synthétique peuvent présenter une précocité de floraison très différente (après qu'une sélection divergente ait été appliquée sur ce caractère) en lien avec la fixation de translocations non réciproques homéologues modifiant le nombre de copies des gènes FLC (Flowering Locus C) contrôlant la précocité de floraison. Ainsi, selon que les régions homéologues sont transloquées du génome A vers le génome C ou réciproquement du génome C vers le génome A, la précocité de floraison devient respectivement précoce ou tardive (Figure 52). De la même façon, il a été montré qu'une translocation homéologue pouvait améliorer le rendement (Osborn *et al.*, 2003) ou la résistance aux maladies (Zhao *et al.*, 2006)

Enfin, l'ensemble de ces observations indique que certains chromosomes homéologues, ou certaines régions homéologues entre les génomes A et C du colza ont gardé suffisamment de similitudes pour recombiner malgré la présence d'un jeu de chromosomes homologues.

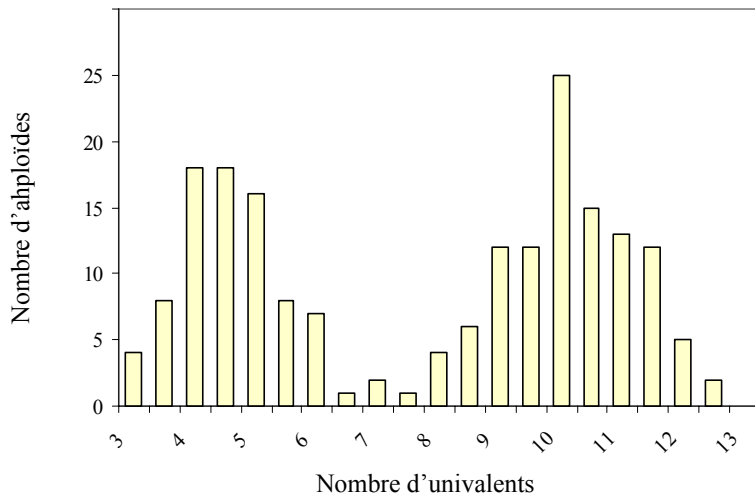


Figure 53 : Distribution du nombre d'univalents dans les haploïdes issus d'une F1 entre deux variétés contrastées pour le nombre d'univalents en MI de méiose : *Darmor-bzh* (faible nombre d'univalents) et *Yudal* (nombre élevé d'univalents). La distribution bimodale indique la présence d'un gène majeur.

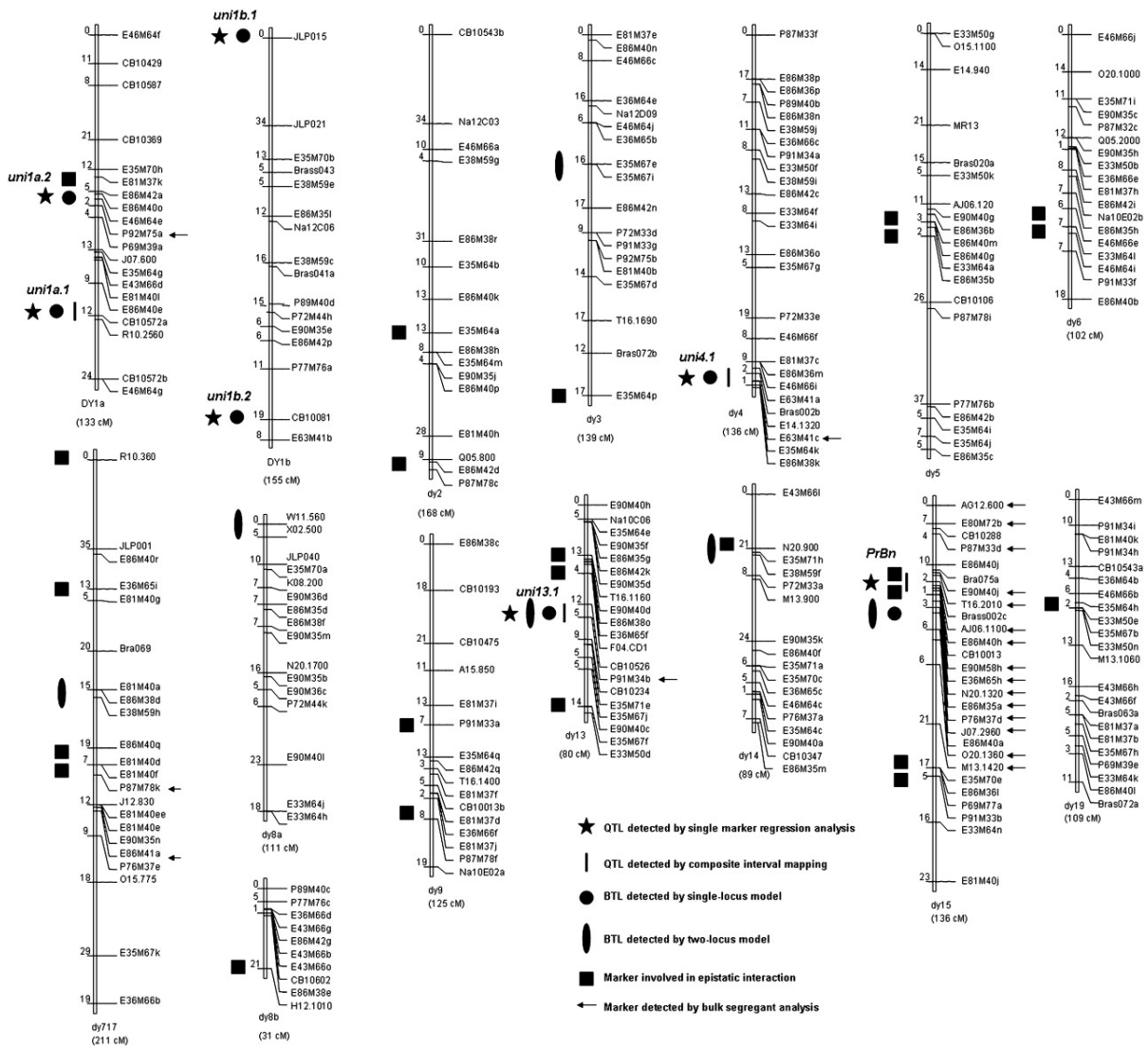


Figure 54: Architecture du contrôle génétique de la fréquence d'univalents en métaphase I de méiose chez les haploïdes de colza. D'après Liu *et al.* (2006)

1.4.5 Un contrôle génétique quantitatif de l'appariement homéologue chez les haploïdes

Il a été observé à de nombreuses reprises que le nombre de multivalents est significativement plus fort chez des colzas synthétiques que chez des colzas naturels (Attia et Robbelen, 1986; Olsson et Hagberg, 1955; Prakash et Hinata, 1980; Chèvre comm. pers.). De même, on observe fréquemment plus de bivalents lors de la méiose d'hybrides interspécifiques A×C que chez les haploïdes de colza. Ces observations montrent qu'il y a eu une « adaptation » du comportement méiotique chez le colza. Renard et Dosba (1980), Attia et Röbbelen (1986) ont montré que le nombre d'univalents en MI de méiose dans les cellules mères de pollen (PMC) de plantes haploïdes (AC ; n=19) varie selon le génotype. Ils ont distingué des variétés présentant peu d'univalents en MI, que j'appellerai « variétés à fort appariement » dans le reste de ce manuscrit (e.g. *Darmor-bzh*) et des variétés présentant de nombreux univalents en MI, que j'appellerai « variétés à faible appariement » (e.g. *Yudal*). L'analyse du comportement méiotique de 245 plantes haploïdes produites à partir de plusieurs hybrides F1 entre *Darmor-bzh* et *Yudal* a permis de montrer que la distribution du nombre d'univalents en MI est bimodale, mais qu'elle n'est pas un mélange des distributions parentales (Jenczewski *et al.*, 2003); la distribution du nombre d'univalents en MI est donc compatible avec la ségrégation d'un gène majeur (*PrBn*, pour *Pairing regulator in Brassica napus*) dans un fonds polygénique ; quelques individus au comportement méiotique intermédiaire ont d'ailleurs été identifiés (Figure 53).

Plus récemment, l'analyse génétique menée par Liu *et al.* (2006) a permis de (i) localiser la région portant le gène *PrBn* sur le groupe de liaison N19 ; (ii) de montrer que ce gène a une pénétrance incomplète ; (iii) d'identifier trois à six QTL qui ont un faible effet additif sur le nombre d'univalents et n'interagissent pas avec *PrBn* ; et (iv) d'identifier plusieurs régions dans le génome qui interagissent de façon épistatique avec *PrBn*. De façon surprenante, le gène *PrBn* n'explique que 25% de la variation du nombre d'univalents chez les haploïdes. De plus, près d'un tiers des plantes présentent un comportement méiotique opposé à celui que l'on pourrait prédire sur la base de leur génotype dans la région entourant *PrBn* : plantes présentant de nombreux univalents en MI bien que tous les marqueurs de la région entourant *PrBn* (plus de 10 cM) ont un allèle *Darmor-bzh*, et réciproquement plantes présentant de peu d'univalents en MI bien que tous les marqueurs de la région entourant *PrBn* (plus de 10 cM) ont un allèle *Yudal* (Figure 54). Les auteurs proposent deux hypothèses : la première est que *PrBn* interagit de manière non additive avec d'autres gènes placés en amont dans la chaîne des événements méiotiques. La seconde est qu'il existe un effet seuil pour

la capacité à s'apparier en MI chez les haploïdes, le comportement méiotique passant de faible à fort appariement lorsqu'on dépasse un certain seuil critique.

Le colza constitue donc un modèle d'étude intéressant pour étudier le contrôle de la recombinaison homéologue chez les allopolyploïdes :

- a. La recombinaison homéologue existe à l'état naturel chez le colza,
- b. Une variabilité génotypique pour l'appariement homéologue existe à l'état haploïde et un gène majeur contrôlant la recombinaison homéologue à l'état haploïde a été identifié (*PrBn*),
- c. La suppression de la compétition entre homologues et homéologues pour la recombinaison durant la méiose est possible. Les haploïdes de colza sont semi-fertiles et produisent une descendance via la voie des gamètes non-réduits,
- d. Différents degrés de macrosynténie sont présents au sein du génome de colza permettant d'étudier la relation entre macrosynténie et recombinaison homéologue,
- e. La formation de néo-polyploïdes est possible : Les espèces progénitrices du colza sont connues et forment des hybrides interspécifiques semi-fertiles.

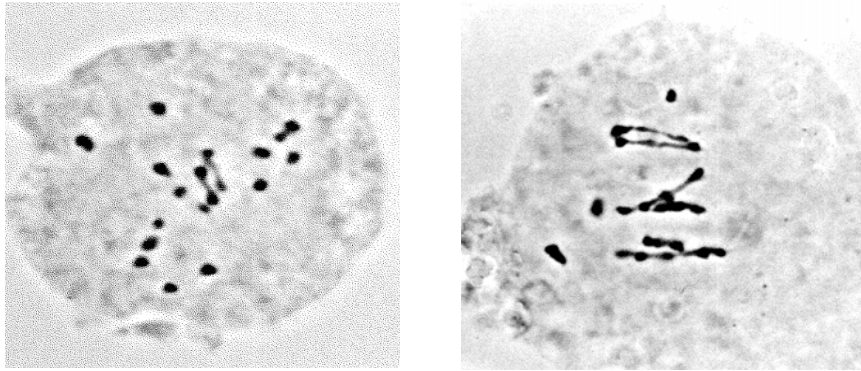


Figure 55: Haploïdes de colza en métaphase I. A gauche un haploïde de la variété *Yudal* (faible nombre d'univalents), à droite un haploïde de la variété *Darmor-bzh* (nombre élevé d'univalents)

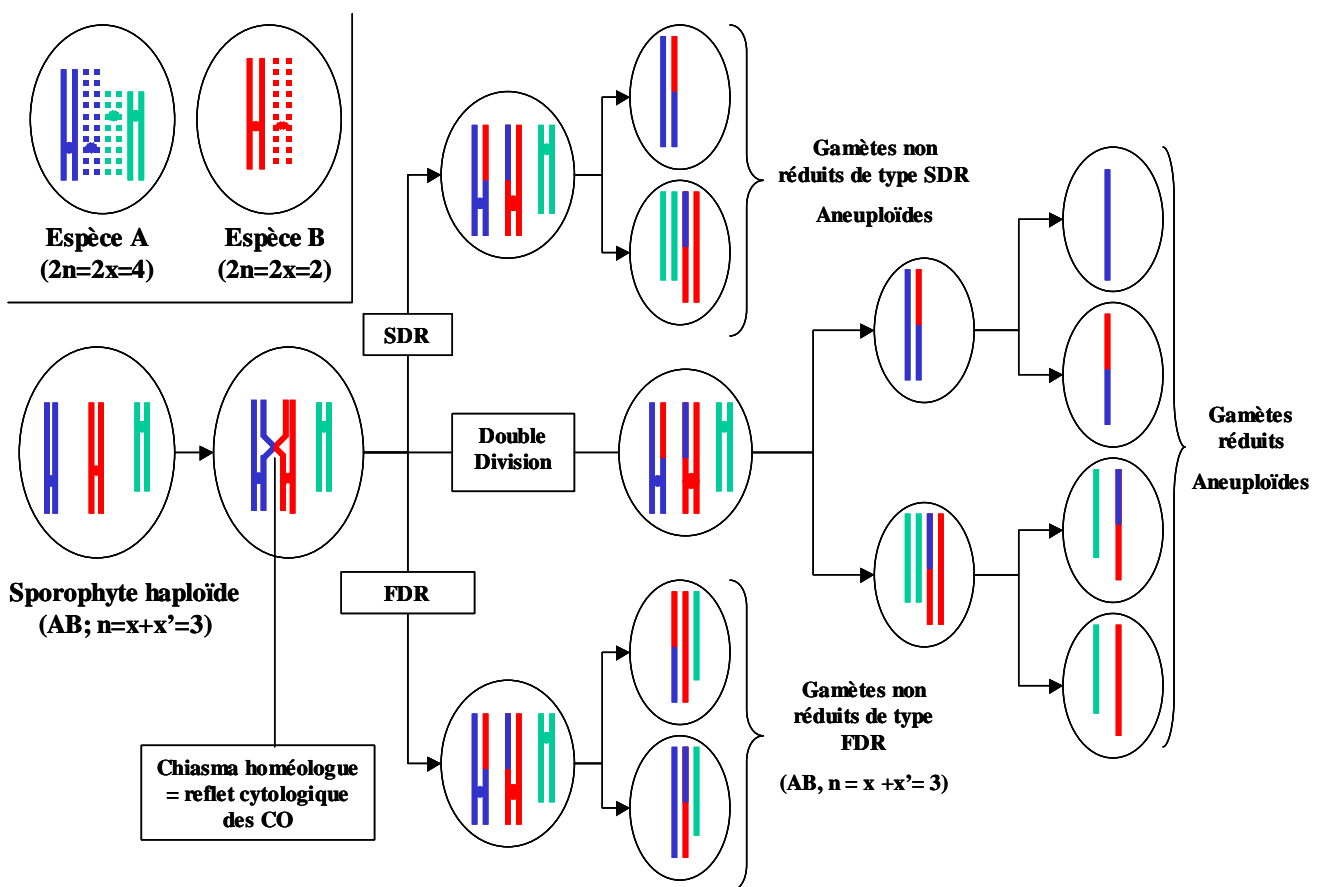


Figure 56: Effet des différents types de gamètes d'haploïdes (FDR, SDR, Double division) sur la correspondance entre transmission de marqueurs moléculaires et fréquence de recombinaison. La formation systématique d'aneuploïde dans les gamètes de type SDR et issus d'une double division conduit à sous- estimer ou surestimer la fréquence de recombinaison à un locus (aneuploïde possédant un ou plusieurs chromosomes en plus / en moins)

I.5 OBJECTIFS ET STRATEGIE

I.5.1 Objectifs et problématiques de recherche

L'objectif de mon travail de thèse est de déterminer quels sont les facteurs génétiques et structuraux qui influencent la fréquence et la distribution des réarrangements chromosomiques produits par des crossing-overs au cours de la méiose des haploïdes de colza et d'évaluer dans quelle mesure ces remaniements pourraient participer à la dynamique de l'espèce.

Comme nous l'avons vu précédemment (cf. § I.4.5), les haploïdes de colza, en particulier ceux des variétés *Darmor-bzh* et *Yudal*, présentent des comportements méiotiques très contrastés en métaphase I (MI) de méiose. Etant donné que les associations observées en MI résultent le plus souvent de la présence de chiasma (cf. § I.3.1.6), il est légitime de penser que ces différences reflètent des différences de taux de crossing-overs. Toutefois, elles pourraient aussi résulter de différences quant à l'aptitude à maintenir des chiasmas jusqu'en MI (cf. § I.3.1.6) ou à former des associations secondaires non chiasmatisques en MI (cf. § I.3.1.6). Il était donc important de comparer la fréquence de chromosomes « recombinés » dans les descendants d'haploïdes *Darmor-bzh* vs. *Yudal* pour trancher entre ces différentes hypothèses. Ce faisant, cette étude pouvait permettre de préciser le mode d'action du gène *PrBn* et des autres locus avec lesquels il interagit (§ I.4.5). Elle devait également permettre de quantifier plus précisément le nombre de crossing-overs et d'affiner ainsi les résultats de l'analyse cytogénétique effectuée en MI de méiose, qui ne permet pas de détecter la présence de doubles ou triples crossing-overs.

On peut par ailleurs s'interroger sur l'identité des chromosomes associés en MI de méiose et sur la fréquence à laquelle chaque chromosome est « apparié » en MI (Figure 55). Ainsi, on ne sait pas si tous les chromosomes sont susceptibles de « recombiner » au cours de la méiose des haploïdes de colza, ni si certains le font de façon systématique. Ces questions méritent d'être posées car les chromosomes de colza présentent des caractéristiques (taille, type=position plus ou moins médiane du centromère, présence d'ADNr) et des niveaux de divergence vis-à-vis de leur homéologue (tels qu'on peut les inférer à partir des données de synténie) très différents (§ I.4.2). Les différences de morphologie des chromosomes amènent également à s'interroger sur la distribution des crossing-overs le long des bras chromosomiques. Enfin, nous avons vu au §I.4.2 qu'il existe de nombreuses duplications intra- et intergénomiques dans le génome du colza. On peut supposer que les crossing-overs se font principalement entre les régions d'homéologie primaire parce qu'elles sont les moins divergentes. Mais la présence d'un, voire deux bivalents en MI chez

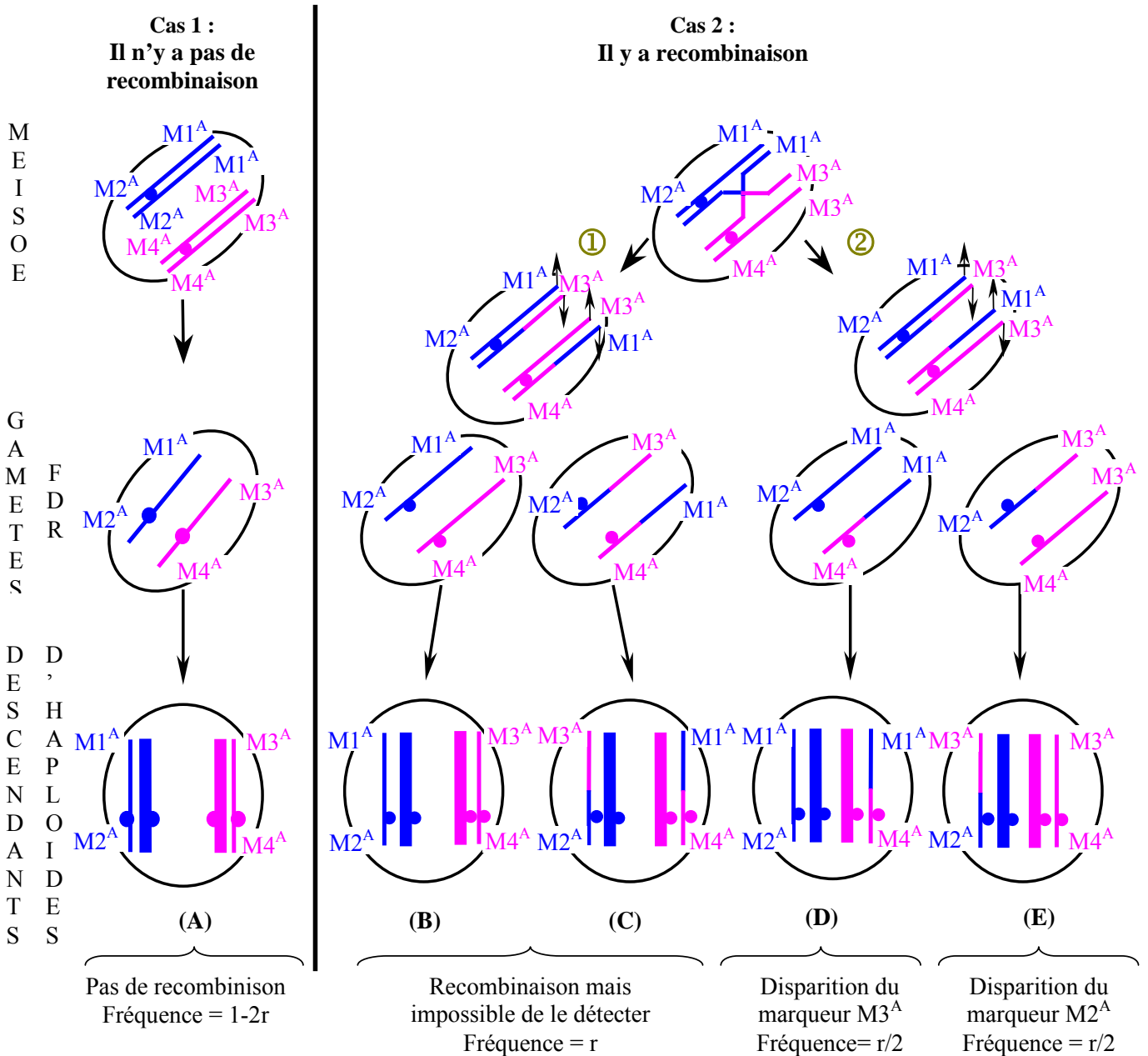


Figure 57: Détection d'événements de recombinaison homologue dans des haploïdes de colza. En prophase I, deux chromosomes homéologues (bleu et rose) sont représentés. Ils sont répliqués et les chromatides-sœurs sont réunies par leur centromère. Dans les haploïdes considérés, les deux chromosomes homéologues portent les allèles ^A aux locus M1, M2, M3 et M4.

(A): Tous les allèles présents chez l'haploïde parental sont transmis par les gamètes non recombinants et présents chez les F1

① (B) et (C) : Bien qu'il y ait eu recombinaison lors de la méiose de l'haploïde, tous les allèles présents chez l'haploïde parental sont transmis lorsque les deux chromatides non recombinés migrent vers le même pôle d'anaphase (B) et réciproquement les deux chromatides recombinés migrent vers l'autre pôle d'anaphase (C). L'événement de recombinaison initial ne pourra donc être détecté chez les F1.

② (D) et (E) : lorsque l'une des chromatides non recombinés migre vers le même pôle d'anaphase que l'une des chromatides recombinés (centromères différents), certains marqueurs ne sont pas transmis par les gamètes alors que d'autres (présumément leurs homéologues) sont dupliqués. En D, $M3^A$ est absent alors que $M1^A$ est dupliqué, et réciproquement. En E, $M1^A$ est absent alors que $M3^A$ est dupliqué. Ce sont les événements que nous rechercherons.

r = fréquence de recombinaison homologue

MI chez les haploïdes de *B. oleracea* et *B. rapa* (Armstrong *et al.*, 1981, 1982) montre que la réalisation de recombinaisons intragénomiques ne peut être exclue chez les haploïdes de colza.

Enfin, sous l'hypothèse qu'au moins une partie des chromosomes sont réarrangés au cours de la méiose des haploïdes de colza, il était important de vérifier s'ils sont transmis à la descendance des haploïdes, et à quelle fréquence, de façon à mieux évaluer leur éventuelle contribution à la dynamique du génome du colza. Cette question est particulièrement importante dans une perspective évolutive et agronomique. En effet, les réarrangements structuraux générés par des crossing-overs conduisent à la duplication et à la perte simultanée de régions chromosomiques, remaniements qui pourraient s'avérer délétères pour le gamète ou le zygote qui les porte ou au contraire générer une nouvelle variabilité phénotypique sur laquelle la sélection humaine ou naturelle peut agir (Pires *et al.*, 2004c); §I.1.3.2).

Il ne suffisait donc pas, pour répondre à ces questions, de comparer directement le déroulement de la méiose, et notamment les différentes étapes de la recombinaison, chez les haploïdes *Darmor-bzh* et *Yudal*. J'ai donc décidé d'analyser la fréquence des plantes portant des remaniements dans la descendance des haploïdes. Compte tenu des observations cytologiques en MI, mon hypothèse de travail initiale était que la méiose des haploïdes de colza devait induire au moins un certain nombre d'échanges intergénomiques par le biais de crossing-overs.

I.5.2 Stratégie

L'approche que je vais décrire est basée sur le fait que les haploïdes de colza (AC, $n=19$) produisent une descendance fertile lorsqu'ils sont croisés avec des plantes euploïdes (AACC, $2n=38$). Les individus de cette descendance possèdent dans leur immense majorité un caryotype normal avec 38 chromosomes ce qui indique que la très grande majorité des gamètes viables produits par les haploïdes de colza s'apparentent à des gamètes non-réduits de type FDR (Figure 56).

Sous cette hypothèse, on s'attend à ce que les gamètes de type FDR transmettent l'intégralité de l'information génétique provenant du parent haploïde *lorsqu'ils sont produits après une méiose sans aucun crossing-over* (Figure 57; cas 1). Dans le cas contraire, la présence d'un crossing-over entre deux chromosomes conduit à deux cas de figure :

1. Les chromatides recombinés migrent vers le même pôle d'anaphase et les chromatides parentaux migrent vers l'autre pôle. Comme le montre la Figure 57, les gamètes correspondant transmettent tous les deux l'intégralité de l'information génétique provenant du parent haploïde, et ce même si le gamète (C) contient deux translocations réciproques.

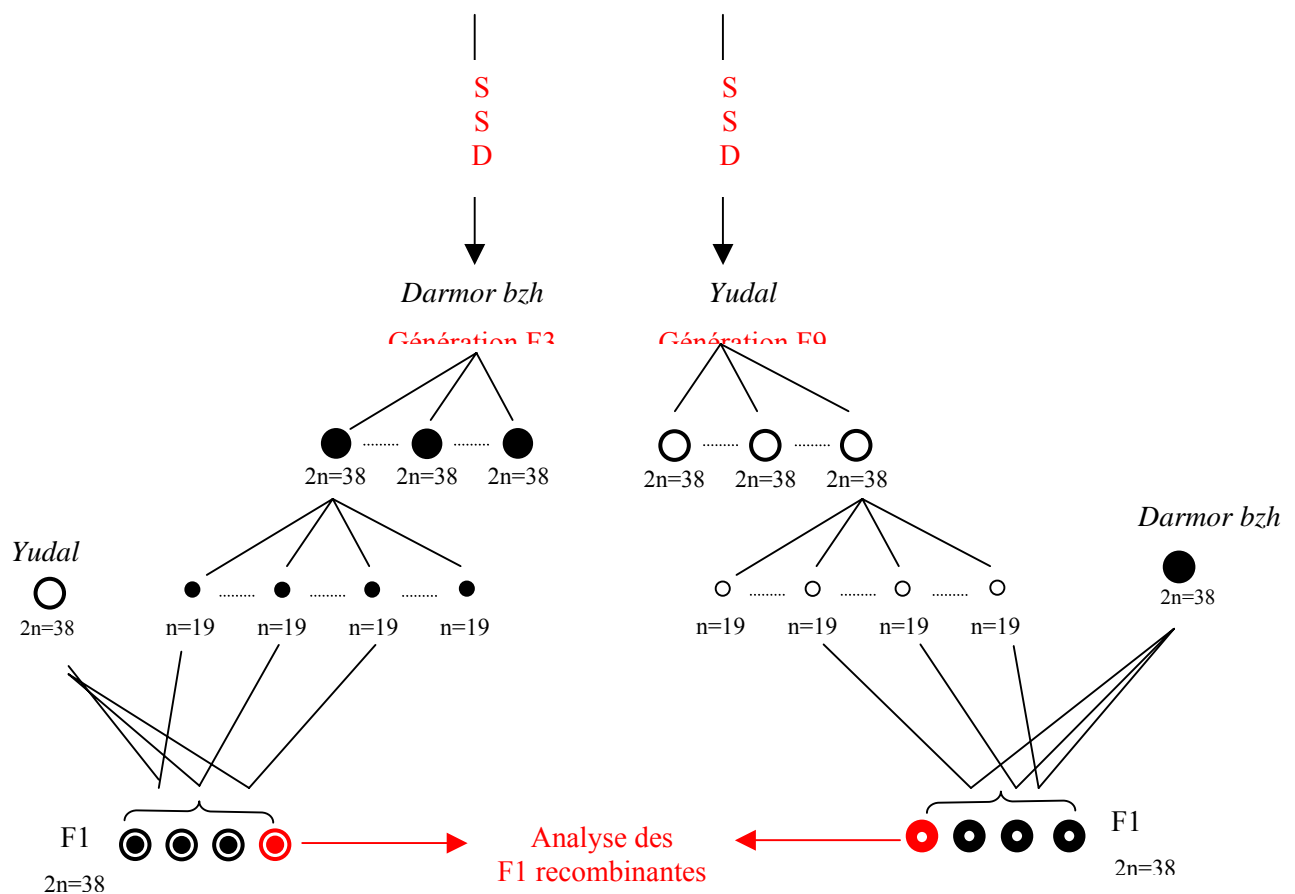


Figure 58: Généalogie du matériel végétal (F1) utilisée pour détecter des événements de recombinaison dans des parents haploïdes *Darmor-bzh* et *Yudal*. Les plantes haploïdes *Darmor-bzh* et *Yudal* utilisés comme parent femelle dans les croisement haploïdes x euploïde ont été obtenues par culture de microspores provenant des variétés euploïdes *Darmor-bzh* et *Yudal*. Ces variétés euploïdes *Darmor-bzh* et *Yudal* ont été obtenues par descendance simple graine (SSD) sur respectivement 3 et 9 générations d'autofécondation à partir de lignées initiales quasi-fixées. Ces variétés ont ensuite été utilisées comme parent mâle dans les croisements.

2. Les chromatides recombinées migrent vers deux pôles d'anaphase opposés. Dans ce cas, les deux gamètes produits présentent une perte et une duplication simultanées de marqueurs localisés dans les régions qui ont été échangées. Sur la Figure 57, le marqueur M1^A est dupliqué alors que M3^A n'est plus transmis dans le gamète (D). Réciproquement, M1^A est non transmis et M3^A est dupliqué dans le gamète (E).

Il est donc possible de détecter et de quantifier la fréquence des remaniements qui surviennent au cours de la méiose des haploïdes de colza en analysant la fréquence de non-transmission des allèles apportés par l'haploïde. Cette approche présente de nombreux avantages. Elle permet notamment :

- de reconnaître et de quantifier la part des réarrangements qui dérivent d'un crossing-over. Ces derniers sont clairement identifiés par la perte et la duplication simultanées des allèles du parent haploïde pour des marqueurs portés par les chromosomes qui ont « recombiné ».
- de savoir par conséquent quelles sont les paires de chromosomes qui ont « recombiné » au cours de la méiose (*i.e.* ceux qui présentent une perte et une duplication simultanées des allèles du parent haploïde). Il est ainsi possible d'estimer la part des crossing-overs qui ont eu lieu entre les chromosomes homéologues (perte et duplication simultanées des allèles du parent haploïde dans des régions homéologues) par rapport aux crossing-overs impliquant d'autres régions du génome.
- d'inférer des fréquences de crossing-overs. Ainsi, la fréquence de crossing-overs dans une région donnée équivaut à deux fois la fréquence de disparition de l'allèle du parent haploïde aux locus de cette région (Figure 57). Cette estimation tient compte des doubles ou triples crossing-overs.
- d'étudier la distribution des crossing-overs, ainsi que celle plus générale de la totalité des remaniements, en analysant la position des points d'échange (ou de cassure).

Afin d'analyser et de comparer les différentes sources de variation de la fréquence des remaniements qui surviennent au cours de la méiose des haploïdes de colza, six haploïdes de la variété *Darmor-bzh* ont été croisés avec un euploïde de la variété *Yudal* et neuf haploïdes de la variété *Yudal* ont été croisés avec un euploïde de la variété *Darmor-bzh* (Figure 58). Les haploïdes ont toujours été utilisés comme parent maternel de façon à limiter le processus de sélection gamétique.

Au total, 170 plantes issues d'haploïdes *Darmor-bzh* et 123 plantes issues d'haploïdes *Yudal* ont été analysées.

I.5.3 Présentation de l'étude

Mon travail de thèse a visé à répondre aux questions suivantes, que j'aborderai successivement dans la suite de ce document :

- 1. Quelle est la nature des remaniements générés au cours de la méiose des haploïdes de colza ? Sont-ils contre-sélectionnés ?**
 - Les bivalents observés en MI résultent-ils de crossing-overs?
 - Sont-ils auto- ou allosyndétiques ?
 - Les produits de crossing-over sont-ils tous transmis ou sont-ils contre-sélectionnés ?
- 2. Quels sont les facteurs génétiques et structuraux qui modifient, globalement ou localement, la fréquence et la distribution de ces remaniements dans le génome ?**
 - Les différences d'« appariement » observées MI de méiose entre les haploïdes *Darmor-bzh* et *Yudal* résultent-elles d'une différence pour le nombre de crossing-overs ? Résultent-elles d'une différence dans le nombre de chromosomes pouvant recombiner ou d'une différence de fréquence de crossing-over pour chaque chromosome ?
 - Les remaniements sont-ils distribués de façon uniforme entre ou au sein des groupes de liaison ? Ont-ils lieu au contraire de façon préférentielle sur certains chromosomes ou dans certaines régions chromosomiques ? La taille ou le type des chromosomes jouent-ils ici un rôle ?
 - Sont-ils distribués de façon identique chez les haploïdes *Darmor-bzh* et *Yudal* ?
 - Quel est l'effet de l'haploïdie sur la fréquence et la distribution des crossing-over ?
- 3. Quel est l'effet des produits des crossing-overs sur la stabilité du comportement méiotique et la fertilité de la plante ?**

CHAPITRE II

NATURE ET TRANSMISSION DES REARRANGEMENTS GENERES DURANT LA MEIOSE DES HAPLOÏDES DE COLZA

II NATURE ET TRANSMISSION DES REARRANGEMENTS GENERES DURANT LA MEIOSE DES HAPLOÏDES

La pertinence de l'approche décrite au paragraphe I.5.2 dépend principalement de trois hypothèses:

1. **Les gamètes fonctionnels produits par l'haploïde sont des gamètes non-réduits de type FDR.** Cette hypothèse est à la base du raisonnement schématisé par la Figure 57. Les gamètes non-réduits de type FDR sont en effet les seuls pour lesquels on s'attend à ce que l'intégralité de l'information génétique provenant du parent haploïde soit transmise à la descendance lorsqu'il n'y a aucun crossing-over.
2. **Les éventuels remaniements qui surviennent au cours de la méiose des haploïdes sont transmis à la descendance.** Comme on l'a vu, une hypothèse implicite au raisonnement schématisé par la Figure 57 est que la plupart de ces remaniements est le produit de crossing-overs entre des régions homéologues.
3. **La sélection gamétique à l'encontre des remaniements est faible et d'un niveau identique chez les haploïdes *Darmor-bzh* et *Yudal*.** En effet, si certains remaniements sont contre sélectionnés, alors l'estimation de la fréquence à laquelle ils sont générés sera sous-estimée. Par ailleurs, si la sélection gamétique est très différente entre les haploïdes *Darmor-bzh* et *Yudal* alors la comparaison des fréquences de remaniements sera biaisée.

Cette partie a pour objectif d'évaluer dans quelle mesure ces différentes hypothèses sont vérifiées.

Tableau 1 : Analyse de variance à un facteur sur des mesures cytométriques réalisées sur 311 individus. SCE = somme du carré des écarts ; génotypes = haploïdes *Darmor bzh*, haploïdes *Yudal*, colza normal).

Source de variation	SCE	Degrés de liberté	Carrés moyens	F	Probabilité associé à F	Valeur critique pour F (5%)
Génotype	69,4	2	34,7	0,779	46%	3,03
A l'intérieur de chaque génotype	13704,6	308	44,5			
Totale	13773,9	310				

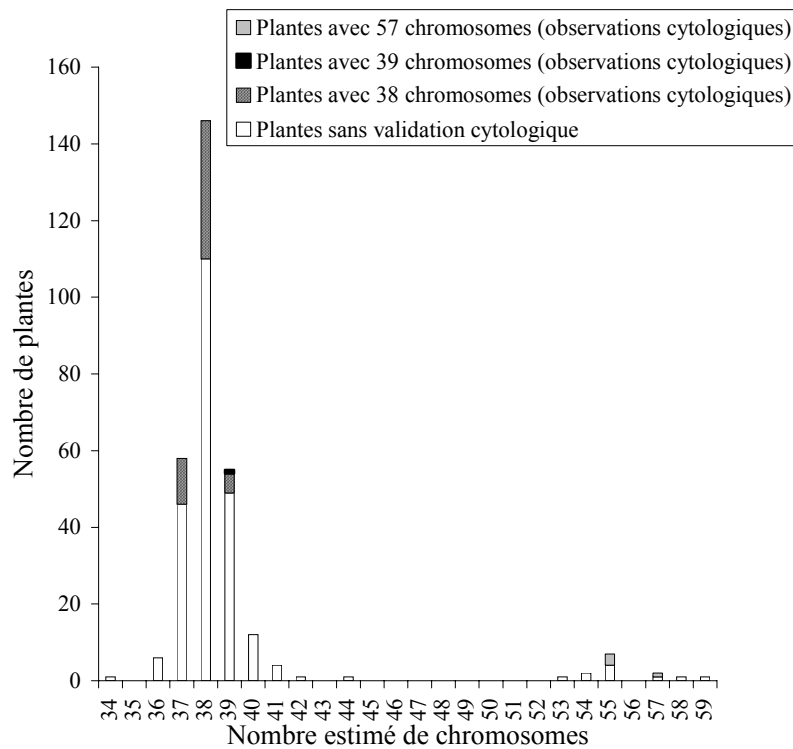


Figure 59 : Répartition du nombre de plantes en fonction du nombre estimé de chromosomes d'après la valeur cytométrique.

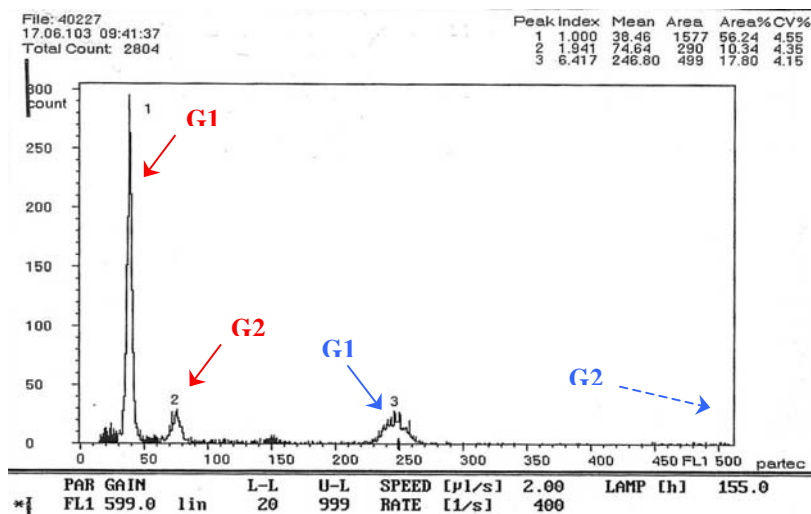


Figure 60 : Résultats d'une analyse de cytométrie en flux. En rouge, les phases G1 et G2 des descendants d'haploïdes de colza ; en bleu, les phases G1 et G2 du pois.

II.1 NATURE DES GAMÈTES VIABLES PRODUITS PAR LES HAPLOÏDES DE COLZA

II.1.1 La majorité des descendants d'haploïdes dérive de gamètes à 19 chromosomes

Afin d'estimer la proportion d'individus dans les deux populations F1 provenant de gamètes à 19 chromosomes, c'est à dire la proportion de descendants d'haploïdes possédant 38 chromosomes, j'ai estimé par cytométrie en flux le nombre de chromosomes de tous les descendants d'haploïdes (293 plantes) et de 16 témoins issus d'un croisement entre deux plantes euploïdes *Darmor-bzh* et *Yudal* (Encadré 1).

Ni la distribution, ni la moyenne du nombre estimé de chromosomes ne sont affectées par le génotype du parent haploïde (*Darmor-bzh* vs *Yudal*), qui n'a donc pas d'influence significative sur la composition chromosomique des descendants d'haploïdes (Tableau 1). De fait, les deux populations F1 ont été analysées ensemble.

Le nombre estimé de chromosomes est compris entre 34 et 59 chez les descendants d'haploïdes, indiquant, compte tenu de l'imprécision de l'estimation, l'existence de plantes aneuploïdes ($2n \neq 38$), euploïdes ($2n=38$) et triploïdes ($2n=57$) dans les deux populations F1 (Figure 59).

88% des individus (258 plantes) ont un nombre de chromosomes estimé entre 37 et 39 chromosomes (Figure 59; Tableau 2) indiquant que la majorité des individus possède vraisemblablement 38 chromosomes et provient de gamètes à 19 chromosomes.

Encadré 1: Estimation du nombre de chromosomes par cytométrie en flux :

La cytométrie en flux repose sur la mesure de la quantité de fluorescence émise par un flux unitaire de milliers de cellules sur l'ADN desquelles avait préalablement été fixé un intercalant fluorescent, chacune de ces cellules étant séparée puis analysée l'une après l'autre par le cytomètre. Ces cellules proviennent d'un broyat filtré d'un mélange de feuilles de la plante dont on veut déterminer le nombre de chromosomes (ici, les descendants d'haploïdes de colza) et d'un témoin dont on connaît avec certitude le nombre de chromosomes (ici, le pois) et dont la quantité moyenne de fluorescence par cellule est très différente de l'espèce à analyser.

Si on observe la quantité de cellules en fonction de la quantité de fluorescence émise, on constate normalement la présence de 4 pics (Figure 60), deux pics majeurs représentant les cellules en phase G1 (ADN non répliqué) et deux pics mineurs représentant les cellules en phase G2 (ADN répliqué) des descendants d'haploïdes de colza et du pois. Les différents pics sont tous ajustés pour chaque individu par rapport au pic majeur du pois fixé à une valeur préalablement établie (ici, 250).

Eber *et al.* (1997) ont montré qu'il existait une relation linéaire entre la valeur cytométrique, ajustée par rapport au pois, du pic majeur d'hybrides entre *B. napus* et *Raphanus raphanistrum* et le nombre de chromosomes chez ces hybrides. J'ai utilisé cette même relation ($Nb \text{ de chromosomes estimés} = 0,4925 \times \text{valeur cytométrique ajustée} + b$ en ajustant la valeur de b d'après la valeur des témoins de colza diploïdes (ici $b=1,53$)). La précision de l'estimation est de plus ou moins 2 chromosomes.

Tableau 2 : Distribution des individus en fonction de leur configuration chromosomique probable. Les différentes classes ont été construites à partir du nombre estimé de chromosomes en fonction des valeurs cytométriques. A partir des observations, le type de gamète du parent haploïde a été inféré. A partir des fréquences observées dans l'échantillon, les fréquences des plantes euploïdes, aneuploïdes, triploïdes ont été estimées pour la population des descendants d'haploïdes.

Valeur cytométrique ajustée	Nombre estimé de chromosomes	Nombre d'individus	% observé en méiose	% dans l'échantillon	Configuration probable du gamète	% estimé dans la population
<71	<36	7	0	2,4%	Aneuploïde	0-4
entre 71 et 77	entre 37 et 39	258	20	88,1%	Euploïde	74-91
entre 77 et 86	entre 39 et 44	18	0	6,1%	Aneuploïde	0-22
>104	>53	10	40	3,4%	Triploïde	2-6



Figure 61 : Métaphase I de méiose de descendants d'haploïdes triploïdes montrant 22 bivalents et 13 univalents.

Afin de corroborer ce résultat, le nombre de chromosomes a été vérifié cytologiquement pour un sous-ensemble de 54 plantes prélevées au hasard parmi ces 258 plantes. Exceptée une plante qui possède 39 chromosomes, toutes les autres (98%) ont 38 chromosomes. Si on étend ce résultat à l'ensemble de la population des descendants d'haploïdes, nous pouvons prédire qu'entre 74% et 91% (risque $\alpha=5\%$; Tableau 2) de l'ensemble des descendants d'haploïdes sont euploïdes ($2n=38$) et dérivent de gamètes à 19 chromosomes.

La présence de plantes aneuploïdes parmi les descendants d'haploïdes (4-23%) montre que certains gamètes aneuploïdes (Tableau 2), ayant un nombre de chromosomes supérieur à 16 et inférieur à 25, sont viables et fonctionnels. L'absence d'individus possédant entre 44 et 53 chromosomes indique toutefois que les gamètes présentant entre 25 et 34 chromosomes sont soit absents, soit non viables ou non fonctionnels, ou que les individus qui en dérivent sont fortement contre-sélectionnés. De plus, la décroissance rapide du nombre d'individus autour de 38 chromosomes et la forte asymétrie de la distribution en faveur des individus présentant des chromosomes surnuméraires (>38) montrent que les gamètes aneuploïdes possédant plusieurs chromosomes surnuméraires ou absents sont soit rares, soit peu viables, et que la présence de chromosomes surnuméraires est mieux tolérée que leur absence. Ainsi, il y a 6 fois plus de descendants d'haploïdes avec deux chromosomes supplémentaires que deux chromosomes en moins.

La présence d'individus avec environ 56 chromosomes suggère la présence de plantes triploïdes (AAACCC, $2n=57$) dans les descendants d'haploïdes ce qui a été confirmé cytologiquement pour 4 d'entre elles (Figure 61). Ces triploïdes, qui représentent entre 2 et 6% des descendants d'haploïdes, proviennent de la fusion d'un gamète n'ayant subi aucune division méiotique (produit par le parent haploïde) avec un gamète réduit normal provenant de parent euploïde (Tableau 2).

La présence de gamètes et de plantes aneuploïdes viables illustre la tolérance du colza aux réarrangements chromosomiques (perte ou duplication), même si l'étroitesse de la gamme de variation du nombre de chromosomes indique l'existence de contraintes fortes. Elle amène également à s'interroger sur l'origine, la composition chromosomique et l'information génétique transmise par les gamètes à 19 chromosomes produits par les haploïdes.

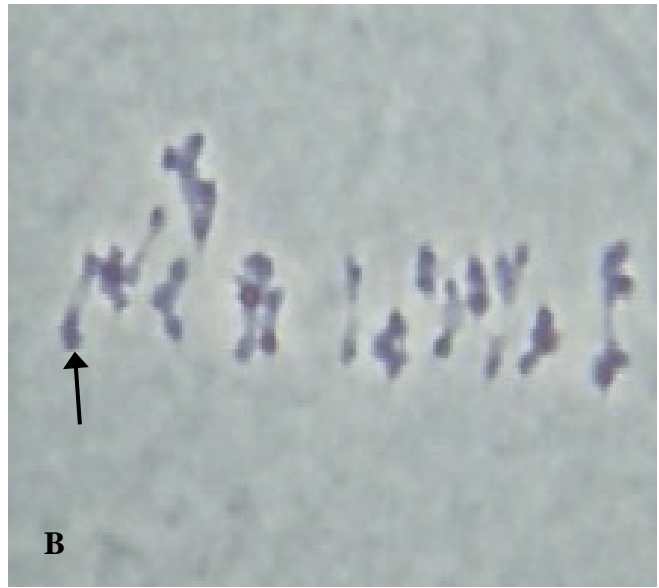


Figure 62 : Métaphase I de méiose descendants d'haploïdes. (A) : 17 bivalents et 1 quadrivalent fermé (flèche) ; (B) : 17 bivalents et 1 quadrivalent ouvert.

II.1.2 Les gamètes à 19 chromosomes s'apparentent à des gamètes de type FDR

Afin de déterminer si les gamètes à 19 chromosomes transmettent les 19 chromosomes de colza, la régularité du comportement méiotique et la transmission de marqueurs appartenant aux 19 groupes de liaison de colza ont été examinées dans les descendants d'haploïdes.

L'analyse du comportement méiotique de 53 descendants d'haploïdes possédant 38 chromosomes montre que la plupart d'entre eux ont un comportement méiotique régulier et présentent notamment un très fort pourcentage de cellules mères du pollen avec 19 bivalents. Seuls trois individus ont une fréquence de cellules mères du pollen avec 19 bivalents inférieure à 50% (Figure 62).

L'utilisation de marqueurs moléculaires répartis sur l'ensemble des groupes de liaison (§III.1.1) confirme que tous les groupes de liaison hérités du parent haploïde sont présents chez les descendants d'haploïdes qui présentent un nombre estimé de chromosomes de 38 chromosomes. Seules sept plantes (sur 220), cinq dans la descendance des haploïdes *Darmor-bzh* et deux dans celle des haploïdes *Yudal*, dérogent à cette règle mais la présence de données de génotypage manquantes chez ces plantes rend prématurée toute conclusion quant à leur aneuploïdie éventuelle.

Ces deux observations indiquent que la totalité de la garniture chromosomique de l'haploïde, aux réarrangements chromosomiques près, est transmise aux descendants d'haploïdes contenant 38 chromosomes. Les gamètes à 19 chromosomes s'apparentent donc à des gamètes de type FDR.

II.1.3 Quels sont les mécanismes de formation des gamètes de type FDR chez les haploïdes de colza?

Afin de préciser comment les gamètes non-réduits sont formés par les haploïdes, différentes étapes de la méiose mâle ont été examinées chez des plantes haploïdes. Je n'ai malheureusement pas pu étudier le déroulement de la méiose femelle, qui est beaucoup plus complexe à observer (faible nombre des mégaspores, inclusion dans les tissus maternels), et ce même si j'ai utilisé les haploïdes comme parents maternels pour produire les deux descendance.

L'observation de cellules mères du pollen au stade MI et la présence de bivalents sur les plaques métaphasiques (chez les haploïdes *Darmor-bzh* et *Yudal*) montrent que les haploïdes font une première division de méiose (Figure 55).

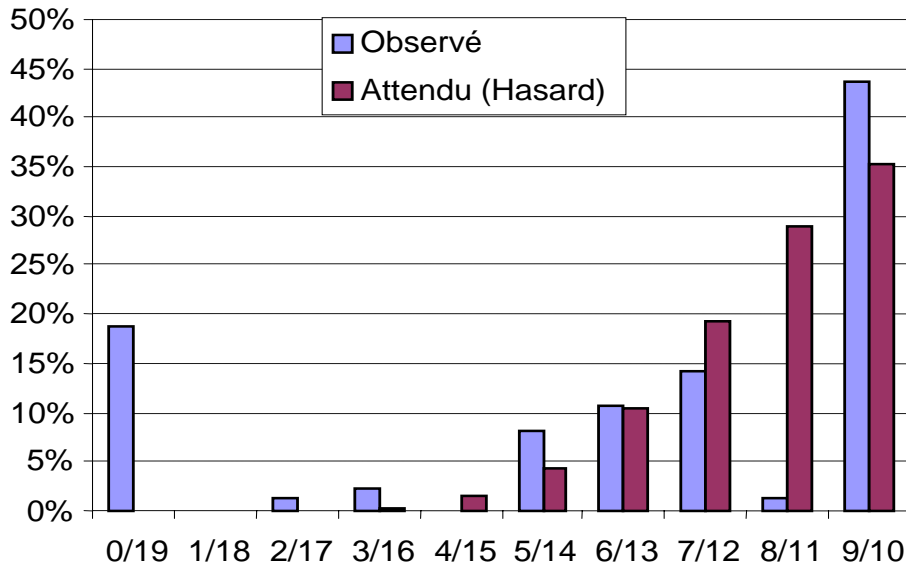


Figure 63 : Comparaison de la ségrégation des chromosomes observée en anaphase I de méiose et attendue sous l'hypothèse que les chromosomes migrent au hasard de part et d'autre de la plaque anaphasique.

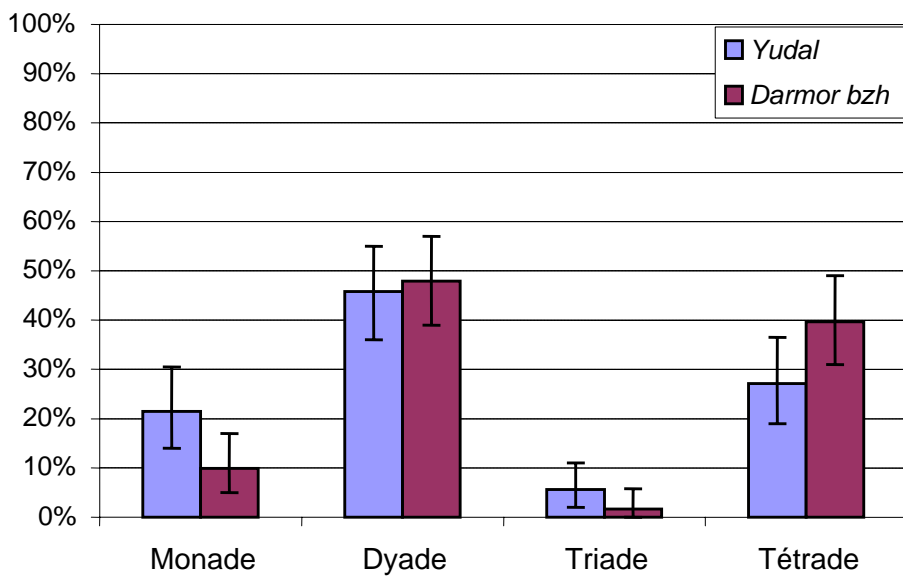


Figure 64 : Types de cellules mères du pollen observés à la fin de la méiose chez les haploïdes *Darmor-bzh* et *Yudal*.

En anaphase I, je n'ai pas observé de différence de ségrégation entre les haploïdes *Darmor-bzh* et *Yudal* (Test Fisher, $p=23\%$). Bien que la ségrégation des chromosomes n'ait lieu au hasard chez aucun des deux génotypes (Figure 63), elle ne correspond pas non plus à la ségrégation attendue si les bivalents migraient de part et d'autre de la plaque métaphasique et si les univalents migraient au hasard. De façon plus surprenante, on observe un très fort déficit (par rapport à l'attendu) dans le nombre de cellules mères du pollen (CMP) avec une configuration 8/11 et un large excès de CMP présentant la configuration 19/0, dans laquelle la totalité des 19 chromosomes « migre » vers le même pôle d'anaphase. Il est facile d'imaginer que la division équationnelle des chromosomes réunis dans cette configuration peut conduire à la formation de dyades contenant deux microspores non-réduites de type FDR. Toutefois, différentes études sur les céréales ont permis de montrer que cette configuration chromosomique pouvait également conduire à des microspores doublement non-réduites en fin de méiose (monades)

L'analyse de la microgamétoγένèse montre que les haploïdes de colza génèrent une grande diversité de types de CMP en fin de méiose (Figure 64) et ceci indépendamment du génotype de l'haploïde (il n'y a pas de différence significative entre les haploïdes *Darmor-bzh* et *Yudal*). Ainsi, alors que la quasi-totalité des cellules mères de grains de pollen sont sous forme de tétrade chez les euploïdes, seulement un tiers des CMP sont sous cette forme chez les haploïdes (Figure 64). Ces tétrades (quatre cellules possédant chacune un noyau nucléique) sont issues d'une double division méiotique et conduisent donc, chez les haploïdes, à des gamètes fortement déséquilibrés qui ne sont certainement pas viables.

Près de la moitié des cellules mères du pollen sont sous forme de dyade (deux noyaux) chez les haploïdes (Figure 64). Ces dyades peuvent résulter de différentes anomalies méiotiques dont l'absence de seconde division méiotique qui conduirait à des gamètes déséquilibrés de type SDR, mais aussi la division réductionnelle des chromosomes suivie d'une co-orientation/fusion des fuseaux chromatiques lors de l'anaphase II qui conduirait à des gamètes de type FDR. On peut penser que la plupart des gamètes à 19 chromosomes provient de ces dyades.

On peut enfin noter que 10 à 20% des CMP sont sous forme de monade (un seul noyau) et que les triades (trois noyaux) représentent 2 à 6% des CMP. Les monades résultent vraisemblablement de l'absence totale de division méiotique et de séparation des chromosomes. On peut d'ailleurs constater que la fréquence de monades correspond à la fréquence de cellules mères du pollen présentant la configuration 19/0 en anaphase I. Ces monades sont vraisemblablement à l'origine des descendants d'haploïdes triploïdes ($2n=57$) observés dans les populations étudiées. Les triades peuvent résulter de nombreuses anomalies méiotiques et générer des gamètes très

déséquilibrés. On peut imaginer que certaines d'entre elles résultent d'une anomalie d'orientation du fuseau en deuxième division de méiose conduisant à réunir les chromatides des chromosomes séparés lors de l'anaphase I à un même pôle d'anaphase II, les chromatides sœurs migrant vers deux autres pôles distincts l'un de l'autre. Sous cette hypothèse, une des microspores contiendrait une garniture chromosomique complète, aux réarrangements structuraux près, et pourrait donner naissance à un gamète non-réduit de type FDR (les deux autres microspores produisant des gamètes très déséquilibrés).

En conclusion, j'ai montré que l'immense majorité des descendants d'haploïdes (75 à 90%) dérive de gamètes à 19 chromosomes possédant l'intégralité de la garniture chromosomique du colza et s'apparentant à des gamètes non-réduits de type FDR. Le(s) mécanisme(s) et/ou anomalies méiotiques à l'origine de ces gamètes restent à élucider bien qu'au vu des observations cytologiques, les anomalies de fuseaux méiotiques (fuseaux tripolaires ou parallèles) semblent être les mécanismes les plus probables. Il est également important de noter que je n'ai observé aucune différence dans le déroulement de la fin de la méiose et le type des microspores produites par les haploïdes *Darmor-bzh* et *Yudal*.

II.2 CES GAMÈTES TRANSMETTENT-ILS DES PRODUITS DES CROSSING-OVERS ?

L'analyse du comportement méiotique de 53 descendants d'haploïdes à $2n=38$ montre que la fréquence de multivalents chez ces plantes est très élevée comparée à celle mesurée dans la descendance de plantes euploïdes (17% vs 1 à 2%). Ceci suggère que les descendants d'haploïdes présentent des réarrangements structuraux qui ont été vraisemblablement produits au cours de la méiose du parent haploïde et transmis par des gamètes non-réduits de type FDR (§ I.2.3).

J'ai sélectionné parmi les descendants d'haploïdes uniquement ceux dérivant *a priori* de gamètes de type FDR. J'ai ainsi choisi 220 individus dont le nombre de chromosomes estimé par cytométrie en flux est compris entre 37 et 39 (plus de 90% de chances d'être euploïde) et parmi lesquels 53 possèdent effectivement 38 chromosomes d'après l'analyse du comportement méiotique.

Tableau 3 : Fréquence de non-transmission et de duplication pour différents locus portés par différents groupes de liaison. GL = groupe de liaison; IP = indice position

Localisation			<i>Darmor-bzh</i>			<i>Yudal</i>		
GL	Locus	IP	Fréquence de duplication (%)	Fréquence de non-transmission (%)	Test du χ^2 (%)	Fréquence de duplication (%)	Fréquence de non-transmission (%)	Test du χ^2 (%)
N1	OI12F11a	0,57	4,7	9,2	10	0	0	100
N1	CB10081a	0,99	6,1	15,3	1	2,1	2	99
N11	OI12F11b	0,46	8,5	4,6	5	0	1,1	29
N11	CB10081b	1	11,5	8,1	19	3,1	4,1	60
N2	PFM519a	0,36	11,7	7,6	11	7	6,3	76
N2	Na12H09b	0,47	5,9	3,3	12	3,1	5,2	34
N2	OI09A06a	0,5	5,7	3,1	11	3,1	3	85
N12	PFM519b	0,23	-	-	-	8	8,5	98
N12	Na12H09c	0,47	-	-	-	4	2,1	16
N13	OI10B08	0,25	4,2	18,3	0	2,2	5,3	17
N13	JLP011	0,79	0	3,7	4	0	0	100
N3	Na14G02a	0	8	0	0	-	-	-
N4	CB10347	0	4	3	64	4,9	0	0
N4	CB10335	0,65	10	12	43	4,2	1	0
N9	CZ0B69186	0,21	10,8	2	0	1,2	0	0
N18	Brass031	1	0	0	100	0	0	100
N19	Na14G02c	0,14	4	0	3	-	-	-

II.2.1 Quelle est la part des réarrangements structuraux dérivant d'un événement de recombinaison homéologue?

II.2.1.1 Non transmission des allèles du parent haploïde

Afin de déterminer si les gamètes non-réduits de type FDR transmettent à leur descendance des réarrangements structuraux se produisant au cours de la méiose d'un haploïde de colza, j'ai analysé la fréquence de non-transmission de l'allèle du parent haploïde pour respectivement 144 et 149 locus dans la descendance des haploïdes *Darmor-bzh* et *Yudal*.

Cette analyse a permis de mettre en évidence la présence de très nombreux réarrangements structuraux dans la descendance des haploïdes de colza, ce qui peut être illustré de différentes façons. Ainsi, 93% des descendants d'haploïdes *Darmor-bzh* et 68% des descendants d'haploïdes *Yudal* contiennent au moins un de leur locus réarrangé. En considérant que la non-transmission simultanée dans un individu des allèles du parent haploïde pour deux ou plusieurs locus adjacents résulte d'un seul et même réarrangement chromosomique, j'ai pu dénombrer un total de 453 réarrangements sur l'ensemble des deux populations (e.g, Tableau 11). Par ailleurs on constate que le nombre de réarrangements par individu varie de 0 à 8 dans les descendants d'haploïdes *Darmor-bzh* et entre 0 et 5 dans les descendants d'haploïdes *Yudal*. Ceci indique que plusieurs réarrangements génomiques peuvent survenir durant la méiose et être transmis simultanément par des gamètes non-réduits de type FDR. Par ailleurs, j'ai systématiquement utilisé comme témoins les parents haploïdes dans l'ensemble de mes analyses moléculaires. Les réarrangements chromosomiques détectés aux différents locus dans les descendants d'haploïdes ne sont pas présents chez les haploïdes et ont donc eu lieu *a priori* durant la méiose.

II.2.1.2 Duplication des allèles du parent haploïde dans les descendants d'haploïdes

J'ai également analysé la présence de duplications chromosomiques en analysant le nombre de copies des allèles du parent haploïde pour 17 marqueurs révélant respectivement 15 locus dans les descendants d'haploïdes *Darmor-bzh* et 14 locus dans les descendants d'haploïdes *Yudal*. Ces locus se répartissent sur dix groupes de liaison, dans des régions préalablement analysées pour la non-transmission de l'allèle du parent haploïde (Tableau 3). Il n'a pas toujours été possible de trouver des marqueurs utilisables en dosage d'allèles à la fois chez *Darmor-bzh* et *Yudal* dans les régions considérées.

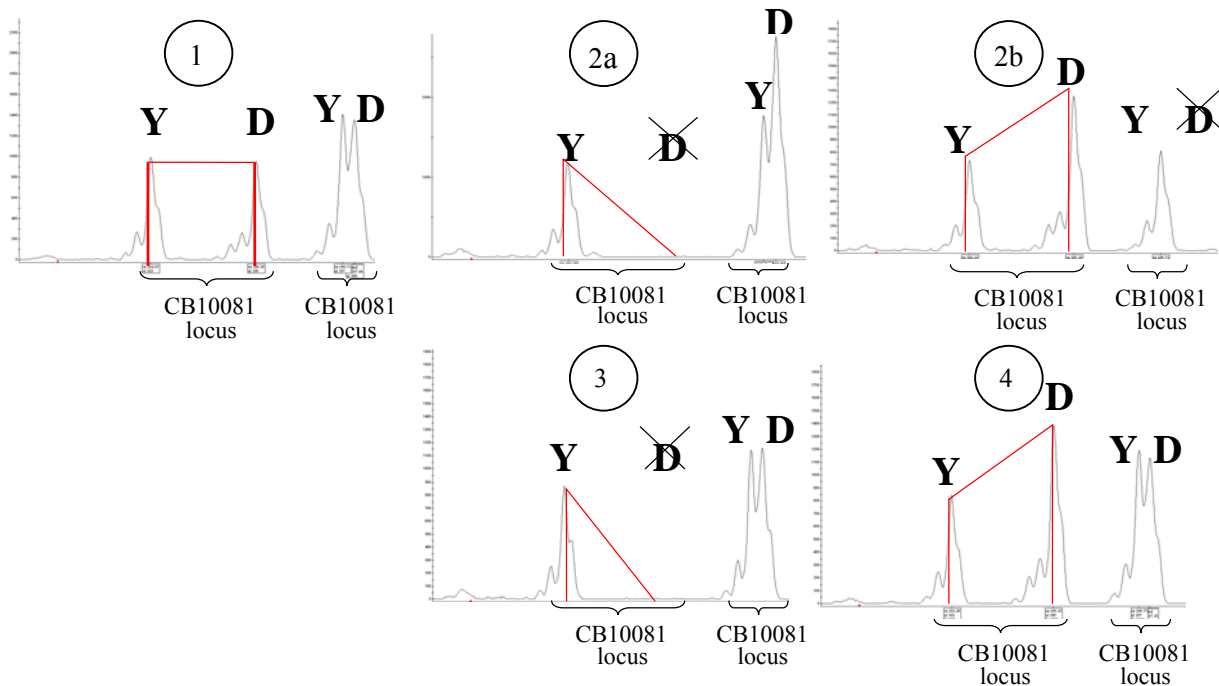


Figure 65 : Comparaison de la quantité d'amplicons de l'allèle *Darmor-bzh* par rapport à l'allèle *Yudal* au locus CB10081b et au locus homéologue CB10081a par l'analyse de la hauteur des pics des allèles *Darmor-bzh* et *Yudal* aux locus CB10081b et CB10081a sur capillaire.

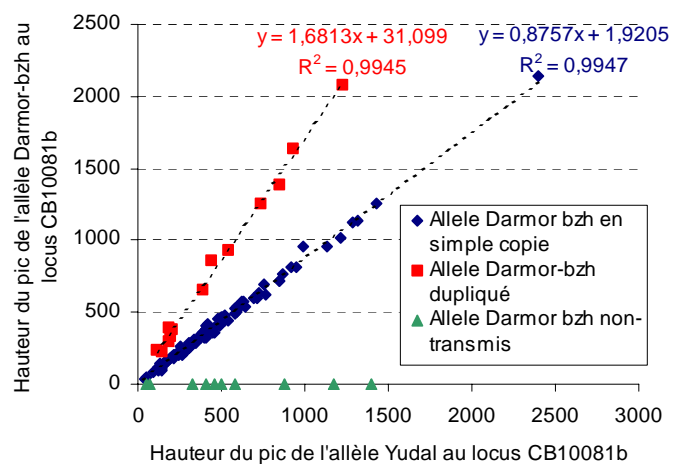
Cas 1 : Transmission sans duplication de l'allèle du parent haploïde : L'allèle *Darmor-bzh* est transmis en simple copie aux locus CB10081b et CB10081a

Cas 2 : Perte et duplication simultanées au locus homéologue : l'allèle *Darmor-bzh* est absent au locus CB10081b et en double copie au locus CB10081a (2a); en double copie au locus CB10081b et en simple copie au locus CB10081a (2b)

Cas 3 : Non-transmission sans duplication au locus homéologue : l'allèle *Darmor-bzh* est non-transmis au locus CB10081b sans qu'il soit dupliqué au locus homéologue CB10081a

Cas 4 : Duplication sans non-transmission au locus homéologue : l'allèle *Darmor-bzh* est dupliqué au locus CB10081b sans qu'il soit non-transmis au locus homéologue CB10081a

Figure 66 : Relation entre la hauteur du pic de l'allèle *Darmor-bzh* et celle de l'allèle *Yudal* au locus CB10081b. En fonction du ratio entre ces deux hauteurs, les individus ont été classés selon un modèle de maximum de vraisemblance pour déterminer si l'allèle *Darmor-bzh* était dupliqué ou pas. En rouge, les individus pour lesquels l'allèle *Darmor-bzh* est dupliqué; en bleu, les individus pour lesquels l'allèle *Darmor-bzh* est en simple copie ; en vert les individus pour lesquels l'allèle *Darmor-bzh* est non-transmis. La régression linéaire appliquée pour ces différentes catégories d'individus montre que la corrélation est quasi-totale ($R^2 > 0,99$) et que le coefficient de régression pour les individus dupliqués est approximativement le double que pour les individus en simple copie, indiquant que le modèle de maximum de vraisemblance permet de discriminer correctement les individus en fonction de leur nombre de copies.



L'Encadré 2 décrit en détail le principe de cette analyse. En résumé, le nombre de copies de l'allèle du parent haploïde à un locus donné a été déterminé en analysant le ratio entre la quantité d'amplicons de cet allèle et la quantité d'amplicons de l'allèle du parent euploïde ; j'ai pour cela utilisé des marqueurs multialléliques et estimé la quantité d'amplicons de chaque allèle par la hauteur des pics mesurée par le séquenceur capillaire (Figure 65). A partir de ce ratio, un modèle de régression linéaire a permis de déterminer, par une approche de maximum de vraisemblance, le nombre de copies de l'allèle du parent haploïde de chaque descendant d'haploïdes. J'ai considéré qu'un locus était dupliqué lorsque la probabilité d'avoir deux copies de ce locus était 100 fois supérieure à celle de n'avoir qu'une seule copie de ce locus (Figure 66).

Cette analyse confirme la présence de très nombreux réarrangements

structuraux dans la descendance des haploïdes de colza. Ainsi, 49% des descendants d'haploïdes *Darmor-bzh* et 34% des descendants d'haploïdes *Yudal* contiennent au moins un de leurs locus dupliqués. Sous l'hypothèse que la duplication simultanée dans une plante des allèles du parent haploïde pour deux ou plusieurs locus adjacents résulte d'un seul et même réarrangement chromosomique, j'ai pu comptabiliser un total de 93 duplications sur l'ensemble des deux populations. Le nombre de duplications par individu varie de 0 à 3 dans les descendants d'haploïdes *Darmor-bzh* mais n'excède pas 1 dans les descendants d'haploïdes *Yudal*.

Encadré 2 : Détecter les duplications avec le dosage d'allèle sur capillaire

La quantité d'amplicons des allèles des marqueurs multilocus a été estimée sur capillaire à partir de la hauteur des pics des allèles et/ou de l'aire de ces pics (Figure 65).

Le dosage d'allèles est une méthode de détection des duplications fondée sur la relation linéaire suivante:

Dose $M_H = \beta * (\text{Hauteur pic } M_H / \text{Hauteur pic } M_E) * \text{Dose } M_E$; β étant une constante et dépendant du marqueur et des allèles considérés., avec M_H et M_E les allèles du marqueur M provenant respectivement du parent haploïde et euploïde.

Ainsi, le nombre de copies de l'allèle du parent euploïde étant constant et identique dans tous ses descendants, il est possible avec un modèle de maximum de vraisemblance d'estimer au sein des descendants d'haploïdes pour chaque individu i la probabilité p_i que le nombre r de copies de l'allèle du parent haploïde prenne la valeur 1 s'il n'y a pas de duplication ou 2 s'il y a duplication, avec le modèle suivant :

$$Y_i = r \cdot \beta \cdot X_i + \varepsilon_i$$

où:

Y_i = hauteur du pic de l'allèle du parent haploïde dans l'individu i ; X_i = hauteur du pic de l'allèle du parent euploïde dans l'individu i ; β = le coefficient de régression pour les allèles du marqueur M ; ε_i = erreur standard avec une distribution normale.

Pour chaque descendant d'haploïdes i , l'odds ratio $(1-p_i/p_i)$, représentant la vraisemblance de ne pas avoir une duplication au sein des descendants d'haploïdes, a été utilisé pour déterminer la présence ou l'absence d'une duplication au locus considéré: si odds ratio > 100 = pas de duplication ; si odds ratio $< 1/100$ duplication ; si $1/100 < \text{odds ratio} < 100$ nombre de copies indéterminé.

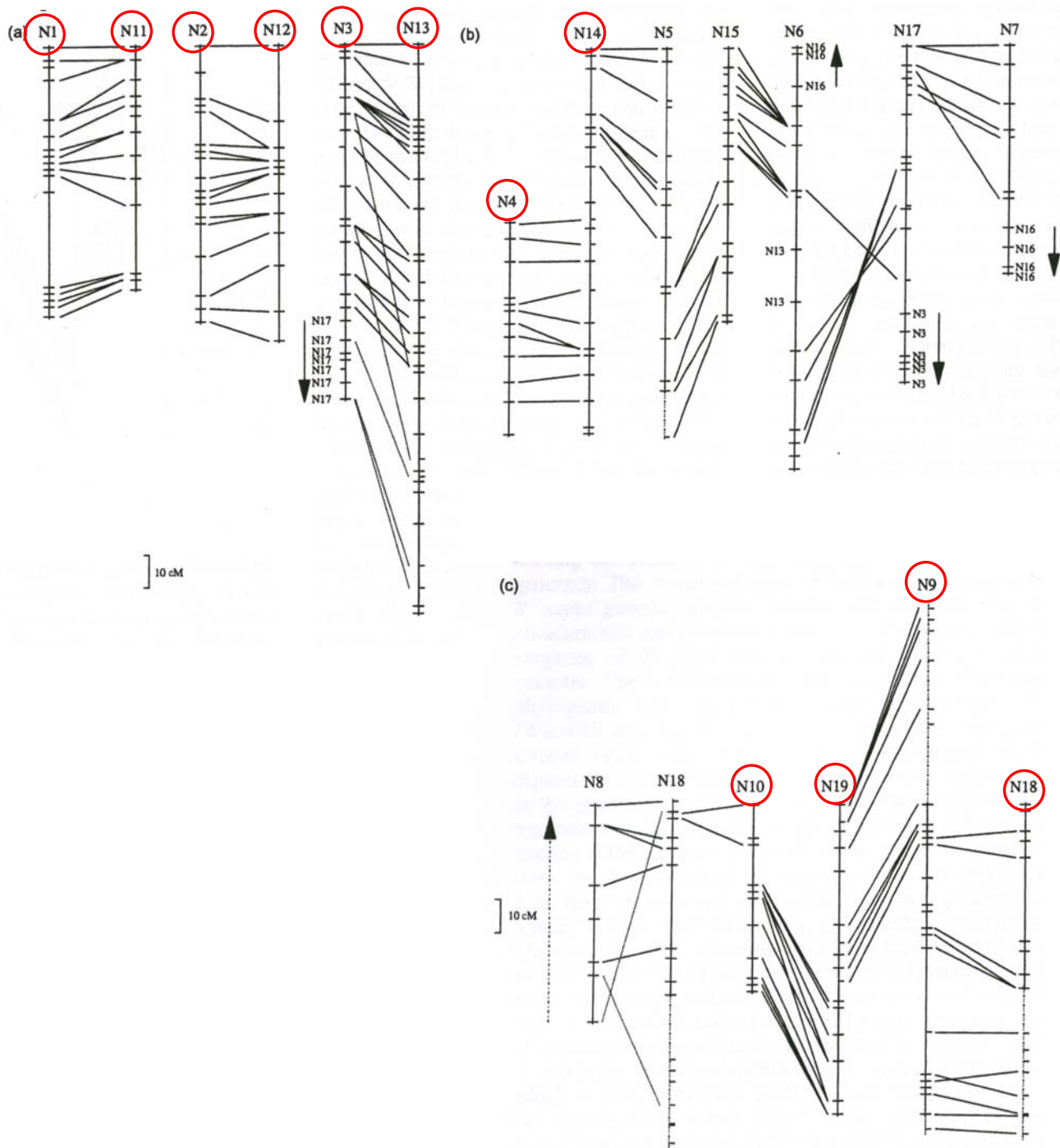


Figure 67 : Cartographie comparée entre les groupes de liaison des génomes A et C mettant en évidence les relations d'homéologie. D'après Parkin *et al.* (2003).

Plusieurs réarrangements génomiques conduisant à une duplication peuvent donc survenir simultanément durant la méiose et être transmis par des gamètes non-réduits de type FDR. Comme précédemment, j'ai pu vérifier qu'il n'y avait aucune duplication préalable à ces locus chez les parents haploïdes, ce qui démontre que ces réarrangements se sont formés au cours de la méiose.

Comme on l'a vu au chapitre I.5.2, on peut quantifier la part des réarrangements qui dérive d'un crossing-over homéologue en estimant la proportion de remaniements conduisant à la perte et à la duplication simultanée des allèles du parent haploïde pour des marqueurs positionnés dans des régions homéologues.

II.2.1.3 Perte et duplication simultanée des allèles du parent haploïde à des locus homéologues

Compte tenu de la disponibilité en marqueurs utilisables en dosage d'allèles (Encadré 2), j'ai concentré mon étude sur six paires de régions homéologues (N1-N11 ; N2-N12 ; N3-N13 ; N4-N14 ; N9-N18 et N10-N19) choisies pour être représentatives des différents niveaux de divergence qui existent entre homéologues dans le génome du colza (Figure 67) :

- les groupes de liaison N1-N11 et N2-N12 comptent parmi les paires d'homéologues les moins divergents. Ces groupes de liaison sont colinéaires sur toute leur longueur et présentent les fréquences de recombinaison homéologue les plus élevées chez les euploïdes. N3 et N13 sont deux groupes de liaison fortement colinéaires sur toute leur partie haute mais présentent des différences structurales importantes dans leur partie basse. Ces deux groupes de liaison présentent, chez les euploïdes, des fréquences de recombinaison homéologue moyennes sur le haut et nulles sur le bas du groupe de liaison.
- N9-N18, N4-N14 et N10-N19 sont des groupes de liaison partiellement synténiques et ont des fréquences de recombinaison homéologue moyennes chez les euploïdes.

Pour estimer la part des remaniements générés par recombinaison homéologue dans ces régions, j'ai analysé à quelle fréquence la perte de l'allèle du parent haploïde était associée à la duplication de l'allèle du parent haploïde à un locus appartenant à la région homéologue. Les relations d'homéologie entre locus ont été établies de deux façons: la correspondance entre les locus homéologues a été considérée comme exacte lorsqu'un marqueur révèle plusieurs locus polymorphes qui se cartographient dans des régions d'homéologie primaire (locus exactement homéologues, en gras sur le Tableau 4). Lorsque ce type de marqueur n'était pas disponible, j'ai

Tableau 4 : Association entre non-transmission et duplication de l'allèle du parent haploïde au locus homéologue. Le pourcentage des événements de non transmission générés par recombinaison homéologue (3) a été obtenue en divisant le nombre d'événements de non-transmission générés via une recombinaison homéologue à un locus (1) par l'ensemble des événements de non-transmission détectés à ce locus (1+2); GL= Groupe de liason; APH = allèle du parent haploïde;D= variété *Darmor-bzh*; Y = variété *Yudal*

Analyse de la non-transmission de l'APH		Analyse de la duplication de l'APH au locus homéologue		Parent haploïde	Perte et duplication simultanée de l'APH au locus homéologue	Perte sans duplication de l'APH au locus homéologue	Transmission de l'APH avec duplication de l'APH au locus homéologue	% des APH non-transmises générés par des événements de recombinaison homéologue
GL	Locus	GL	Locus		1	2		
N1	CB10081b	N11	CB10081a	D	11	5	2	69%
				Y	2	2	0	50%
	OI12F11b		OI12F11a	D	3	2	2	60%
				Y	0	0	0	-
N11	CB10081a	N1	CB10081b	D	5	6	2	45%
				Y	2	1	1	67%
	OI12F11a		OI12F11b	D	4	2	3	67%
				Y	0	1	0	0%
N14	<i>OI11D12</i>	N4	CB10335	D	6	2	4	75%
				Y	0	0	5	-
	<i>E35M67ab</i>		CB10347	D	0	0	4	-
				Y	0	2	4	0%
N2	<i>Brass037</i>	N12	PFM519a	D	2	6	4	25%
	PFM519b			Y	6	2	0	75%
	<i>Brass037</i>		Na12H09b	D	1	0	5	100%
	Na12H09a			Y	2	0	1	100%
	<i>Brass037</i>		OI09A06a	D	1	0	3	1
	<i>Na12H09a</i>			Y	2	0	1	100%
N12	PFM519a	N2	PFM519b	Y	5	2	1	71%
	Na12H09b		Na12H09c	Y	2	1	1	67%
N19	<i>E43M65e</i>	N10	Na14G02c	D	4	1	0	80%
N18	CB10092	N8	Na14G02b	Y	0	0	2	-
N13	<i>JLP011</i>	N3	Na14G02a	D	3	6	1	33%
N3	<i>CB10021a</i>	N13	OI10B08	D	0	4	4	0%
				Y	0	4	2	0%
	<i>CB10415-IH08a</i>		JLP011	D	0	1	0	0%
				Y	0	1	0	0%
N18	<i>JLP042</i>	N9	CZ0B69186	D	6	2	2	75%
				Y	1	2	0	33%
N9	<i>OI12F02b</i>	N18	Brass031	D	0	1	0	0%
				Y	0	0	0	-
Ensemble des locus observés				D	46	38	36	55%
				Y	22	18	18	55%
				D+Y	68	56	54	55%

Tableau 5 : Analyse conjointe de la perte et de la duplication des allèles du parent haploïde *Darmor-bzh* dans deux régions homéologues N11-N1 et N9-N18. * = plantes dans lesquelles des réarrangements ont été détectés mais dont l'origine n'a pu être déterminée du fait de l'absence de marqueurs utilisables en dosage d'allèle au locus homéologue. En *italique gras*, les marqueurs utilisés en dosage d'allèles; Les cases rayées, grisées et en noir indiquent respectivement l'absence, la présence et la duplication de l'allèle du parent au locus considéré. Si le marqueur n'a pas analysé en dosage d'allèles, les cases en gris peuvent soit indiquer que l'allèle du parent haploïde est en simple copie ou dupliqué; nd = données manquantes

Evénements de non-transmission et de duplication détectés sur N11-N1								
Categorie	N11				N1		Nom	Nombre de plantes
	CZAA12840b	Na12C08	<i>O112F11a</i>	CB10587	Bras026	<i>O112F11b</i>		
Perte et duplication simultanée				nd			A	4
							B	1
							C	1
				nd			D	1
							D	2
							E	1
							F	2
							G	1
							H	1
							I	2
							J	1
Perte sans duplication							K	2
							L	2
							M	2
							N	2
							O	2
							P	1
							Q	1
Duplication sans perte							R	1
							S	1
							T	1
							U	1
Inconnu*							V	1
							W	1
							X	1
							Y	3
						Z	6	

Evénements de non-transmission et de duplication détectés sur N9-N18 chez les descendants d'haploïdes <i>Darmor-bzh</i>						
Categorie	N18			N9	Nom	Nombre de plantes
	Bras031	JLP042	CB10092	<i>CZ0B687858</i>		
Perte et duplication simultanée					A'	2
					B'	3
					C'	2
Perte sans duplication				nd	E'	1
					F'	2
Duplication sans perte					D'	2
					G'	1
Inconnu*					H'	2
						3

Evénements de non-transmission et de duplication détectés sur N3-N13						
Categorie	N3			N13	Nom	Nombre de plantes
	Bras029	IH08a	CZ4A27950	<i>JLP011</i>		
Perte sans duplication					A''	1
Inconnu*					B''	1
					C''	5

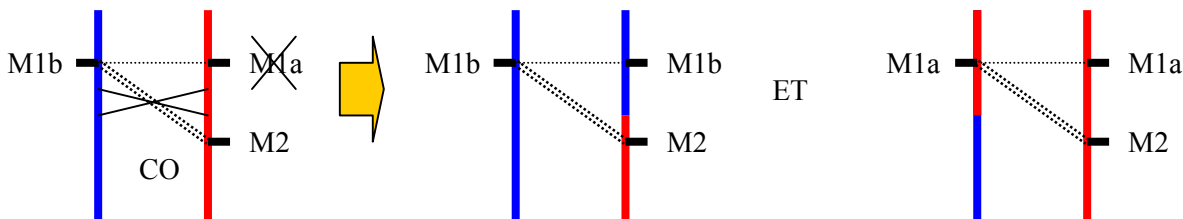


Figure 68 : Effet des relations d'homéologie entre couples de locus sur l'estimation de la fréquence de recombinaison homéologue. Soit M1a et M1b deux locus homéologues et M2 un autre marqueur appartenant à la même région homéologue. Lorsque la relation d'homéologie est exacte, la non-transmission d'un locus générée par un crossing-over (CO) homéologue est systématiquement associée avec la duplication du locus homéologue. Lorsque qu'elle est inexacte, la non-transmission d'un locus n'est pas systématiquement associée avec la duplication du locus dans les descendants d'haploïdes bien que le réarrangements puissent être générés par un crossing-over homéologue.

utilisé des marqueurs ancrés sur le génome d'*A. thaliana* pour trouver le locus le plus proche de l'homéologue au sein de la région synténique, définissant ainsi des couples de locus approximativement homéologues (Tableau 4: locus en italique).

J'ai montré que l'absence de l'allèle du parent haploïde à un locus est associée, dans plus de la moitié des cas en moyenne, à la duplication de l'allèle du parent haploïde au locus exactement ou approximativement homéologue, et ce aussi bien dans les descendants d'haploïdes *Darmor-bzh* que *Yudal* (Tableau 4). On peut cependant constater que d'importantes variations existent d'un locus à l'autre, et ce indépendamment du niveau de divergence inféré entre les régions homéologues d'après les données de cartographie comparée chez les euploïdes (Tableau 4). En effet, la fréquence d'association entre perte et duplication simultanée pour certains groupes de liaison totalement synténiques comme N1-N11 est équivalente à celle de certains groupes de liaison partiellement synténiques comme N18-N9. Ainsi :

- pour 14 plantes sur 19 (73%), la perte de l'allèle du parent haploïde *Darmor-bzh* aux locus CB10081a et/ou OI12F11a (haut de N11) est associée à la duplication de l'allèle *Darmor-bzh* aux locus homéologues CB10081b et/ou OI12F11b (haut de N1) (Tableau 5),
- pour 6 plantes sur 8 (75%) la perte de l'allèle *Darmor-bzh* au locus JLP042 (haut de N18) est associée à la duplication de l'allèle *Darmor-bzh* au locus homéologue CZ0B69186 (haut de N9) (Tableau 5).

Comme le montre le Tableau 4, il existe quelques cas pour lesquels la fréquence de perte et duplication simultanée des allèles du parent haploïde à des locus homéologues est largement différente selon le génotype (*Darmor-bzh* vs *Yudal*) du parent haploïde. Une partie de ces différences résulte vraisemblablement de problèmes d'échantillonnage liés au petit nombre d'événements observés chez les descendants d'haploïdes *Yudal*. Ainsi, si la proportion de pertes et de duplications simultanées des allèles du parent haploïde aux locus CB10081a et CB10081b est 25% plus grande dans les descendants d'haploïdes *Darmor-bzh* que dans ceux de *Yudal*, il aurait suffi d'une seule plante de plus chez les descendants d'haploïdes *Yudal* pour que cette différence soit abolie. Une autre partie des différences observées entre les descendants d'haploïdes *Darmor-bzh* et *Yudal* résulte de l'utilisation de couples de locus différents pour mesurer la fréquence de perte et duplication simultanées des allèles du parent haploïde à des locus homéologues. On observe ainsi, que l'utilisation de couples de locus approximativement homéologues entraîne souvent une sous-estimation de la fréquence de perte et de duplication simultanées de l'allèle du parent haploïde dans les régions homéologues (Figure 68).

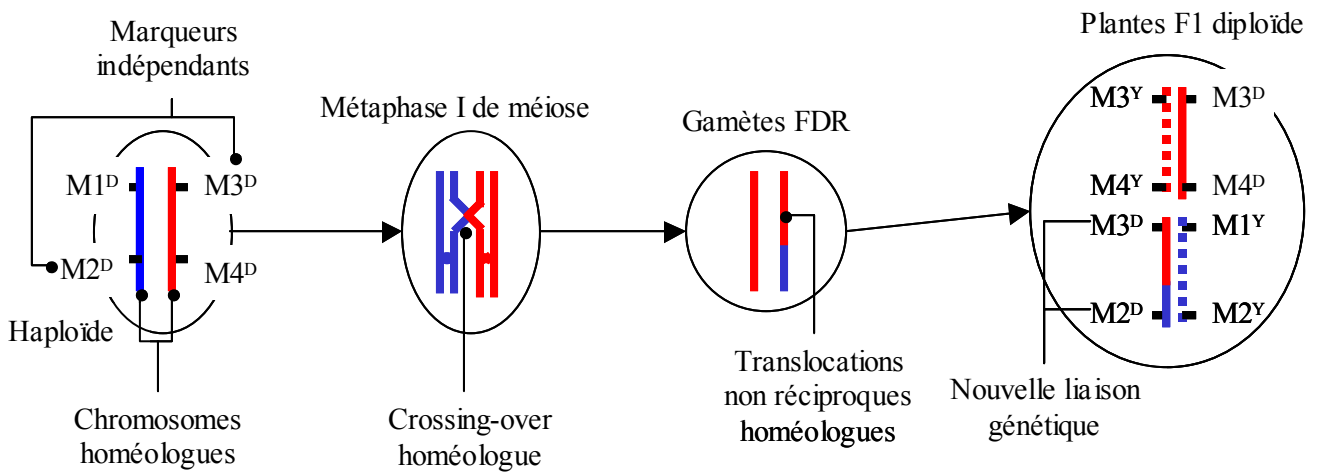


Figure 69 : Effet des translocations non-réciproques sur les liaisons génétiques.

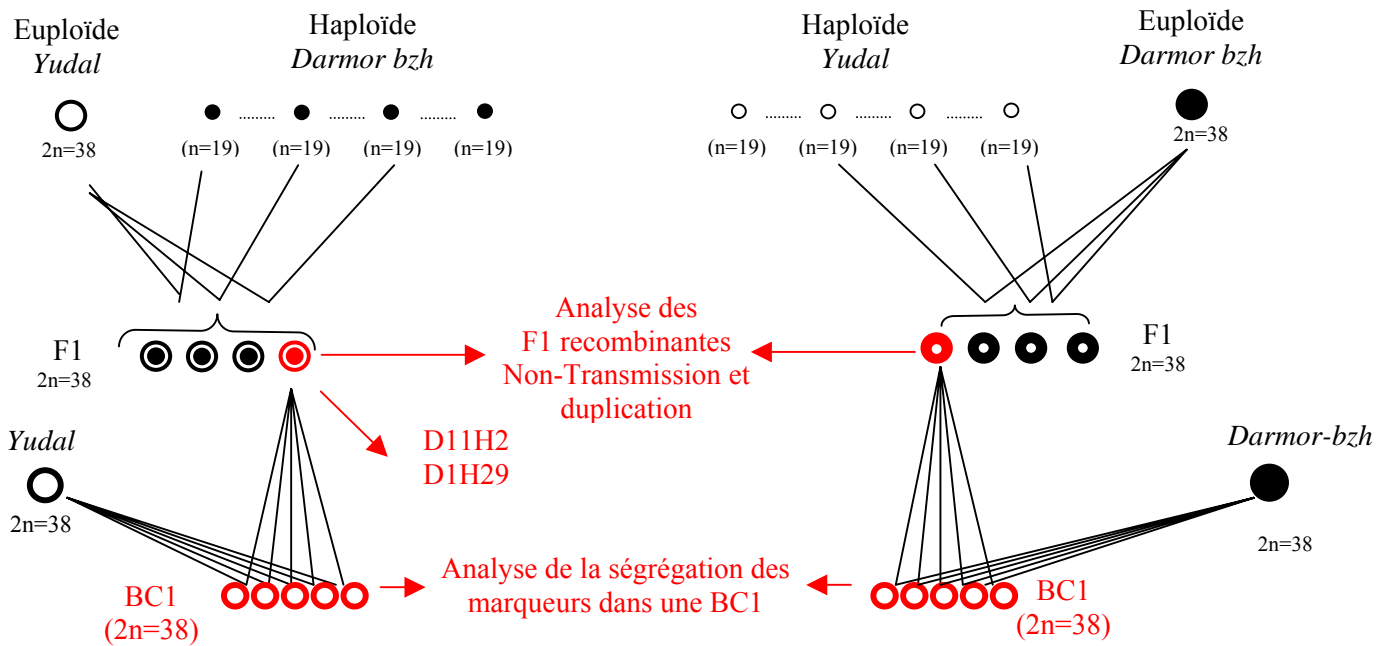


Figure 70 : Backcross des descendants d'haploïdes en vue d'analyser la ségrégation et la coségrégation de marqueurs. Les plantes F1 dans lesquelles ont été détectés des réarrangements chromosomiques sont rétrocroisés par le parent euploïdes afin de déterminer si ces réarrangements chromosomiques sont des événements de recombinaison homéologue.

On peut également noter que la fréquence de perte et de duplication simultanées des allèles du parent haploïde pour certains couples de locus homéologues est proche ou égale à 0% comme sur N3-N13 (O110B08-CB10021a) ou le haut de N4-N14 (CB10347-E35M67ab). Ce résultat amène à s'interroger sur la réalité des relations d'homéologie inférées d'après la cartographie comparée et sur l'effet que peuvent jouer d'éventuels remaniements structuraux pré-existants (cf §III.5.1.2 et III.5.1.3 pour plus de détails).

Ces deux explications « d'ordre méthodologique » ne permettent toutefois pas d'expliquer toutes les différences observées entre les descendants d'haploïdes *Darmor-bzh* et *Yudal*.

Les résultats présentés dans cette partie montrent que plus de la moitié des réarrangements sont *a priori* le fruit de crossing-overs homéologues, et ceci indépendamment du génotype du parent haploïde. Cette interprétation repose sur l'hypothèse selon laquelle la perte et duplication simultanées de l'allèle du parent haploïde reflètent fidèlement les événements de recombinaison homéologue. Cette hypothèse peut être validée en étudiant comment co-ségrègent les locus dupliqués et ceux appartenant aux groupes de liaison montrant une perte dans des populations en backcross. Les translocations induisent en effet la formation de chromosomes « recombinés » (Figure 69) sur lesquels des locus appartenant auparavant à deux chromosomes différents ($M2^D$ et $M3^D$) se trouvent réunis créant ainsi des liaisons génétiques entre des marqueurs auparavant indépendants (Figure 69).

II.2.1.4 Les translocations non-réciproques homéologues induisent la formation de nouveaux groupes de liaison

Je présenterai dans un premier temps les résultats de l'analyse de co-ségrégation que j'ai menée dans la descendance en backcross de deux plantes descendant d'haploïdes entre des marqueurs localisés à proximité de la région non-transmise et des marqueurs dupliqués (Figure 70).

Cette approche m'a amené à analyser l'effet des translocations non-réciproques (TNR) sur l'estimation des liaisons génétiques dans les intervalles adjacents ; je présenterai brièvement dans un second temps comment j'ai procédé en combinant l'analyse de coségrégation avec le dosage d'allèles.

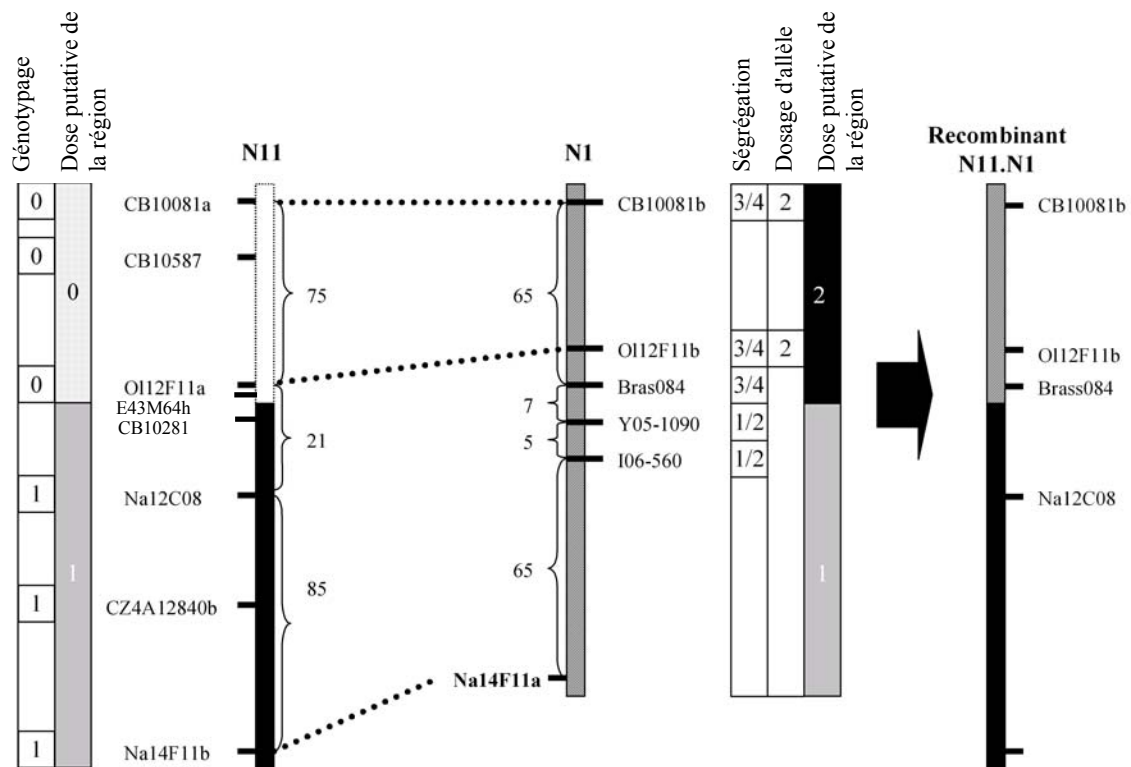


Figure 71 : Caractérisation de la translocation non-réciproque N11.N1(T) portée par D1H29. La position des points de cassure et la taille des fragments perdus et dupliqués (en cM) sont indiqués sur les groupes de liaison des parents. Les données de génotypage (présent=1, absent=0), le nombre de copies des allèles du parent haploïde (noir= 2 copies, gris= 1 copie, pointillés = 0 copie) et le ratio de ségrégation (par exemple 1:1) sont indiqués. Les traits en pointillés entre les marqueurs PCR multilocus indiquent une relation synténique entre des régions homéologues. Les marqueurs en gras à gauche du groupe de liaison indiquent des relations homéologues entre les groupes de liaison mais ils n'ont pas été utilisés dans notre analyse moléculaire.

Tableau 6 : Ségrégation et co-ségrégation des marqueurs appartenant à la région dupliquée et la région non-transmise.

Groupes de liaison	N11 Région flanquant la région non-transmise	N1 Région dupliquée	Co-ségrégation observé dans la population en backcross	Attendu sous l'hypothèse H0 d'une ségrégation au hasard des deux locus (hypothèse H0=Pas de TNR de N1 sur N11)	Attendu sous l'hypothèse H1 d'une co-ségrégation des deux locus=TNR de N1 sur N11
Locus	Na12C08	OI12F11b			
Allele présent dans le backcross	<i>Darmor-bzh</i>	<i>Darmor-bzh</i>	36	27	40
	<i>Darmor-bzh</i>	<i>Yudal</i>	19	13	20
	<i>Yudal</i>	<i>Darmor-bzh</i>	23	29	20
	<i>Yudal</i>	<i>Yudal</i>	2	12	0
Chi ²				10,4	2,4
ddl				3	3
Test d'indépendance du Chi2 entre l'observé et l'attendu				1,60%	48%

II.2.1.4.1 Caractérisation de deux translocations non-réciproques homéologues

Deux plantes D1H29 et D11H2 dans lesquelles les allèles du parent haploïde *Darmor-bzh* ont été simultanément non-transmis et dupliqués pour deux couples de locus homéologues sur N1-N11 et N9-N18 ont été rétrocroisées par le parent euploïde *Yudal*. Nous avons analysé, dans ces deux populations de backcross (BC1-D1H29 et BC1-D11H2), la ségrégation des marqueurs appartenant aux régions dupliquées, ainsi que leur co-ségrégation avec des marqueurs localisés à proximité du point de cassure des régions non transmises. Si ces deux plantes contiennent des TNR homéologues, on s'attend à ce que les marqueurs de part et d'autre du point de cassure co-ségrègent plus souvent qu'attendu par hasard. Ce travail a fait partie du stage de master de G. LeMignon que j'ai encadré en 2005.

Concernant la plante D1H29, l'analyse simultanée de la présence et de la duplication des allèles du parent haploïde laissait supposer la présence d'une TNR de N1 (dupliqué) sur N11 (non-transmis) : N11.N1(T). Nous avons commencé par évaluer la taille génétique des fragments perdus et dupliqués en analysant chez D1H29 la présence/absence et la duplication des allèles du parent haploïde *Darmor-bzh* pour un ensemble de marqueurs répartis le long de N1 et de N11. Cette approche nous a également permis de localiser les points d'échange entre les marqueurs CB10281 et E43M64h, séparés par moins de 5 cM sur le haut de N11, et entre les marqueurs Bras084 et Y05-1090, séparés par 7 cM sur le haut de N1 (Figure 72). Ce dernier marqueur ségrège avec un ratio 3:1 dans la population de backcross BC1-D1H29 alors qu'ils ségrègent avec un ratio 1:1 dans la population de backcross BC1-D11H2 dans laquelle nous n'avons pas détecté de duplication dans cette région via le dosage d'allèles. L'analyse de la liaison génétique entre les marqueurs flanquant le point de cassure, les uns appartenant à la région dupliquée (N1) et les autres à la région adjacente de la région non-transmise sur N11, montre que ces marqueurs co-ségrègent plus souvent qu'attendu par hasard ($\chi^2=10$; ddl=3; $p<5\%$). Ces marqueurs sont génétiquement liés (Tableau 6). De plus, ils co-ségrègent comme attendu sous l'hypothèse que la région dupliquée de N1 a pris la place de la région non-transmise sur N11 ($\chi^2=2,4$; ddl=3; $p=48\%$). La présence d'une translocation non-réciproque distale N11.N1(T) dans D1H29 est donc confirmée (Tableau 6).

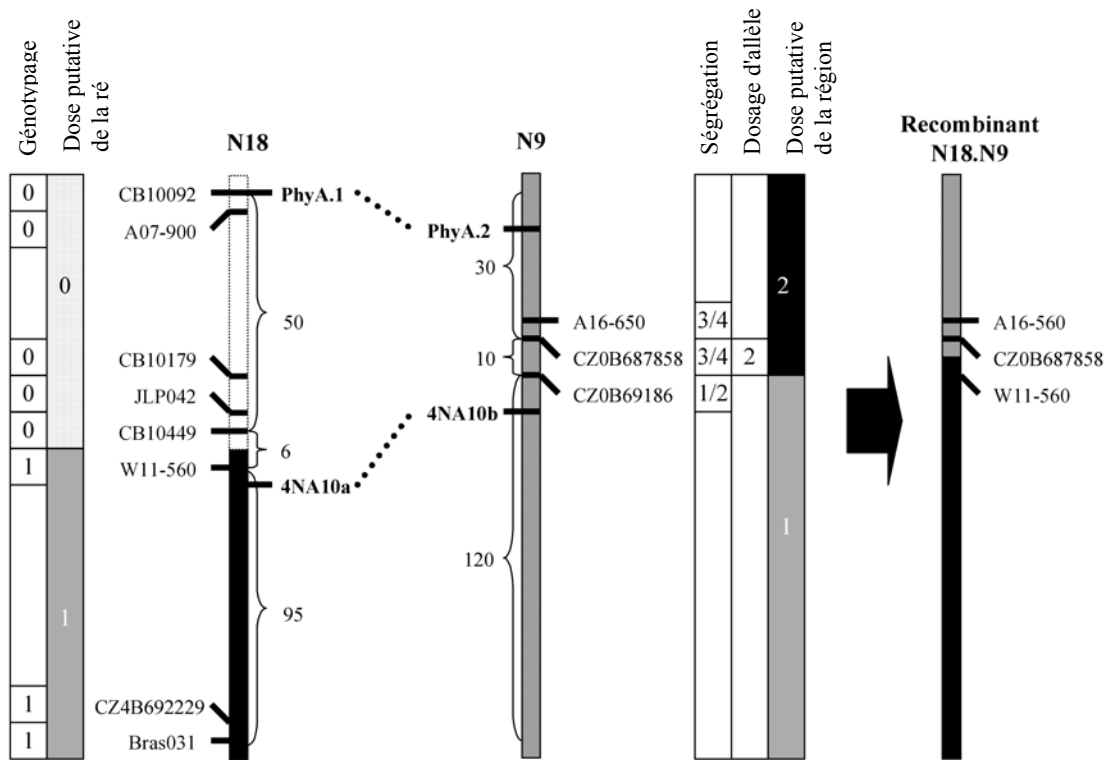


Figure 72 : Caractérisation de la translocation non-réciproque N18.N9(T) portée par D11H2. La position des points de cassure et la taille des fragments perdus et dupliqués (en cM) sont indiqués sur les groupes de liaison des parents. Les données de génotypage (présent=1, absent=0), le nombre de copies des allèles du parent haploïde (noir= 2 copies, gris= 1 copie, pointillés = pas d'allèle du parent haploïde) et le ratio de ségrégation (par exemple 1:1) sont indiqués. Les traits en pointillés entre les marqueurs PCR multilocus indiquent une relation synténique entre des régions homéologues. Les marqueurs en gras à gauche du groupe de liaison N9 indiquent des relations homéologues entre les groupes de liaison mais ils n'ont pas été utilisés dans notre analyse moléculaire.

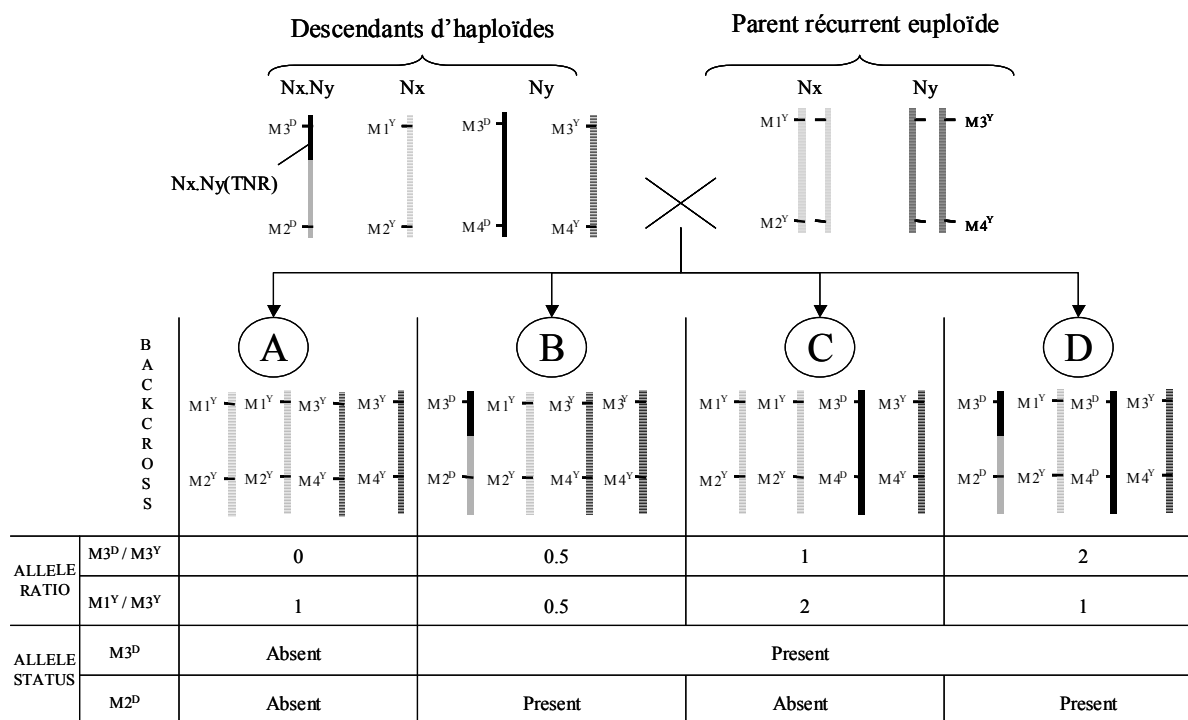


Figure 73 : Analyse combinée de co-ségrégation et de composition allélique.

La même analyse a été réalisée pour D11H2 et confirme également la présence d'une TNR distale de N9 (dupliqué) sur N18 (non-transmis) [N18.N9(T)] (Figure 72). Nous avons en effet pu confirmer que deux marqueurs (A16.650 et CZ0B69186) appartenant à la région dupliquée sur N9 ségrègent avec un ratio 3:1 dans la population en backcross BC1-D11H2 alors qu'ils ségrègent avec un ratio 1:1 dans une autre population de backcross. Ces deux marqueurs co-ségrègent avec W11.560 ($\chi^2=31$, ddl=3, $p<1\%$), un marqueur adjacent de la région non-transmise sur N18 comme attendu en présence d'une TNR N18.N9(T) ($\chi^2=1,5$; ddl=3; $p=66\%$).

II.2.1.4.2 Effet des translocations non-réciproques sur la mesure des distances génétiques

Le calcul des distances génétiques dans l'intervalle **portant le point de cassure** d'une TNR, et **à l'intérieur** des TNR, est biaisé par la ségrégation indépendante des deux chromosomes portant la TNR pour l'un, et la région originelle qui a été dupliquée pour l'autre.

Considérons par exemple le cas théorique d'une TNR $N_x.N_y(T)$ conduisant à la non transmission de l'allèle D au marqueur M1 ($M1^D$ sur N_x) et à la duplication de l'allèle D au marqueur homéologue M3 ($M3^D$ sur N_y) (Figure 73). Comme le montre la Figure 73, on attend quatre types d'individus dans la descendance en backcross d'une plante portant une telle translocation s'il n'y a aucun crossing-over dans l'intervalle $M2^D-M3^D$ portant le point de cassure de cette TNR (ni à l'intérieur de cette TNR). Rappelons ici que seuls deux types (parentaux) sont attendus en l'absence de recombinaison quand il n'y a pas de translocation. En dépit de l'absence de crossing-over, 25% des plantes de la population de backcross considérée dans l'exemple (Groupe C) seraient à tort considérées comme recombinantes si on ne prenait en compte que la seule analyse de co-ségrégation entre les marqueurs M2 et M3 (présence de $M3^D$ mais absence $M2^D$). La seule analyse de co-ségrégation entre les marqueurs M3 et M4 conduirait de la même façon à classer 25% des plantes de la population de backcross (Groupe B) comme recombinantes alors que ce profil de co-ségrégation (présence de $M3^D$ et absence de $M4^D$) résulte simplement de la transmission de la translocation portant $M3^D$. Bien qu'aucune recombinaison n'ait eu lieu dans ces deux intervalles, la seule analyse de la co-ségrégation des marqueurs flanquants conduirait donc à les séparer de façon artificielle par 25 cM. Dans le cas où il y a recombinaison dans un de ces deux intervalles, il serait également impossible par une seule analyse de co-ségrégation de discriminer les plantes « recombinantes » ($M3^D$ présent et $M4^D$ absent ou $M2^D$ absent et $M3^D$ présent) des plantes pour lesquelles il y a eu disjonction des régions dupliquées portant $M4^D$ lors de la méiose II en absence de recombinaison (Groupe C et groupe D).

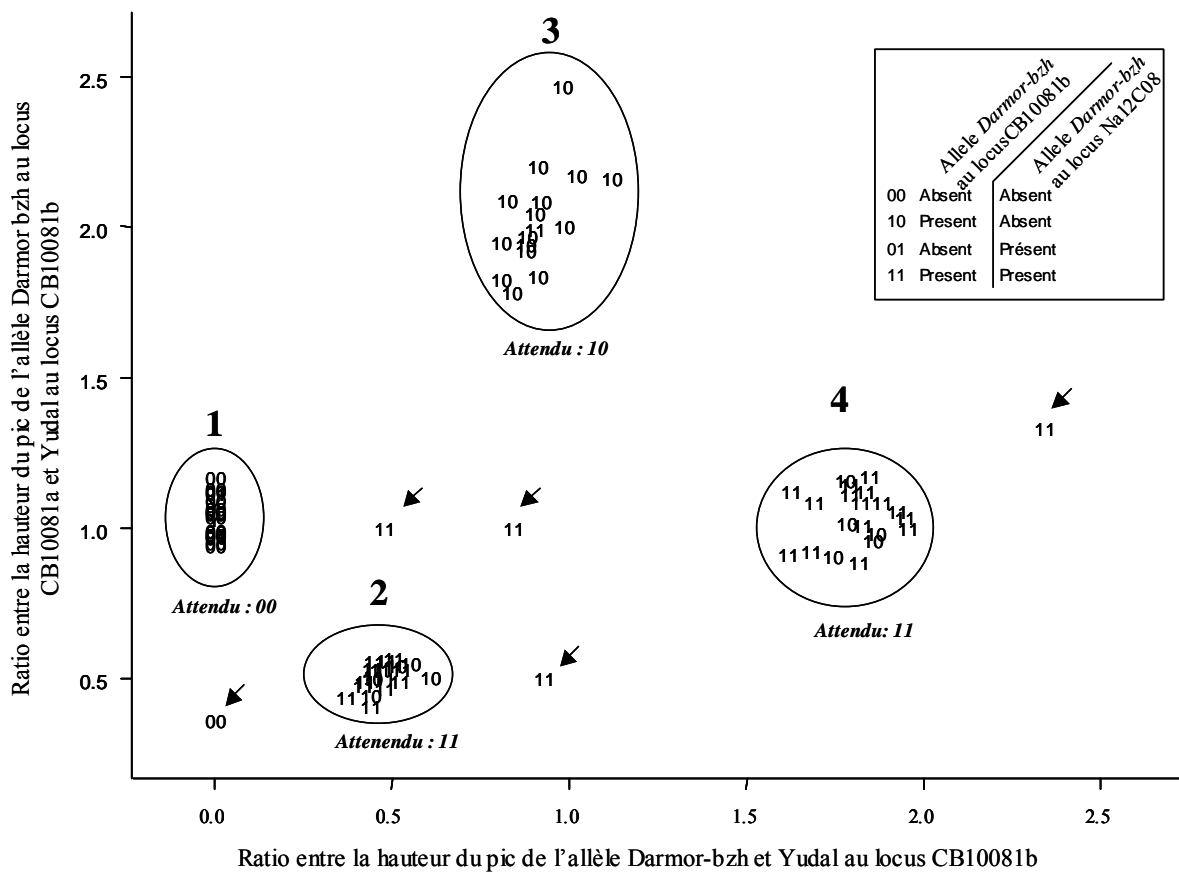


Figure 74 : Détection des recombinants dans un intervalle contenant le point de cassure d'une translocation non-réciproque. L'analyse combinée de la co-ségrégation des marqueurs et de la composition allélique par dosage appliquée à l'intervalle CB10081b-Na12C08 dans le backcross de D1H29 x Yudal permet de discriminer les plantes recombinantes pour cet intervalle.

Tableau 7 : Analyse combinée de la co-ségrégation et du dosage d'allèles dans un intervalle entre CB10081b et Na12C08.

Comparaison de la co-ségrégation observée et attendue d'après la composition allélique pour l'intervalle CB10081b-Na12C08 dans le backcross de D1H29 par <i>Yudal</i>								
Composition allélique	Co-ségrégation attendue si absence de recombinaison	Co-ségrégation observée				Statut de l'intervalle		Nombre de plantes
		0	11	10	1	Recombinant	Non-Recombinant	
Groupe 1	0	16			2	2	16	18
Groupe 2	11		17	5		5	17	22
Groupe 3	10		1	15		1	15	16
Groupe 4	11		17	4		4	17	21
Nombre total de plantes		16	35	24	2	12	65	77
Fréquence (%)		21	45	31	3	16	84	100

Heureusement, toutes les recombinaisons entre $N_x.N_y(T)$ et N_x (recombinaison « homologue ») et la moitié des recombinaisons entre la $N_x.N_y(T)$ et N_y (recombinaison « homéologue ») peuvent être détectées en combinant l'analyse de la composition allélique aux locus M1 et M3 (dosage des allèles D et Y) avec l'analyse de la co-ségrégation entre les marqueurs appartenant à la TNR (M3) et respectivement à N_y (M4) ou N_x (M2). D'une part, le dosage des allèles D et Y aux locus M1 et M3 permet de discriminer les quatre types d'individus attendus dans la descendance en backcross d'une plante portant une translocation $N_x.N_y(T)$ quand il n'y a aucun crossing-over dans l'intervalle portant le point de cassure de cette TNR (

Figure 73). D'autre part, on peut constater que le profil de co-ségrégation correspond à l'attendu d'après la composition allélique en absence de recombinaison, mais qu'il diffère de l'attendu d'après la composition allélique lorsqu'il y a un crossing-over dans l'intervalle $M2^D-M3^D$ ou $M4^D-M3^D$. Cette discordance permet de quantifier plus précisément le nombre de crossing-overs dans ces intervalles et donc d'évaluer plus correctement des distances génétiques.

J'ai appliqué ce raisonnement à l'analyse de la TNR $N11.N1(T)$ portée par D1H29. J'ai analysé la composition allélique par dosage d'allèles aux locus CB10081b (correspondant à M3 dans l'exemple précédent) et CB10081a (correspondant à M1) et je l'ai combinée à l'analyse de co-ségrégation de l'allèle *Darmor-bzh* entre les locus Na12C08 (M2) et CB10081b (M3) ou entre les locus CB10081b (M3) et I06.560 (M4). Ce faisant, j'ai détecté 12 plantes présentant un profil de co-ségrégation inattendu dans l'intervalle Na12C08-CB10081b compte tenu de leur composition allélique : deux plantes avec le profil 01 dans le groupe A, six plantes avec le profil 10 dans les groupes B et D et quatre plantes avec le profil 11 dans le groupe C (Figure 74). J'ai considéré ces 12 plantes (sur un total de 82) comme recombinantes dans l'intervalle Na12C08-CB10081b ce qui représente une distance de 16 cM (Tableau 7). La seule analyse de la co-ségrégation entre les locus Na12C08 (M2) et CB10081b (M3) aurait conduit à considérer 14 plantes supplémentaires comme recombinantes (pour un total de 26 plantes sur 82), soit une distance de 31 cM. J'ai de même estimé que les locus CB10081b et I06.560, qui appartenaient tous deux à N1 (l'un à la région dupliquée, l'autre pas) sont séparés par 34 cM ; cette distance est significativement réduite par rapport à celle mesurée pour le même intervalle dans la population de cartographie de référence *Darmor-bzh* x *Yudal* (34 cM vs plus de 50 cM : non liés ; $\chi^2=4,1$; ddl=1; $p<5\%$). La présence de la TNR $N11.N1(T)$ semble donc réduire la fréquence de recombinaison sur N1.

L'analyse des plantes recombinantes des groupes 1, 2 et 3 permet en outre de comparer pour des intervalles identiques la fréquence de recombinaison au sein de la TNR $N11.N1(T)$ et celle au sein de la région dupliquée appartenant au chromosome originel N1. Pour l'intervalle O112F11b-CB10081b, on observe que seules quatre plantes sur 23 sont recombinantes dans le groupe 2 (TNR

seule) contre 13 sur 34 dans les groupes 1 et 3 (pas de TNR). Ainsi l'intervalle OI12F11b-CB10081b recombine 3 fois moins au sein de la TNR N11.N1(T) qu'au sein de la région dupliquée portée par N1.

II.2.1.5 Conclusion

J'ai montré dans cette partie que plus de la moitié des réarrangements structuraux détectés via la non-transmission de l'allèle du parent haploïde sont le fruit de crossing-overs entre chromosomes homéologues et ceci indépendamment du génotype du parent haploïde. J'ai aussi confirmé que la perte et la duplication des allèles du parent haploïde pour des locus homéologues suffisent pour identifier ces translocations non réciproques (voir II.2.1.4.1). L'analyse à ce stade indique que plus de la moitié des associations observées en métaphase I de méiose chez les haploïdes de colza sont chiasmatisques et démontre que les crossing-overs se font de façon préférentielle entre des régions d'homéologie primaire.

La présence de nombreuses duplications intra et intergénomiques dans le génome du colza (chapitre §I.4.2) ainsi que celle d'un voire deux bivalents en MI chez les haploïdes de *B. oleracea* et *B. rapa* amènent toutefois à s'interroger sur l'existence d'événements de recombinaison entre des régions paralogues ou para-homéologues.

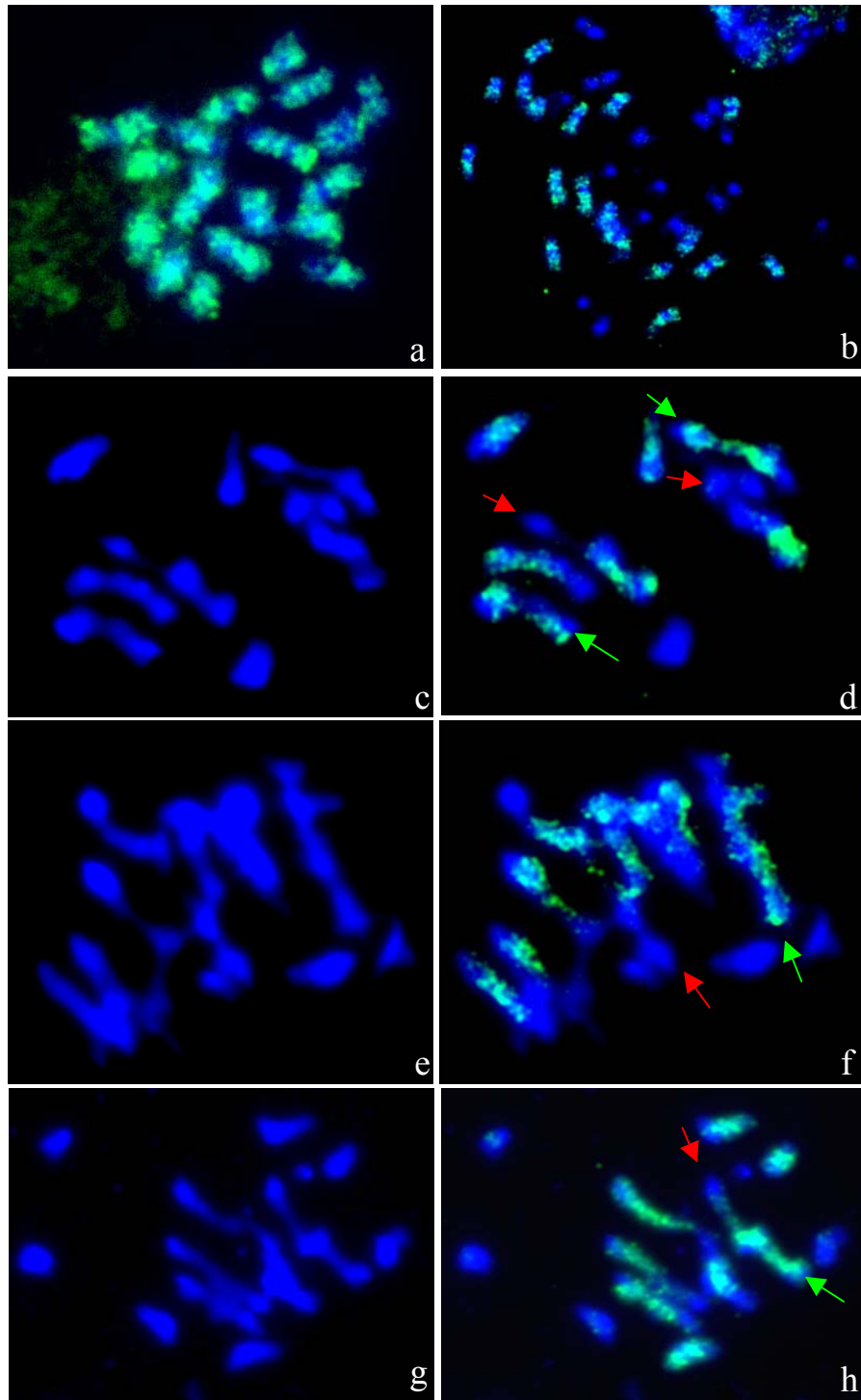


Figure 75 : Détection d'autosyndèse en métaphase I (MI) par utilisation de FISH sur des cellules mères de pollen (CMP) issues d'haploïdes Darmor-bzh. Les chromosomes mitotiques de *B. oleracea* cv *HDEM* (a) et *B. napus* cv *Darmor-bzh* (b) sont hybridés avec le BAC BoB014O06 (vert), combiné avec du DAPI (bleu), pour montrer que ce BAC ne colore que les chromosomes du génome C. La coloration au DAPI est ensuite utilisée sur des méiocytes d'anthère pour établir le comportement de chaque CMP *Darmor-bzh* CMP en MI (c, e, g) puis combinée avec les signaux FISH BoB014O06 (d, f, h) pour distinguer les associations auto- et allosyndétiques. Les flèches rouges et vertes indiquent des bivalents autosyndétiques entre les chromosomes A et C respectivement: (d) 7 bivalents dont un bivalent fermé (4 autosyndétiques and 3 allosyndétiques) et 5 univalents; (e) 7 bivalents (2 autosyndétiques and 5 allosyndétiques) et 5 univalents; (f) 6 bivalents (2 autosyndétiques and 4 allosyndétiques) et 7 univalents.

II.2.2 Existe-t-il de la recombinaison para(homéo)logue chez le colza ?

Si une partie des réarrangements ne dérivant pas d'un crossing-over homéologue résulte d'événements de recombinaison entre des régions paralogues ou para-homéologues, alors on s'attend à observer (i) des bivalents autosyndétiques en MI de méiose chez les haploïdes de colza ; (ii) une perte et une duplication simultanée des allèles du parent haploïde dans des régions paralogues ou para-homéologues chez les descendants d'haploïdes ; (iii) de nouvelles liaisons génétiques entre des locus situés sur des groupes de liaisons possédant des régions paralogues ou para-homéologues.

II.2.2.1 Des bivalents autosyndétiques fréquents chez les haploïdes

Nous avons analysé par hybridation *in situ* en fluorescence (FISH) 49 cellules mères du pollen au stade MI chez des haploïdes *Darmor-bzh* au moyen de la sonde BAC BoB014O06. Cette sonde s'hybride de façon spécifique avec les 9 chromosomes du génome C au sein du colza (Figure 75) et permet donc de déterminer la proportion relative des bivalents autosyndétiques (A-A ou C-C) et allosyndétiques (C-A).

Cette étude montre que l'autosyndèse est courante au cours la méiose des haploïdes *Darmor-bzh* puisque 84% des cellules mères du pollen observées possèdent au moins un bivalent autosyndétique. J'ai ensuite déterminé, pour l'ensemble de ces cellules, le nombre de chromosomes impliqués dans chacune des différentes configurations méiotiques observées, en les classant avec la notation habituelle (I=univalent, II = bivalent, III=trivalent, IV=quadrivalent) et en tenant compte de l'origine génomique des chromosomes impliqués dans ces configurations chromosomiques (I^A= chromosome du génome A sous forme d'univalent, II^{A-A} bivalent composé de deux chromosomes A). J'ai pu ainsi estimer le comportement méiotique moyen des haploïdes *Darmor-bzh* en MI de méiose: 3 I^A + 2,2 I^C + 5,2 II^{C-A} + 0,8 II^{A-A} + 0,7 II^{C-C} + 0,1 III + 0,04 IV. Ainsi, 22% des bivalents observés en MI de méiose chez les haploïdes *Darmor-bzh* sont autosyndétiques. De même, un certain nombre de multivalents observés résulte de crossing-overs entre des chromosomes appartenant à un même génome.

Les bivalents autosyndétiques et allosyndétiques n'apparaissent pas différents en MI de méiose, ce qui indique que les bivalents autosyndétiques sont chiasmatisques. Ceci implique qu'une partie des remaniements détectés devrait résulter d'échanges chromosomiques intra-génomiques et on peut supposer que ces échanges devraient se faire de façon privilégiée entre les régions qui présentent le plus fort degré d'apparentement au sein des génomes A et C du colza: les régions

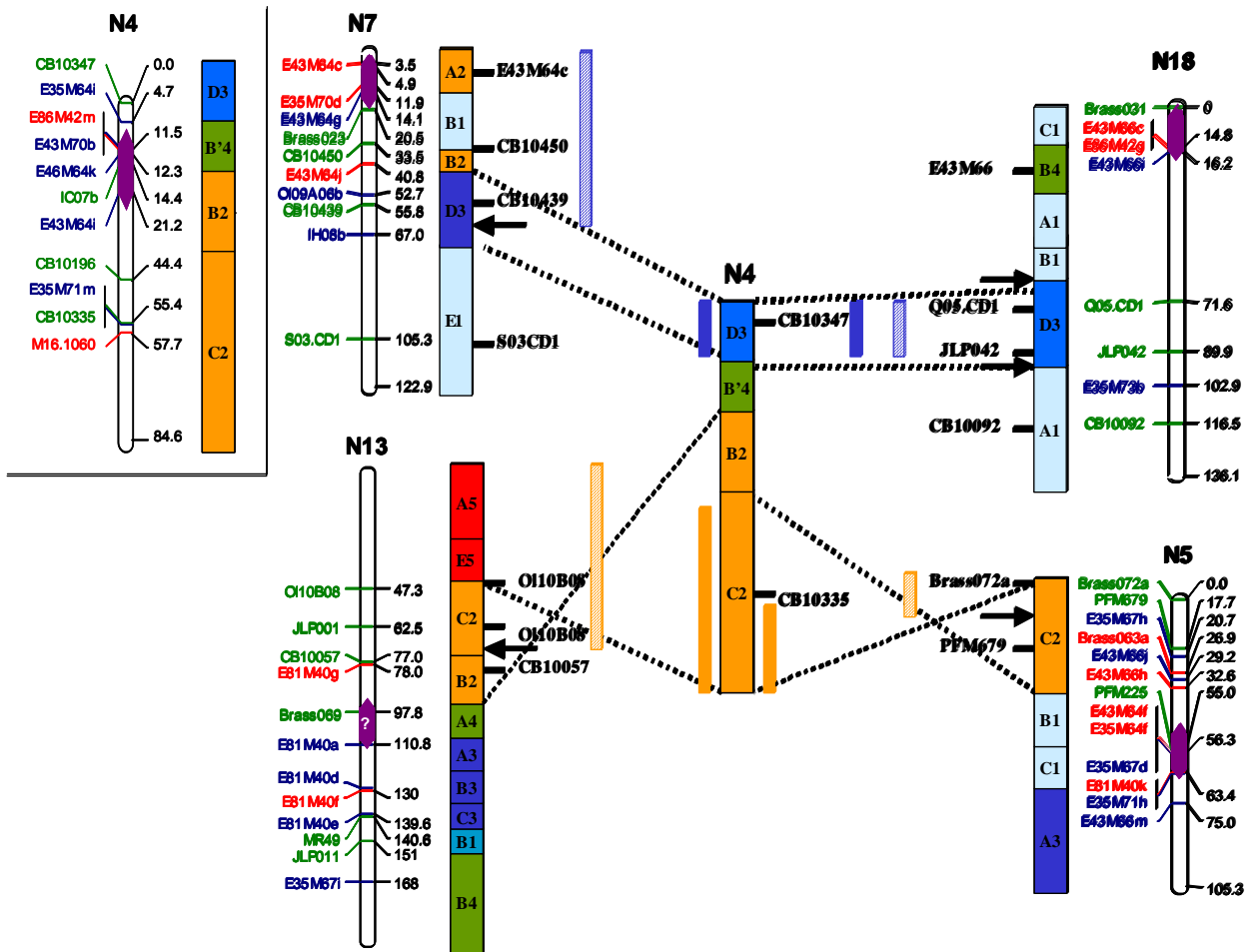


Figure 76 : Recombinaison paralogue de N4 avec des régions paralogue/para-homéologues situées sur N18, N5, et N8. Les différents marqueurs utilisés pour l'analyse sont indiqués sur les groupes de liaison. Les groupes de liaison ont été alignés sur la carte d'*Arabidopsis thaliana* en utilisant les données de cartographie comparée de Parkin *et al.* (2005). Les différents blocs de synténie d'*A. thaliana* ont été positionnés sur les différents groupes de liaison afin de déterminer les relations de paralogie et de para-homéologie entre N4, N18, N5 et N8. On observe une perte et une duplication simultanée du haut de N13 (région C2-A5-E5 ; trait barré en diagonale orange à droite du groupe de liaison) et du bas de N4 (région C2 ; trait orange à gauche du groupe de liaison). De la même façon, la duplication du haut de N5 est associée à la non-transmission de la région paralogue sur le bas de N4.

paralogues. Il est également probable qu'une partie des bivalents allosyndétiques résulte de crossing-overs entre des régions para-homéologues. Comme je l'ai explicité dans le chapitre I.5.2, ces différentes hypothèses peuvent être testées en analysant si la perte et la duplication des allèles du parent haploïde se font de façon simultanée pour des locus paralogues ou para-homéologues.

II.2.2.2 Perte et duplication simultanées de l'allèle du parent haploïde dans des régions paralogues et para-homéologues

Les régions paralogues et para-homéologues ont été identifiées d'après les données de cartographie comparée publiées par Parkin *et al.* (2003, 2005)(cf annexe ;) en alignant la carte de référence du laboratoire avec la carte génétique établie par Parkin *et al.* (2005).

Bien qu'il soit très difficile de couvrir en même temps toutes les régions paralogues et para-homéologues, l'analyse moléculaire que j'ai menée montre qu'il existe plusieurs réarrangements pour lesquels il y a perte et duplication simultanées des allèles du parent haploïde dans des régions paralogues ou para-homéologues. Par exemple, quatre des huit descendants d'haploïdes (*Darmor-bzh* et *Yudal* confondus) présentant une duplication de l'allèle du parent haploïde en bas de N4 (locus CB10335 ou CB10347) mais ne présentant pas de perte dans la région homéologue en bas de N14 (locus OI11D12), ne présentent pas d'allèle du parent haploïde dans une des régions paralogues (sur N5 – locus Brass072a- dans la plante D13H12 et sur N7 – locus E43M64c, CB10450 et CB10439 - dans la plante D8H12) ou para-homéologues (sur N13 – locus OI10B08 et JLP001 -dans la plante D11H6 et sur N18 – locus Q05.CD1 et JLP042- pour la plante Y10H15) de N4 (Figure 76 et Tableau 5). J'ai également pu vérifier, uniquement pour la plante Y10H15, que la non transmission des allèles du parent haploïde en haut de N18 (JLP042-Q05CD1) n'était pas associée à la duplication de sa région homéologue en haut de N9 (CZ0B69186). On peut également observer que la moitié (4/8) des descendants d'haploïdes *Darmor-bzh* qui ont une duplication de l'allèle du parent haploïde en bas de N12 (Na12H09b et/ou PFM519a) mais pas de perte de l'allèle du parent haploïde au locus homéologue en haut de N2 (locus Brass037) ne présentent pas d'allèle *Darmor-bzh* en bas de N19 (Na10D07-CB10288), dans une région paralogue de la région dupliquée sur N12 (Cf annexe Figure 153).

Conformément à ce que j'ai montré dans le cas des régions homéologues, la perte et la duplication simultanées de régions paralogues ou para-homéologues est un argument fort en faveur de la mise en place préalable de crossing-overs entre ces mêmes régions, qui auraient conduit à des translocations non-réciproques. Comme précédemment, cette hypothèse peut être explorée en étudiant comment co-ségrègent les locus dupliqués et ceux appartenant aux groupes de liaison montrant une perte.

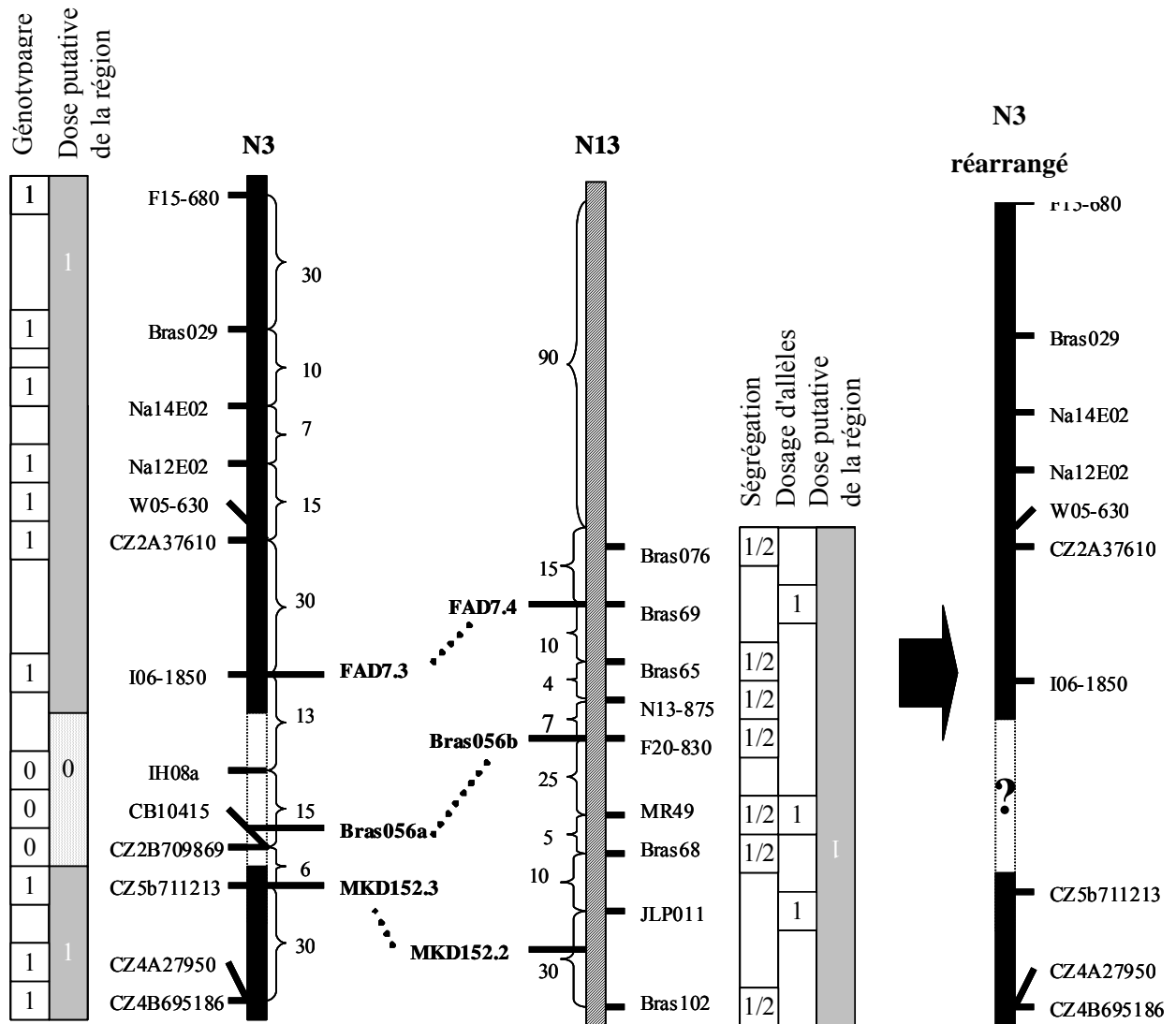


Figure 77 : Caractérisation d'un réarrangement interstitiel porté par Y9H11. L'origine de ce réarrangement est inconnue puisque la région homéologue N13 correspondante à la régions perdue sur N3 n'est pas dupliquée indiquant que ce réarrangement n'est pas un événement de recombinaison homéologue. La position des points de cassure et la taille des fragments perdus et dupliqués (en cM) sont indiqués sur les groupes de liaison parentaux. Les données de génotypage (présent=1; absent=0), le nombre de copies d'allèles HP (noir= 2 copies, gris= 1 copie, pointillés = pas d'allèle HP) et le ratio de ségrégation (par exemple 1:1) sont indiqués. Les traits en pointillés entre les marqueurs PCR multilocus indiquent une relation synténique entre les régions homéologues; les marqueurs en gras à gauche du groupe de liaison DY indique une relation homéologue entre les groupes de liaison DY mais n'ont pas été utilisés dans notre analyse moléculaire.

II.2.2.3 Des translocations non-réciproques entre régions paralogues?

J'ai analysé la descendance en backcross de deux descendants d'haploïdes, Y9H11 et D8H9, chez lesquels la perte des allèles du parent haploïde sur N3 (Y9H11) ou N17 (D8H9) n'était pas associée à la duplication des allèles du parent haploïde aux locus homéologues (sur N13 et N7). Les deux plantes retenues ne font malheureusement pas partie de celles pour lesquelles j'ai détecté des pertes et duplications simultanées de régions paralogues ou para-homéologues, leur choix étant intervenu avant le développement de la technique du dosage d'allèles.

Les plantes Y9H11 et D8H9 ont été rétrocroisées respectivement par *Darmor-bzh* et *Yudal* afin de mieux caractériser les réarrangements (taille et position de la région non-transmise) qu'elles portent et notamment de tester l'hypothèse selon laquelle ces réarrangements résulteraient de recombinaison paralogue ou para-homéologue. Pour ce faire, j'ai d'abord recherché la présence d'éventuelles duplications dans les régions paralogues ou para-homéologues aux régions non-transmises de N3 (Y9H11) et de N17 (D8H9). J'ai alors analysé la co-ségrégation des marqueurs que j'ai trouvé dupliqués avec des marqueurs localisés à proximité du point de cassure de la région non transmise. L'utilisation de 13 marqueurs a permis de montrer que chez Y9H11 la région non-transmise sur N3 est interstitielle et représente entre 28 et 34 cM (12 à 24% du groupe de liaison) selon la position du point de cassure (Figure 77). Nous avons confirmé qu'aucun des neuf locus situés dans la région homéologue n'est dupliqué et estimé le nombre de copies de marqueurs situées dans d'autres régions présentant une homologie intra ou intergénomique avec la région non-transmise. Nous n'avons malheureusement pas pu analyser la ségrégation que de trois des quatre régions paralogues ou para-homéologues à N3 (N5, N1, N11), la région présente sur N15 n'étant pas couverte par des marqueurs polymorphes. Tandis que la ségrégation des marqueurs sur N1 et N11 ne dévie pas significativement du ratio 1:1 indiquant l'absence de duplication, un marqueur de N5 ségrège avec un ratio 3:1 en faveur de l'allèle *Yudal* ce qui est compatible avec la présence d'une duplication de cette région. Cependant, ce marqueur ne co-ségrège pas plus qu'attendu avec le marqueur CZ5b711213, qui est proche du point de cassure de la région non-transmise sur N3. Ceci indique que cette région de N5 a été dupliquée mais qu'elle n'est vraisemblablement pas transloquée sur N13.

De la même façon, l'utilisation de 12 marqueurs a permis de montrer que la région non-transmise dans D8H9 est en position distale sur le bas de N17 et représente entre 119 et 132 cM selon la position du point de cassure (75 à 85% du groupe de liaison N17). La ségrégation des locus situés dans les régions de N3, N6 et N7 qui sont synténiques avec la région portant le point de

cassure de N17 ne dévie pas significativement du ratio 1:1 dans la population en backcross D8H9 x *Yudal*, indiquant l'absence de duplication dans ces régions. Deux régions paralogues sur N2 et N12 n'ont cependant pas été analysées.

L'analyse que nous avons menée sur la descendance en backcross des plantes Y9H11 et D8H9 ne permet donc pas de valider l'hypothèse selon laquelle ces deux descendants d'haploïdes porteraient des translocations non-réciproques résultant d'échanges entre des régions paralogues ou para-homéologues. Nous n'avons toutefois pas pu tester cette hypothèse de façon exhaustive sur l'ensemble des régions identifiées comme paralogues ou para-homéologues aux régions perdues dans le génome du colza en raison de l'absence de marqueurs polymorphes dans certaines d'entre elles. De plus, nous n'avons jamais pu étudier des couples de locus exactement paralogues ou exactement para-homéologues. Il est donc possible que nous n'ayons pas détecté les duplications que nous recherchions.

II.2.2.4 Conclusion

L'ensemble des résultats présentés soutient fortement l'idée selon laquelle des crossing-overs peuvent se former entre des régions paralogues et/ou para-homéologues, et ce bien qu'elles soient plus divergentes que les régions homéologues. Nous avons notamment montré que 22% des bivalents observés en MI de méiose chez les haploïdes *Darmor-bzh* sont autosyndétiques et que la non-transmission des allèles du parent haploïde dans une région donnée pouvait être associée à la duplication des allèles du parent haploïde pour des locus situés dans des régions paralogues ou para-homéologues à la région perdue.

II.2.3 Conclusion

Les résultats présentés dans cette partie amènent à penser que la plupart des remaniements que j'ai détectés dans la descendance des haploïdes de colza résultent de crossing-overs entre des régions dupliquées (homéologues, paralogues, para-homéologues) et que le génotype du parent haploïde n'a aucune influence sur la proportion des remaniements dérivant de crossing-overs homéologues chez les descendants d'haploïdes. Le fait d'avoir détecté ces remaniements dans la descendance des haploïdes montre que les produits des crossing-overs entre les différentes régions dupliquées au sein du génome du colza peuvent être transmis par des gamètes non-réduits de type FDR. Mais il ne renseigne pas directement sur l'existence ou la stringence d'une éventuelle sélection (gamétique ou zygotique) agissant à l'encontre de ces différents remaniements.

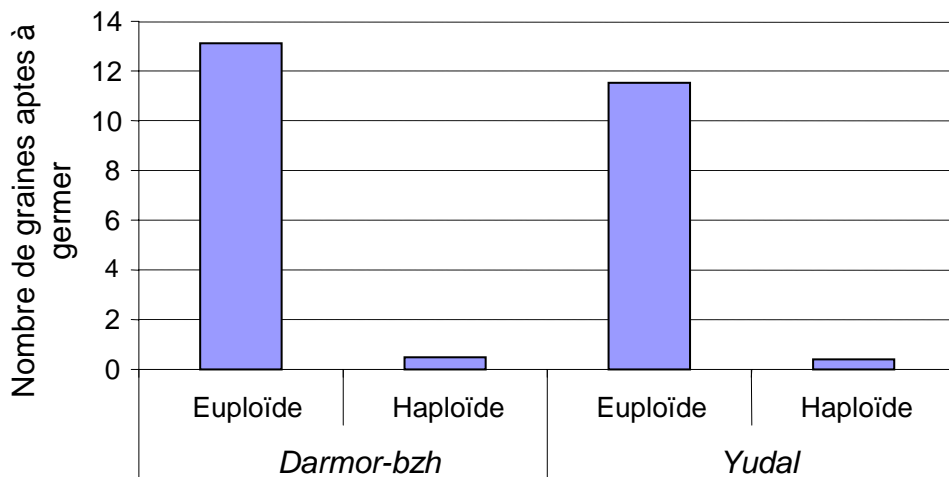


Figure 78 : Comparaison de la production de graines des haploïdes et des euploïdes *Darmor-bzh* et *Yudal*.

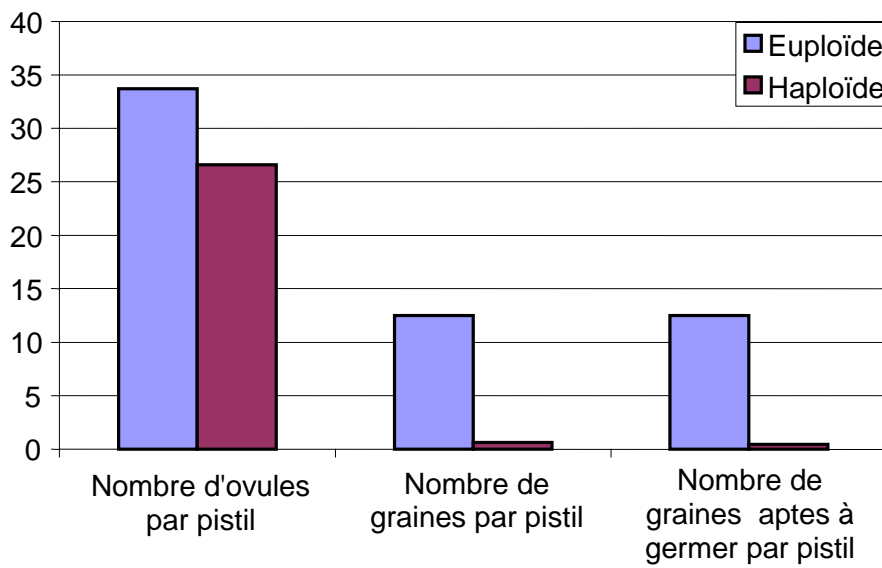


Figure 79 : Réduction de la fertilité femelle des haploïdes comparée à celle des euploïdes pour différentes composantes de la fertilité.

II.3 EXISTE-T-IL UNE SÉLECTION « PURIFICATRICE » CONTRE LES PRODUITS DES CROSSING-OVERS CHEZ LES HAPLOÏDES?

II.3.1 Analyse des fertilités mâle et femelle

II.3.1.1 Analyse de la fertilité femelle

La fertilité femelle est considérablement et significativement réduite chez les haploïdes de colza comparée à celle de plantes euploïdes ($2n=38$) ayant le même génotype. Le nombre de graines aptes à germer obtenues par pistil fécondé est ainsi réduit d'un facteur 30 chez les haploïdes *Darmor-bzh* et *Yudal* comparé aux euploïdes des mêmes variétés (Figure 78).

Afin de déterminer l'étape limitante dans la production de graines viables et fonctionnelles chez les haploïdes, j'ai décomposé la mesure de la fertilité femelle en plusieurs composantes que j'ai analysées successivement: le nombre d'ovules par pistil, le nombre de graines par pistil (taux de nouaison) et le taux de germination. J'ai d'abord observé qu'aucune de ces composantes ne présente de différence significative entre les haploïdes *Darmor-bzh* et *Yudal*: nombre d'ovules par pistil ($t=1,2$; $ddl=22$; $p=25\%$), taux de nouaison ($t=0,97$; $ddl=28$; $p=34\%$) et nombre de graines aptes à germer par pistil fécondé ($t=0,29$; $ddl=13$; $p=72\%$). Les haploïdes *Darmor-bzh* et *Yudal* ont donc été analysés ensembles.

Les nombres d'ovules, de graines formées et de graines aptes à germer obtenues par pistil fécondé sont réduits respectivement de 23%, de 95% et 96% dans les haploïdes comparé aux euploïdes (Figure 79). L'écart considérable observé entre haploïdes et euploïdes pour la fertilité femelle résulte donc principalement de l'incapacité des haploïdes à former des ovules viables et fonctionnels susceptibles de former une graine. Cette étape est responsable de 69% de la réduction de la fertilité femelle des haploïdes par rapport aux euploïdes. Ainsi, tandis que un tiers des ovules forment des graines chez les euploïdes, c'est le cas de seulement 2,5% des ovules chez les haploïdes (soit un coefficient de sélection de 0,93). Parmi ces graines, seules 62% sont aptes à germer contre quasiment 100% chez les euploïdes (soit un coefficient de sélection de 0,48). On peut de même estimer que sur un pistil fécondé, seule une cellule mère de mégaspore sur cent va donner naissance à une plante chez un haploïde contre une sur trois chez les euploïdes. Cette réduction considérable de conversion d'ovules en graines indique que l'immense majorité des méioses femelles aboutit à la dégénérescence ou la mort du gamétophyte.

L'examen des sacs embryonnaires montre qu'il n'y a pas de différence entre les génotypes *Darmor-bzh* et *Yudal*. Deux tiers des sacs embryonnaires sont raccornis ou vides, donc

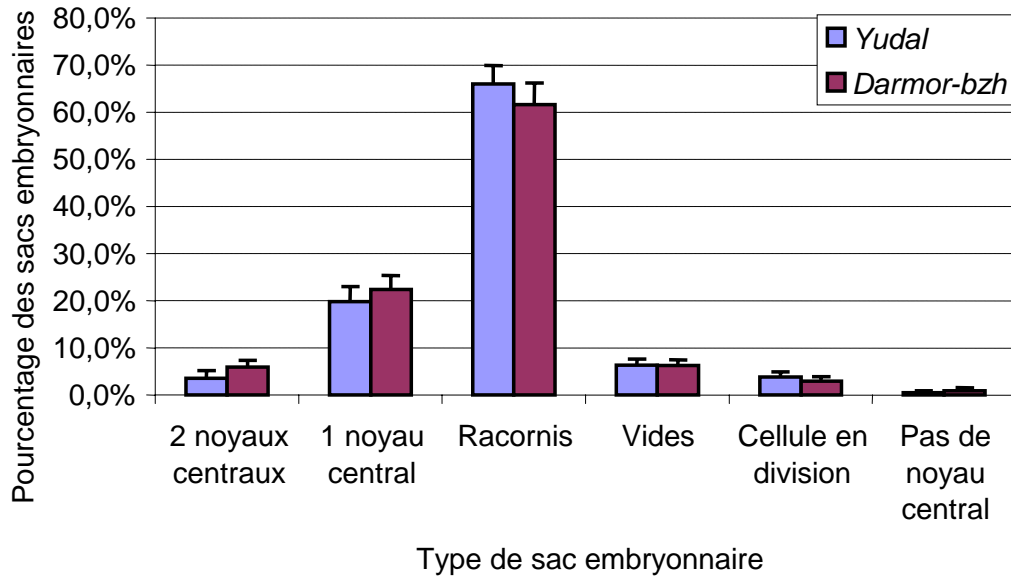


Figure 80 : Types de sacs embryonnaires observés chez les haploïdes *Darmor-bzh* et *Yudal*.

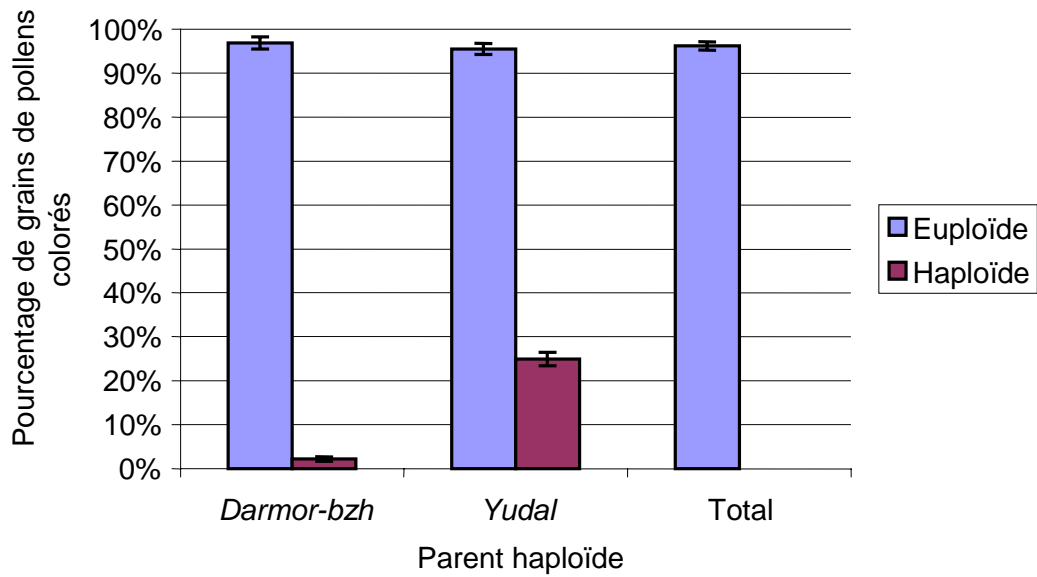


Figure 81 : Comparaison de la fertilité mâle établie par coloration des grains de pollen entre les euploïdes et les haploïdes des variétés *Darmor-bzh* et *Yudal*.

non-fonctionnels, chez les haploïdes produits à partir de ces deux génotypes (Figure 80). Parmi le tiers restant, 20% sont uni-nucléés et seuls 5% des gamétophytes femelles ont le développement attendu avec deux noyaux polaires. Cette fréquence de gamétophytes *a priori* normaux est similaire au pourcentage d'ovules fonctionnels estimé dans la descendance des haploïdes ce qui confirme qu'une très large part de la réduction de la fertilité femelle résulte de la dégénérescence des sacs embryonnaires (75%), et dans une moindre mesure, de la présence de sacs embryonnaires non fonctionnels (20%) conduisant à l'avortement de la graine. On peut estimer que seules 25% des mégaspores formées lors de la méiose sont susceptibles de former un gamétophyte.

II.3.1.2 Analyse de la fertilité mâle

De même que pour la fertilité femelle, la fertilité mâle est considérablement réduite chez les haploïdes comparés aux euploïdes (Figure 81). La réduction de la fertilité mâle semble légèrement plus forte chez les haploïdes de *Darmor-bzh* comparé à ceux de *Yudal* (-95% vs -71%). Cette différence pourrait toutefois n'être que d'ordre expérimental car la mesure de la fertilité mâle est très sensible aux variations environnementales (qui n'ont pas été contrôlées ici). De plus, rien n'indique que les grains de pollen colorés par le carmin sont viables et fonctionnels. Cette très forte réduction de la fertilité mâle par rapport aux euploïdes illustre le fait qu'il existe, de la même façon que du côté femelle, un grand nombre de gamètes non viables et non fonctionnels du côté mâle.

II.3.1.3 Bilan

Les résultats présentés ici montrent que la fertilité des haploïdes est considérablement réduite par rapport à celle des euploïdes en raison d'une très forte sélection gamétique purificatrice agissant au moment de la formation des gamètes et de la graine. Cette réduction résulte principalement de la plus faible capacité qu'ont les haploïdes à former des mégaspores et des microspores viables et fonctionnelles (seules 1% des mégaspores sont viables chez les haploïdes). Le fait que l'immense majorité des descendants d'haploïdes dérivent de gamètes non-réduits de type FDR (n=19) amène à penser que la sélection porte d'abord sur le type de gamète et sur leur constitution générale (n=19 vs n≠19). La question posée reste de savoir si une partie des gamètes de type FDR n'est pas contre-sélectionnée, du fait de la présence de remaniements structuraux délétères.

II.3.2 Quelle est la stringence de la sélection gamétique à l'encontre des produits des crossing-over?

La résolution des observations cytogénétiques ne permet pas de distinguer si un ou plusieurs chiasmats sont présents sur les bivalents, et par conséquent d'inférer le nombre de crossing-overs. Ainsi, à partir des observations cytogénétiques, seul le nombre moyen de chromosomes recombinés par individu et la distribution des individus en fonction du nombre de chromosomes recombinés peut être inférée. Pour évaluer s'il y a la sélection à l'encontre des produits de crossing-over dans les descendants d'haploïdes *Darmor-bzh* et *Yudal*, j'ai comparé la distribution observée des descendants d'haploïdes en fonction du nombre de chromosomes réarrangés qu'ils portent à la distribution attendue d'après les observations cytogénétiques sur les haploïdes de colza en métaphase I de méiose. Ainsi, si tous les réarrangements dérivent de crossing-overs, on s'attend à ce que les distributions observée et attendue soient identiques s'il n'y a pas de sélection contre les produits des crossing-over.

Afin de pouvoir comparer les données cytogénétiques et moléculaires, j'ai dans un premier temps déterminé pour chaque descendant d'haploïde le nombre de groupes de liaison réarrangés via l'analyse de la non-transmission de l'allèle du parent haploïde pour l'ensemble des locus génotypés (qui ne couvrent qu'une partie du génome). J'ai considéré qu'un groupe de liaison est réarrangé si l'allèle du parent haploïde n'a pas été transmis pour au moins un des locus génotypés sur ce groupe de liaison. Puis, dans un second temps, j'ai extrapolé à partir de ces observations le nombre de chromosomes réarrangés, et leur distribution, dans les descendants d'haploïdes si on couvrait la totalité du génome une couverture totale du génome.

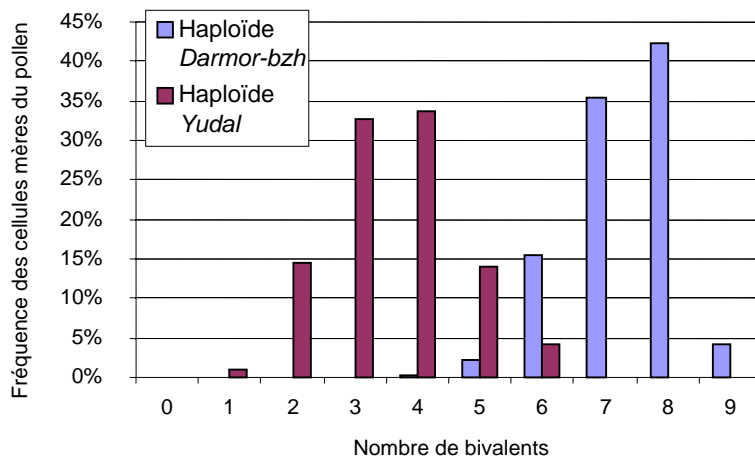
II.3.2.1 Modélisation du nombre de chromosome réarrangé détectable attendu dans les descendants d'haploïdes d'après les observations cytogénétiques

J'ai recherché la loi de distribution attendue du nombre de chromosomes recombinés transmis par des gamètes non-réduits de type FDR et détectables via l'analyse de la non-transmission de l'allèle du parent haploïde dans les descendants d'haploïde en utilisant la distribution du nombre de bivalents par cellule mère du pollen en métaphase I de méiose chez les haploïdes.

Les observations cytogénétiques ont été réalisées sur 263 cellules mère du pollen (CMP) d'haploïdes *Darmor-bzh* et 77 CMPs d'haploïdes *Yudal* en métaphase I. Les bivalents se distribuent

Tableau 8 : Comportement méiotique des haploïdes de *Darmor-bzh* et de *Yudal* en métaphase I de méiose. I = univalent, II = bivalent, III = trivalent, IV = quadrivalent.

Parent haploïde	Nombre Total de cellules		I	II	III	IV	Total
Darmor bzh	874	Nombre	3693	6184	63	89	10029
		Comportement méiotique moyen	4,23	7,08	0,07	0,10	11,47
		Nombre de chromosomes	3693	12368	189	356	16606
		Pourcentage de chromosome impliqués	22	75	1	2	100
Yudal	317	Nombre	3806	1076	19	2	4903
		Comportement méiotique moyen	12,01	3,39	0,06	0,01	15,47
		Nombre de chromosomes impliqués	3693	2152	57	8	5910
		Pourcentage de chromosome impliqués	63	36	1	0	100



Loi de distribution des chromosomes réarrangés connaissant la distribution des bivalents dans les PMC des parents haploïdes

Hypothèses :

1. Pas de sélection contre les produits de crossing-over
2. Gamètes non-réduits de type FDR
3. Pas de multivalents

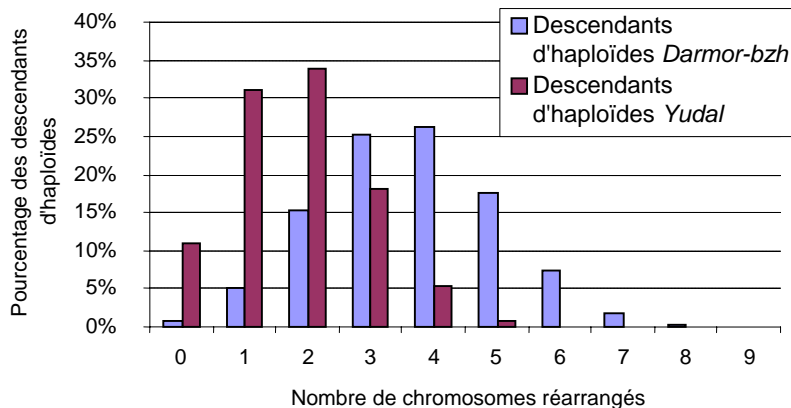


Figure 82 : Distribution du nombre de chromosomes réarrangés détectables connaissant la distribution des chromosomes appariés en métaphase I de méiose.

autour d'une valeur moyenne de 6,7 bivalents chez les haploïdes *Darmor-bzh* et 3,25 chez les haploïdes *Yudal*. Les bivalents représentent plus de 85% des chromosomes appariés en métaphase I chez les haploïdes, le reste étant composé par les multivalents (quadrivalents et trivalents) (Tableau 8). Le comportement méiotique moyen des haploïdes a été établi à partir de ces observations par Jenczewski et *al.* (2003) (Tableau 8).

Sous l'hypothèse que les descendants d'haploïdes dérivent de gamètes de type FDR et qu'il n'y pas de sélection à l'encontre des produits de crossing-over, la distribution attendue du nombre de chromosomes recombinés dans la descendance des haploïdes est uniquement fonction de la distribution du nombre de bivalents en MI observée chez ces mêmes haploïdes. En considérant que la migration des chromatides se fait au hasard pour chaque paire de chromosomes en MI, la probabilité de détecter un chromosome réarrangé dans la descendance est de $\frac{1}{2}$ par bivalent (Figure 57). On peut donc estimer la probabilité d'avoir X groupes de liaison réarrangés dans un individu en multipliant la fréquence de cellules mères du pollen présentant Y bivalents par la probabilité de détecter X groupes de liaison recombinés sachant qu'il y a Y bivalents : $P(X) = P(Y) \times P(X/Y) = P(Y) \times \frac{1}{2}Y$. On obtient ainsi la loi de distribution du nombre de chromosomes recombinés attendu par individu dans les descendants d'haploïdes et on peut ainsi estimer le nombre moyen de chromosomes recombinés par individu en sommant $\sum (P(X) \times X)$ (Figure 82). On obtient ainsi des valeurs attendues de 3,6 et 1,8 chromosomes recombinés en moyenne par individu dans les descendants d'haploïdes *Darmor-bzh* et *Yudal*. Ces plantes ayant été prélevées au hasard au regard du nombre de réarrangements qu'elles portent, on s'attend à ce que le nombre d'individus portant 0, 1, 2, etc. remaniements suive une loi de Poisson de paramètre 3,6 (*i.e.* le nombre moyen) pour les descendants d'haploïdes *Darmor-bzh* et 1,8 pour les descendants d'haploïdes *Yudal*.

Ces valeurs sous-estiment légèrement le nombre moyen de chromosomes recombinés étant donné qu'elles ne tiennent pas compte de la présence de multivalents, qui sont pourtant observés dans 15% des cellules mères du pollen. Ces multivalents (quadrivalents et trivalents) produisent en effet des réarrangements structuraux dont la transmission est relativement complexe à modéliser (Figure 73). Etant donné que moins de 10% des chromosomes appariés sont impliqués dans des multivalents, on peut toutefois penser que la sous-estimation due à la non prise en compte des multivalents demeure relativement faible et qu'elle n'excède pas le nombre de chromosomes impliqués dans ces multivalents, soit 10%.

On s'attendrait donc à observer en moyenne entre 3,6 et 4 chromosomes réarrangés par individu dans les descendants d'haploïdes *Darmor-bzh* et entre 1,8 et 2 chromosomes réarrangés par individu dans les descendants d'haploïdes *Yudal*.

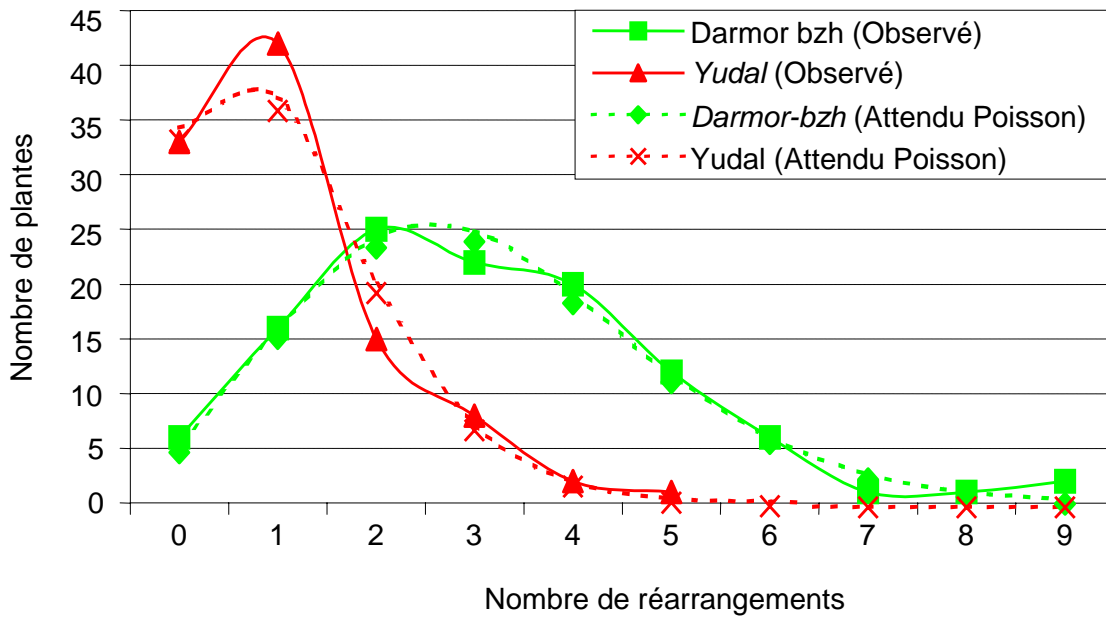


Figure 83 : Comparaison des distributions observées et attendues des différents individus en fonction du nombre de remaniements qu'ils portent. La distribution attendue des individus a été obtenue en considérant que celle-ci suivait une loi de Poisson de paramètre le nombre moyen de réarrangements par individu ($\chi^2=0,008$; ddl=6 ; p=100%) et *Yudal* ($\chi^2=0,05$; ddl=3 ; p=100%).

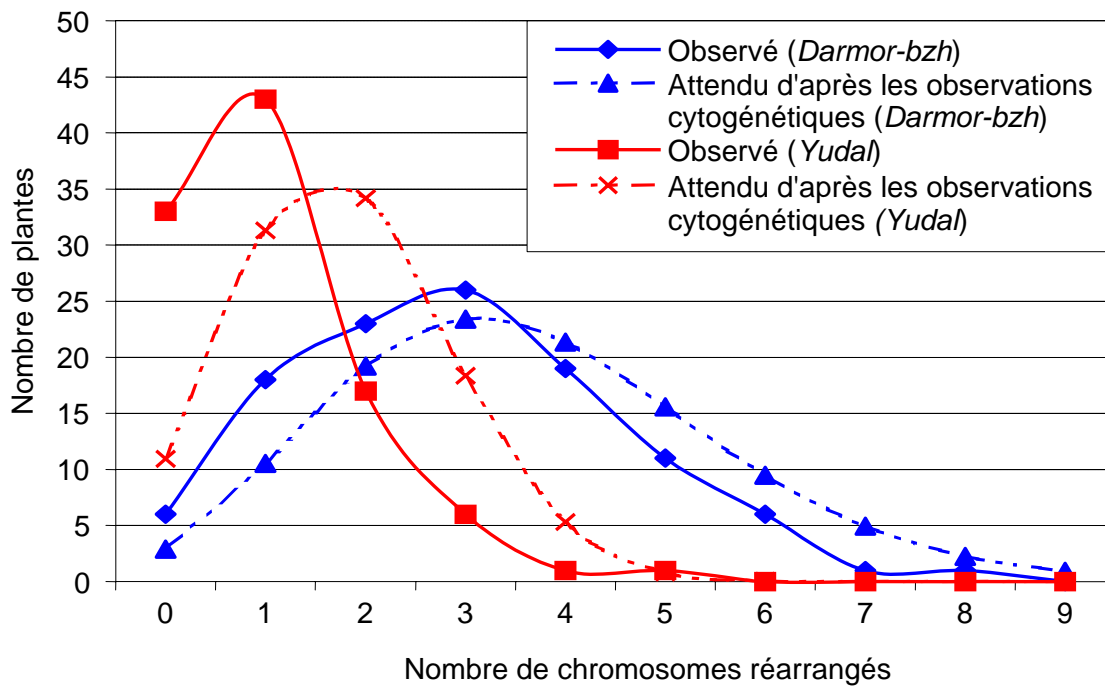


Figure 84 : Comparaison des distributions observées et attendues d'après des observations cytogénétiques des différents individus en fonction du nombre de chromosomes réarrangés qu'ils portent.

II.3.2.2 Distribution observée du nombre de chromosomes réarrangés dans les descendants d'haploïdes

Afin de déterminer le nombre et la distribution des chromosomes réarrangés observés dans les descendants des haploïdes *Darmor-bzh* et *Yudal*, j'ai utilisé les mêmes données que celles décrites au paragraphe II.2.1.1. En bref, j'ai analysé la transmission des allèles du parent haploïde pour 149 et 144 locus génotypés sur respectivement 101 descendants d'haploïdes *Darmor-bzh* et 111 descendants d'haploïdes *Yudal*. Ces locus permettent de couvrir globalement 73% de la carte de référence du génome du colza sans différence notable entre les génomes A et C. Cette valeur moyenne cache néanmoins des disparités entre groupes de liaison. Ainsi, si on peut estimer que les groupes de liaison N17 et N16 sont très bien couverts, seuls 8% du groupe de liaison N9 et 2% du groupe de liaison N15 sont couverts respectivement dans les descendants d'haploïdes *Darmor-bzh* et *Yudal*. Excepté pour les groupes de liaison N10 et N15, le pourcentage de couverture des différents groupes de liaison varie de façon identique dans les descendants d'haploïdes *Darmor-bzh* et *Yudal*.

Le nombre de groupes de liaison réarrangés observés est compris entre 0 et 8 dans les descendants d'haploïdes *Darmor-bzh* et entre 0 et 5 dans les descendants d'haploïdes *Yudal*. Dans les deux descendance, la distribution du nombre de chromosomes réarrangés suit une loi de Poisson ($\chi^2=0,87$; ddl=6 ; $p>90\%$ pour les haploïdes *Darmor-bzh* et $\chi^2=1,08$; ddl=3 ; $p>78\%$ pour les haploïdes *Yudal*) dont j'ai pu estimer le paramètre (*i.e.* nombre moyen de chromosomes réarrangés dans chaque descendance) : 2,9 et 1 chromosomes réarrangés par descendant d'haploïdes *Darmor-bzh* et *Yudal*, respectivement (Figure 83). L'absence de déviation par rapport à une loi de Poisson montre qu'il n'existe pas de forte sélection à l'encontre ou en faveur de certaines classes, et notamment à l'encontre des individus présentant un grand nombre de groupes de liaison réarrangés dans les descendants d'haploïdes *Darmor-bzh* et *Yudal*.

On constate cependant que le nombre moyen de chromosomes réarrangés observé par individu est inférieur à celui attendu d'après les observations cytogénétiques : 2,9 observé vs 3,6 attendu dans les descendants d'haploïdes *Darmor-bzh* et 1 observé vs 1,8 attendu dans les descendants d'haploïdes *Yudal*. De la même façon, les distributions attendues et observées du nombre de chromosomes réarrangés diffèrent très significativement aussi bien dans les descendants d'haploïdes *Darmor-bzh* ($\chi^2=14$; ddl=6 ; $p<5\%$) que *Yudal* ($\chi^2=34$; ddl=5 ; $p<1\%$) (Figure 84). On peut enfin noter que l'écart entre les distributions observées et attendues d'après les observations cytogénétiques est beaucoup plus important dans les descendants d'haploïdes *Yudal*

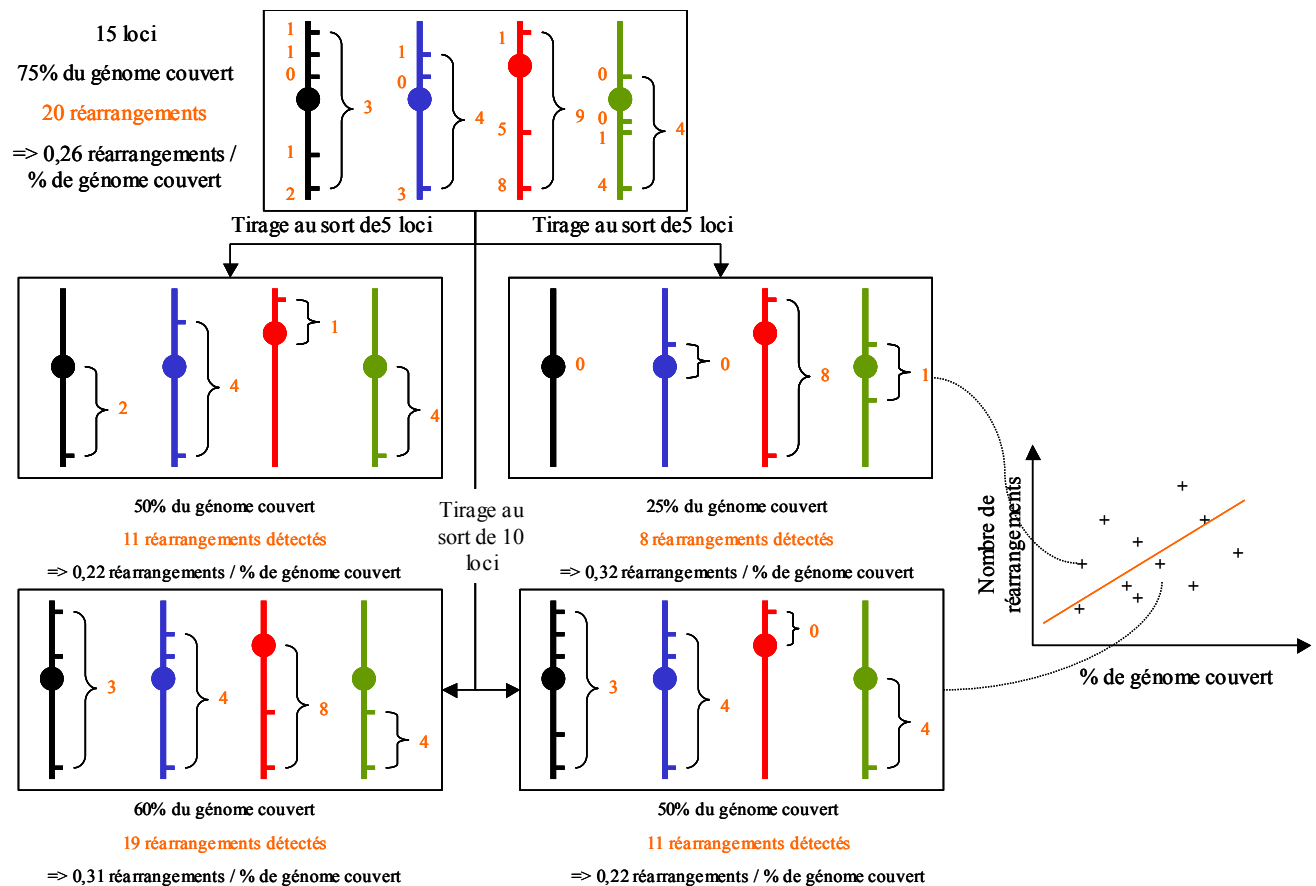


Figure 85 : Représentation schématique de la procédure de ré-échantillonnage utilisée pour extrapoler le nombre de chromosomes réarrangés « attendu » si la totalité du génome était couverte. Sur le premier schéma, 4 groupes de liaison (GL) portent 15 locus couvrant 75% du génome ; ces locus ont permis de détecter 20 remaniements (crochet à droite des GLs) sur l'ensemble des descendants d'haploïdes. Les deux figures suivantes (en haut) représentent deux tirages avec remise de 5 locus sur les 20. Sur celle de gauche, les locus échantillonnés couvrent 50% du génome et permettent de détecter 11 remaniements sur les 20. Sur celle de droite, les locus tirés au sort couvrent 25% du génome et 8 remaniements sont détectés. Les deux figures du bas représentent deux tirages avec remise de 10 locus sur les 20, qui permettent de détecter respectivement 19 et 11 remaniements sur les 20. La figure à l'extrême droite montre la relation que l'on peut en tirer entre le nombre de remaniements et le pourcentage de génome couvert. La couverture du génome, basée sur les distances génétiques entre locus échantillonnés, a été calculée de la façon suivante : lorsqu'un seul locus est tiré au sort sur un GL, la région comprise entre ce locus et le centromère est considérée comme couverte ; lorsque deux locus sont échantillonnés sur un GL de part et d'autre du centromère, la région comprise entre les deux locus est considérée comme de couverte ; lorsqu'ils sont situés sur le même bras chromosomique, la région comprise entre le locus le plus distal et le centromère est considérée comme couverte ; la même règle s'applique lorsque plus de deux locus sont tirés au sort sur un GL, les deux locus les plus distaux étant alors les seuls pris en compte.

Tableau 9 : Relation entre couverture du génome et nombre de réarrangements détectés chez les descendants des haploïdes *Darmor-bzh* et *Yudal*.

	Source de variation	Somme des carrés des écarts	Degrés de liberté	Carré moyen	F value	p
<i>Darmor-bzh</i>	Couverture du génome	4187577 (85%)	1	4187577	6636.8	<0,01%
	Résiduelle (jeu de locus)	717083	1137	631		
<i>Yudal</i>	Couverture du génome	444937 (82%)	1	444937	5199	<0,01%
	Résiduelle (jeu de locus)	95927	1121	86		

que dans les descendants d'haploïdes *Darmor-bzh*.

Il est probable qu'une partie des différences mesurées entre les valeurs attendues et observées du nombre moyen de chromosomes réarrangés est due au fait que les marqueurs utilisés pour l'analyse moléculaire ne couvrent pas la totalité du génome (et notamment certaines régions télomériques ou certains groupes de liaison). J'ai donc essayé d'extrapoler le nombre moyen de chromosomes réarrangés par individu pour la totalité du génome dans les descendants d'haploïdes.

II.3.2.3 Extrapolation de la distribution et du nombre moyen de chromosomes réarrangés par individu dans les descendants d'haploïdes pour une couverture totale du génome

Avec mon analyse moléculaire, j'ai détecté respectivement 55% (1 observé vs 1,8 attendu) et 80% (2,9 observé vs 3,6 attendu) des réarrangements attendus dans la descendance des haploïdes *Yudal* et *Darmor-bzh*, alors que les marqueurs utilisés couvrent ~75% du génome dans ces deux descendance.

La façon la plus simple d'extrapoler le nombre moyen de chromosomes réarrangés par individu pour la totalité du génome est de considérer que le nombre de réarrangements détectés est proportionnel à la part du génome couverte. Sous cette hypothèse, je devrais donc détecter 1,4 et 4 chromosomes réarrangés par individu dans la descendance des haploïdes de *Yudal* et de *Darmor-bzh* respectivement, si j'utilisais des marqueurs couvrant l'intégralité du génome.

Une seconde façon de procéder est d'estimer la relation qui existe entre le nombre de réarrangements détectés et la part du génome couverte, puis d'extrapoler les valeurs attendues si l'on couvrait l'intégralité du génome. J'ai ainsi procédé au tirage aléatoire de 1500 jeux de locus représentant entre 5 et 80% du total des locus génotypés dans les descendants des haploïdes *Darmor-bzh* et *Yudal*, et calculé, pour chaque tirage, la part du génome couvert et le nombre de chromosomes réarrangés (Figure 85). Pour un pourcentage de locus donné (5%, 10%, 15%,...,75%), 100 échantillons ont été considérés afin de modéliser l'effet de l'hétérogénéité de la distribution des crossing-overs dans le génome sur le nombre de groupes de liaison réarrangés (Figure 85).

On observe qu'il existe une corrélation positive extrêmement forte et significative entre le pourcentage de génome couvert et le nombre de chromosomes réarrangés, que ce soit dans les descendants d'haploïdes *Darmor-bzh* ($R^2 = 0,91$; $p < 0,1\%$) et *Yudal* ($R^2 = 0,82$; $p < 0,1\%$). Cette relation apparaît relativement linéaire et on peut estimer que les différences de couverture du génome expliquent de 80% à 85% de la variabilité du nombre de chromosomes réarrangés dans les

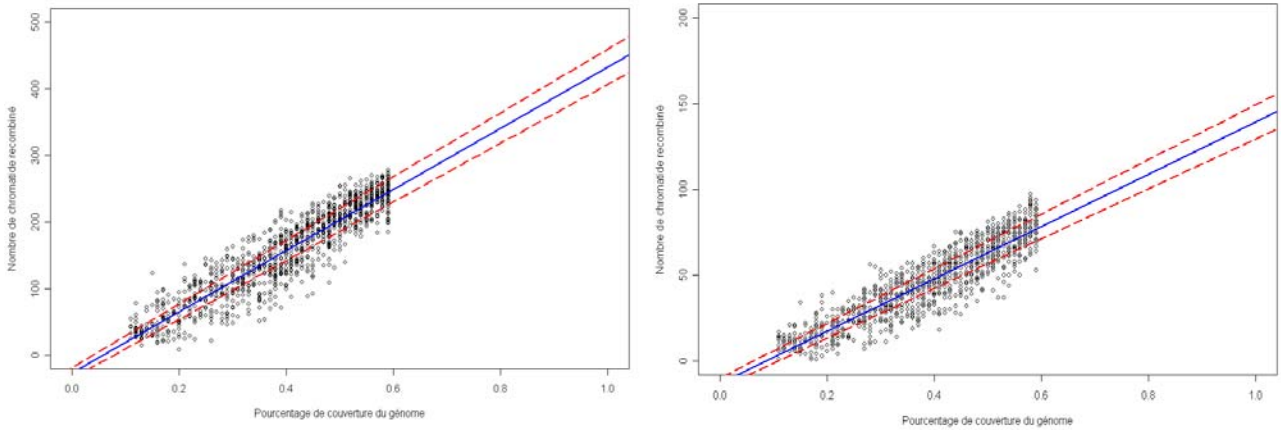


Figure 86 : Extrapolation du nombre de chromosomes réarrangés en fonction du pourcentage de génome couvert chez les descendants des haploïdes *Darmor-bzh* et *Yudal*.

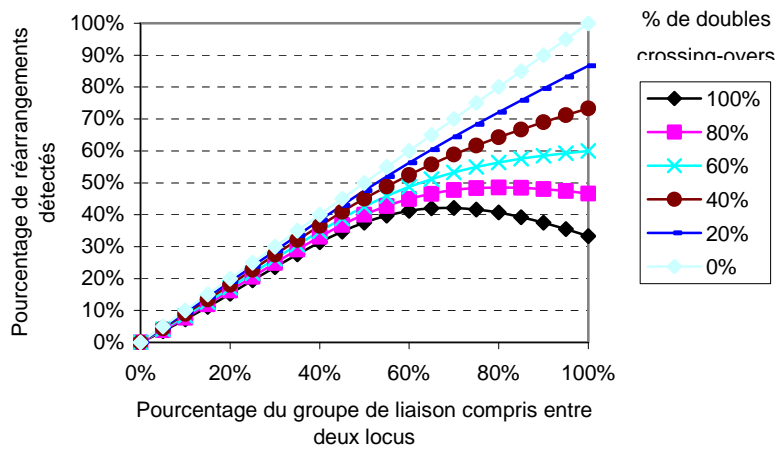


Figure 87 : Relation entre le pourcentage de doubles crossing-over et la détection des translocations non-réciproques.

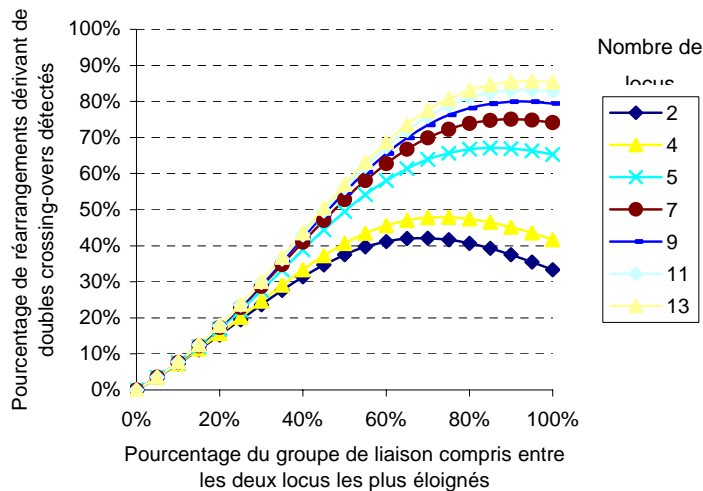


Figure 88 : Relation entre la densité de locus et la détection des translocations non-réciproques interstitielles.

descendants d'haploïdes *Yudal* et *Darmor-bzh* (Tableau 9). J'ai utilisé les résultats de ces régressions linéaires pour extrapoler, avec un intervalle de confiance de 99,99%, le nombre moyen de chromosomes réarrangés que l'on détecterait par individu si l'on couvrait 100% du génome (Figure 86). J'ai ainsi pu estimer que le nombre de chromosomes réarrangés par individu s'établit entre 3,68 et 4,10 dans les descendants d'haploïdes *Darmor-bzh* et entre 1,29 et 1,46 dans les descendants d'haploïdes *Yudal*. Ces valeurs ne sont pas, ou peu, différentes des valeurs attendues compte tenu des observations cytologiques.

Il est toutefois important de préciser que la pertinence et la précision de ces extrapolations dépendent d'un certain nombre d'hypothèses sous-jacentes et notamment du fait que la relation entre le pourcentage de couverture du génome et le nombre de chromosomes réarrangés est linéaire et le demeure au delà de la zone pour laquelle je disposais de données expérimentales. Il apparaît clairement que ces conditions ne sont pas nécessairement respectées mais que cela affecte relativement peu la fiabilité et la précision de l'extrapolation.

Tout d'abord, nous verrons dans la suite de ce manuscrit que la distribution des réarrangements structuraux n'est pas homogène dans le génome. Je montrerai par exemple au §III.5.1 que la fréquence de réarrangements détectés augmente globalement avec la distance au centromère. Dès lors, la probabilité de détecter un réarrangement structural ne dépend plus uniquement de la taille de l'intervalle considéré (pourcentage de génome ouvert) mais aussi de sa position vis-à-vis du centromère. Ainsi on sous-estimera d'autant plus fortement le nombre de réarrangements lors des procédures de ré-échantillonnage que les locus échantillonnés couvriront un intervalle proche du centromère.

Ensuite, la probabilité de détecter un réarrangement ne croît plus de façon linéaire avec la taille de l'intervalle couvert lorsqu'il y a des double crossing-overs (Figure 87). Or, comme on le verra au paragraphe §III.2.3, les réarrangements dérivant de doubles crossing-overs représentent près de 24% des événements que j'ai détectés. On peut toutefois noter que l'accroissement de la densité en marqueurs entre les deux locus les plus distaux réduit fortement la part des réarrangements interstitiels (dérivant de double crossing-overs) non détectés (Figure 88) et rapproche la relation entre pourcentage de génome couvert et nombre de chromosomes réarrangés d'une relation linéaire. Cet effet correctif est d'autant plus fort que la densité de locus est élevée.

Enfin, il existe bien sûr de nombreuses autres sources d'hétérogénéité, beaucoup plus difficiles à contrôler et à modéliser, qui expliquent certainement pourquoi on observe, pour un pourcentage de couverture donné, une variabilité importante du nombre de chromosomes réarrangés (Figure 86).

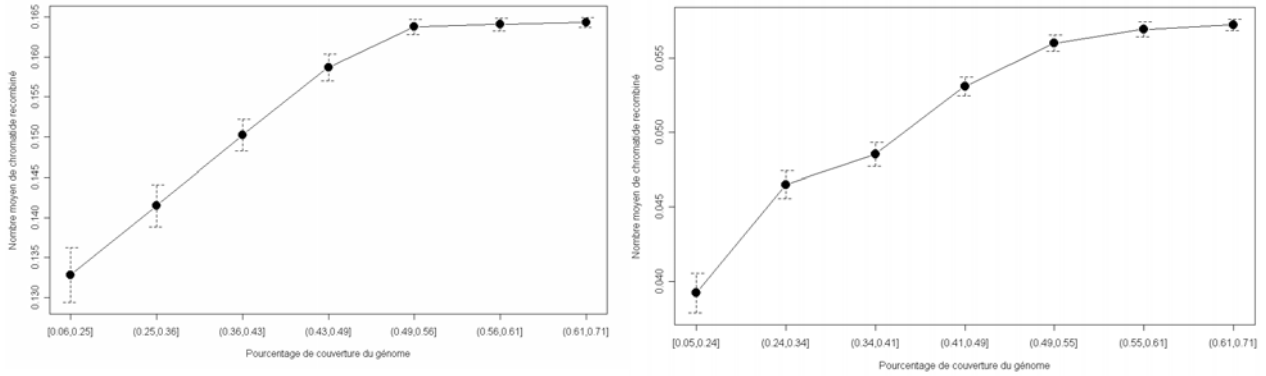


Figure 89 : Evolution de la relation entre la couverture du génome et le nombre de moyen de chromosomes réarrangés par pourcent de génome couvert chez les descendants des haploïdes *Darmor-bzh* et *Yudal*.

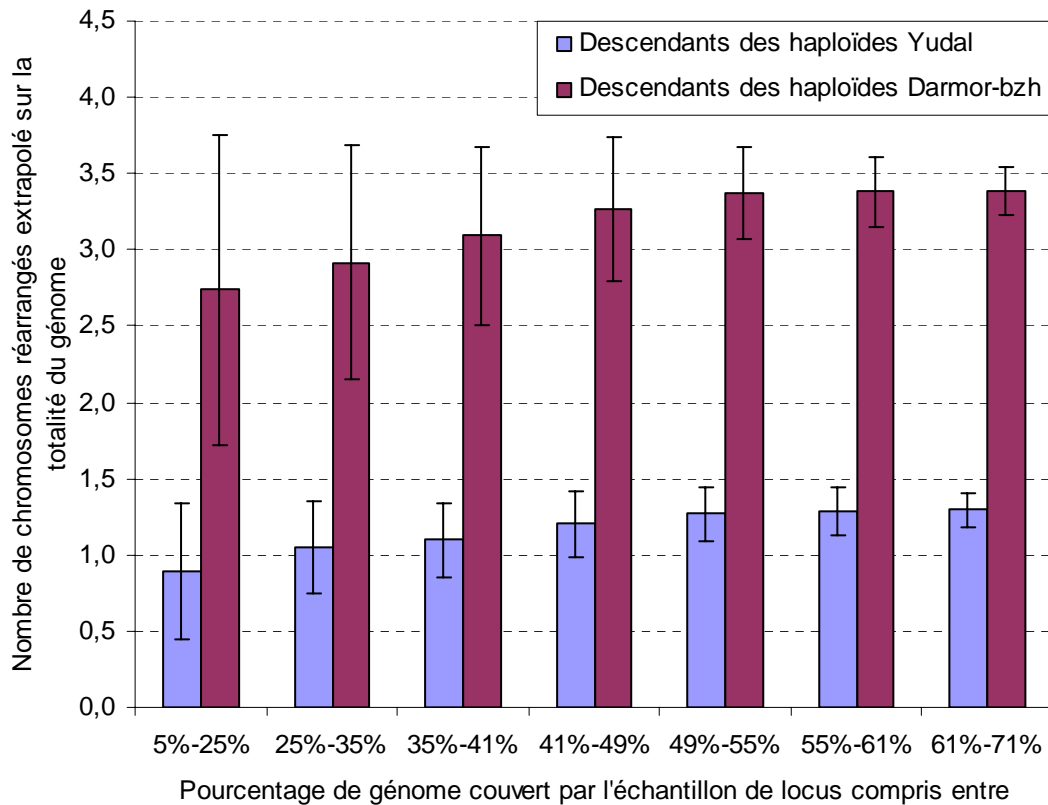


Figure 90 : Extrapolation du nombre moyen de chromosomes réarrangés par plante attendu sur la totalité du génome à partir du nombre de chromosomes réarrangés observé dans des échantillons de locus couvrant des pourcentages variables du génome. Les échantillons de locus ont été obtenus en tirant au hasard un nombre variable de locus parmi ceux génotypés. Les échantillons ont été classés puis regroupés en 7 classes différentes selon le pourcentage de génome couvert dans l'échantillon de façon à ce que toutes les classes aient un nombre d'échantillons identiques. Pour chacune de ces classes, la moyenne (barres) et l'écart type (traits) du nombre de chromosomes réarrangés par individu extrapolé sur la totalité du génome ont été calculés.

Afin de préciser l'effet de ces différentes sources d'erreur sur la fiabilité de mon extrapolation et éventuellement le corriger, j'ai examiné plus précisément la relation entre le pourcentage de génome couvert et le nombre de chromosomes réarrangés. Comme attendu, on constate que cette relation n'est pas totalement linéaire. En effet, il existe une corrélation positive et significative entre le nombre moyen de chromosomes réarrangés pour 100 cM (pente de la droite de régression) et le pourcentage du génome couvert ($R^2 = 0,12$; $p < 0,01\%$ dans les descendants d'haploïde *Darmor-bzh*; $R^2 = 0,22$; $p < 0,01\%$ dans les descendants d'haploïdes *Yudal*). Ainsi, le nombre moyen de chromosomes réarrangés détectés par pourcent de génome couvert (pente de la droite de régression) augmente entre 10 et 55% puis se stabilise (Figure 89). Autrement dit, il est probable que l'on sous-estime le nombre de chromosomes réarrangés par pourcent de génome couvert quand on échantillonne une faible proportion de locus, ce qui biaise la pente de la droite de régression et par conséquent l'extrapolation (Figure 90). Cependant, si on extrapole le nombre de chromosomes réarrangés par individu pour différents pourcentages de génome couvert: (i) la valeur extrapolée du nombre de chromosomes réarrangés sur la totalité du génome varie peu, indiquant que la relation est quasi-linéaire et que les différentes sources d'erreur affectent peu l'extrapolation ; (ii) on ne dépasse pas 3,6 dans les descendants d'haploïdes *Darmor-bzh* et 1,3 dans les descendants d'haploïdes *Yudal* soit le bas de la fourchette fournie par l'extrapolation complète. Le nombre moyen de chromosomes réarrangés par individu extrapolé pour la totalité du génome à partir de la droite de régression est donc vraisemblablement surestimé dans la descendance des haploïdes *Darmor-bzh* et plus encore dans celle des haploïdes *Yudal* (Figure 90).

Par ailleurs, la variabilité du nombre de chromosomes réarrangés par 100 cM de génome couvert (écart-type) diminue fortement lorsque le pourcentage de génome couvert augmente. Ceci montre que plus le pourcentage de génome couvert augmente, moins notre extrapolation est sensible aux différentes sources d'hétérogénéité de distribution des réarrangements dans le génome, et par conséquent plus celle-ci est précise (Figure 90).

En conclusion, l'extrapolation du nombre de chromosomes réarrangés sur la totalité du génome obtenue par la procédure de ré-échantillonnage est fiable et précise, l'erreur n'excédant pas *a priori* 5% pour les pourcentages de génome couvert supérieur à 40%. Par ailleurs, le nombre de chromosomes réarrangés pour la totalité du génome est situé dans le bas de la fourchette fournie par droite de régression linéaire soit 3,6 chez les descendants d'haploïdes *Darmor-bzh* et 1,3 chez les descendants d'haploïdes *Yudal*.

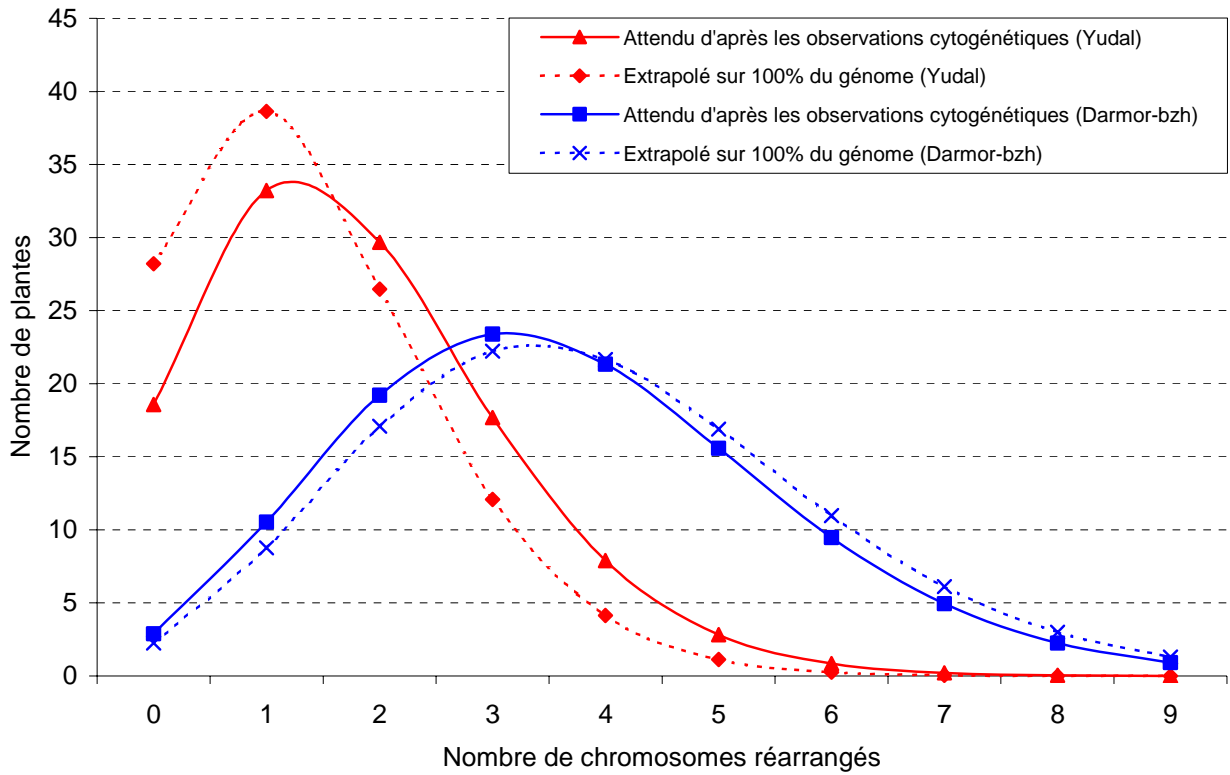


Figure 91 : Distribution observée et attendue du nombre de chromosomes réarrangés d'après les observations cytogénétiques chez les descendants d'haploïdes *Darmor-bzh* et *Yudal*.

II.3.2.4 La sélection est faible chez les haploïdes de colza

Il ressort de tout ce qui précède que l'on attend en moyenne de 3,6 à 4 chromosomes réarrangés par individu dans les descendants d'haploïdes *Darmor-bzh* et de 1,8 à 2 chromosomes réarrangés par individu dans les descendants d'haploïdes *Yudal* alors que l'on devrait en observer, si les marqueurs utilisés couvraient l'intégralité du génome, de 3,6 à 4 dans les descendants d'haploïdes *Darmor-bzh* et de 1,3 à 1,5 dans les descendants d'haploïdes *Yudal*. Les mêmes tendances ressortent de la comparaison des distributions attendues et extrapolées du nombre moyen de chromosomes réarrangés par individu (Figure 91). Il ne semble donc pas exister de forte sélection à l'encontre des réarrangements structuraux générés au cours de la méiose des haploïdes *Darmor-bzh* (coefficient de sélection gamétique estimé entre 0 et 0,2). Il semble qu'il y ait une légère contre sélection portant des chromosomes réarrangés au cours de la méiose des haploïdes *Yudal* (coefficient de sélection gamétique estimé entre 0,1 et 0,25). Les réarrangements structuraux qui surviennent au cours de la méiose des haploïdes de colza ne semblent donc pas ou peu délétères. Je reviendrai plus en détail dans la suite du manuscrit sur l'ampleur des différences dans la nature, la taille ou la position des réarrangements entre les descendants des haploïdes *Darmor-bzh* et *Yudal*.

II.4 CONCLUSION

J'ai montré dans cette partie que :

1. Les gamètes fonctionnels produits par un haploïde de colza sont très majoritairement des gamètes non-réduits de type FDR,
2. Ces gamètes transmettent quasiment l'intégralité des réarrangements structuraux générés au cours de la méiose des haploïdes de colza,
3. La plupart de ces remaniements résulte de crossing-overs se réalisant de façon privilégiée entre les régions homéologues, mais pouvant également se former entre des régions paralogues ou para-homéologues,
4. Le génotype du parent haploïde (*Darmor-bzh* vs. *Yudal*) ne semble pas avoir d'effet sur le pourcentage de réarrangements structuraux générés par des crossing-overs entre des régions homéologues, paralogues ou para-homéologues,
5. Il existe une très forte sélection agissant sur les gamètes produits par les haploïdes mais qu'elle est indépendante de la présence de réarrangements structuraux dans les gamètes de

type FDR. Ainsi, l'immense majorité des réarrangements structuraux générés au cours de la méiose des haploïdes de colza (par des crossing-overs) sont transmis à la descendance de ces haploïdes par des gamètes non-réduits de type FDR qui permettent en outre de restaurer un nombre « normal » de chromosomes ($2n=38$) chez les descendants.

Au vu de ces éléments, il est donc possible de mesurer et de comparer la fréquence de remaniements en analysant la (non-) transmission des allèles du parent haploïde dans la descendance des haploïdes de *Darmor-bzh* et *Yudal*. Il est également possible d'estimer la fréquence et la distribution des crossing-overs entre et le long du génome chez les haploïdes *Darmor-bzh* et *Yudal* et d'examiner quelles sont les principales sources de variations de ces deux paramètres.

CHAPITRE III

Contrôle génétique et structural de la
fréquence des remaniements chromosomiques
produits au cours de la méiose des haploïdes
de colza

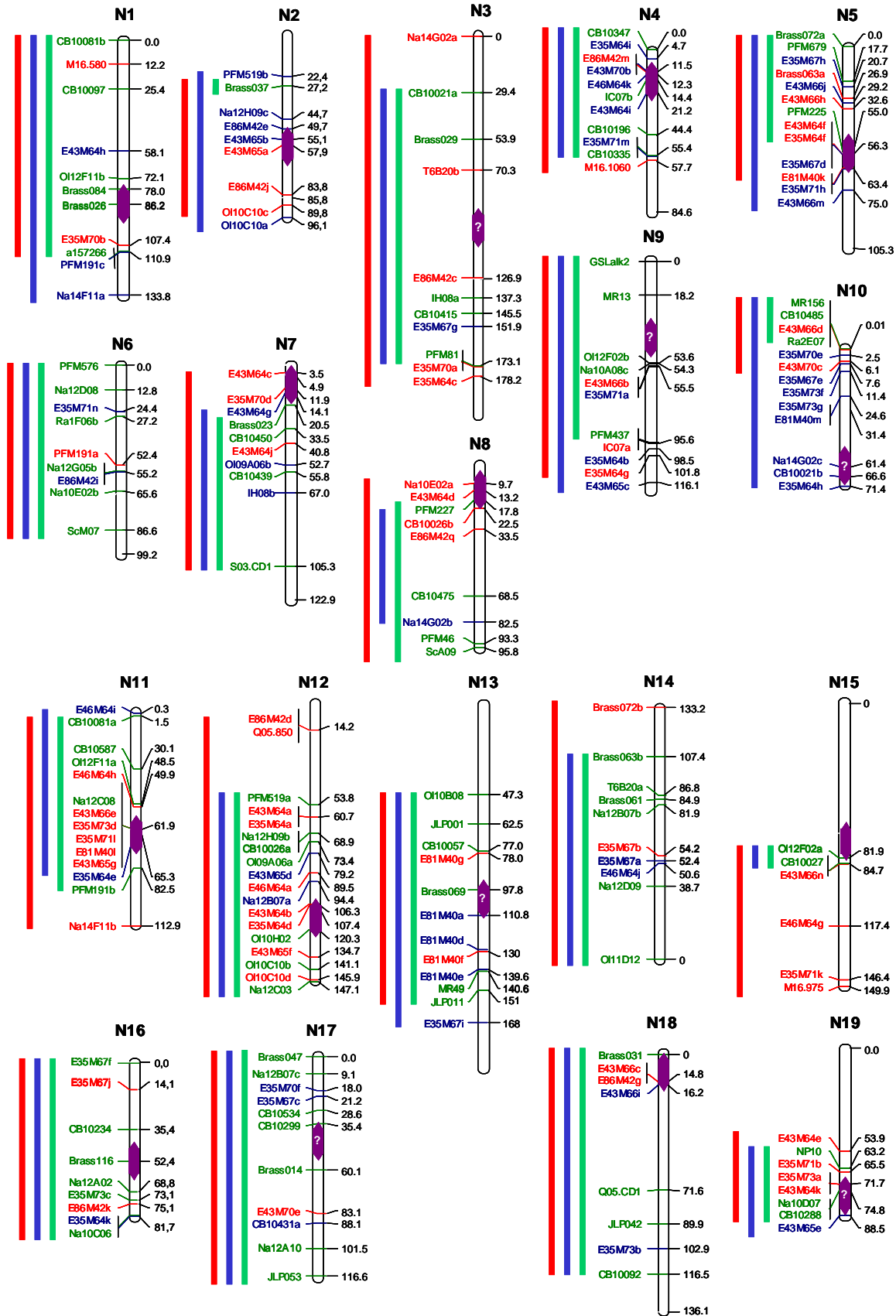


Figure 92 : Position des locus génotypés sur les différents groupes de liaison du colza de la carte de référence *Darmor-bzh* x *Yudal*. En vert les marqueurs codominants, en rouge les marqueurs dominants *Darmor-bzh* et en bleu les marqueurs dominants *Yudal*. Les traits de couleur à gauche des groupes de liaison représentent la couverture du génome par les locus génotypés en fonction des marqueurs utilisés et de la population de descendants d'haploïdes analysée (*Darmor bzh* vs *Yudal*). Les centromères qui apparaissent en violet sur les groupes de liaison ont été positionnés sur la carte génétique de référence *Darmor-bzh* x *Yudal* d'après les données bibliographiques (Parkin *et al.*, 2005) et les analyses moléculaires réalisées au sein du laboratoire (Jenczewski *et al.*, comm. pers.)

III CONTROLE GENETIQUE ET STRUCTURAL DE LA FREQUENCE DES REMANIEMENTS CHROMOSOMIQUES PRODUITS AU COURS DE LA MEIOSE DES HAPLOÏDES DE COLZA

L'objectif de cette partie est de déterminer quels sont les facteurs génétiques et structuraux qui modifient, globalement ou localement, la fréquence et la distribution des remaniements chromosomiques qui surviennent lors de la méiose des haploïdes de colza.

Après avoir décrit brièvement les données et leur organisation, je décrirai comment j'ai modélisé l'influence conjointe des différentes sources de variation du nombre et de la fréquence des remaniements que mon expérience permettait de contrôler. Je présenterai les résultats des analyses que j'ai menées, qui permettent d'identifier et de classer par ordre d'importance les facteurs présentant une influence significative sur la fréquence de remaniements.

Dans un second temps, je reviendrai plus en détail sur ces différents facteurs, notamment sur l'effet du génotype, du génome, ou sur les variations mesurées entre ou au sein des groupes de liaison.

Dans un troisième temps, je comparerai (i) les fréquences de remaniements chromosomiques observés chez les haploïdes ($n=19$) à celles estimées chez les euploïdes ($2n=38$) (ii) la distribution et la fréquence des crossing-overs « non homologues » estimées chez les haploïdes en se basant sur l'analyse des points de cassure des remaniements chromosomiques chez les descendants d'haploïdes à celles des « crossing-overs homologues » observés chez les euploïdes.

III.1 MODELISATION DE LA VARIATION DE LA FREQUENCE DE REMANIEMENT

L'objectif de cette partie est de déterminer et de quantifier les relations existant entre la fréquence des remaniements (variable à expliquer) et les différentes sources de variation (variables explicatives) : les facteurs génétiques, structuraux et leur interactions.

III.1.1 Analyse descriptive et organisation des données

III.1.1.1 Les différentes approches utilisées pour mesurer la fréquence de remaniement

Comme le montre la Figure 92, j'ai analysé la transmission des allèles du parent haploïde dans respectivement 111 et 101 descendants d'haploïdes *Darmor-bzh* et *Yudal* à l'aide de 86

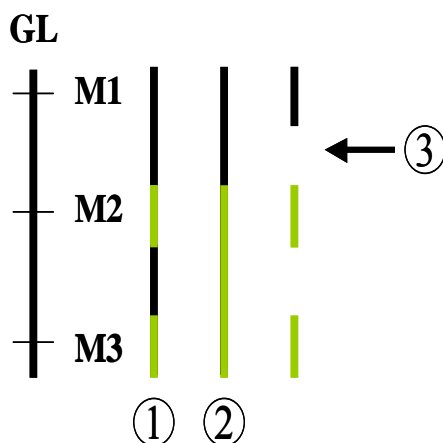


Figure 93 : Les trois différentes approches pour analyser la fréquence des remaniements chromosomiques chez les haploïdes. M1, M2, M3 représentent 3 locus génotypés sur un groupe de liaison. En vert, les locus pour lesquels l'allèle du parent haploïde n'a pas été transmis.

① Approche locus : la transmission des allèles du parent haploïde est analysée de façon indépendante d'un locus à l'autre. Cela amène ici à considérer deux remaniements sur le groupe de liaison.

② Approche groupe de liaison : la non-transmission des allèles du parent haploïde à deux locus adjacents est considérée comme participant à un seul et même événement.

③ Approche intervalle : on s'intéresse ici aux points de cassure qui sont localisés dans les intervalles entre des locus pour lesquels l'allèle du parent haploïde est respectivement transmis à l'un des locus (M1) et non-transmis à l'autre (M2).

Tableau 10 : Nombre d'allèles du parents haploïde transmis et non-transmis pour les différents types de locus génotypés chez les descendants des haploïdes *Darmor-bzh* et *Yudal*.

Descendants d'haploïdes	Type de locus	Nombre de locus génotypés	Allèle du parent haploïde non-transmis	Allèle du parent haploïdes transmis	Fréquence de non-transmission de l'allèle du parent haploïde (%)
<i>Darmor-bzh</i>	Codominant	86	448	8362	5,1
	Dominant	64	322	6429	4,8
<i>Yudal</i>	Codominant	86	129	8063	1,6
	Dominant	55	58	5114	1,1
Ensemble des locus		205	957	27968	3,3

Tableau 11 : Nombre de régions non-transmises détectées chez les descendants des haploïdes *Darmor-bzh* et *Yudal* en fonction du type de locus utilisé.

Descendants d'haploïdes	Locus codominants	Locus dominants	Tous les locus
<i>Darmor-bzh</i>	255	87	342
<i>Yudal</i>	89	22	111
Toutes les plantes	344	109	453

Tableau 12 : Nombre de points de cassure détectés en fonction du génotype du parent haploïde et du type de marqueur utilisé.

Type Locus	Descendants d'haploïdes	Nombre d'intervalles	Nombre de points de cassure	Nombre d'intervalles sans point de cassure	Fréquence de points de cassure (%)
Codominant	<i>Darmor-bzh</i>	68	268	7244	3,6
	<i>Yudal</i>	68	98	6756	1,4
	Tous	136	366	14000	2,5
Dominant+codominant	<i>Darmor-bzh</i>	136	433	14663	2,9
	<i>Yudal</i>	129	170	12857	1,3
	Tous	265	603	27520	2,1

marqueurs codominants. Ces marqueurs codominants permettent de comparer la fréquence des remaniements structuraux qui surviennent exactement au même endroit physique du génome entre les haploïdes *Darmor-bzh* et *Yudal*. Ils permettent donc de s'affranchir d'éventuelles variations locales de la fréquence de remaniement, notamment des fluctuations de la fréquence de recombinaison.

J'ai complété ce jeu de données à l'aide de marqueurs dominants pour obtenir un total de respectivement 150 et 141 locus dans les descendants d'haploïdes *Darmor-bzh* et *Yudal* (Figure 92). Ces marqueurs m'ont permis d'accroître la couverture du génome et d'augmenter la densité en locus. Ainsi, tandis que les marqueurs codominants couvrent 62% du génome avec une densité moyenne de un marqueur tous les 17 cM, les marqueurs dominants et codominants couvrent environ 75% du génome avec une densité moyenne de un marqueur tous les 12 cM (Figure 92). Ce jeu de données permet de mieux appréhender le rôle de la structure du génome dans les variations locales de la fréquence de remaniement.

La fréquence et le nombre des remaniements peuvent être représentés de différentes façons (Figure 93) :

1. **Le taux de transmission de l'allèle du parent haploïde à un locus donné (approche locus).**
 Dans cette approche, j'ai considéré que la non-transmission des allèles du parent haploïde se fait de façon indépendante d'un locus à l'autre. Cette approche ne tient donc pas compte du fait que certains locus sont génétiquement liés sur les groupes de liaison mais elle permet de faire le moins d'hypothèses et de suivre aisément les variations le long des groupes de liaison. Les données à analyser sont de type présence/absence (0/1) à un locus dans un individu, permettant d'inférer, à l'échelle de la population, un taux de transmission de l'allèle du parent haploïde à chaque locus pris séparément. J'ai ainsi détecté sur l'ensemble des locus et des individus la non-transmission d'environ 1000 allèles du parent haploïde, représentant une fréquence moyenne de 3,3% (Tableau 10). On peut observer que la fréquence de non-transmission varie fortement en fonction du locus considéré, du groupe de liaison et du génotype du parent haploïde (Figure 94).
2. **Le nombre de régions non-transmises par groupe de liaison (approche groupe de liaison).**
 Dans cette approche, j'ai considéré que la non-transmission simultanée de plusieurs locus adjacents sur un même groupe de liaison ne représente qu'un seul et même événement. Cette approche tient compte de la non-indépendance partielle des locus liés sur les groupes de liaison et permet d'estimer et de comparer la taille des régions non-transmises. Les données à analyser sont des données discrètes : 0, 1, 2 etc régions non-transmises par individu et par groupe de liaison. J'ai détecté par cette approche un total de 453 remaniements sur l'ensemble des groupe de liaison et des descendants d'haploïdes (Tableau 11)

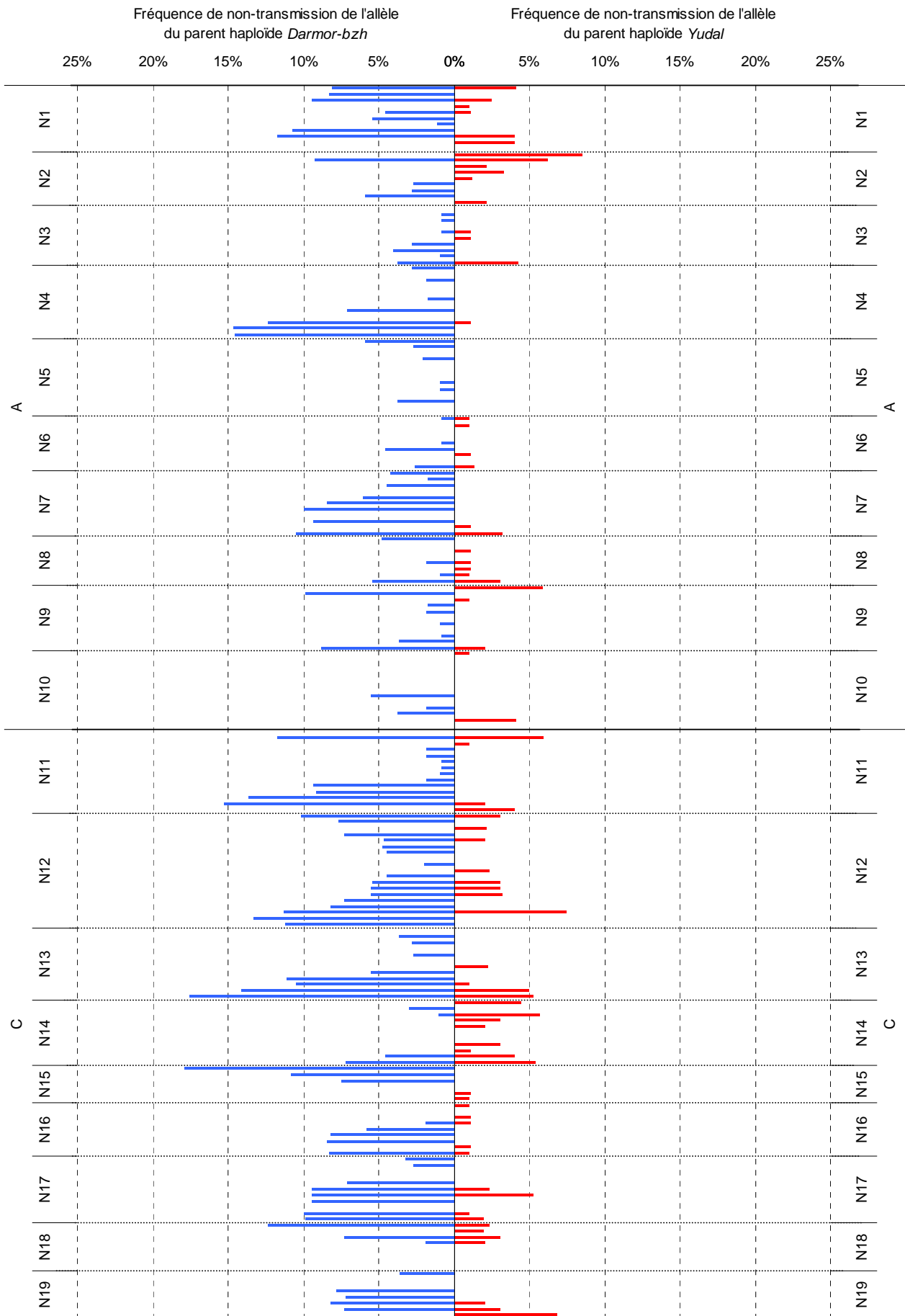


Figure 94 : Fréquence de non-transmission observée pour l'ensemble des locus génotypés (codominants + dominants) en fonction du génotype, du groupe de liaison et du génome.

Comme le montre la Figure 94, le nombre de régions non-transmises par groupe de liaison (sur l'ensemble des individus varie fortement en fonction du groupe de liaison, du génome ou du génotype du parent haploïde

3. **La fréquence des points de cassure entre locus (approche intervalle).** Conformément à ce que l'on a vu aux paragraphes II.2.1 et §II.3, la majorité des remaniements résulte de crossing-overs entre régions homéologues ou para(homéo)logues. On peut donc mesurer le nombre points d'échange (ou plus généralement de cassure) dans chaque intervalle en estimant qu'un crossing-over a eu lieu dans un intervalle durant la méiose d'un haploïde chaque fois que l'un des deux marqueurs délimitant cet intervalle a été non-transmis chez les descendants de cet haploïde. Les données à analyser sont de type présence/absence d'un point de cassure par intervalle et par descendant d'haploïde (0/1). Près de 603 points de cassure ont ainsi été détectés chez les descendants d'haploïdes (Tableau 12), leur nombre variant fortement d'un intervalle à l'autre entre et au sein des groupes de liaison, ainsi que d'un génotype à l'autre (Cf annexe, Figure 154).

J'ai utilisé ces trois approches pour analyser la fréquence des remaniements détectés à partir de l'analyse de la duplication des allèles du parent haploïde. Compte tenu du faible nombre de locus étudiés pour la détection des duplications (cf. III.2.1.2), ces analyses ont essentiellement servi à évaluer dans quelle mesure les résultats obtenus peuvent être généralisés ou à en faciliter l'interprétation (cf. IV.3).

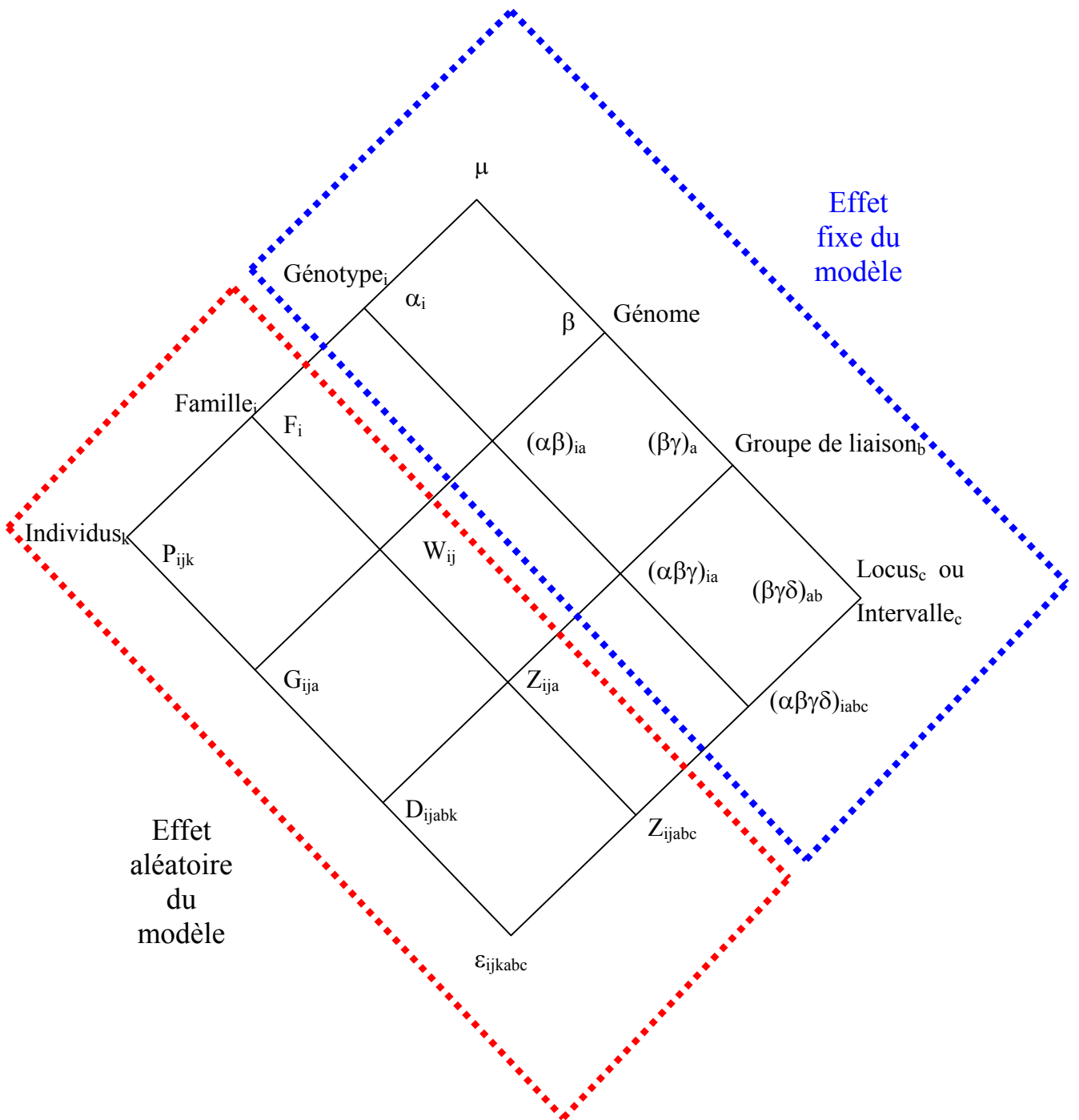


Figure 95 : Représentation schématique du modèle d'analyse de la fréquence de non-transmission de l'allèle du parent haploïde. Sur la partie haute sont représentés les différents facteurs analysés dans le modèle ; à gauche les facteurs génétiques, à droite les facteurs structuraux ; les intersections représentent les interactions entre les facteurs génétiques et structuraux. Les facteurs dans le modèle sont hiérarchisés du haut vers le bas. Ainsi, le facteur locus est inclus dans un groupe de liaison lui-même inclus dans un des deux génomes. Différentes co-variables décrivant les facteurs structuraux sont rattaché aux facteurs structuraux qu'il décrivent.

III.1.1.2 Description des sources potentielles de variation des fréquences de remaniement (variables explicatives)

Le plan de mon expérience m'a permis de prendre en compte plusieurs sources de variation (facteur) de la fréquence de remaniement qui sont d'ordre génétique et structural (Figure 95).

Les facteurs « génétiques » liés aux variations du fonds génétique entre les plantes :

- Le génotype des parents haploïdes. Il permet de contrôler l'effet du système de régulation des appariements en MI chez les haploïdes de colza. Ce facteur, dont les modalités sont fixées (soit *Darmor-bzh*, soit *Yudal*) est dit à effet fixe (dans le cadre de l'analyse statistique de modèles linéaires – voir IV.1.2).
- La famille. Du fait de la très faible fertilité des haploïdes (cf. II.3.1.1 et II.3.1.2) six haploïdes *Darmor-bzh* et neuf haploïdes *Yudal* ont été utilisés pour produire les deux populations F1 que j'ai analysées. Les descendants produits à partir de la même plante mère haploïde appartiennent à la même famille. Etant donné que les plantes euploïdes à partir desquelles les haploïdes ont été produits résultent d'un grand nombre de générations d'autofécondation (Figure 58), on peut légitimement penser que tous les haploïdes de *Darmor-bzh* et tous les haploïdes de *Yudal* ont le même fonds génétique. La famille peut donc être considérée comme un facteur à effets aléatoires (dans le cadre d'un modèle linéaire – voir IV.1.2). Les six plantes haploïdes *Darmor-bzh* et les neuf plantes haploïdes *Yudal* ont en effet été « tirées au hasard » parmi l'ensemble des haploïdes que l'on peut produire à partir de ces deux génotypes, ensemble dont elles sont supposées être représentatives. D'une expérimentation à l'autre, les haploïdes parentaux sont *a priori* différents, de sorte que le tirage au sort pourrait induire une variabilité supplémentaire à celle de l'erreur de mesure dont il faut tenir compte lors de l'analyse.
- La plante. Plusieurs plantes ont été analysées par famille. Pour les mêmes raisons que celles évoquées ci-dessus, la plante peut être considérée comme un facteur à effets aléatoires.

1. Les facteurs « structuraux », représentant différentes sources de variation:

- Le génome : le colza possède deux génomes différents dont les modalités sont fixées (génome A et génome C). Il s'agit donc d'un facteur à effet fixe.
- Le groupe de liaison : le colza possède 19 chromosomes différents qui sont représentés par autant de groupes de liaison. Il s'agit d'un facteur à effet fixe.
- Le locus ou l'intervalle sont deux facteurs à effet fixe.

Plusieurs de ces facteurs sont emboîtés (hiérarchisés) les uns par rapport aux autres (Figure 95). Ainsi, les individus appartiennent à des familles qui elles mêmes appartiennent à un génotype. De même, les locus (ou intervalles) appartiennent à des groupes de liaison qui eux même appartiennent à un génome. Cette structure hiérarchique est importante car il en découle par exemple que la fréquence de remaniement sur un groupe de liaison donné ne sera pas complètement indépendante de la fréquence de remaniements sur les autres groupes de liaison provenant du même génome, si ce facteur subordonnant a lui-même un effet sur la fréquence de remaniement.

Enfin, différentes co-variables ont été utilisées afin d'augmenter la précision des analyses en contrôlant des sources additionnelles de variation pour les facteurs groupe de liaison, locus et intervalle. Ces co-variables sont la position du locus ou de l'intervalle par rapport au centromère, la taille génétique de l'intervalle sur la carte de référence *Darmor-bzh* x *Yudal*, le degré de synténie des groupes de liaison vis-à-vis de leur homéologue (Figure 95).

III.1.2 Modèles mixtes généralisés hiérarchisés

L'étude des relations entre la variable à expliquer et les variables explicatives (facteurs) passe par le choix d'une formalisation mathématique, appelée modèle statistique. Différents types de modèles peuvent être utilisés en fonction de la nature de la variable explicative et des relations que l'on veut mettre en évidence.

Les plus couramment utilisés sont les modèles linéaires de régression et d'analyse de variance. L'utilisation rigoureuse des modèles linéaires repose sur plusieurs hypothèses qui concernent le type de la variable explicative et sa distribution conditionnellement aux variables explicatives :

- a. la variable à expliquer doit varier de façon continue,
- b. la distribution des valeurs de la variable à expliquer conditionnellement aux valeurs des variables explicatives doit être normale,
- c. la variance de cette loi conditionnelle est la même, quelle que soit la valeur des variables explicatives.

Les modèles de régression linéaire et d'analyse de variance sont assez robustes par rapport au non-respect d'une ou de plusieurs de ces hypothèses si on les utilise principalement pour tester la significativité de l'effet d'une variable explicative (F de Fischer). Mais ils donnent alors une description imparfaite des relations qui existent entre la variable à expliquer et les variables explicatives (mauvaise estimation des paramètres du modèle, notamment des coefficients de régression). Cette réserve s'applique aux données que j'utilise.

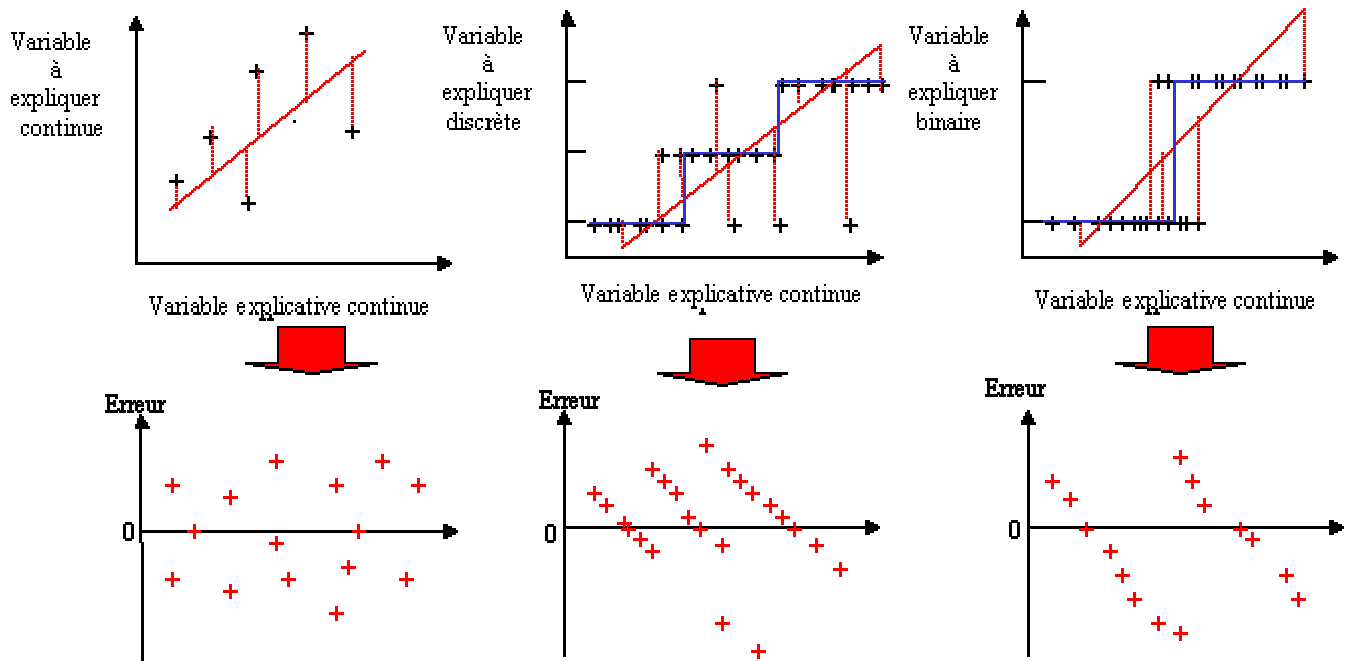


Figure 96 : Effet de l'ajustement linéaire sur des variables à expliquer continues, discrètes et binaires, sur la valeur prédictive du modèle, le calcul de l'erreur et sa distribution. En rouge l'ajustement linéaire, en bleu l'ajustement idéal compte tenu de la structure des données. On constate que dans l'ajustement linéaire, la valeur de l'erreur apparaît indépendante de la variation de la variable explicative alors que ce n'est pas le cas pour les données discrètes ou binaires. De plus, la distribution de l'erreur apparaît normale pour la variable à expliquer continue alors qu'elle ne l'est pas pour les variables à expliquer discrètes ou binaires.

Les variables mesurées dans mon analyse ne sont pas continues mais de type binaire (présence/absence) ou discrète (nombre d'événements). Par conséquent, la relation qui lie la variable à expliquer et les variables explicatives ne peut être linéaire et la distribution conditionnelle de la variable à expliquer pour chaque valeur des variables explicatives n'est pas normale (Figure 96), mais binomiale (cas des variables binaires) ou poissonnienne (cas des variables discrètes). Il en résulte que la variance de cette loi dépend de son espérance (hypothèse c rejetée) et que la dispersion des effectifs est d'autant plus grande que la valeur moyenne est élevée. De plus, les observations ne prennent que des valeurs discrètes ou binaires ce qui contraint anormalement l'estimation des paramètres du modèle linéaire (puisque les valeurs prédites sont continues). Par conséquent, on observera systématiquement une différence entre des valeurs observées

Encadré 3: Modèle Linéaire Généralisé: Les modèles linéaires généralisés sont utilisés pour établir des régressions entre une variable à expliquer discrète et des variables explicatives de différents types (qualitatif/quantitatif). De même que pour la régression linéaire classique, les modèles linéaires ajustent les coefficients de la régression de façon à minimiser l'erreur. Cependant tandis que seules les valeurs observées dont l'erreur se distribue de façon normale (variable continue) peuvent être utilisées en régression linéaire, les valeurs observées dont l'erreur se distribue de façon exponentielle (binomiale/poisson/normale...) peuvent être utilisées dans les modèles linéaires, d'où leur nom de généralisé. Ainsi, on peut établir des régressions sur des variables discrètes de type présence/absence ou de dénombrement où l'erreur n'est pas distribuée normalement mais de façon binomiale poissonnienne (fréquence, nombre d'événements). Pour ce faire, les valeurs observées sont transformées afin de linéariser la relation entre valeurs observées et les variables explicatives. Ainsi, afin de linéariser les relations entre la variable à expliquer (présence/absence à un locus ou dans un intervalle) en fonction des prédicteurs (génotype, groupe de liaison, génome, locus/intervalle) avec une erreur de type binomiale, les valeurs observées sont transformées avec la fonction de lien g logit :

$\log(p_i / 1-p_i) = \beta_0 + \sum_j \beta_j x_{ji}$ avec p_i la probabilité de non-transmission de l'allèle au locus i /de crossing-over dans l'intervalle, et j l'indice des variables explicatives, et β_j les coefficients.

D'autre part, pour ajuster le modèle par la méthode de régression, c'est à dire déterminer les coefficients du modèle sur la base de l'échantillon de taille n tel que l'erreur soit minimale, on utilise la méthode du maximum de vraisemblance qui maximise la probabilité d'obtenir les valeurs réellement observées sur l'échantillon au moyen de la fonction de vraisemblance suivante pour

$$\log L(\beta) = \sum_i [f_i * \log p_i + (1-f_i) * \log (1-p_i)]$$

avec f_i = fréquence observée, p_i probabilité de l'événement i (inconnue)

Ainsi, $L(\beta)$ à partir de laquelle est calculée la déviance du modèle (~somme de carré des écarts des modèles linéaires généralisés) n'est pas proportionnelle à l'écart entre la valeur observée et prédite.

Pour les dénombrements dont la distribution est poissonnienne, la fonction de lien g utilisée est généralement log, et l'algorithme permettant d'ajuster les coefficients est différent.

$\log(d_i) = \beta_0 + \sum_j \beta_j x_{ji}$ avec d_i la probabilité de non-transmission de l'allèle au locus i /de crossing-over dans l'intervalle, et j l'indice des variables explicatives, et β_j les coefficients.

binaires ou discrètes et celles prédites par le modèle linéaire, quelle que soit la qualité de l'ajustement sur les données (Figure 96). Cette différence, ou erreur, peut biaiser considérablement (vers le bas) la part de variabilité expliquée par les différents facteurs, qui n'est pas correctement évaluée par le modèle linéaire pour les données binaires et discrètes. Enfin, l'examen des différences individuelles entre les valeurs observées et celles prédites par le modèle (résidus) est souvent utilisé pour identifier les individus ayant un comportement exceptionnel. Or, si on utilise un modèle linéaire pour analyser des données discrètes ou binaires alors l'examen des résidus conduira à identifier des individus comme étant exceptionnels alors qu'ils ne le sont pas

et qu'ils sont parfaitement prédits par la variable explicative.

Les modèles linéaires généralisés (Encadré 3) permettent de rechercher des relations linéaires et non-linéaires entre une variable à expliquer continue ou discontinue (binaire, discrète) et des variables prédictives continues ou catégorielles. Il s'agit d'une extension, d'une généralisation des modèles linéaires comme cela est précisé plus en détail dans l'Encadré 4. Dans le cas de mon analyse, ils constituaient les modèles *a priori* les mieux adaptés pour décrire l'influence conjointe des différentes sources de variations que mon expérience permettait de contrôler sur le nombre ou la fréquence des remaniements. La présence de plusieurs facteurs à effets aléatoires impliquait en outre de décomposer les différentes sources d'erreur dans le cadre d'un modèle mixte (Encadré 4).

J'ai donc construit trois modèles linéaires généralisés mixtes hiérarchisés afin d'analyser l'effet des facteurs génétiques, structuraux et de leurs interactions.

Encadré 4 Modèle mixte: Les modèles mixtes permettent de tenir compte de la présence de plusieurs effets aléatoires d'origine différente dans un modèle. La non prise en compte des différents effets aléatoires peut conduire soit à éliminer abusivement l'effet de certains facteurs, soit au contraire à prendre en compte des facteurs alors qu'ils n'ont aucun effet. Cela peut conduire à surestimer ou à sous-estimer l'erreur aléatoire associée aux différents facteurs. En effet dans un modèle mixte, l'effet des facteurs ne sera plus comparé et testé par rapport à l'erreur globale mais par rapport à l'erreur aléatoire la plus proche.

Par exemple, si l'effet aléatoire de l'individu P_{ijk} est significatif, l'effet du génotype du parent haploïde sera comparé et testé par rapport à l'effet aléatoire de l'individu P_{ijk} et non plus par rapport à l'erreur globale ϵ_{ijkabc} . Par ailleurs, si seul l'effet aléatoire individu est significatif dans le modèle, alors une partie de l'erreur résiduelle ϵ_{ijkabc} sera absorbée par cet effet aléatoire P_{ijk} . Par conséquent, dans les résultats du modèle l'effet du facteur génotype α_i sera réduit tandis que l'effet de tous les autres facteurs non aléatoires sera accru ($\beta_a, (\alpha\beta)_{ia}, \dots$).

III.1.2.1 Modèle linéaire généralisé mixte

J'ai modélisé la probabilité p_{ijkabc} de non-transmission l'allèle du parent haploïde i au locus c porté par le groupe de liaison b au sein du génome a dans la plante k appartenant à la famille j selon le modèle de régression logistique binaire, aussi appelé Modèle Linéaire Généralisé Mixte Hiérarchisé de type binomial, suivant (GL = groupe de liaison) (Figure 95):

Dans le modèle ci-dessus et dans les suivants, les effets fixes et aléatoires sont respectivement en bleu et en rouge. β_0 représente la pente de la droite de régression à l'origine. Les facteurs entre parenthèse et séparés par « : » représentent soit des effets hiérarchisés soit des

$$1 \left\{ \begin{aligned} \log(p_{ijkabcd}/1-p_{ijkabcd}) \sim & \beta_0 + \text{Génotype}_i + \text{Génome}_a + (\text{Génome:GL})_{ab} + (\text{Génome:GL:Locus})_{iabc} + \\ & (\text{Génotype:Génome})_{ia} + (\text{Génotype:Génome:GL})_{iab} + (\text{Génotype:Génome:GL:Locus})_{iabc} + \\ & (\text{Génotype:Famille})_{ij} + (\text{Génotype:Génome:Famille})_{ija} + (\text{Génotype:Génome:GL:Famille})_{ijab} + \\ & (\text{Génotype:Génome:GL:Locus:Famille})_{ijabc} + (\text{Génotype:Famille:Individus})_{ijk} + \\ & (\text{Génotype:Génome:Famille:Individus})_{ijka} + (\text{Génotype:Famille:Individus:Génome:GL})_{ijkab} + \epsilon_{ijkabcd} \end{aligned} \right.$$

interactions entre facteurs. Ils ont été représentés de façon identique car ils sont traités de manière identique dans l'analyse. Parmi les facteurs non hiérarchisés, Génome_a mesure l'écart induit par le génome a (a=A ou a=C) et Génotype_i mesure l'écart induit par le génotype i (i=Darmor-bzh ou i=Yudal).

Parmi les facteurs hiérarchisés à effets fixes ou aléatoires, (Génome:GL)_{ab} représente l'effet du groupe de liaison b au sein du génome a et (Génome:GL:Locus)_{abc} celui du locus c porté par le groupe de liaison b au sein du génome a. (Génotype:Famille)_{ij} mesure l'écart spécifique dû à la famille j produite à partir d'un haploïde de génotype i et (Génotype:Famille:Individus)_{ijk} mesure l'écart spécifique dû à la plante k de la famille j représentant le génotype i. Les autres effets représentent les interactions entre les différents facteurs décrits ci-dessus. Par exemple, (Génotype:Génome:GL)_{iab} représente l'effet de l'interaction entre le génotype i et le groupe de liaison b sur la fréquence de non-transmission.

De même, j'ai modélisé la probabilité f_{ijkabc} d'observer un point de cassure ($1-f_{ijkabc}$ = cassure) dans l'intervalle c porté par le groupe de liaison b au sein du génome a chez la plante k appartenant à la famille j de génotype i selon Modèle Linéaire Généralisé Mixte Hiérarchisé de type binomial suivant:

$$2 \left\{ \begin{array}{l} \log (f_{ijkabcd} / 1-f_{ijkabcd}) \sim \beta_0 + \text{Génotype}_i + \text{Génome}_a + (\text{Génome:GL})_{ab} + (\text{Génome:GL:Intervalle})_{iabc} \\ + (\text{Génotype:Génome})_{ia} + (\text{Génotype:Génome:GL})_{iab} + (\text{Génotype:Génome:GL:Intervalle})_{iabc} + \\ (\text{Génotype:Famille})_{ij} + (\text{Génotype:Génome:Famille})_{ija} + (\text{Génotype:Génome:GL:Famille})_{ijab} + \\ (\text{Génotype:Génome:GL:Intervalle:Famille})_{ijabc} + (\text{Génotype:Famille:Individus})_{ijk} + \\ (\text{Génotype:Génome:Famille:Individus})_{ijka} + (\text{Génotype:Famille:Individus:Génome:GL})_{ijkab} + \varepsilon_{ijkabcd} \end{array} \right.$$

J'ai enfin modélisé le nombre de régions non-transmises R_{ijkab} sur le groupe de liaison b au sein du génome a chez la plante k appartenant à la famille j de génotype i:

$$3 \left\{ \begin{array}{l} \log (R_{ijkabc}) \sim \beta_0 + \text{Génotype}_i + \text{Génome}_a + (\text{Génome:GL})_{ab} + (\text{Génotype:Génome})_{ia} + \\ (\text{Génotype:Génome:GL})_{iab} + (\text{Génotype:Famille})_{ij} + (\text{Génotype:Famille:Individus})_{ijk} + \\ (\text{Génotype:Génome:Famille})_{ija} + (\text{Génotype:Génome:Famille:Individus})_{ijja} + \varepsilon_{ijkabc} \end{array} \right.$$

Les trois modèles complets décrits ci-dessus sont très complexes : plusieurs effets hiérarchisés, certains facteurs à effets aléatoires, erreurs de type binomial ou de Poisson, données déséquilibrées (différences dans le nombre d'individus par famille, dans le nombre de familles par génotype, dans le nombre de groupes de liaison par génome ou dans le nombre de locus par groupe de liaison). Ces modèles nécessitent donc une très grosse puissance de calcul compte tenu de la taille de mes tableaux de données (plusieurs dizaines de milliers de lignes pour une dizaine de colonnes) et des algorithmes de convergence puissants pour l'ajustement des modèles aux données et l'estimation des différents paramètres.

Tableau 13 : Test des différents effets aléatoires dans le modèle linéaire mixte n°1 (Approche Locus)

Effets aléatoires	Valeur estimée	Erreur standard	z	p
Parent:Famille	-	-	-	-
Parent:Famille:Génome	-	-	-	-
Parent:Famille:Génome:GL	0,000141	0,000108	1,3	9,7
Parent:Famille:Individu	0,000066	0,000109	0,6	27,3
Parent:Famille:Individu:Génome	0			
Parent:Famille:Individu:Génome:GL	0,01021	0,000402	25,41	<0,01
Parent:Famille:Génome:GL:Locus	-	-	-	-
Résiduelle	0,02201	0,000287	76,81	<0,01

Les procédures permettant d'ajuster tous les types de modèle linéaire généralisé mixte sous SAS (Proc GLIMMIX, décembre 2006) et R n'ont été développées que très récemment et ne sont pas encore disponibles sur les centres de calculs auxquels j'ai eu accès. Je n'ai pu utiliser que la macro %GLIMMIX de SAS (Wolfinger and O'Connell, 1993) qui ajuste des modèles généralisés mixtes en maximisant une pseudo-vraisemblance de façon itérative, et la macro lmer4 de R (version 2.2.1). Même si ces macros fonctionnent bien dans l'ensemble, leur algorithme n'est pas parvenu à converger avec les modèles complets décrits ci-dessus, même après un nombre important d'itérations.

J'ai donc entrepris de simplifier les modèles en réduisant le nombre d'effets aléatoires et je me suis de nouveau heurté à des problèmes de convergence avec les macros %GLIMMIX de SAS et lmer4 de R. J'ai donc fini par utiliser la PROC MIXED de SAS pour alléger les modèles 1, 2 et 3 des effets aléatoires non-significatifs. Cette procédure permet d'ajuster des modèles linéaires mixtes mais elle ne permet pas de spécifier de distribution des effets résiduels autre que la distribution normale (modèles non généralisés). Pour les modèles 1 et 2 décrits ci-dessus, cette analyse montre que seuls les effets aléatoires dus à l'individu (P_{ijk}) et à l'interaction entre les groupes de liaison et les individus (D_{ijkab}) sont significatifs (Tableau 13). De même, l'utilisation de la Proc MIXED pour ajuster le modèle 3 décrit ci-dessus montre que seul l'effet aléatoire dû à l'individu (P_{ijk}) est significatif.

Excepté l'effet de l'individu pour la fréquence de point de cassure, les effets aléatoires observés ne sont pas surprenants. L'existence d'un effet significatif dû aux individus indique qu'au sein d'une famille, les différentes plantes n'ont pas des fréquences de remaniement identiques. Or, compte tenu du faible nombre de réarrangements chromosomiques, de faibles différences entre les individus génèrent au final des variations très importantes de fréquence de remaniements entre les individus au sein d'une même famille. Pour ce qui est des points de cassure, la présence d'un effet de l'individu est plus difficile à expliquer. Il pourrait signifier que les points de cassure n'ont pas lieu totalement indépendamment les uns des autres. L'effet d'interaction entre les individus et les groupes de liaisons indique que la présence d'un réarrangement à un locus donné sur un groupe de liaison modifie la probabilité d'avoir un réarrangement à un autre locus sur ce même groupe de liaison. Cette corrélation partielle reflète la non-indépendance qui existe entre des locus génétiquement liés sur les groupes de liaison. On peut d'ailleurs noter que cet effet n'est plus significatif quand on analyse le modèle 3 qui prend explicitement en compte l'effet de la liaison entre locus. On peut réciproquement penser que, compte tenu du faible nombre total de réarrangements (dans l'absolu), la présence d'un point de cassure sur un groupe de liaison réduit la

probabilité d'avoir un second point de cassure sur ce même groupe de liaison chez le même individu. En revanche, l'effet famille n'est jamais significatif, qu'il soit seul ou en interaction avec d'autres facteurs. Ceci indique que l'effet des variations environnementales entre les différentes familles est homogène.

J'ai donc repris l'analyse de mes données avec la macro GLIMMIX (SAS) en utilisant des modèles linéaires généralisés mixtes ne gardant que les effets P_{ijk} et D_{ijkab} dans la partie aléatoire pour les modèles 1 et 2 simplifiés et que l'effet individu P_{ijk} dans la partie aléatoire pour le modèle 3 simplifié. La macro GLIMMIX de SAS ne convergeant toujours pas pour aucun de ces trois modèles simplifiés, j'ai décidé de comparer les résultats obtenus en utilisant des modèles linéaires généralisés sans effet aléatoire (Procédure GLM sous R) et les résultats obtenus avec la Proc MIXED de SAS. Ces résultats permettent de tenir compte des effets aléatoires mais ils les traitent dans le cadre de modèles linéaires non généralisés.

III.1.2.2 Ajustement des modèles linéaires généralisés sans effet aléatoire aux données

J'ai utilisé les modèles linéaires généralisés suivants :

1. Analyse de la la probabilité p_{iabc} d'observer l'allèle du parent haploïde i au locus c porté par le groupe de liaison b au sein du génome a :

$$\textcircled{\text{1 bis}} \left\{ \begin{array}{l} \log (p_{ikabcd} / 1-p_{iabcd}) \sim \beta_0 + \text{Génotype}_i + \text{Génome}_a + (\text{Génome:GL})_{ab} + (\text{Génome:GL:Locus})_{iabc} + \\ (\text{Génotype:Génome})_{ia} + (\text{Génotype:Genome:GL})_{iab} + (\text{Génotype:Génome:GL:Locus})_{iabc} + \varepsilon_{ikabcd} \end{array} \right.$$

2. Analyse de la probabilité f_{iabc} d'observer un point de cassure dans l'intervalle c porté par le groupe de liaison b au sein du génome a pour le génotype i :

$$\textcircled{\text{2 bis}} \left\{ \begin{array}{l} \log (f_{ikabcd} / 1-f_{ikabcd}) \sim \beta_0 + \text{Génotype}_i + \text{Génome}_a + (\text{Génome:GL})_{ab} + (\text{Génome:GL:Intervalle})_{abc} + \\ (\text{Génotype:Génome})_{ia} + (\text{Génotype:Genome:GL})_{iab} + (\text{Génotype:Génome:GL:Intervalle})_{iabc} + \varepsilon_{ikabcd} \end{array} \right.$$

3. Analyse du nombre de régions non-transmises R_{ijkab} sur le groupe de liaison b au sein du génome a pour le génotype i :

$$\textcircled{\text{3 bis}} \left\{ \begin{array}{l} \log (R_{ikabc}) \sim \beta_0 + \text{Génotype}_i + \text{Génome}_a + (\text{Génome:GL})_{ab} + (\text{Génotype:Génome})_{ia} + \\ (\text{Génotype:Génome:GL})_{iab} + \varepsilon_{ikabc} \end{array} \right.$$

Tableau 14 : Test des modèles linéaires généralisés n°1 bis et n°2 bis. Somers-D = (nombre de paires concordantes - nombre de paires non concordantes) / (nombres de paires testées).

Modèle	Rapport de vraisemblance du modèle	R ² ajusté (%)	Somers-D	Aire sous la courbe ROC	Test de Hosmer et Lemeshow (%)
Fréquence de non-transmission	496	6,7	0,42	0,71	51
Fréquence de point de cassure	380	12	0,55	0,78	99

Différentes méthodes ont été utilisées pour valider la qualité de l'ajustement des modèles 1bis, 2bis et 3bis (Encadré 5). J'ai comparé, par un rapport de vraisemblance, chacun des trois modèles décrits ci-dessus avec un modèle nul dans lequel les coefficients de pente sont nuls (*i.e.* aucun effet des variables explicatives). A chaque fois, le rapport de vraisemblance du modèle est extrêmement élevé et significatif, ce qui indique que les variables explicatives utilisées sont influentes (Tableau 14). De même, les mesures d'association entre valeurs prédites et observées, comme l'aire sous la courbe ROC ou le taux de bon classement du modèle, montrent que près de 80% des valeurs sont correctement prédites par les modèles 1bis, 2bis et 3bis

Encadré 5: Validation des modèles linéaires généralisés :

- Coefficient de détermination ajustée de Menard R^2_m et de Cox et Snell R^2_L :
 $R^2_M = (\log L(0) - \log L(\beta)) / \log L(\beta)$ avec $L(0)$ est la vraisemblance du modèle sans variable explicative
 $R^2_L = (1 - [\log L(0) / \log L(\beta)]^{2/n})$ avec n taille de l'échantillon
- Distribution des déviations standardisées. Compte tenu de la transformation, on s'attend à ce que les déviations standardisées se distribuent normalement.
- Test de nullité des coefficients du modèle. Il permet de tester la vraisemblance du modèle en comparant le maximum de vraisemblance du modèle complet avec un modèle sans aucune variable explicative.
- Test de Hosmer et Lemeshow. Ce test permet de déterminer si la distribution des fréquences prédites est similaire aux fréquences observées. Les points génotypés observés q classes de taille identique et en deux groupes de valeurs Y (0 ou 1) puis la fréquence observée est comparée aux fréquences prédites pour les mêmes points génotypés.
- Taux de bon classement. C'est le pourcentage de locus correctement classés en appliquant le modèle. La probabilité de non-transmission est calculée à partir du modèle pour chaque locus puis selon qu'il dépasse ou non un seuil de partage défini le point génotypé est classé 0 ou 1. Par analogie avec la médecine, le taux de bon classement des points génotypés codé 1 (absence de l'allèle du parent haploïde) s'appelle la sensibilité tandis que le taux de bon classement des points génotypés codé 2 s'appelle la spécificité. Différentes méthodes sont utilisées pour déterminer la valeur seuil.
- Mesure d'association. Elles sont basés sur les paires concordantes, c'est-à-dire le nombre de fois où une probabilité estimée p_i d'un point de génotypage codé 1 (absent) est supérieure à celle d'un point génotypé 0 (présent). J'ai utilisé le test de corrélation par la méthode de Kendall, la surface sous la courbe ROC (qui peut être définie comme le taux de bon classement qui maximise le taux de bon classement des individus 0 et 1)
- Valeur prédictive du modèle au locus. Corrélation des valeurs prédites et observées au locus par la méthode des moindres carrés de Pearson entre les fréquences prédites et les fréquences observées au locus.

(Tableau 14). Enfin, le test de Hosmer et Lemeshow n'est pas significatif, indiquant que les valeurs observées et prédites sont distribuées de façon identique (Tableau 14).

En conclusion, les modèles 1bis, 2bis et 3bis semblent s'ajuster de façon satisfaisante aux données, bien qu'ils ne prennent pas en compte les effets aléatoires dus à l'individu et/ou à l'interaction entre les groupes de liaison et les individus.

III.1.2.3 Ajustement des modèles linéaires mixtes aux données

Afin de prendre en compte les effets aléatoires, j'ai utilisé les trois modèles linéaires mixtes suivants (avec la PROC MIXED de SAS) qui ne gardent que les effets aléatoires ayant un effet significatif:

Tableau 15 : Analyse comparée des résultats de l'analyse de la fréquence de non-transmission pour le modèle linéaire mixte et le modèle linéaire généralisé (Régression logistique) pour les locus.

Sources de variation	ddl	Modèle linéaire mixte			Modèle linéaire généralisé		
		Effet moyen (F)	p (%)	Ecart relatif par rapport à l'effet génotype (%)	Effet moyen (Déviance moyenne)	p (%)	Ecart relatif par rapport à l'effet génotype (%)
Génotype	1	41,5	<0,1	100	158	<0,01	100
Génome	1	5,9	1,5	21	30	<0,01	18
Groupe de liaison	17	4,4	<0,1	11	8,2	<0,01	5
Locus	66	4	<0,1	9	4,1	<0,01	3
Génotype:GL	17	3	<0,1	7	4	<0,01	3
Génotype:Locus	66	1,6	<0,1	4	1,2	9	1
Génotype:Génome	1	1,5	21	4	0,13	71	0

Tableau 16 : Analyse comparée des résultats de l'analyse de la fréquence de crossing-over par le modèle linéaire mixte et le modèle linéaire généralisé (Régression logistique).

Sources de variation	ddl	Modèle linéaire mixte			Modèle linéaire généralisé		
		Effet moyen (F)	p (%)	Ecart relatif par rapport à l'effet génotype (%)	Effet moyen (Déviance moyenne)	p (%)	Ecart relatif par rapport à l'effet génotype (%)
Génotype	1	36,8	<0,1	100	70	<1	100
Génome	1	8,11	<1	22	10	<0,1	14
Groupe de liaison	16	4,2	<0,1	11	4,8	<0,1	7
Intervalle	49	3,8	<0,1	10	3,8	<0,1	5
Génotype:GL	16	2,6	<0,1	7	2,2	<0,1	3
Génotype:Locus	49	1,8	<0,1	5	1,6	<0,1	3
Génotype:Génome	1	1,1	30	3	0,5	47	1

Tableau 17 : Analyse comparée des résultats de l'analyse de la fréquence de crossing-over par le modèle linéaire mixte et le modèle linéaire généralisé (Régression Poissonienne).

Source de variation	ddl	Modèle linéaire mixte			Modèle linéaire généralisé		
		Effet moyen (F)	p (%)	Ecart relatif par rapport à l'effet génotype (%)	Effet moyen (Déviance moyenne)	p (%)	Ecart relatif par rapport à l'effet génotype (%)
Génotype	1	52	<0,01	1	63	<0,01	100
Génome	1	16	<0,01	0,3	15	<0,01	24
GL	17	7	<0,01	0,13	6,4	<0,01	10
Génotype:GL	17	3	<0,01	0,06	1,8	2	3
Génotype:Génome	1	2	15	0,04	0,1	75	0

1-Analyse de la probabilité p_{ijkabc} de non-transmission l'allèle du parent haploïde i au locus c porté par le groupe de liaison b au sein du génome a dans la plante k appartenant à la famille j :

$$\text{1 ter} \left\{ \begin{array}{l} p_{ijkabc} \sim \beta_0 + \text{Génotype}_i + \text{Génome}_a + (\text{Génome:GL})_{ab} + (\text{Génome:GL:Locus})_{iabc} + \\ (\text{Génotype:Génome})_{ia} + (\text{Génotype:Genome:GL})_{iab} + (\text{Génotype:Génome:GL:Locus})_{iabc} + \\ (\text{Génotype:Famille:Individus})_{ijk} + (\text{Génotype:Famille:Individus:Genome:GL})_{ijkab} + \varepsilon_{ijkabc} \end{array} \right.$$

2-Analyse de la probabilité f_{ijkabc} d'observer un point de cassure dans l'intervalle c porté par le groupe de liaison b au sein du génome a chez la plante k appartenant à la famille j de génotype i :

$$\text{2 ter} \left\{ \begin{array}{l} f_{ijkabc} \sim \beta_0 + \text{Génotype}_i + \text{Génome}_a + (\text{Génome:GL})_{ab} + (\text{Génome:GL:Intervalle})_{iabc} + \\ (\text{Génotype:Génome})_{ia} + (\text{Génotype:Genome:GL})_{iab} + (\text{Génotype:Génome:GL:Intervalle})_{iabc} + \\ + (\text{Génotype:Famille:Individus})_{ijk} + (\text{Génotype:Famille:Individus:Genome:GL})_{ijkab} + \varepsilon_{ijkabc} \end{array} \right.$$

3-Analyse du nombre de régions non-transmises R_{ijkab} sur le groupe de liaison b au sein du génome a chez la plante k appartenant à la famille j de génotype i :

$$\text{3 ter} \left\{ \begin{array}{l} \log (R_i) \sim \beta_0 + \text{Génotype}_i + \text{Génome}_a + (\text{Génome:GL})_{ab} + (\text{Génotype:Génome})_{ia} + \\ (\text{Génotype:Génome:GL})_{iab} + (\text{Génotype:Famille:Individus})_{ijk} + \varepsilon_{ijkab} \end{array} \right.$$

III.1.3 Résultats des modèles linéaires mixtes et généralisés

L'analyse des modèles linéaires généralisés 1bis, 2bis et 3bis avec la proc GLM de R et celle des trois modèles linéaires mixtes 1ter, 2ter et 3ter avec la Proc MIXED de SAS donnent des résultats très similaires. Tous démontrent qu'il y a un effet très significatif du génotype (*Darmor-bzh vs Yudal*), du génome (génome A vs génome C) et des groupes de liaison sur la fréquence de remaniement (fréquence de non-transmission, nombre de points d'échange et nombre de régions non-transmises) (Tableau 15 ; Tableau 16 ; Tableau 17). Il y a de même un effet significatif des locus ou des intervalles sur la fréquence de non-transmission ou sur celle des points d'échange (Tableau 15 ; Tableau 16). On constate également que l'interaction entre le génotype et les groupes de liaison ainsi que l'interaction entre le génotype et le locus/intervalle sont significatives, ce qui indique que la fréquence de remaniement varie différemment selon le génotype du parent haploïde entre les groupes de liaison au sein des génomes A et C et entre les locus/intervalles au sein d'un groupe de liaison. Je n'ai pas pu mettre en évidence d'interaction entre le génotype et le génome, indiquant que l'effet du génome sur la fréquence de réarrangements est indépendant du génotype du parent haploïde.

Au delà du fait qu'il soit significatif, j'ai essayé de classer les différents facteurs et leurs interactions par ordre d'importance en fonction de l'effet moyen de ces facteurs ou ces interactions sur la variation de la fréquence de remaniement. Celui-ci peut être défini comme la

variation moyenne de la fréquence de remaniement induite par le passage d'une modalité d'un facteur à l'autre, par exemple du génome A au génome C pour le facteur génome.

Pour ce faire, j'ai utilisé la déviance des facteurs des modèles linéaires généralisés qui représente l'accroissement du rapport de vraisemblance du modèle (on parle d'analyse de déviance dans le cadre des modèles généralisés – voir Encadré 6) en présence du facteur ou de l'interaction dans chacun des trois modèles linéaires généralisés 1bis, 2bis et 3bis complets. Afin de tenir compte des différences du nombre de modalités entre les facteurs (2 pour génome, 19 pour groupes de liaisons, etc.), j'ai comparé la déviance moyenne, qui n'est autre que le rapport entre la déviance et les degrés de liberté de ces facteurs ou de ces interactions. J'ai ainsi considéré que plus la déviance moyenne est forte, plus le facteur considéré est influent. J'ai par ailleurs comparé les carrés moyens d'un modèle linéaire ne déclarant que la partie fixe du modèle 1ter et utilisant comme variable à expliquer les moyennes ajustées (lsmeans) des effets d'interaction entre les facteurs genotype et locus estimés en ajustant le modèle 1 avec la Proc MIXED (H. Monod, communication personnelle). Ces deux types d'analyse donnent des résultats très proches. Elles indiquent notamment que l'effet du génotype est de loin le plus fort. De façon inattendue, l'effet du génome se classe sans ambiguïté en deuxième position dans les deux types d'analyse, suivi de l'effet des groupes de liaison. La hiérarchie entre les effets du locus/intervalle, ceux de l'interaction entre le génotype et les groupes de liaison ou ceux de l'interaction entre le génotype et les locus/intervalles est beaucoup plus difficile à établir.

Par ailleurs, l'ordre comme l'importance relative de ces différents facteurs dans la variation de la fréquence de non-transmission (modèle 1bis) est

conservé dans le modèle 2bis (fréquence de points de cassure) ou dans le modèle 3bis (nombre de régions non-transmises). Enfin, il est important de noter que la significativité des facteurs et leur ordre d'importance dans la variation de la fréquence de remaniement (non-transmission, point de cassure, régions non-transmises) sont conservés, et ce que l'on utilise tous les marqueurs ou

Encadré 6 Analyse de déviance de modèle linéaire généralisé :

L'analyse de l'effet des facteurs dans un modèle linéaire généralisé repose sur la déviance de ces facteurs dans le modèle (~variance). Cette analyse repose donc sur l'accroissement du maximum de vraisemblance du modèle $L(\beta)$ (Encadré n°3) par ce facteur. En effet, la déviance d'un facteur est le rapport entre l'accroissement de la vraisemblance du modèle par ce facteur $L(\beta)$ et la vraisemblance du modèle saturé $L(s)$:

$$\text{Déviance} = -2 * \log * [L(\beta) / L(s)]$$

Le modèle saturé est le modèle "parfait" où il y a autant de paramètres que d'observations, et par conséquent où les valeurs prédites et observées s'ajustent parfaitement:

$Ls = \sum_i [f_i * \log (f_i) + (1-f_i) * \log (1-f_i)]$ avec f_i fréquence observée pour l'intervalle i par exemple.

Ainsi, la déviance ne représente pas la part de variabilité expliquée par le facteur, mais la part d'accroissement de la vraisemblance du modèle en présence de ce facteur. Par conséquent, contrairement à la régression linéaire, où l'analyse de variance permet de déterminer la part de variation expliquée par un facteur, la part de déviance par rapport à la déviance totale ne représente pas exactement la part de variation expliquée par ce facteur. Ils doivent donc être maniés avec prudence et être complétés par d'autres analyses. Néanmoins, les déviances peuvent être utilisées en première approximation pour comparer l'effet moyen des différents facteurs de la même manière que le carré moyen pour une analyse de variance, en divisant la déviance par les degrés de liberté du facteur.

Tableau 18 : Comparaison des résultats de l'analyse du modèle linéaire mixte avec les marqueurs codominants ou dominants sur la variation de la fréquence de non-transmission (approche locus).

Sources de variation	ddl	Marqueurs codominants			Tous les marqueurs		
		Effet moyen (F)	p (%)	Ecart relatif par rapport à l'effet génotype (%)	Effet moyen (Déviance moyenne)	p (%)	Ecart relatif par rapport à l'effet génotype (%)
Génotype	1	41,5	<0,1	100	42,5		100
Génome	1	5,9	1,5	21	7	<1	16
Groupe de liaison	17	4,4	<0,1	11	3,1	<0,1	7
Locus	66	4	<0,1	9	3,9	<0,1	9
Génotype:GL	17	3	<0,1	7	3	<0,1	7
Génotype:Locus	66	1,6	<0,1	4	1,6	<1	4
Génotype:Génome	1	1,5	21	4	1,82	17	4

Tableau 19 : Influence du génotype sur le nombre moyen de réarrangements par individu. TNR = translocation non-réciproque.

Quantité mesurée	Type de marqueur	Descendants d'haploïdes <i>Darmor-bzh</i>	Descendants d'haploïdes <i>Yudal</i>	Statistique de test	p (%)	Ratio entre <i>Darmor-bzh</i> et <i>Yudal</i>
Nombre moyen de régions non-transmises par individu	Codominant	2,3	0,9	7,3	<0,01	2,5
	Dominant	3,07	1,08	9,7	<0,01	3
Nombre moyen de régions dupliquées par individu	Codominant + dominant	0,57	0,32	2,86	<1	1,7
TNR homéologues	Codominant + dominant	0,3	0,2	nd	nd	1,5

uniquement les marqueurs codominants (Tableau 18). Seul l'écart relatif entre les effets moyens change légèrement indiquant que les effets observés sont indépendants de la couverture du génome.

Afin de mieux en préciser l'effet ou la nature, je vais désormais revenir plus en détail sur chacun de ces différents facteurs.

III.2 EFFET DU GENOTYPE SUR LA FREQUENCE DE REMANIEMENT CHROMOSOMIQUE

III.2.1 Nombre de remaniements sur l'ensemble des deux populations

Comme on l'a vu au paragraphe III.1.1, il est possible d'analyser et de quantifier le nombre et la fréquence des remaniements chromosomiques de différentes façons (Figure 93). Quelle que soit la façon dont on procède, la fréquence ou le nombre moyen des réarrangements sont toujours très significativement plus élevés dans la descendance des haploïdes *Darmor-bzh* que dans celle des haploïdes *Yudal* (Tableau 19). Il y a ainsi en moyenne trois fois plus d'individus présentant des remaniements dans la descendance des haploïdes *Darmor-bzh* que dans la descendance des haploïdes *Yudal*. L'utilisation de marqueurs dominants accroît le nombre de remaniements détectés du fait d'une meilleure couverture du génome (75% vs 62%) et amplifie légèrement les différences entre les descendants d'haploïdes *Darmor-bzh* et *Yudal* (Tableau 19). J'ai par exemple détecté un total de 342 régions non transmises sur l'ensemble des groupes de liaison et des descendants d'haploïdes *Darmor-bzh* contre seulement 111 chez les descendants d'haploïdes *Yudal* (

Tableau 11). J'ai de même détecté un total de 433 points de cassure sur l'ensemble des intervalles chez les descendants d'haploïdes *Darmor-bzh* contre 170 chez les descendants d'haploïdes *Yudal* (Tableau 12). De telles différences existent aussi pour la fréquence de duplication de l'allèle du parent haploïde et la fréquence de recombinaison homéologue (estimée par la perte et la duplication simultanées des allèles du parent haploïde pour des locus homéologues), bien que leur ampleur semble moins importante (Tableau 19). Cela s'explique par le fait que je n'ai pu utiliser que 15 marqueurs (dont 11 codominants) couvrant 10% du génome pour détecter les duplications (Tableau 3). On peut donc penser que pour une couverture de génome identique, on observerait la même différence de fréquence de remaniement conduisant à la duplication et à la non-transmission de régions chromosomiques.

Ces différences de fréquence de remaniements entre les descendants d'haploïdes *Darmor-bzh* et *Yudal* se retrouvent à l'échelle des groupes de liaison et des locus. A l'exception des groupes N2, N14 (et N17) qui présentent des fréquences de remaniements sensiblement équivalentes dans

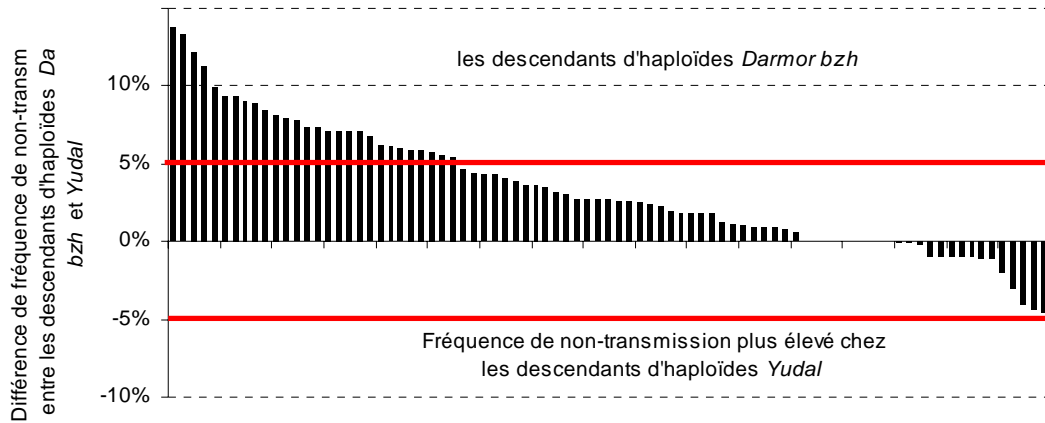


Figure 97 : Différence de fréquence de non-transmission entre les descendants d'haploïdes *Darmor bzh* pour les locus codominants. Le trait rouge indique la limite au delà de laquelle la différence de fréquence de non-transmission entre les descendants d'haploïdes *Darmor-bzh* et *Yudal* est significative.

Tableau 20 : Corrélation entre le nombre moyen de régions non-transmises et le nombre de points de cassure par individu dans les descendants d'haploïdes *Darmor-bzh* et *Yudal*.

Marqueurs	Approches	R ²	Intervalle de confiance à 95%	ddl	t	p(%)
Tous les marqueurs	Régions non-transmises	0,61	0,22-0,83	17	3,2	<1
	Points de cassure	0,57	0,16-0,81	17	2,8	<1
Marqueurs codominants	Régions non-transmises	0,62	0,23-0,83	17	3,2	<1
	Points de cassure	0,58	0,18-0,82	17	2,9	<1

Figure 98 : Répartition des individus en fonction du nombre de locus réarrangés chez les descendants d'haploïdes *Darmor-bzh* et *Yudal*.

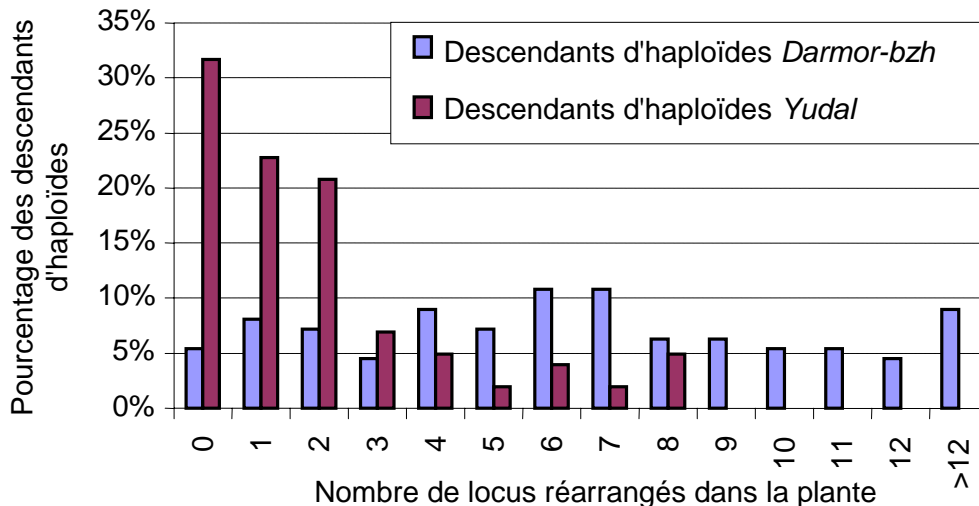


Tableau 21 : Amplitude de variation de la fréquence de remaniement pour les différentes approches entre les descendants d'haploïde *Darmor-zh* et *Yudal*.

	Descendants d'haploïdes <i>Darmor-bzh</i>		Descendants d'haploïdes <i>Yudal</i>	
	Minimum	Maximum	Minimum	Maximum
Proportion de locus réarrangés dans un individu (%)	0	18	0	8
Nombre de régions non-transmises dans un individu	0	9	0	5
Nombre de points de cassure dans un individu	0	13	0	6

les deux descendance et de N4 et N7 qui présentent des différences supérieures à la moyenne, il y a en moyenne pour tous les autres groupes de liaison trois fois plus de remaniements chez les descendants d'haploïdes *Darmor-bzh* que chez ceux de *Yudal* ; ces différences ne sont significatives que pour 11 des 19 groupes de liaisons. On peut constater que les fréquences de réarrangements sont significativement et positivement corrélées entre les deux descendance (Tableau 20) ; ainsi, les groupes de liaison N11, N12 ou N13 présentent les plus fort niveaux de remaniements chez les descendants d'haploïdes *Darmor-bzh* et *Yudal* alors que les groupes N16 et N18 comptent parmi ceux présentant le moins de réarrangements dans les deux descendance. De la même façon, $\frac{3}{4}$ des locus génotypés présentent une différence dans la fréquence de non-transmission de l'allèle du parent haploïde entre les descendance d'haploïdes *Darmor-bzh* et *Yudal* (Figure 97), cette différence étant significative pour $\frac{1}{3}$ d'entre eux qui sont tous localisés en position télomérique. Un certain nombre d'exceptions sont toutefois à noter. Ces exceptions ne peuvent être expliquées par d'éventuelles différences de couverture du génome puisqu'elles persistent même lorsqu'on utilise uniquement des marqueurs codominants (le degré de couverture est alors identique entre les descendants d'haploïdes *Darmor-bzh* et *Yudal*). L'exclusion des groupes de liaisons peu ou mal couverts (N15, N10) ne permet pas non plus d'éliminer ces différences de classement. Ainsi, les locus positionnés en haut de N14 (Brass063b) ou de N3 (CB10021a) sont significativement plus fréquemment réarrangés dans les descendants d'haploïdes *Yudal* que dans les descendants d'haploïdes *Darmor-bzh*. Ces exceptions contribuent à rendre l'interaction entre le génotype et les locus significative.

III.2.2 Nombre de remaniements par individu

Comme on l'a vu au chapitre II.3.2.2, la distribution du nombre chromosomes réarrangés par individu suit, dans les deux descendance, une loi de Poisson de paramètre 2,9 dans la descendance des haploïdes *Darmor-bzh* et 1 dans la descendance des haploïdes *Yudal* (Figure 83). L'absence de forte déviation par rapport à la loi de Poisson suggère que ces distributions sont principalement le fait du hasard et qu'elles reflètent assez fidèlement le nombre de réarrangements multiples qui surviennent au cours de la méiose des haploïdes *Darmor-bzh* et *Yudal* (peu ou pas de sélection à l'encontre des individus présentant un grand nombre de réarrangements). Les différences globales décrites au chapitre précédent se retrouvent aussi en terme de nombre d'individus possédant des remaniements chromosomiques multiples (Figure 98 ; Tableau 21). Ainsi, 80% des individus présentent plus de deux régions non-transmises chez les descendants d'haploïdes *Darmor-bzh*

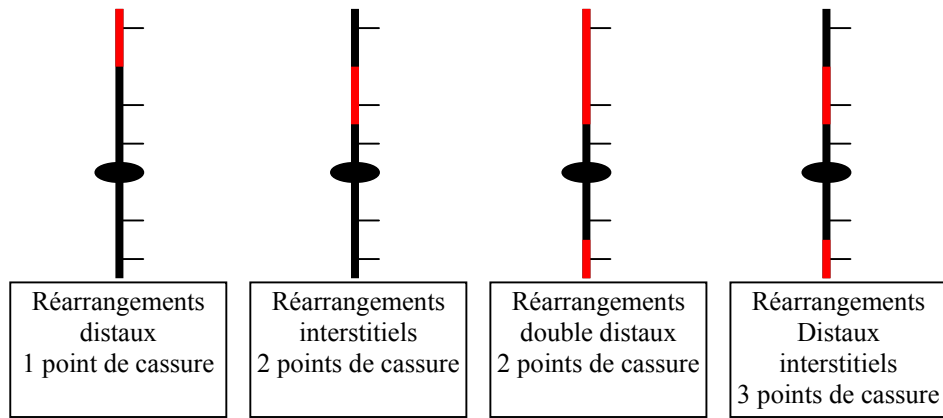


Figure 99 : Représentation schématique des différents types de réarrangements observés chez les descendants d'haploïdes. En noir, les régions où l'allèle du parent haploïde a été transmis pour tous les marqueurs génotypés. En rouge, les régions « perdues », où l'allèle du parent haploïde n'a pas été transmis pour les marqueurs génotypés.

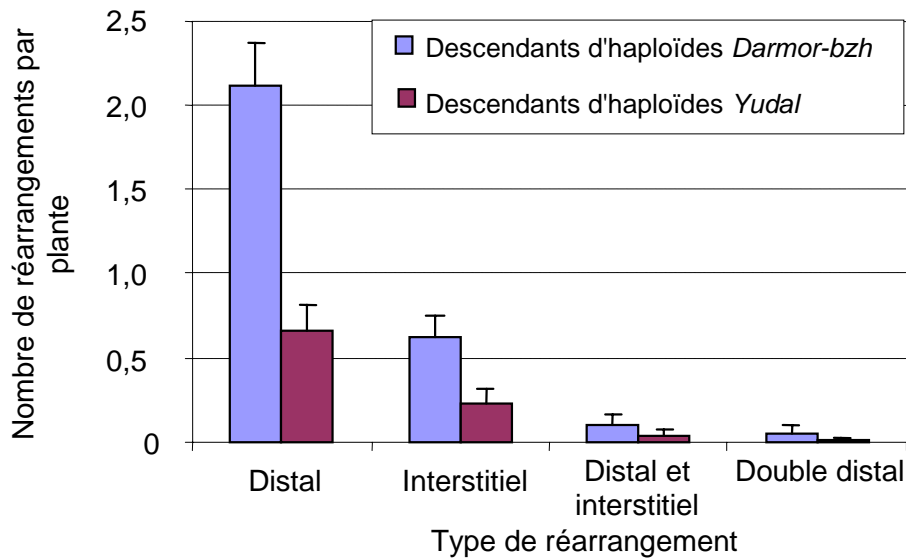


Figure 100 : Nombre moyen de régions non-transmises par plante selon leur type.

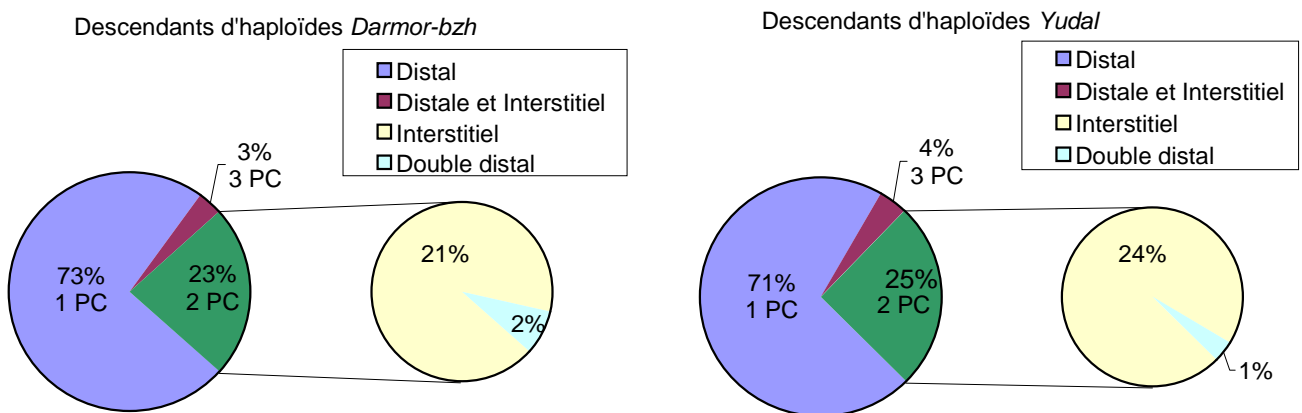


Figure 101 : Fréquence relative des différents types de réarrangement et du nombre de points de cassure (PC) générés sur les chromosomes chez les descendants des haploïdes *Darmor-bzh* et *Yudal*.

alors que c'est le cas de moins de 20% chez les descendants d'haploïdes *Yudal*. De même, 50% des descendants d'haploïdes *Darmor-bzh* ont plus de six locus simultanément réarrangés contre 7% des descendants d'haploïdes *Yudal* (Figure 98). Les individus possédant des remaniements multiples sont donc rares parmi les descendants d'haploïdes *Yudal* alors qu'ils sont fréquents chez les descendants d'haploïdes *Darmor-bzh*.

On constate que l'amplitude des variations du nombre de remaniements par individu est deux fois plus importante dans les descendants d'haploïdes *Darmor-bzh* que dans les descendants d'haploïdes *Yudal* (Tableau 21). Cette observation est parfaitement logique avec le fait que les deux distributions du nombre de chromosomes réarrangés par individu suivent une loi de Poisson pour laquelle on sait que la moyenne est égale à la variance.

III.2.3 Nature et taille des remaniements

Compte tenu des différences quantitatives observées entre les descendants d'haploïdes *Darmor-bzh* vs *Yudal*, on peut s'interroger sur l'existence de différences qualitatives, portant notamment sur la nature et la taille des réarrangements chromosomiques.

La typologie de l'ensemble des réarrangements observés dans les descendances des haploïdes de colza est résumée dans la Figure 99. La Figure 100 montre que les réarrangements distaux représentent près de 75% des réarrangements observés, le reste étant principalement composé de réarrangements interstitiels. Cette figure montre aussi que la répartition des réarrangements structuraux selon leur type est identique dans la descendance des haploïdes *Darmor-bzh* et *Yudal* ($\chi^2=0,76$, ddl=3, p=85% ; voir détail sur la Figure 101) alors que le nombre moyen de réarrangements distaux ou interstitiels est significativement plus élevé dans la descendance des haploïdes *Darmor-bzh* comparé à celle des haploïdes *Yudal*. Ceci indique que le génotype du parent haploïde a un effet sur la quantité de remaniements mais pas sur le type des remaniements générés au cours de la méiose des haploïdes.

Si on s'intéresse maintenant au nombre de points de cassure, on observe que la fréquence relative des groupes de liaison portant un, deux ou trois points de cassure est identique dans les deux descendances (Figure 101), et ce même si le nombre moyen de groupes de liaison portant un, deux ou trois points de cassure est plus élevé dans la descendance des haploïdes *Darmor-bzh* que dans celle des haploïdes *Yudal* (Figure 100). En supposant que ces remaniements sont principalement le fruit de crossing-overs, ce résultat suggère que l'aptitude à former des crossing-

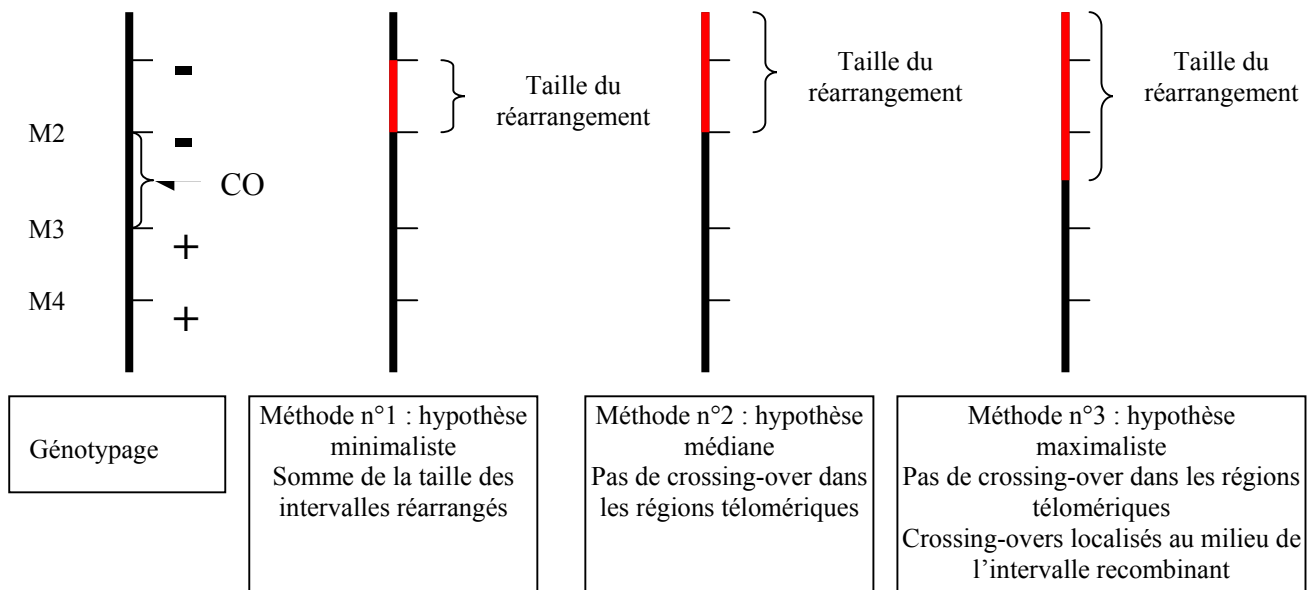


Figure 102 : Trois méthodes pour estimer la taille des réarrangements en fonction de la transmission (+) et de la non-transmission (-) des allèles du parent haploïde aux locus M1, M2, M3, M4. Afin de pouvoir comparer correctement la taille des réarrangements entre les descendants des haploïdes *Darmor-bzh* et *Yudal*, j'ai analysé dans un premier temps uniquement les marqueurs codominants, puis dans un second temps les marqueurs dominants afin préciser la taille des réarrangements en accroissant la densité de marqueurs.

Tableau 22 : Estimation de la taille des réarrangements chromosomiques par différentes méthodes

Type de marqueur	Méthode d'estimation de la taille des réarrangements	Nombre de réarrangements		Taille moyenne des réarrangements		Test de Student (variance inégale)		
		Descendants d'haploïdes <i>Darmor-bzh</i>	Descendants d'haploïdes <i>Yudal</i>	Descendants d'haploïdes <i>Darmor-bzh</i>	Descendants d'haploïdes <i>Yudal</i>	t	ddl	p (%)
Codominant	Méthode n°1	255	93	15	8	2,8	225	0,3
	Méthode n°2			35	34	1,65	164	24
	Méthode n°3			48	46	0,45	161	32
Codominant et dominant	Méthode n°1	342	111	15	8	3,72	297	0
	Méthode n°2			26	18	2,89	198	0,4
	Méthode n°3			38	30	2,6	195	1

overs multiples est indépendante du nombre moyen de crossing-overs par méiose. Ainsi, tandis que la probabilité de former un crossing-over sur groupe de liaison est trois fois plus élevée chez les haploïdes *Darmor-bzh* que chez ceux de *Yudal* (11% vs 4%; $\chi^2=81$; ddl=1 ; p<0,01%), la probabilité de faire un second (32% vs 37%; $\chi^2=0,27$; ddl=1; p=60%), puis un troisième crossing-over (33% vs 32%; $\chi^2=0$; ddl=1; p=97%) sur ce même groupe de liaison est identique chez les deux génotypes. Autrement dit, une fois que deux chromosomes sont "engagés" dans un crossing-over, leur aptitude à former d'autres crossing-overs ne dépend plus du génotype.

En ce qui concerne la taille des réarrangements, j'ai observé qu'elle était en moyenne significativement plus élevée dans les descendants d'haploïdes *Darmor-bzh* que dans les descendants d'haploïdes *Yudal*, et ce quelle que soit la méthode employée pour la mesurer (

Figure 102 et Tableau 22). Ces différences globales résultent uniquement des différences observées dans la taille moyenne des réarrangements distaux (35 cM vs 22 cM; t=2,8 ; ddl=317 ; p<1%), la taille des réarrangements interstitiels n'étant pas significativement différente entre les deux descendances (5,7 vs 6 ; t=0,16 ; ddl=63 ; p=43%). Les différences de taille des réarrangements distaux dépendant uniquement de la position du point de cassure sur le groupe de liaison, ce résultat indique que les points de cassure sont en moyenne localisés en position plus distale chez les haploïdes *Yudal* que chez les haploïdes *Darmor bzh*.

En me basant sur la taille génétique des régions non-transmises, j'ai enfin pu estimer que 0,5% (Méthode n°1:Figure 102) à 2% (Méthode n°2: Figure 102) du génome des haploïdes *Yudal* n'est pas transmis à leur descendance, contre respectivement 1,5% à 5% pour les haploïdes *Darmor-bzh*. Si on prend en compte les régions dupliquées (x 2) et les translocations réciproques (x 2) dans le calcul, on s'attend à ce que 2 à 7% du génome des haploïdes *Yudal* et 5 à 20% du génome des haploïdes *Darmor-bzh* soient réarrangés au cours de la méiose des-dits haploïdes.

III.2.4 Conclusion

La méiose des haploïdes *Darmor-bzh* génère à peu près trois fois plus de remaniements que celle des haploïdes *Yudal*. Mes résultats indiquent en outre que les haploïdes *Darmor-bzh* et ceux de *Yudal* diffèrent surtout par leur aptitude à mettre en place un premier crossing-over entre une paire de chromosomes donnés, mais qu'ils présentent la même chance de former des doubles et triples crossing-overs une fois ce premier crossing-over réalisé.

Tableau 23 : Comparaison des fréquences de remaniement (non-transmission) entre les génomes A et C.

Approche	Génome C	Génome A	Statistique de test	p (%)	Ratio
Fréquence moyenne de non-transmission par locus	4,10%	2,60%	55,8	<0,01	1,6
Nombre moyen de régions non-transmises par individu	1,2	0,9	2,2	<5	1,3
Nombre moyen de points de cassure par individu	1,5	1,2	2,1	<5	1,25

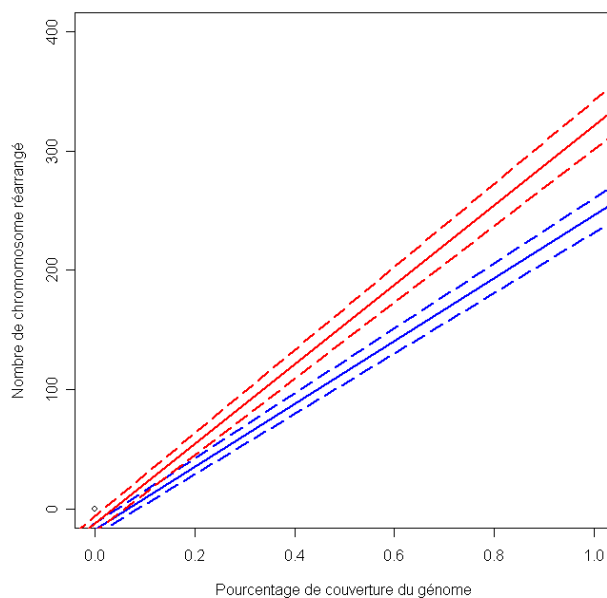


Figure 103 : Comparaison du nombre de chromosomes réarrangés en fonction de la couverture du génome dans les génomes A (bleu) et C (rouge). En rouge, la droite de régression linéaire entre le pourcentage de couverture du génome C et le nombre de chromosomes réarrangés avec l'intervalle de confiance de la droite à 99,9% en pointillés. En bleu, la droite de régression linéaire entre le pourcentage de couverture du génome A et le nombre de chromosomes réarrangés avec l'intervalle de confiance de la droite à 99,9% en pointillés.

III.3 EFFET DU GENOME A OU C SUR LA FREQUENCE DE REMANIEMENT CHROMOSOMIQUE

Comme nous l'avons vu au chapitre III.1.3, le génome est, après le génotype, le facteur qui influence le plus la variation de la fréquence des remaniements chromosomiques (non-transmission de l'allèle du parent haploïde à un locus, régions non-transmises, points de cassure) chez les descendants d'haploïdes.

III.3.1 Analyse globale de la fréquence de régions non transmises

Quels que soient l'approche ou le modèle (voir chapitre III.1.2) utilisés, j'ai observé que les régions du génome C sont plus fréquemment non-transmises que celles du génome A (Tableau 23). Cette tendance est d'autant plus surprenante qu'il y a dix chromosomes du génome A et neuf chromosomes du génomes C. Si le nombre de régions non-transmises avait été plus ou moins proportionnel au nombre de chromosomes, on aurait pu s'attendre à ce que la fréquence de perte dans le génome A soit plus élevée que dans le génome C.

L'asymétrie entre les génomes A et C pour la fréquence des régions chromosomiques non-transmises dans les descendants d'haploïdes ne résulte en aucune manière d'une différence de couverture ou de densité de marqueurs au profit du génome C. En effet, les marqueurs couvrent 77% du génome A contre 73% du génome C et il y a un marqueur tous les 12 cM dans le génome A comme dans le génome C. Par ailleurs, l'analyse de la relation entre la couverture du génome et le nombre de chromosomes réarrangés par la méthode décrite au §II.3.2.3 montre que le nombre de chromosomes réarrangés par pourcent de génome couvert est significativement plus élevé dans le génome C que dans le génome A (Figure 103). Ainsi, le nombre moyen de chromosomes réarrangés par individu extrapolé sur la totalité du génome C est significativement plus élevé que dans le génome A (1,43 à 1,61 vs 1,09 à 1,21 ; intervalle de confiance avec un risque α de 0,01%).

On peut d'ailleurs observer la même asymétrie dans la fréquence de non-transmission des allèles du parent haploïde pour des locus exactement homéologues (locus amplifiés par le même couple d'amorces et se cartographiant dans des régions homéologues), les allèles aux locus du génome C étant plus fréquemment non-transmis que ceux aux locus du génome A. Ainsi, les fréquences de non-transmission aux locus CB10081a et OI12F11a (haut de N11 ; génome C) sont

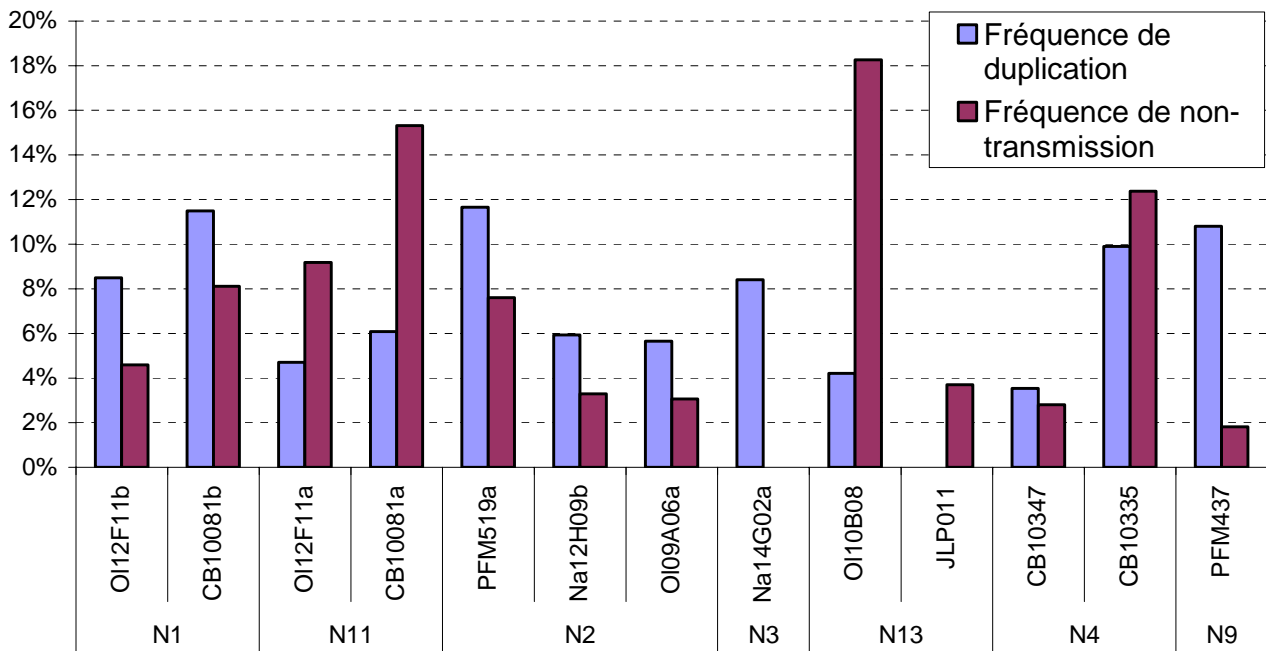


Figure 104 : Asymétrie des fréquences de non-transmission et de duplication dans les descendants d'haploïdes *Darmor-bzh* aux différents locus étudiés. La fréquence de duplication est systématiquement plus élevée que la fréquence de non-transmission dans le génome A (N1,N2,N9), excepté pour N4, tandis que la fréquence de non-transmission est systématiquement plus élevée que la fréquence de duplication dans le génome C (N11, N13).

deux fois plus élevées qu'aux locus exactement homéologues CB10081b et O112F11b (haut de N1 ; génome A) dans les descendants d'haploïdes *Darmor-bzh*. De la même façon, j'ai observé que la fréquence de non-transmission est quatre fois plus élevée au locus en haut de N13 (O110B08) qu'au locus en haut de N3 (CB10021a) et qu'elle est trois fois plus élevée en haut de N18 (JLP042) qu'en haut de N9 (CZ0B69186) dans les descendants d'haploïdes *Darmor-bzh*. Toutefois, les différences de fréquence de régions non-transmises entre les génomes A et C ne concernent pas toutes les régions du génome. En effet, pour certains bras chromosomiques homéologues comme le bas de N1 et celui de N11 ou le haut N2 et celui de N12, la fréquence de non-transmission est d'un niveau similaire entre les génomes A et C.

III.3.2 Analyse comparée avec la fréquence des régions dupliquées

Il est important de noter que cette étude a porté exclusivement sur la non-transmission de régions chromosomiques et non sur leur duplication. Les régions pour lesquelles j'ai pu comparer les fréquences de duplication et de non-transmission montrent que si les régions du génome C (N11, N13) sont préférentiellement « non-transmises », les régions homéologues du génome A sont, quant à elles, préférentiellement « dupliquées » (N1, N2, N3, N9) (Figure 104). J'ai ainsi détecté approximativement trois fois plus de TNR homéologues du haut de N1 (génome A ; dupliqué) sur le haut de N11 (génome C ; non-transmis) que de TNR homéologues du haut de N11 (génome C ; dupliqué) sur le haut de N1 (génome A ; non-transmis) (20 vs 6 TNR homéologues). De la même façon, j'ai détecté plus de translocations du génome A sur le génome C que de translocations du génome C sur le génome A pour les paires d'homéologues (N3-N13) et (N9-N18). La même tendance existe également pour les réarrangements ne dérivant pas d'un événement de recombinaison homéologue. Le haut de N11 est ainsi approximativement trois fois plus fréquemment non-transmis que le haut de N1 (8 vs 3).

L'ensemble de ces observations suggère fortement que l'asymétrie entre les génomes A et C pour la fréquence des régions chromosomiques non-transmises dans les descendants d'haploïdes résulte d'une différence dans la transmission des TNR générées par la recombinaison selon que les régions transloquées appartiennent au génome A ou C.

Tableau 24 : Comparaison de la taille moyenne des réarrangements entre les génomes A et C dans les descendants des haploïdes *Darmor-bzh* et *Yudal*. La taille des réarrangements a été calculée par la méthode n°2 (§II.2), c'est-à-dire en considérant que les réarrangements se poursuivaient jusqu'au télomère et que le point de cassure était situé au dernier locus réarrangé.

Descendants d'haploïdes	Taille moyenne des régions non-transmises dans le génome A (cM)	Taille moyenne des régions non-transmises dans le génome C (cM)	ddl	Statistique de test t	p (%)
<i>Darmor-bzh</i>	26	29	322	0,9	37
<i>Yudal</i>	16	21	102	1	31

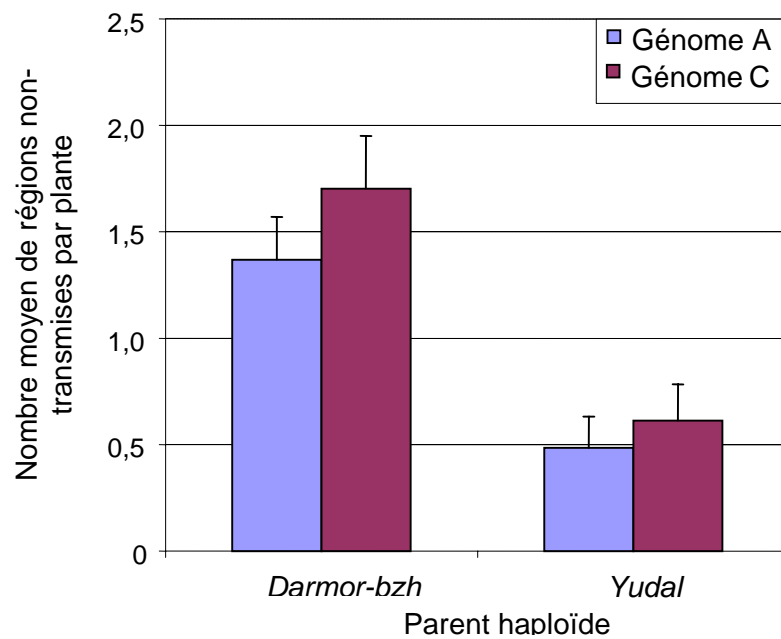


Figure 105 : Comparaison du nombre moyen de réarrangements conduisant à la perte d'une région chromosomique entre les génome A et C chez les descendants d'haploïdes *Darmor-bzh* et *Yudal*.

Tableau 25 : Comparaison des fréquences de remaniement entre les génomes A et C dans les descendants d'haploïdes *Darmor-bzh* et *Yudal*.

Approches	<i>Darmor-bzh</i>		<i>Yudal</i>		Ratio entre les génomes A et C <i>Darmor bzh</i>	Ratio entre les génomes A et C <i>Yudal</i>
	Génome A	Génome C	Génome A	Génome C		
Fréquence de non transmission	5,70%	4,10%	1,90%	1,10%	1,4	1,7
Nombre moyen de réarrangements par individus	1,9	1,5	0,6	0,5	1,3	1,2
Nombre moyen de crossing-overs par individu	1,7	1,4	0,6	0,5	1,2	1,2

III.3.3 Analyse qualitative des remaniements

Concernant la taille des régions non-transmises, j'ai pu montrer qu'elle n'est pas significativement différente entre les génomes A et C (Tableau 24). Les différences de remaniement entre les génomes A et C ne résultent donc pas *a priori* de l'élimination préférentielle d'événements de grande taille dans le génome A par rapport au génome C.

III.3.4 Interaction avec le génotype

Nous avons vu dans le chapitre III.1.3 qu'il n'y a pas d'interaction entre l'effet du génome et celui du génotype. L'asymétrie dans la transmission des remaniements chromosomiques conduisant à la perte de régions chromosomiques entre les génome A et C est en effet du même ordre de grandeur dans les descendants d'haploïdes *Darmor-bzh* et dans ceux de *Yudal* (Figure 105). On peut toutefois constater que, tandis que les différences sont significatives entre les génome A et C chez les descendants d'haploïdes *Darmor-bzh* quels que soit l'approche ou le modèle considérés, la différence n'est statistiquement significative que pour la fréquence de non-transmission chez les descendants d'haploïdes *Darmor-bzh* ($\chi^2=17,3$; ddl=1; $p<0,01\%$) (Tableau 25). Il est vraisemblable qu'il s'agit là d'un problème de puissance lié au plus faible nombre de régions non-transmises détectées chez les descendants d'haploïdes *Yudal* (Tableau 11).

III.3.5 Conclusion

Les résultats présentés dans cette partie montrent clairement que les régions du génome C sont plus fréquemment perdues que les régions du génome A. Cette asymétrie conduit à l'accroissement de la part du génome A au détriment du génome C dans les descendants d'haploïdes. J'ai ainsi pu estimer, compte tenu de la taille moyenne des TNR chez les descendants des haploïdes *Darmor-bzh* et *Yudal* (§III.2.3) que 0,1 à 0,4% du génome C est remplacé par du génome A chez les descendants d'haploïdes *Yudal*. Ce taux atteint 0,3% à 1% chez les descendants d'haploïdes *Darmor-bzh*. Il s'agit vraisemblablement de sur-estimations car seule une partie des régions homéologues des génomes A et C sont non-transmises/dupliquées de façon asymétriques.

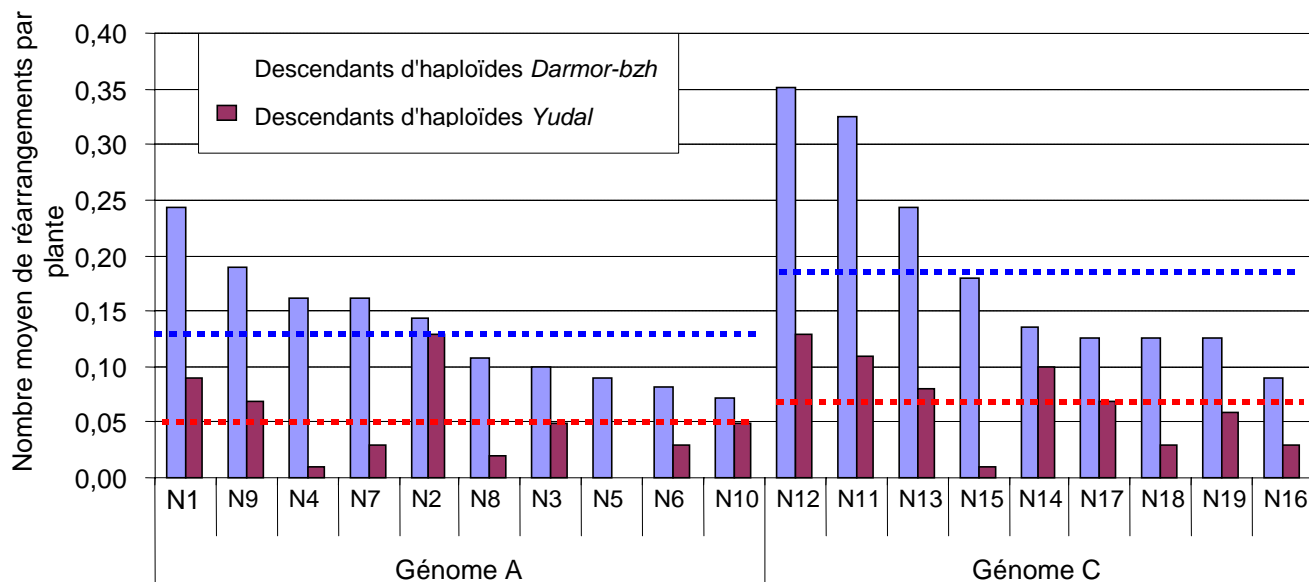


Figure 106 : Variation du nombre moyen de réarrangements dans les descendants d'haploïdes *Darmor-bzh* et *Yudal*. En trait pointillé bleu et rouge, respectivement le nombre moyen de réarrangements par individu attendu par groupe de liaison dans les génomes A et C chez les descendants d'haploïdes *Darmor-bzh* et *Yudal*.

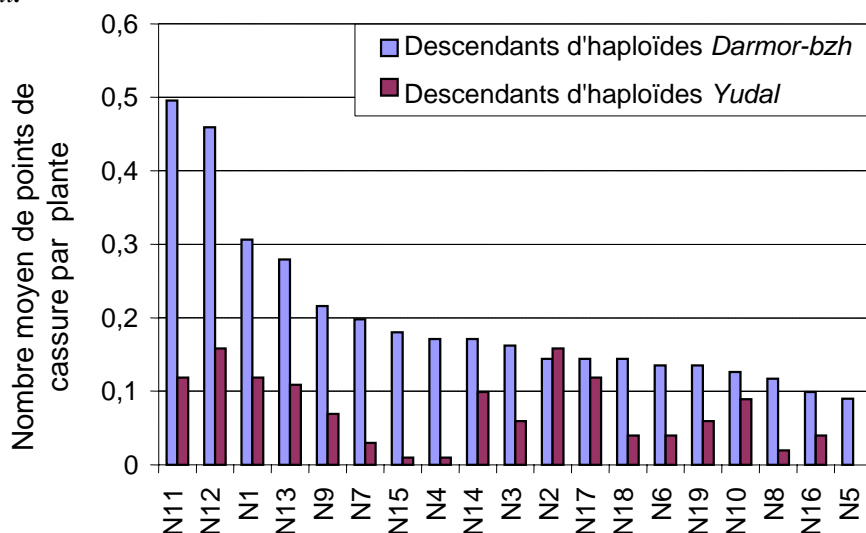


Figure 107 : Variation du nombre moyen de points de cassure par individu dans les descendants d'haploïdes *Darmor-bzh* et *Yudal*

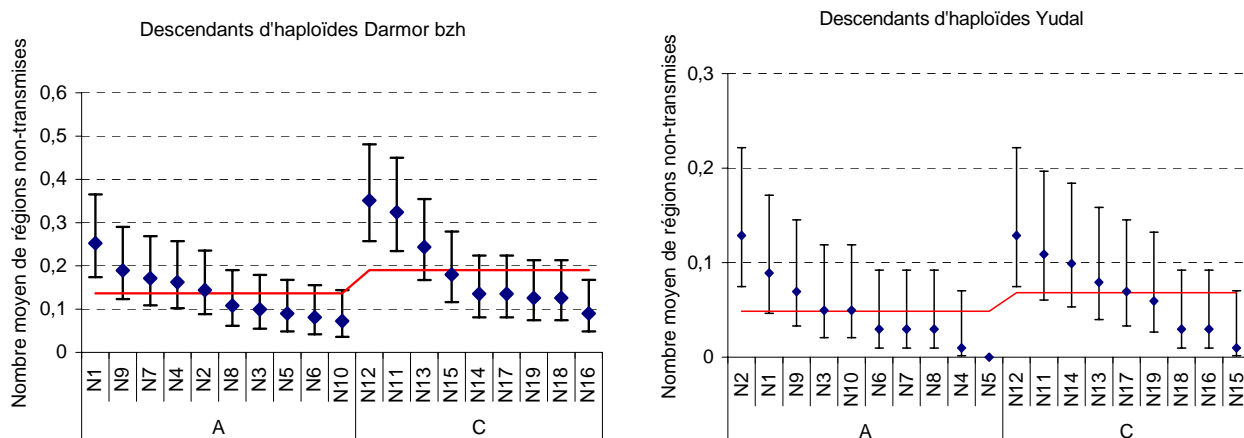


Figure 108: Comparaison du nombre moyen de régions non-transmises avec le nombre moyen de région attendu dans chacun des génomes (trait rouge) chez les descendants d'haploïdes *Darmor-bzh* (A) et *Yudal* (B). La barre d'erreur représentent l'intervalle de confiance à 95% calculée d'après les coefficients obtenus pour chaque groupes de liaisons dans le modèle linéaire généralisé.

III.4 DES VARIATIONS IMPORTANTES SELON LES GROUPES DE LIAISON

Au-delà de l'effet des génomes A et C, l'analyse des différents modèles décrits dans le chapitre III.1.2 a montré (i) que le facteur « groupe de liaison » avait un effet très significatif sur la fréquence de réarrangement dans les descendants d'haploïdes et (ii) que cet effet était différent selon le génotype.

III.4.1 Analyse des variations quantitative et qualitative des remaniements entre les groupes de liaison

III.4.1.1 *Variation quantitative*

III.4.1.1.1 Analyse globale

Les Figure 106 et Figure 107 montrent clairement que le nombre moyen de réarrangements et/ou de point d'échanges varie de façon importante d'un groupe de liaison à l'autre. Ainsi, le nombre moyen de régions non-transmises par individu varie entre 0,07 (N10) et 0,35 (N12) dans les descendants d'haploïdes *Darmor-bzh* et entre 0 (N5) et 0,13 (N12) dans les descendants d'haploïdes *Yudal* (Figure 107). De la même façon, le nombre moyen de points de cassures par individu varie entre 0,09 (N5) et 0,5 (N11) dans les descendants d'haploïdes *Darmor-bzh* et entre 0 (N5) et 0,16 (N2, N12) dans les descendants d'haploïdes *Yudal* (Figure 108).

On peut observer que le nombre moyen de régions non-transmises et de points de cassure par individu varient de façon continue entre les différents groupes de liaison au sein du génome A et C que ce soit chez les descendants d'haploïdes *Yudal* et *Darmor-bzh* (Figure 108). Des tests de comparaisons multiples montrent que les groupes de liaisons du génome A ainsi que ceux du génome C présentent des aptitudes aux réarrangement significativement différentes chez les

Tableau 26: Résultat des tests de comparaison multiple entre les groupes de liaison pour les régions non-transmises chez les descendants d'haploïdes *Darmor-bzh*. Les groupes de liaison ont été analysés séparément au sein de chaque génome.

Génome	Groupes de liaison	Nombre moyen de région non-transmises	Erreur Standard	Regroupement des groupes de liaisons fondés sur les probabilités ajustés pour les comparaisons multiples entre			Aptitude à la recombinaison
A	N1	0,25	0,03446	A			Elevée
	N9	0,19	0,03446	A	B		Intermédiaire
	N7	0,17	0,03446	A	B		Intermédiaire
	N4	0,16	0,03446	A	B		Intermédiaire
	N2	0,14	0,03446	A	B		Intermédiaire
	N8	0,11	0,03446		B		Faible
	N3	0,10	0,03446		B		Faible
	N5	0,09	0,03446		B		Faible
	N6	0,08	0,03446		B		Faible
C	N12	0,35	0,03991	A			Elevée
	N11	0,32	0,03991	A			Elevée
	N13	0,24	0,03991	A	B		Elevée
	N14	0,14	0,03991		B	C	Intermédiaire
	N17	0,14	0,03991		B	C	Intermédiaire
	N18	0,13	0,03991		B	C	Intermédiaire
	N19	0,13	0,03991		B	C	Intermédiaire
	N16	0,09	0,03991			C	Faible
	N10						

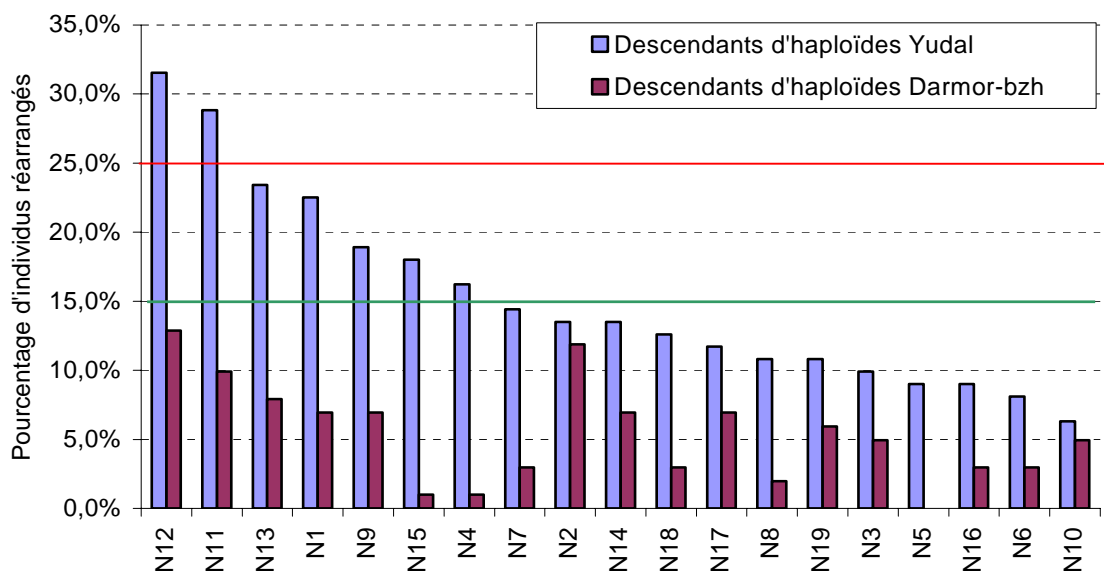


Figure 109 : Variation du pourcentage d'individus réarrangés par groupe de liaison dans les descendants des haploïdes *Darmor-bzh* et *Yudal*. Le trait rouge représente le pourcentage d'individus réarrangés attendu si les chromosomes étaient systématiquement appariés. Le trait vert représente la barre minimale de l'intervalle.

descendants d'haploïdes *Darmor-bzh* (Tableau 26) alors que seuls les les groupes de liaison du génome A présentent des fréquences de remaniements significativement différentes chez les descendants d'haploïdes *Yudal*. On peut estimer globalement que :

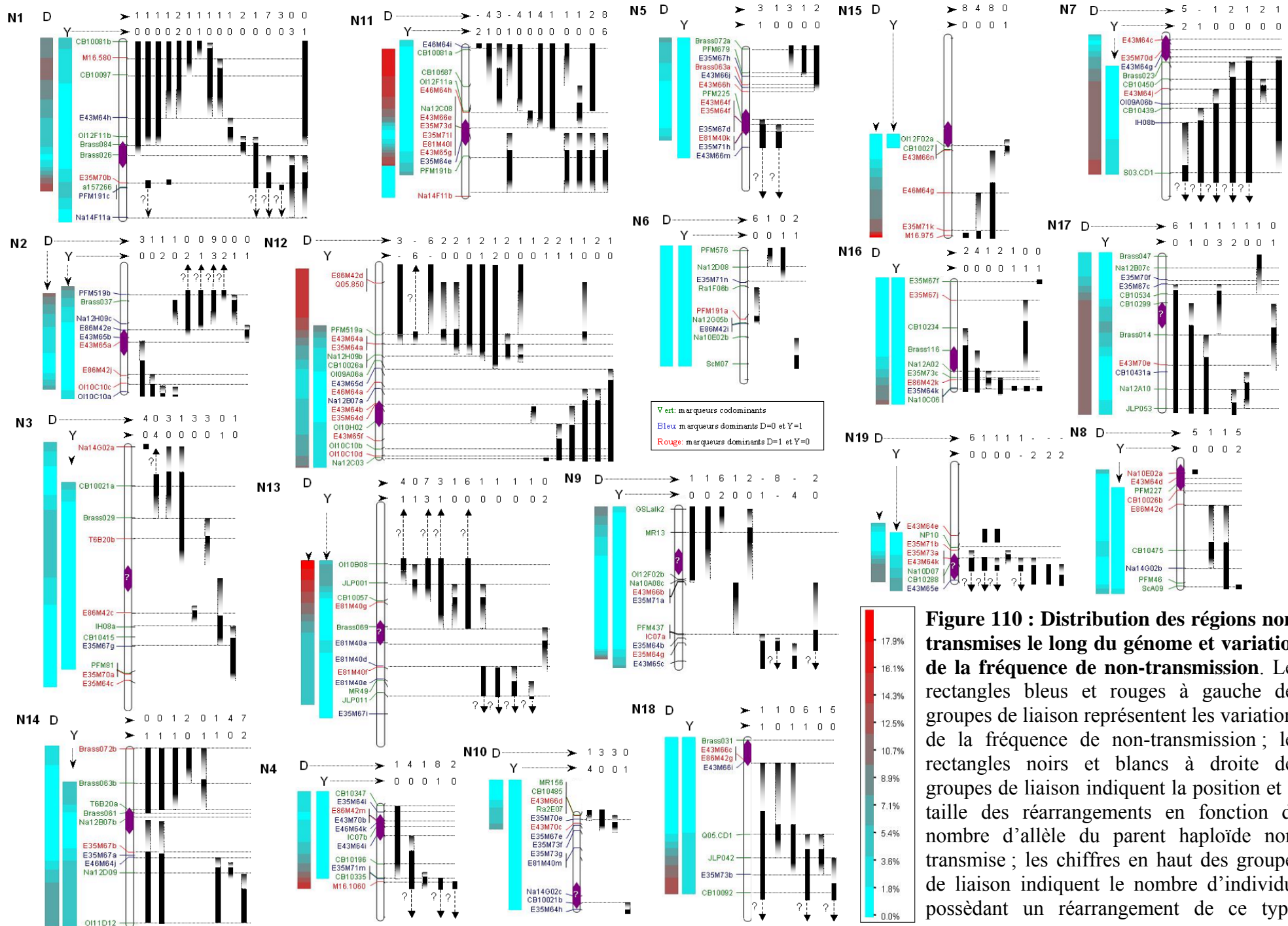
- Les groupes de liaison N1, N11 et N12, voire N9, sont remaniés plus fréquemment qu'attendu chez les descendants d'haploïdes *Darmor-bzh* tandis que le groupe de liaison N16 présente moins de remaniements qu'attendu dans cette même descendance.
- Le groupe de liaison N2 (voire N12) est remanié plus fréquemment qu'attendu chez les descendants d'haploïdes *Yudal*

On peut globalement constater que les plus forts contrastes sont observés chez les descendants d'haploïdes *Darmor-bzh* (en particulier entre les groupes de liaison du génome C) alors qu'il y a peu de variations de la fréquence de remaniements entre groupes de liaisons chez les descendants d'haploïdes *Yudal*.

III.4.1.1.2 Bivalents « systématiques »

Comme le montre la Figure 109, tous les groupes de liaison ont été remaniés au moins une fois dans chacune des deux descendance ; le groupe de liaison N5 constitue la seule exception à cette règle dans les descendants d'haploïdes *Yudal*. Ce résultat suggère que tous les chromosomes sont susceptibles de recombiner au cours de la méiose des haploïdes de colza, et notamment chez *Yudal* qui présente pourtant un plus grand nombre d'univalents en MI.

On peut s'interroger sur la présence de chromosomes qui recombineraient systématiquement au cours de la méiose des haploïdes. La Figure 109 montre que la proportion d'individus réarrangés n'est pas significativement différente de 25% pour les groupes de liaison N1, N9, N11, N12, N13 et N15 chez les descendants d'haploïdes *Darmor-bzh*, ce qui suggère que les chromosomes correspondant à ces 6 groupes de liaison sont systématiquement engagés dans un crossing-over au cours de la méiose des haploïdes *Darmor-bzh* (Cf annexe, Tableau 42). Il est possible que ce soit aussi le cas pour les chromosomes correspondant aux de liaison N2 et N5 ; sur ces deux groupes, les régions qui sont homéologues à celles présentant les plus fort taux de remaniements sur N12 et N15 ne sont en effet pas couvertes de marqueurs. J'ai en revanche observé que la proportion d'individus réarrangés est significativement inférieure à 25% pour l'ensemble des groupes de liaisons chez les descendants d'haploïdes *Yudal* (Figure 109). Il semblerait donc qu'aucun chromosome ne recombine systématiquement au cours de la méiose des haploïdes *Yudal* (Cf annexe, Tableau 42).



III.4.1.2 Variation qualitative

Comme on l'a vu au chapitre III.2.3, il existe une grande diversité de remaniements chez les descendants des haploïdes *Darmor-bzh* et *Yudal*.

La Figure 110 montrent que la nature des remaniements (interstitiels, distaux) varie d'un groupe de liaison à l'autre, que ce soit dans les descendants d'haploïdes de *Darmor-bzh* ou dans ceux de *Yudal* (Cf annexe, Figure 157). Ainsi, selon le groupe de liaison considéré, la proportion de réarrangements occasionnant deux points de cassure sur un groupe de liaison varie de 0% à 72% du nombre total de réarrangements (Cf annexe, Figure 156). Par contre, les réarrangements occasionnant trois points de cassure sur un seul et même groupe de liaison représentent 0% à 10% des réarrangements selon le groupe de liaison (Cf annexe, Figure 158). On peut également observer que la présence simultanée de deux régions non-transmises sur un même groupe de liaison (double distaux et distal+interstitiel) est relativement peu fréquente et qu'elle ne concerne que certains groupes de liaison : N1, N11, N2, N12, N14, N13. Etant donné que ces différents types de réarrangements sont *a priori* générés durant la méiose des haploïdes par de simples (remaniements distaux), doubles (remaniements interstitiels et double distaux) ou des triples (remaniements distaux + interstitiels) crossing-overs, ces résultats suggèrent que les fréquences relatives de simples, doubles, et triples crossing-overs varient d'un groupe de liaison à l'autre.

J'ai cherché à comprendre si ces différences sont le simple reflet de différences dans le nombre moyen de points de cassure par groupe de liaison ou si au contraire, certains groupes de liaison présentent plus de remaniements multiples qu'attendu par hasard. On peut d'abord observer qu'il y a une légère tendance à ce que les réarrangements occasionnant plusieurs points d'échange se réalisent de façon privilégiée sur les groupes de liaison présentant les plus fortes fréquences de remaniements. C'est notamment le cas des groupes de liaison N1, N11 ou N12 chez les descendants d'haploïdes *Darmor-bzh* ou du groupe de liaison N11 chez les descendants d'haploïdes *Yudal*. Cette règle générale souffre bien sûr d'exceptions. On peut ainsi noter le groupe de liaison N12 qui présente de nombreux réarrangements chez les descendants d'haploïdes *Yudal* parmi lesquels très peu s'accompagnent de plus d'un point de cassure. Réciproquement, les groupes de liaison N3 et N7 chez les descendants d'haploïdes *Darmor-bzh* présentent une plus forte proportion de réarrangements générés par des double crossing-overs qu'attendu compte tenu de leur taux de remaniement moyen.

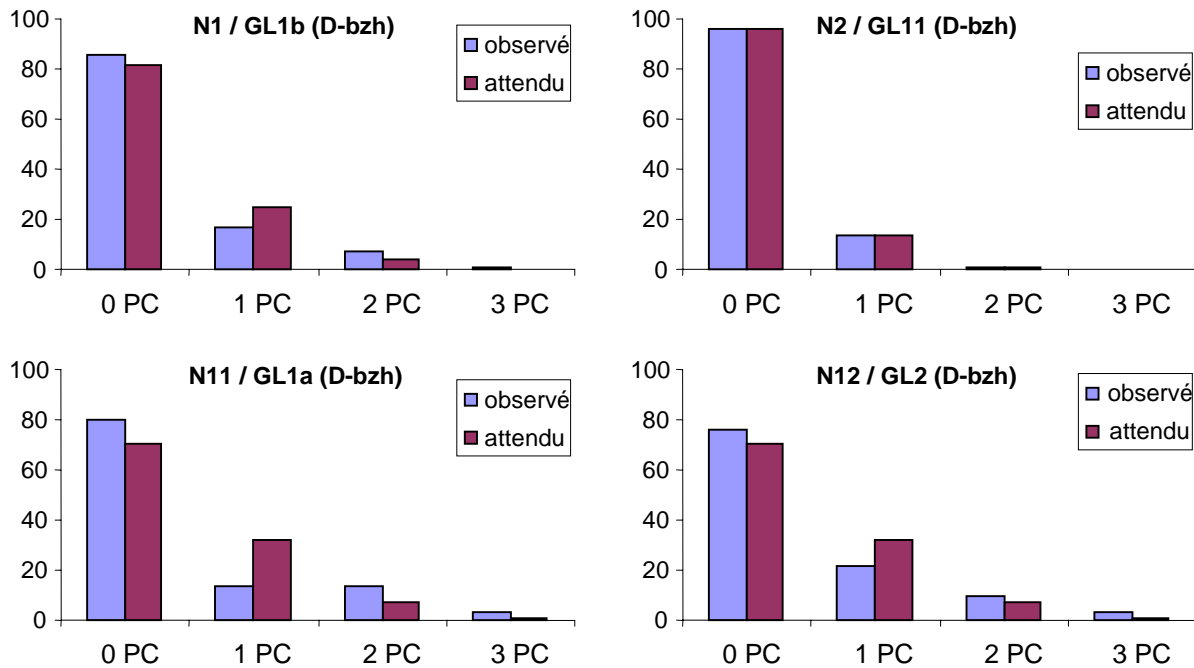


Figure 111 : Comparaison du nombre de points de cassure observé et attendu sur quatre groupe de liaison différents chez les descendants d'haploïdes *Darmor-bzh*. Il est possible de calculer la proportion attendue d'individus possédant i points de cassure sur un groupe de liaison donné avec un nombre moyen de points de cassure par individus de m si l'on considère que les points de cassure sont distribués selon une loi de Poisson : $F(X=i) = e^{-m} * m^i / i!$, avec m nombre moyen de points de cassure par individus sur ce groupe de liaison et i nombre de points de cassure sur le groupe de liaison.

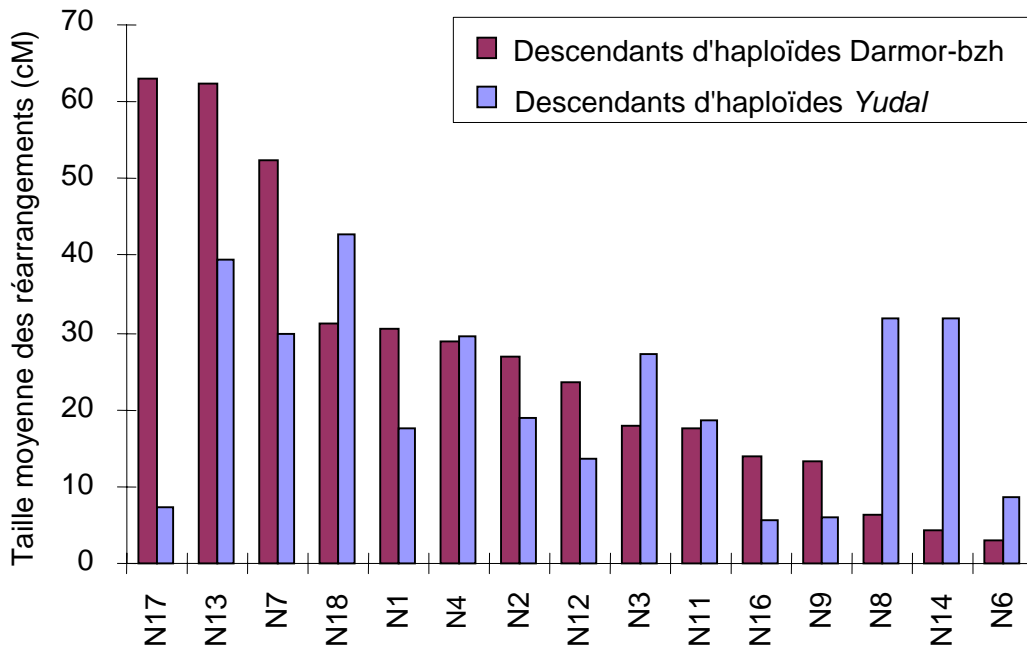


Figure 112 : Variation de la taille moyenne des réarrangements en fonction du groupe de liaison

J'ai également comparé le nombre d'individus présentant 0, 1, 2 ou 3 points de cassure pour chaque groupe de liaison et dans chaque descendance par rapport au nombre d'individus attendu dans ces différentes classes compte tenu du nombre moyen de points de cassure mesuré sur ce groupe de liaison et dans cette descendance. Comme le montre la Figure 111, les distributions observée et attendue n'apparaissent pas significativement différentes, pour aucun des groupes de liaison et dans aucune des descendances. Bien que les tests soient non-significatifs on observe néanmoins qu'il y a presque systématiquement plus d'individus présentant deux ou trois points de cassure sur un groupe de liaison qu'attendu par hasard. D'ailleurs, lorsqu'on compare les distributions observée et attendue du nombre d'individus présentant 0, 1, 2 ou 3 points de cassure par groupe de liaison cumulés sur l'ensemble du génome, on constate que les remaniements multiples sont significativement plus fréquents qu'attendus par hasard chez les descendants des haploïdes *Darmor-bzh* (Test de Fisher, $p < 0,01\%$) et *Yudal* (Test de Fisher, $p < 0,01\%$). Il semblerait donc que les variations observées entre groupes de liaison dans les fréquences des simples, doubles et triples points de cassure reflètent majoritairement des différences dans le nombre moyen de crossing-overs par groupe de liaison, et qu'elles sont accrues par un léger excès de crossing-overs multiples.

De la même manière, on peut observer que la taille moyenne des régions non-transmises varie fortement d'un groupe de liaison à l'autre (Figure 112). Elle varie de 3 cM (N6) à 63 cM (N13) en moyenne chez les descendants d'haploïdes *Darmor-bzh* et entre 5 cM (N19) et 42 cM (N18) dans la descendance des haploïdes *Yudal*. Si on compare maintenant la taille maximale des régions non-transmises sur chacun des groupes de liaisons, on constate que les régions non-transmises peuvent couvrir la quasi-totalité de certains groupes de liaison (N1, N11, N14, N7, N17) ou au contraire ne représenter qu'une très faible part du groupe de liaison (N10, N16) (Figure 112).

Tableau 27 : Effet des facteurs génétiques et structuraux sur la taille des réarrangements.

Modèle :					
$Taille_{ijkl} \sim \text{Génotype}_i + \text{Génome}_j + (\text{Génome :GL})_{jk} + (\text{Génotype :Génome :GL})_{ijk} + \varepsilon_{ijkl}$					
ε_{ijkl} suit une loi normale					
Résultat de l'analyse de variance du modèle					
Source de variation	Somme des carrés des écarts	Carré moyen	ddl	F	p (%)
Génotype	5173	5173	1	9,3	<0,01
Génome	1284	1284	1	2,3	12
Génome :GL	77379	4552	17	8,2	<0,01
Génotype :Génome :GL	52905	3112	17	5,6	<0,01
Résiduelle	217704	557	391		<0,01

Tableau 28 : Effet de la synténie sur la fréquence de remaniement. Analyse par un modèle linéaire généralisé.

Modèle:			
$\log(\text{TNR}_{ijk}) = \text{Génotype}_i + \text{Synténie}_j + (\text{Génotype} * \text{Synténie})_{ij} + \varepsilon_{ijk}$ avec $i = \text{génotype}$; $j = \text{synténie}$			
Source de variation	Déviante	ddl	p (%)
Génotype	103	1	<0,01
Génome	12	1	<0,01
Synténie	41	2	<0,01
Génotype*Synténie	0,1	2	96
Résiduelle	1908	4022	

L'analyse par régression linéaire de la relation entre la taille des réarrangements (variable à expliquer) et les différentes sources de remaniement contrôlées dans mon expérience (voir III.1.1.2) confirme qu'il existe un fort effet du groupe de liaison sur la taille des réarrangements, qui explique près de 20% de la variation totale de la taille des réarrangements (Tableau 27).

Nous allons maintenant voir si les différences de fréquence de remaniement peuvent être reliées à des caractéristiques physiques des chromosomes (synténie et morphologie).

III.4.2 Influence de la colinéarité entre les chromosomes

Comme nous l'avons vu au §I.4.2, certains groupes de liaisons sont colinéaires sur la totalité de leur longueur avec un autre groupe de liaison tandis que d'autres ne le sont que de façon segmentaire (Figure 67). Afin d'évaluer le rôle de la macrosynténie sur la fréquence des réarrangements chez les haploïdes de colza, j'ai classé les groupes de liaison en trois catégories selon leur degré de synténie avec les autres groupes de liaison au sein du génome du colza :

- Totalement synténique : des groupes de liaison synténiques sur toute leur longueur avec un unique autre groupe de liaison (N1, N11, N2, N12, N13, N4, N8),
- Moyennement synténique : des groupes de liaison ayant des relations de synténie avec deux groupes de liaison différents sur chacun de leur bras chromosomiques (N3, N14, N5, N15, N7, N9, N19),
- Faiblement synténique : des groupes de liaison présentant des relations de synténie avec plusieurs groupes de liaison (N17, N6, N18).

J'ai analysé l'effet du degré de colinéarité entre homéologues sur la fréquence de remaniements chromosomiques au moyen d'un modèle linéaire généralisé poissonien car la distribution des régions non-transmises et de points de cassure au sein des descendants d'haploïdes suit une loi de Poisson:

$$\left\{ \begin{array}{l} \log(\text{TNR}_{ijkl}) = \text{Génotype}_i + \text{Génome}_a + (\text{Génome:Synténie})_{aj} + (\text{Génotype:Génome:Synténie})_{aij} \\ + \varepsilon_{ijkl} \text{ avec } i=\text{génotype} ; j=\text{synténie} ; a=\text{génome}; k=\text{individus} \end{array} \right.$$

Le degré de synténie a un effet significatif sur le nombre moyen de régions non-transmises et de points de cassure par individu (Tableau 28). Cet effet est indépendant du génotype puisqu'il n'y a pas d'interaction entre le génotype et le degré de synténie. On constate en réalité que le nombre moyen de régions non-transmises et de points de cassure est significativement plus élevé pour les groupes de liaison totalement synténiques mais on n'observe pas de différence notable

Tableau 29 : Effet de la synténie sur la fréquence de remaniement. Analyse par un modèle linéaire généralisé :

Modèle:
 $\log(\text{TNR}_{ijkab}) = \text{Génotype}_i + (\text{Génome:GL})_{ab} + \text{Synténie}_j + (\text{Génotype:Synténie})_{ij} + (\text{Génotype:Génome:GL})_{iab}$
 ε_{ijk} avec $i=\text{génotype}$; $j=\text{synténie}$; $a=\text{génomé}$; $b=\text{groupe de liaison}$

Source de variation	Déviante	ddl	p (%)
Génotype	103	1	<0,01
Génome	12	1	<0,01
GL	37	15	<0,01
Synténie	45	2	<0,01
Génotype:GL	30	16	<0,01
Génotype:Synténie	0,1	2	55
Résiduelle	1823	4022	

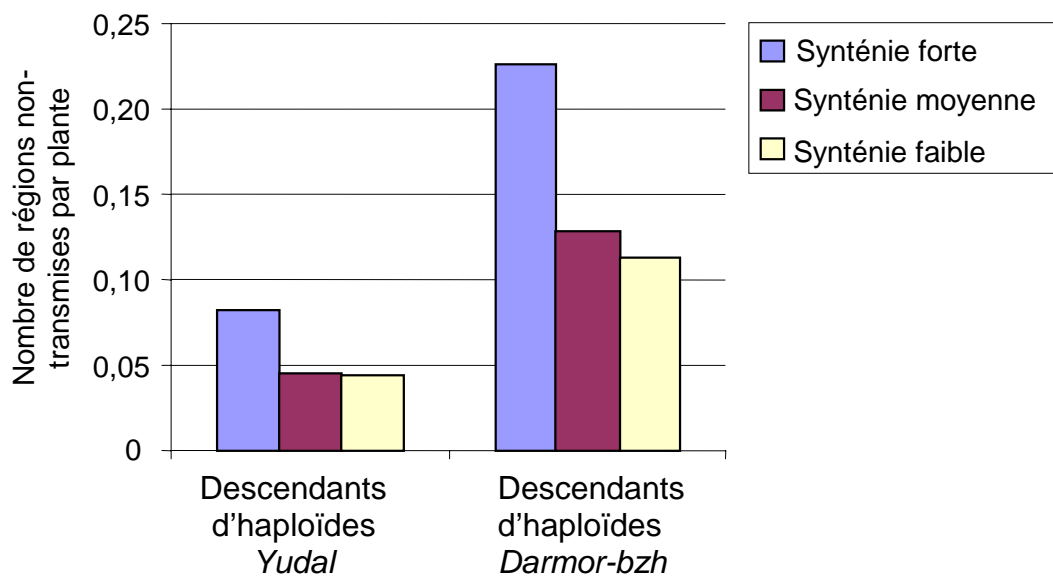


Figure 113 : Effet du degré de synténie sur la fréquence des régions non-transmises.

entre les groupes de liaison moyennement et faiblement synténiques (Figure 67). Les groupes de liaison totalement synténiques recombinent entre 1,5 et 3 fois ($\alpha=5\%$) plus que les groupes de liaison moyennement et faiblement synténiques. Enfin, l'analyse conjointe de l'effet du degré de synténie et des groupes de liaison dans un modèle montre que le degré de synténie explique environ la moitié de la variation du nombre de réarrangements et du nombre de crossing-overs entre les groupes de liaison dans les descendants des haploïdes *Darmor-bzh* et *Yudal* (Tableau 29). Par ailleurs, on n'observe aucune interaction de la synténie avec le génotype, indiquant que le degré de synténie a un effet similaire dans les descendants des haploïdes *Darmor-bzh* et *Yudal*.

Les différences de fréquence de remaniement observées entre les groupes de liaison totalement, moyennement et faiblement synténiques pourraient résulter d'une variation pour la fréquence des réarrangements multiples (présence simultanée de deux régions non-transmises sur les groupes de liaison) et non pas d'une différence de l'aptitude des chromosomes à s'apparier. En effet, la présence de deux bras chromosomiques susceptibles de s'apparier sur les groupes de liaison totalement synténiques N1, N11, N2 et N12 au lieu d'un seul pour les groupes de liaison moyennement et faiblement synténiques pourrait favoriser la formation de réarrangements multiples (double distaux, distaux et interstitiels) et par conséquent biaiser les comparaisons. Afin de déterminer dans quelle mesure les différences de fréquence de remaniement observées résultent bien d'une différence de fréquence d'appariement en MI de méiose, j'ai comparé le nombre moyen de réarrangements simples et multiples pour les groupes de liaison totalement, moyennement et faiblement synténiques. On peut observer que les différences observées entre les groupes de liaison totalement synténiques et les autres résultent principalement d'une différence de fréquence de réarrangements simples (distals, interstitiels). En effet, bien que les fréquences des réarrangements multiples soient effectivement deux fois plus élevées sur un groupe de liaison totalement synténique que sur les groupes moyennement et faiblement synténiques, ils sont dix fois moins nombreux que les réarrangements simples. Par conséquent, la variation de la fréquence de remaniement en fonction du degré de macrosynténie résulte principalement de la différence de fréquence des réarrangements simples. Ainsi, bien que certains bras chromosomiques de groupes de liaisons faiblement ou moyennement synténiques présentent des niveaux de réarrangement similaires aux bras chromosomiques totalement synténiques (par exemple le bas de N15, le haut de N9, le bas de N17, le haut de N18 chez les descendants d'haploïdes *Darmor-bzh* ou le haut de N14 chez les descendants d'haploïdes *Yudal*), le degré de macrosynténie entre les chromosomes joue vraisemblablement un rôle important dans les appariements et la recombinaison chez les haploïdes de colza.

Tableau 30 : Information sur la structure et la morphologie des groupes de liaison (GL).

Génome	GL	Taille Génétique (cM)	Position centromère (cM)	Taille Physique (µm)	Longueur bras court (µm)	Longueur bras long (µm)	Type Chromosome	r45S	r5S	Synténie
A	N1	134	51	4	1,3	2,7	submétacentrique	N	N	Totale
	N2	96	50	5,7	2	3,7	submétacentrique	N	N	Totale
	N3	199	88	6,7	1	5,7	acrocentrique	O	O	Moyenne
	N4	85	11	5	2,3	2,7	métacentrique	O	O	Totale
	N5	105	55	5,3	2,3	3	métacentrique	O	O	Moyenne
	N6	99	52	5,7	2,7	3	métacentrique	O	N	Faible
	N7	123	6	5	2	3	métacentrique	N	N	Moyenne
	N8	96	10	3,7	1	2,7	submétacentrique	N	N	Totale
	N9	121	67	8,3	4	4,3	métacentrique	O	O	Moyenne
	N10	71	68	3,7	1	2,7	submétacentrique	N	O	Moyenne
C	N11	113	82	5,7	2,7	3	métacentrique	N	N	Totale
	N12	147	57	6,7	3	3,7	métacentrique	N	O	Totale
	N13	192	92	8,7	2,7	6	submétacentrique	N	N	Totale
	N14	133	51	6,7	2,5	4,2	métacentrique	N	O	Moyenne
	N15	150	70	6,3	3	3,3	métacentrique	N	N	Moyenne
	N16	82	35	5,7	1	4,7	acrocentrique	N	N	Moyenne
	N17	117	37	7	1,7	5,3	acrocentrique	O	N	Faible
	N18	136	110	6	1,3	4,7	acrocentrique	O	N	Faible
	N19	89	70	7	3,3	3,7	métacentrique	N	N	Moyenne

Tableau 31 : Effet du type de chromosome sur la nombre moyen de régions non-transmises :

Modèle			
$\log(\text{TNR}_{ijkab}) = \text{Génotype}_i + (\text{Génome:GL})_{ab} + \text{Synténie}_j + (\text{Génotype:Synténie})_{ij} + (\text{Génotype:Génome:GL})_{iab}$			
ε_{ijk} avec i=génotype ; j=synténie ; a=génome ; b=groupe de liaison			
Source de variation	Déviante	ddl	p (%)
Génotype	103	1	<0,01
Génome	12	1	<0,01
Groupe de liaison	62	15	<0,01
Type	21	2	<0,01
Génotype:GL	27	16	4
Génotype:Type	3	2	21
Résiduelle	1823	4022	

En conclusion, ces différentes observations montrent que la macrosynténie entre les chromosomes conditionne au moins partiellement leur aptitude à s'apparier et à recombiner chez les haploïdes de colza.

III.4.3 Influence de la morphologie des chromosomes

J'ai analysé l'effet de trois facteurs physiques sur la variation de la fréquence de non-transmission des régions non transmises et des points de cassure entre les groupes de liaison (Tableau 30):

1. La taille physique des chromosomes établie par Fukui *et al.* (1998)
2. Le type de chromosome. J'ai utilisé le caryotype établi par Fukui *et al.* (1998) et la classification de Levan (1963) qui répartissent les chromosomes en trois types selon le ratio entre le bras chromosomique le plus grand (q) et le bras chromosomique plus petit p:
 - a. Métacentrique (m): $q/p=1-1,7$
 - b. Submétacentrique (sm): $q/p=1,7-2,7$
 - c. Acrocentrique ou télacentrique: $q/p>2,7$; les satellites sont exclus
3. La présence ou l'absence des ADN ribosomiques 5S et 45S sur les groupes de liaison établies à partir des travaux de Snowdon *et al.* (2002)

La correspondance entre les chromosomes et les groupes de liaison a été établie d'après les travaux d'Amstrong *et al.* (1998) et de Howell *et al.* (2002) pour l'attribution des chromosomes au génome C et d'après <http://www.brassica-rapa.org/> et Kim *et al.* (2005) pour l'attribution des chromosomes au génome A (Tableau 30).

La taille physique des groupes de liaison n'agit pas sur la fréquence des réarrangements et des crossing-overs. En effet, il n'existe aucune corrélation significative entre la taille physique des chromosomes et le nombre moyen de réarrangements ($R^2=0,22$; ddl=17 ; $t=0,95$; $p=35\%$) ou de crossing-overs par individu ($R^2=0,31$; ddl=17 ; $t=1,3$; $p=18\%$) chez les haploïdes de colza.

J'ai analysé l'effet du type de chromosome et des ADN ribosomiques avec un modèle linéaire généralisé poissonnien puisque les nombres de réarrangements et le nombre de crossing-overs se distribuent selon une loi de poisson chez les descendants d'haploïdes:

$$\left\{ \begin{array}{l} \log(\text{TNR}_{aijk}) = \text{Génotype}_i + \text{Génome}_a + (\text{Génome:Type})_{aj} + (\text{Génotype:Génome:Type})_{aij} + \varepsilon_{aijk} \\ \text{avec } i=\text{génotype} ; j=\text{synténie} ; a=\text{génome}; k=\text{individu} \end{array} \right.$$

Le type de chromosome a un effet significatif sur la fréquence de remaniements (Tableau 31). Ainsi, le nombre moyen de régions non-transmises est significativement plus élevé pour les

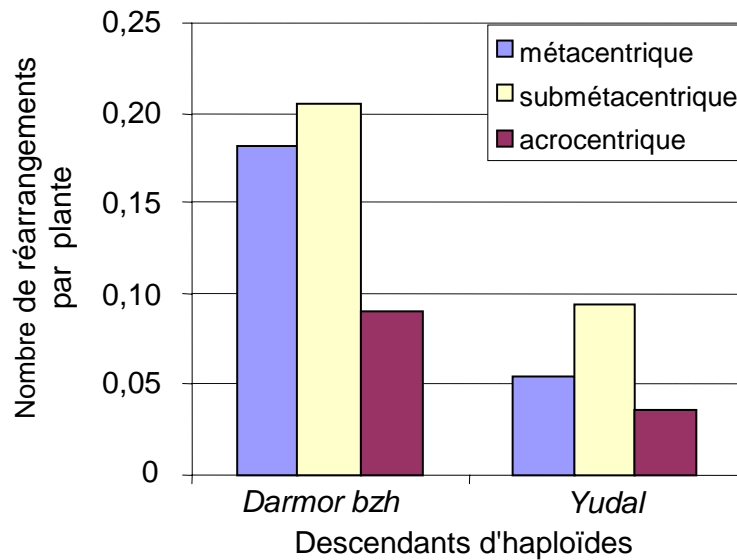


Figure 114 : Effet du type de chromosome sur le nombre moyen de régions non-transmises par plante.

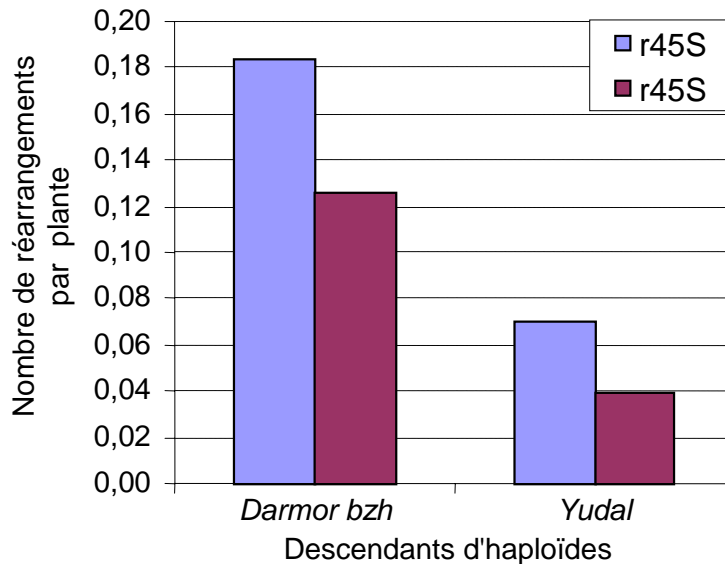


Figure 115 : Influence des ADN ribosomiques 45S sur le nombre de régions non-transmises par plante.

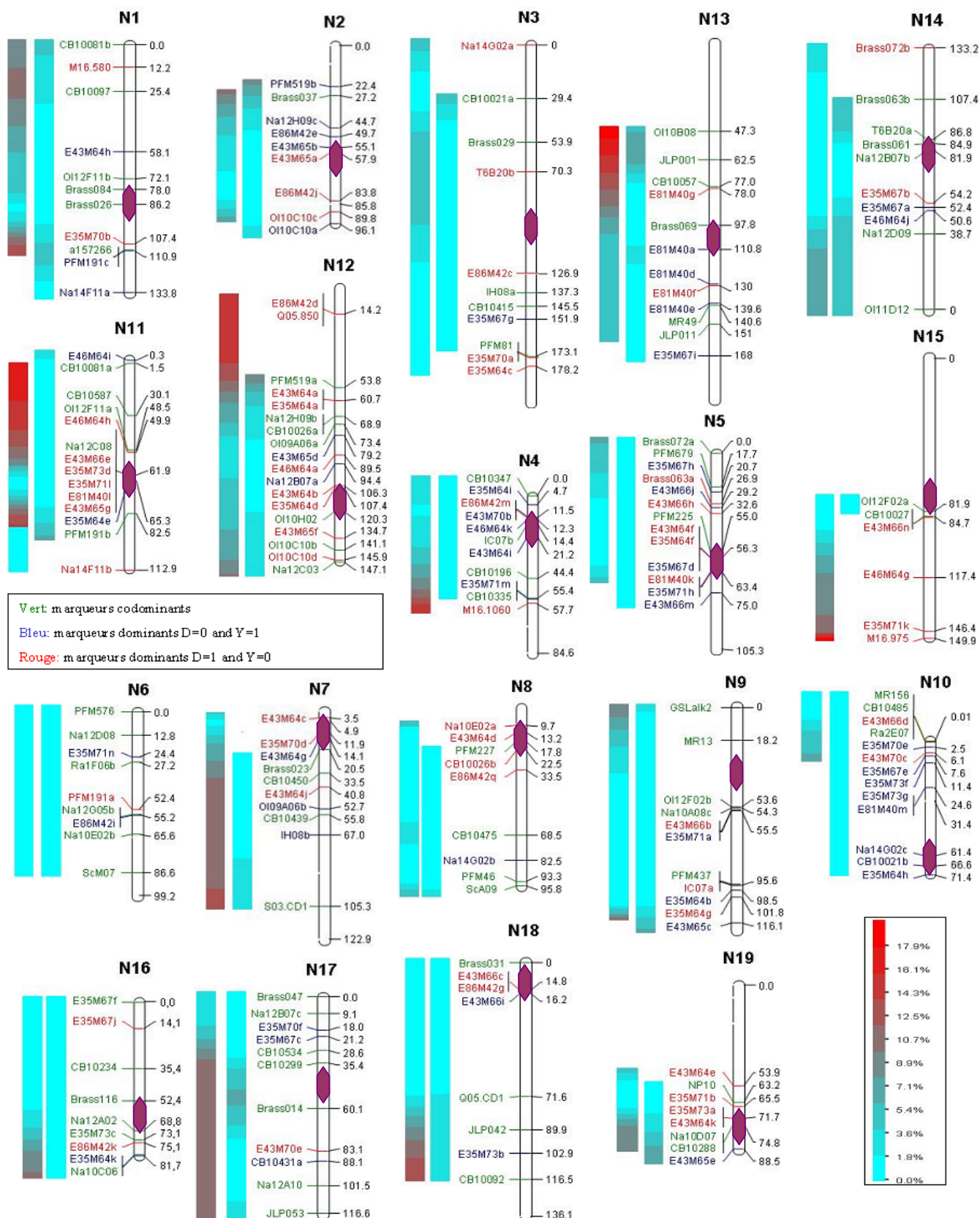
chromosomes submétacentriques que pour les chromosomes acrocentriques que ce soit dans les descendants d'haploïdes de *Darmor-bzh* ou dans ceux de *Yudal* (Figure 114). Les chromosomes métacentriques se comportent différemment chez les descendants d'haploïdes *Darmor-bzh* et *Yudal*. Tandis que leur fréquence de remaniement est identique à celle des chromosomes submétacentriques chez les descendants des haploïdes *Darmor-bzh*, elle est au contraire identique à celle des chromosomes acrocentriques chez les descendants d'haploïdes *Darmor-bzh*. Environ un quart de la variation de la fréquence de réarrangement entre les groupes de liaison s'explique par les variations du type de chromosome.

Enfin, les groupes de liaison portant les ADN ribosomiques 45S sont significativement moins remaniés que les groupes de liaison n'en portant pas, alors que la présence d'ADN ribosomique 5S sur les groupes de liaison ne semble avoir aucun effet sur la fréquence de remaniement. Un huitième de la variation de la fréquence des réarrangements entre les groupes de liaison peut s'expliquer par la présence ou l'absence des 45S.

J'ai analysé conjointement l'ensemble des facteurs physiques avec un modèle linéaire généralisé poissonnien:

$$\left\{ \begin{array}{l} \log(\text{TNR}_{abcdeik}) = \text{Génotype}_i + \text{Type}_c + \text{Synténie}_d + r45S_e + (\text{Génotype:Génome:GL})_{abi} + \varepsilon_{abcdeik} \\ \text{avec } i=\text{génotype} ; d=\text{synténie} ; a=\text{génome}; b=\text{GL}; d=\text{synténie}; e=r45S; k=\text{individus} \end{array} \right.$$

Les facteurs physiques influençant la fréquence de remaniements sont par ordre d'importance décroissant la synténie, le type de chromosome, et les ADN ribosomiques 45S. Cependant, l'impossibilité de déterminer les interactions croisées entre ces différents facteurs physiques du fait du nombre insuffisant de chromosomes (le colza n'a que 19 chromosomes) complique l'interprétation des effets propres de ces différents facteurs physiques sur la variation de la fréquence de remaniement. En effet, les chromosomes portant les 45S sont par exemple majoritairement situés sur le génome C (5 sur 7). Ils sont moyennement ou faiblement synténiques, et de type métacentrique et acrocentrique. Or, les groupes de liaison moyennement ou faiblement synténiques comme les chromosomes de type acrocentrique sont faiblement remaniés. Ainsi, l'effet des ADN ribosomiques se confond avec l'effet du type de chromosome et du degré de macrosynténie. De la même façon, les groupes de liaison fortement synténiques n'ont pas de r45S et sont de type métacentrique ou submétacentrique. Il paraît donc difficile de déterminer qui, de l'absence d'ADN ribosomiques, du degré de macrosynténie, ou du type de chromosome, est responsable du plus fort taux d'appariement et de recombinaison de ces chromosomes.



En conclusion, bien qu'il soit difficile de discriminer les effets propres de chacun des facteurs physiques sur la fréquence de remaniement (synténie, r45s, type), il apparaît clairement que ces facteurs physiques contribuent à faire varier la fréquence de remaniement entre les groupes de liaison.

En conclusion de cette partie, j'ai pu montrer que tous les chromosomes sont susceptibles de recombiner mais que leur aptitude à la recombinaison est variable indiquant que les bivalents observés en MI de méiose ne sont pas composés systématiquement des mêmes chromosomes d'une cellule à l'autre. Ainsi, les différences d'appariement entre les descendants des haploïdes *Darmor-bzh* et *Yudal* résultent-elles d'une réduction globale de la fréquence de remaniement le long du génome et non d'une différence pour le nombre de chromosomes susceptibles de s'apparier. En outre, j'ai pu montrer que cette réduction n'est pas homogène pour l'ensemble des groupes de liaison, cinq groupes de liaison ayant un comportement singulier (N4, N17, N2, N7, N14). Différents facteurs physiques, dont la macrosynténie, pourraient expliquer la variabilité des fréquences de remaniement entre les groupes de liaison. Enfin, la taille et la nature des remaniements varient d'un groupe de liaison à l'autre. Cela amène à s'interroger sur la distribution des réarrangements au sein des groupes de liaison.

III.5 VARIATIONS DE LA FREQUENCE DE REMANIEMENT AU SEIN DES GROUPES DE LIAISON : EFFET LOCUS ET INTERVALLE

L'analyse des modèles linéaires généralisés 1bis et 3bis (§II.2.1) montre qu'il existe un effet significatif du locus et de l'intervalle sur la fréquence de non-transmission et sur celle des points de cassure au sein des groupes de liaison. Les Figure 116 et Figure 123 illustre l'étendue de cette variation et montre que la fréquence de non-transmission de l'allèle du parent haploïde et celle des points de cassure au sein des groupes de liaison varient différemment d'un groupe de liaison à l'autre, et dépendent du génotype du parent haploïde. Cette dernière caractéristique explique pourquoi j'ai détecté un effet significatif de l'interaction entre les locus / intervalles et le génotype (§II.2.1).

On peut remarquer sur la Figure 116 que la fréquence de non-transmission de l'allèle du parent haploïde est en général plus élevée en bout de groupe de liaison et moins élevée en position centromérique. J'ai donc analysé dans un premier temps l'effet de la position relative du locus par rapport au centromère. Dans un second temps, je me suis intéressé à l'effet que pourraient avoir des variations structurales au sein et entre les génomes de *Darmor-bzh* et de *Yudal* (TNR pré-existantes)

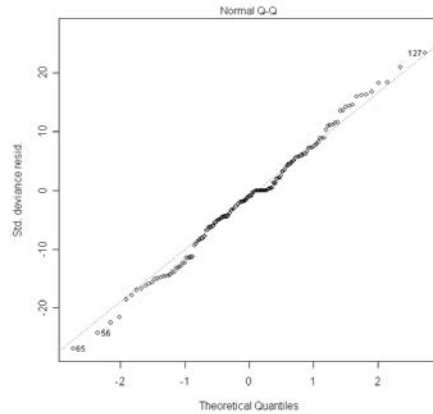


Figure 117 : Distribution des déviations standardisées aux différents locus avec le modèle linéaire généralisé complet avec éloignement du centromère.

Tableau 32 : Analyse de la déviance du modèle linéaire généralisé sur la variation de la fréquence de non-transmission en fonction de l'éloignement vis-à-vis du centromère (marqueurs codominants).

Sources de variation	Déviance	ddl	p (%)
Génotype	168	1	<0,01
Génome	27	1	<0,01
Groupe de liaison	152	17	<0,01
Eloignement	43	3	<0,01
Génotype :Génome	0,6	1	41
Génotype:Eloignement	7,7	3	5
Génotype :GL	63	17	<0,01
Génome:Eloignement	0,4	3	92
GL:Eloignement	70,5	24	<0,01
Génotype:GL:Eloignement	45,7	27	1
Résiduelle	173	70	

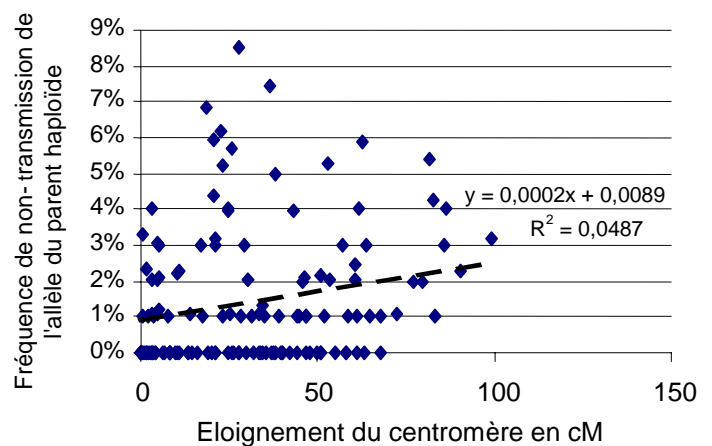
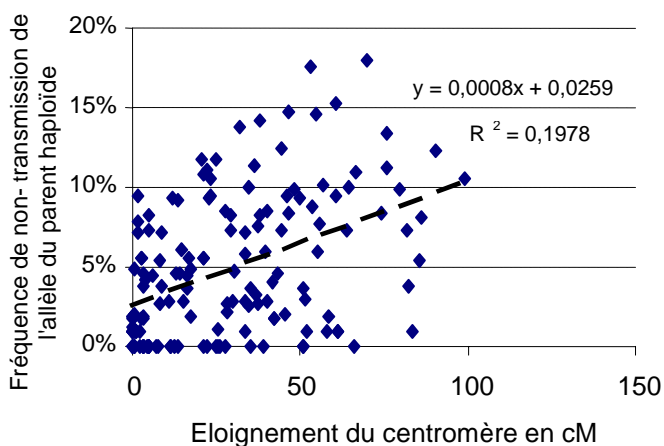


Figure 118 : Fréquence de non-transmission de l'allèle du parent haploïde en fonction de l'éloignement au centromère chez les descendants d'haploïdes *Darmor-bzh* (A) et *Yudal* (B)

sur la variation de la fréquence de non-transmission et des points de cassure le long des groupes de liaison.

III.5.1 La plupart des réarrangements ont lieu en position distale

III.5.1.1 Distribution des réarrangements

Afin de mieux caractériser l'effet de la position du locus par rapport au centromère sur la variation de la fréquence de non-transmission de l'allèle du parent haploïde au sein des groupes de liaison, j'ai analysé l'effet de la distance génétique du locus par rapport au centromère en la déclarant comme variable (éloignement) avec le modèle suivant:

$$\left\{ \begin{array}{l} \log (p_i / 1-p_i) \sim \beta_0 + \text{Génotype}_j + \text{Génome}_a + \text{Eloignement}_c + (\text{Génome:GL})_{ab} + \\ (\text{Génotype:Génome})_{ia} + (\text{Génome:Eloignement})_{ac} + (\text{Génome:GL:Eloignement})_{abc} + \\ (\text{Génotype:Génome:Eloignement})_{iac} + (\text{Génotype:Genome:GL})_{iab} + \\ (\text{Génotype:Génome:GL:Eloignement})_{iabc} + \varepsilon_{ijkabc} \end{array} \right.$$

Les déviances standardisées du modèle se distribuent normalement, indiquant que la transformation (logit) et le type d'erreur (binomial) choisis sont corrects (Figure 117). Le modèle s'ajuste très bien aux données (coefficient de Cox et Snell $R^2_L=0,96$). Sa valeur prédictive est très importante puisque le coefficient de corrélation entre les fréquences de non-transmission de l'allèle du parent haploïde observée et prédite pour les différents marqueurs est très élevé ($R^2 = 0,85$; $t=21,6$; $ddl=166$; $p<0,01\%$).

D'après le modèle, l'éloignement des locus vis-à-vis du centromère a un effet significatif sur la fréquence de non-transmission (Tableau 32). Comme le montre la Figure 118, il existe une corrélation forte, significative et positive entre l'éloignement vis-à-vis du centromère et la fréquence de non-transmission de l'allèle du parent haploïde dans les descendants des haploïdes *Darmor-bzh* ($R^2=0,20$; $t=3,5$; $ddl=145$; $p<0,1\%$) et *Yudal* ($R^2=0,05$; $t=2,1$; $ddl=136$; $p<5\%$). Pour la plupart des groupes de liaison, plus on s'éloigne du centromère, plus la fréquence de non-transmission de l'allèle du parent haploïde est élevée (Figure 116). En moyenne la fréquence de non transmission croît de 0,5% lorsqu'on s'éloigne de 10 cM vis-à-vis du centromère (Figure 118). L'effet de la distance génétique du locus par rapport au centromère sur la fréquence de non-transmission des allèles du parent haploïde est important puisque la valeur prédictive du modèle perd 20% lorsqu'on n'en tient pas compte.

Les résultats du modèle linéaire généralisé montrent qu'il y a également un effet significatif de l'interaction entre l'éloignement d'un marqueur vis-à-vis du centromère et le groupe de liaison

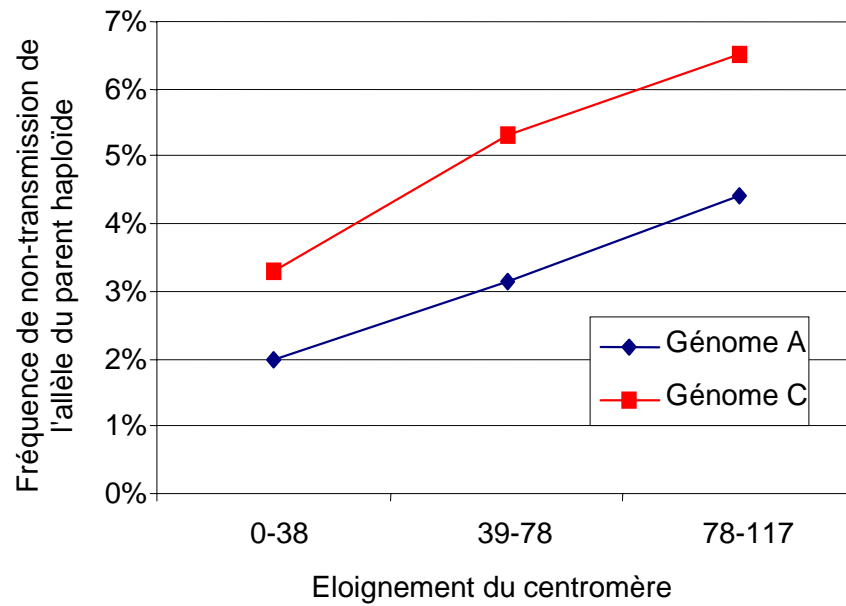


Figure 119 : Fréquence moyenne de non-transmission de l'allèle du parent haploïde en fonction de l'éloignement du centromère et du génome.

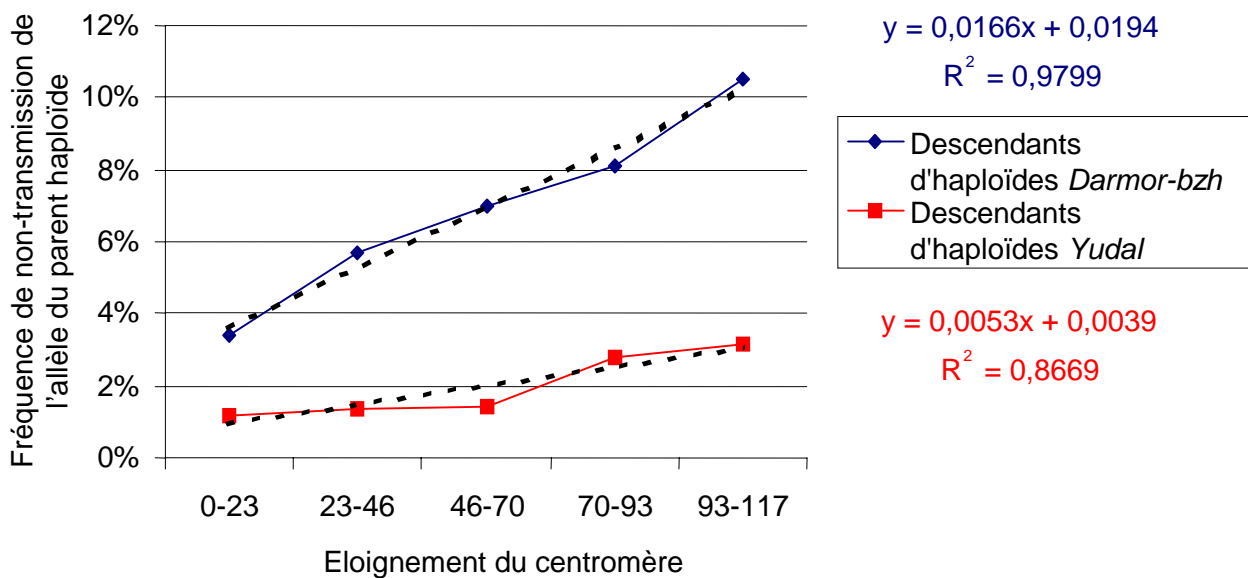


Figure 120 : Fréquence moyenne de non-transmission de l'allèle du parent haploïde en fonction de l'éloignement vis-à-vis du centromère et du génotype du parent haploïde.

sur lequel ce marqueur est localisé. En d'autres termes, l'évolution de la fréquence de non-transmission en fonction de la distance au centromère est différente d'un groupe de liaison à l'autre (Figure 116). Par exemple, pour des locus localisés à approximativement 45 cM du centromère, la fréquence de non-transmission varie entre 2% (N9) et 12% (N4) chez les descendants d'haploïdes *Darmor-bzh* et entre 0% (N4) et 4% (N14) chez les descendants d'haploïdes *Yudal*. Il n'y a en revanche pas d'effet significatif de l'interaction entre l'éloignement du locus vis-à-vis du centromère et le génome auquel appartient ce locus (Figure 119).

L'effet de l'interaction entre l'éloignement du locus vis-à-vis du centromère et le génotype du parent haploïde est plus ambiguë. En effet, cette interaction n'est pas loin d'être significative ($p=5\%$ avec les marqueurs codominants, $p=9\%$ avec tous les marqueurs), indiquant que l'évolution de la fréquence de non-transmission en fonction de l'éloignement du centromère est légèrement différente dans les descendants des haploïdes *Darmor-bzh* et *Yudal* mais que cette différence d'évolution n'est pas suffisamment marquée ou générale, ou que le nombre de plantes analysées est trop faible pour que cet effet soit significatif. On observe que la variation de la fréquence de non-transmission en fonction de la distance au centromère est quasi linéaire dans les deux descendances, et que, par ailleurs, la pente de la droite de régression est légèrement plus forte dans les descendants d'haploïdes de *Darmor-bzh* que dans ceux de *Yudal* (Figure 120). La fréquence de non-transmission s'accroît ainsi d'environ 1,5% tous les 20 cM chez les descendants d'haploïdes de *Darmor-bzh* contre seulement 0,5% tous les 20 cM chez ceux de *Yudal* (Figure 120).

En réalité, l'existence d'une interaction entre le génotype et la distance au centromère ne peut être envisagée indépendamment de l'interaction déjà discutée entre le génotype et les groupes de liaison (voir chapitre §III.2.1). On observe ainsi que la fréquence de non-transmission de l'allèle du parent haploïde pour des marqueurs situés sur les groupes de liaison N7 et N4, qui présentent un écart plus élevé que la moyenne entre les deux descendances, croît fortement lorsqu'on s'éloigne du centromère chez les descendants d'haploïdes de *Darmor-bzh* alors qu'elle est quasi constante chez ceux de *Yudal*. Au contraire, la fréquence de non-transmission de l'allèle du parent haploïde pour des marqueurs situés sur les groupes de liaison N2 et N14, qui présentent un très faible écart entre les deux descendances, croît de façon quasi-identique lorsqu'on s'éloigne du centromère chez les descendants des haploïdes *Darmor-bzh* et *Yudal*.

Par ailleurs, il est important de noter que la fréquence de non-transmission peut aussi croître du centromère vers le télomère uniquement sur l'un des deux bras chromosomiques et pas ou peu sur l'autre, comme sur les groupes de liaison N4, N7, N16, N17, N18, N16 dans les descendants d'haploïdes *Darmor-bzh*, et N3, N13, N18 dans les descendants d'haploïdes *Yudal*.

Tableau 33 : Analyse de la corrélation entre la fréquence de point de cassure chez les descendants d'haploïdes *Darmor-bzh* et *Yudal*.

Méthode	R ² (pearson) ou τ (Kendall)	t (Pearson) ou z (Kendall)	ddl	p (%)
Pearson	0,39	3,5	66	p<0,01
Kendall	0,26	2,8	-	p<0,01

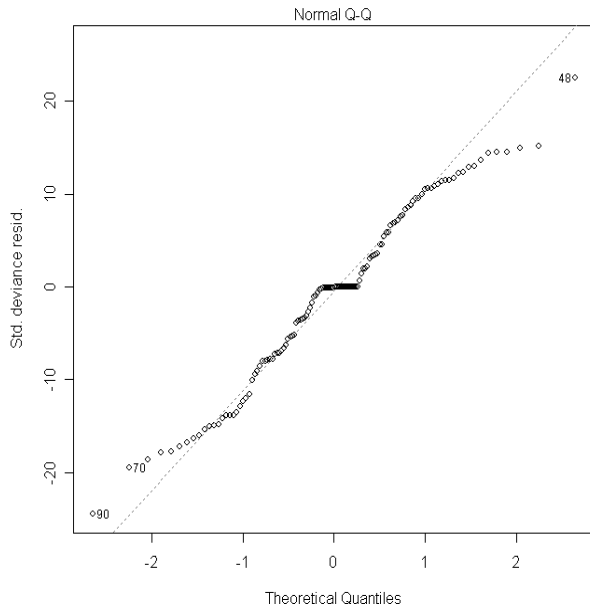


Figure 121 : Distribution des déviées standardisées dans le modèle linéaire généralisé complet par rapport à une distribution normale

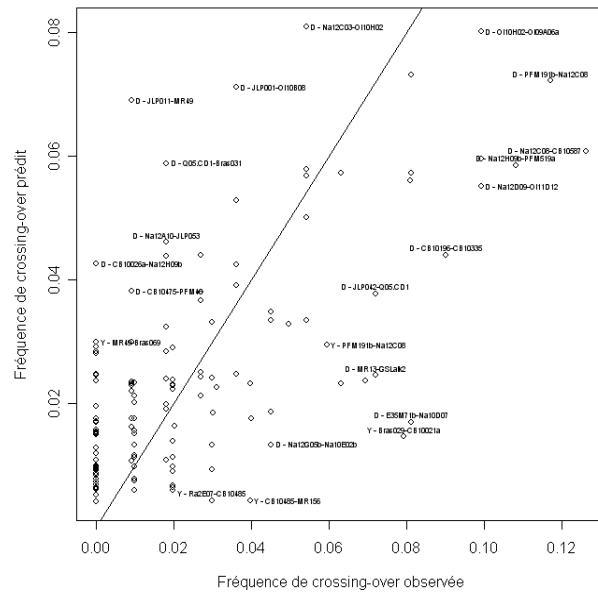


Figure 122 : Ecart entre les fréquences de point de cassure observées et prédites par le modèle linéaire généralisé complet dans les différents intervalles en fonction de la descendance des haploïdes (marqueur codominants)

Tableau 34: Résultat de l'analyse de deviance du modèle linéaire généralisé.

Source de variation	Déviante	ddl	p (%)
Génotype	81,01	1	<0,01
Génome	8,1	1	<0,1
GL	95,2	17	<0,01
Eloignement	29,69	1	<0,01
Taille	69,67	1	<0,01
Génotype :Génome	6,92	1	1
Génotype:Eloignement	0,09	1	77
Génotype :Taille	1,27	1	26
Génotype :GL	38,94	17	<0,1
Génome:Eloignement	0,2	1	0,88
Génome:Taille	29,23	1	<0,01
GL:Eloignement	67,85	17	<0,01
GL :Taille	30,58	17	2
Eloignement :Taille	1,49	1	22
Génotype:GL:Eloignement	62,54	16	<0,01
Génotype:GL:Taille	35,45	15	<0,1
Génotype :Eloignement :Taille	1,57	1	21
Résiduelle	12,78	15	62

Compte tenu du fait que les régions non-transmises dérivent en majorité de crossing-overs, la variation de la fréquence de non-transmission sein des groupes de liaison amène à s'interroger sur la distribution des points de cassure au sein des groupes de liaison et notamment en fonction de la distance au centromère.

III.5.1.2 Distribution des points de cassures

J'ai analysé la distribution des points de cassure au sein des groupes de liaison en tenant compte de la distance de chaque intervalle vis-à-vis du centromère (éloignement ; mesuré à partir du milieu de l'intervalle) :

$$\left\{ \begin{array}{l} \log (p_i / 1-p_i) \sim \beta_0 + \text{Génotype}_j + \text{Génome}_a + \text{Eloignement}_c + \text{Taille}_d + (\text{Genotype:Eloignement})_{ib} + \\ (\text{Génotype:Taille})_{id} + (\text{Génotype:Génome})_{ia} + (\text{Taille:Eloignement})_{cd} + (\text{Génome:Eloignement})_{ac} + \\ (\text{Génome:Taille})_{ad} + (\text{Génome:GL})_{ab} + (\text{Génotype:Génome:GL})_{iab} + (\text{Génome:GL:Taille})_{abc} \\ (\text{Génotype:Génome:Eloignement})_{iac} + (\text{Génotype:Génome:Taille})_{iad} + (\text{Génome:GL:Eloignement})_{abd} \end{array} \right.$$

Ce modèle tient aussi compte de la taille génétique des intervalles (taille mesurée sur la carte génétique de référence) qui est significativement corrélée à la la fréquence des points de cassure (Tableau 33). Je reviendrai plus en détail sur la signification et les conséquences biologiques de cette corrélation dans la partie III.7.

Les déviations standardisées du modèle se distribuent normalement indiquant que la transformation (logit) et le type d'erreur (binomial) choisis sont corrects (Figure 121). La valeur prédictive du modèle est très importante puisque le coefficient de corrélation entre les fréquences de point de cassure observée et prédite pour les différents intervalles sont très élevées ($R^2 = 0,88$; $t=29,7$; $ddl=253$; $p<0,01\%$)(Figure 122). Enfin, la non prise en compte de la taille de l'intervalle et de l'éloignement vis-à-vis du centromère entraîne respectivement une perte de 20% et 15% de la valeur prédictive du modèle.

Globalement l'analyse du modèle linéaire généralisé sur la fréquence de point de cassure dans les intervalles donne les mêmes résultats que celle de la fréquence de non-transmission des allèles du parent haploïde (Tableau 34). Ainsi, l'effet de l'éloignement du centre de l'intervalle vis-à-vis du centromère a un effet significatif sur la fréquence de points de cassure. Plus on s'éloigne du centromère plus la fréquence de point de cassure est élevée. L'analyse des coefficients du modèle montre que la fréquence de point de cassure croît de 0,2% lorsque l'on s'éloigne de 10 cM du centromère.

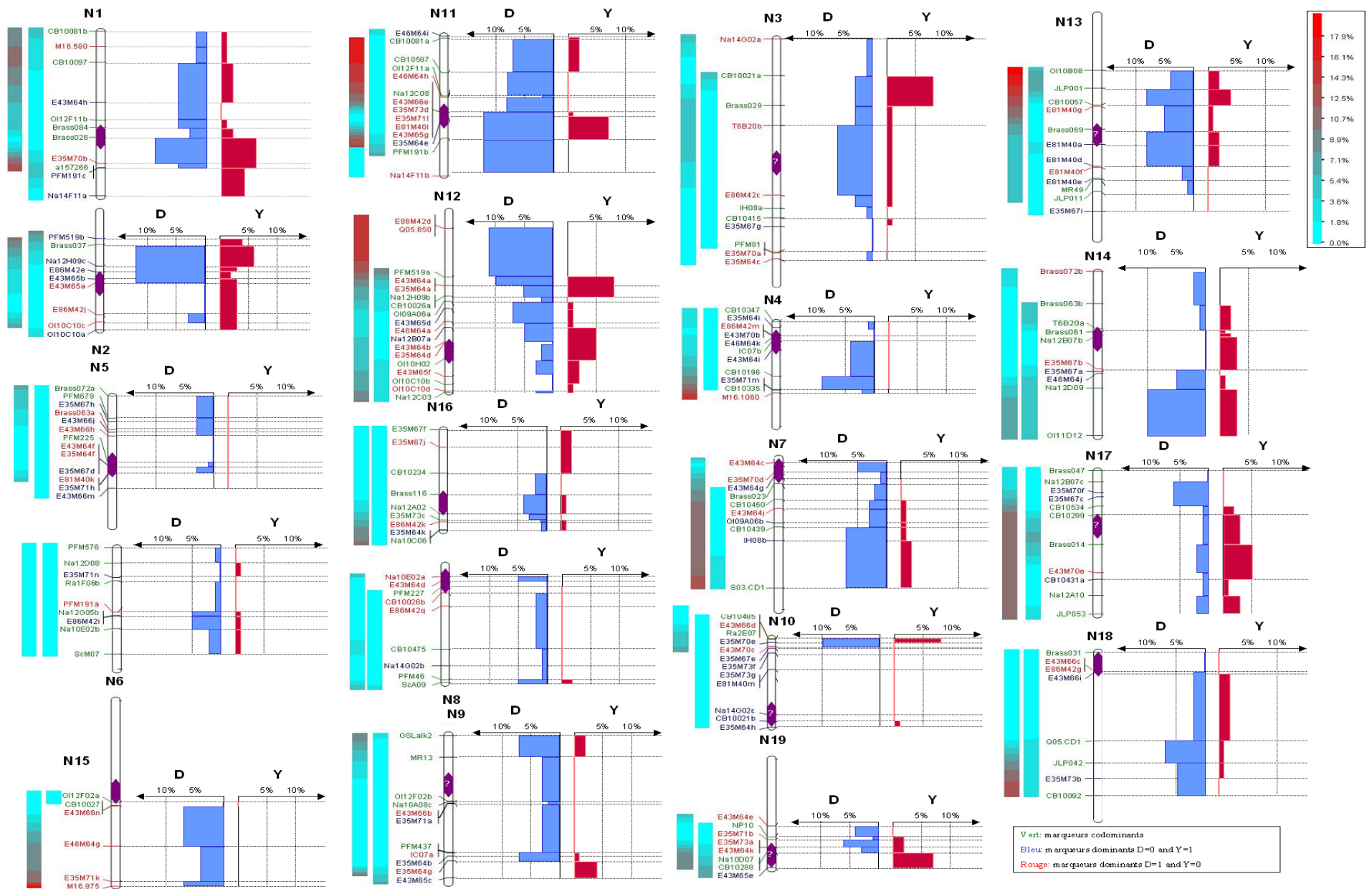


Figure 123 : Variation de la fréquence des points de cassure (à droite du groupe de liaison) et de la fréquence de non-transmission le long des groupes de liaison et variation de la fréquence de non-transmission.(à gauche du groupe de liaison). Tandis que la largeur du rectangle est proportionnelle à la fréquence de point de cassure dans l'intervalle, la hauteur représente la taille génétique de l'intervalle. D= variété *Darmor-bzh*; Y= variété *Yudal*

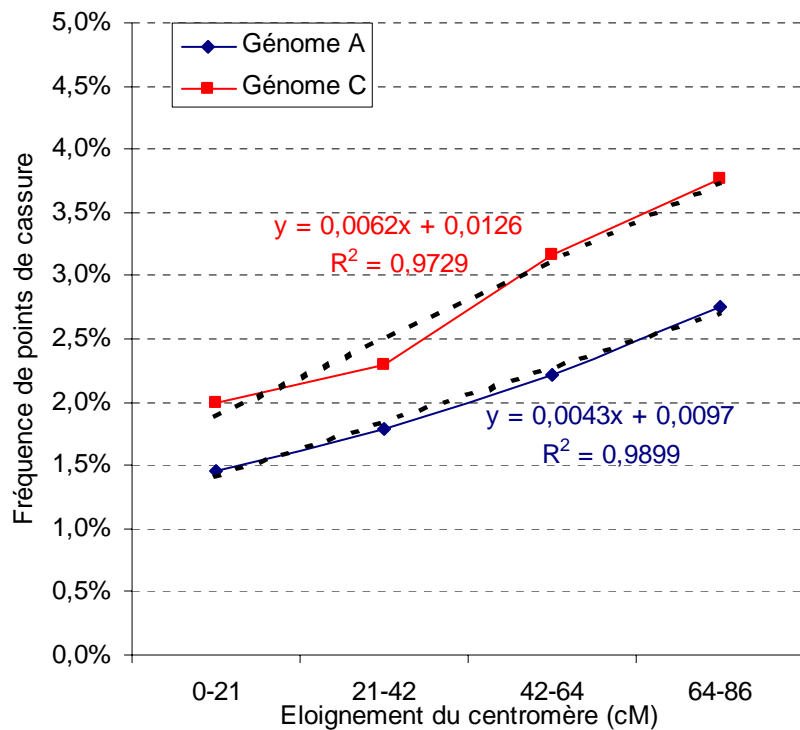


Figure 124: Variation de la fréquence de point de cassure en fonction de l'éloignement du centromère et du génome.

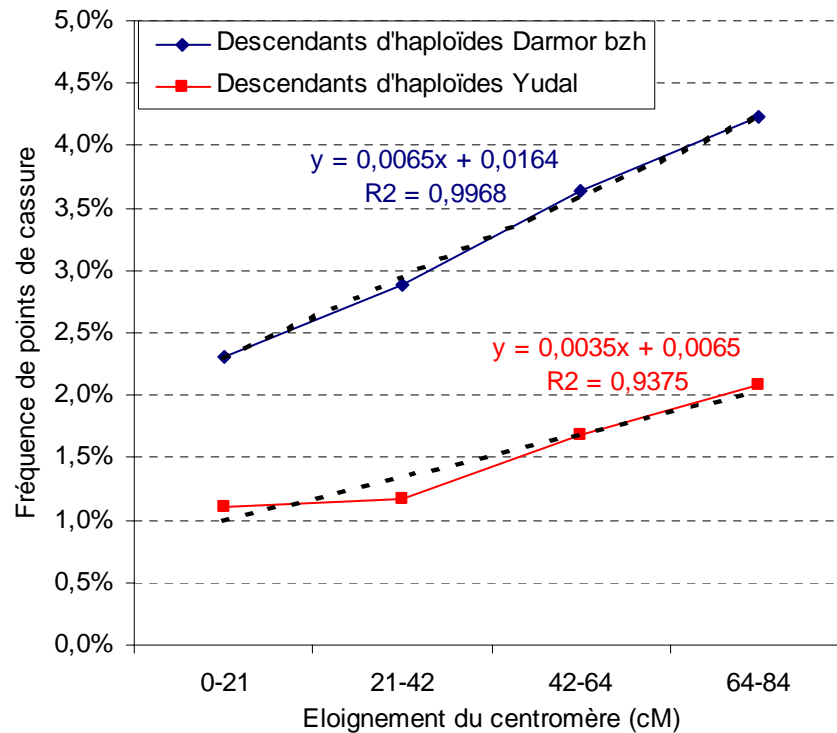


Figure 125: Influence de l'éloignement vis-à-vis du centromère sur la fréquence de point de cassure chez les descendants d'haploïdes *Darmor bzh* et *Yudal*.

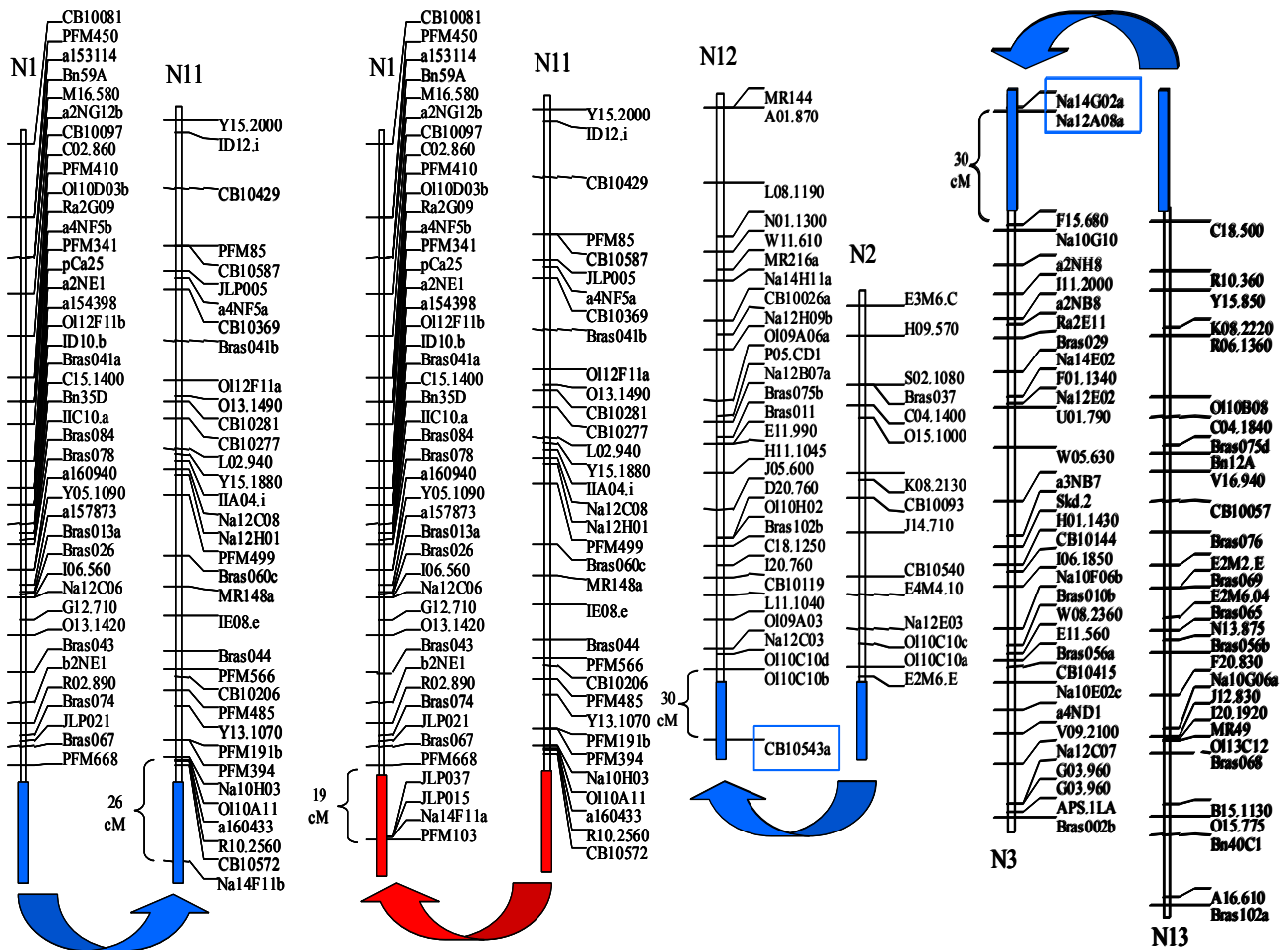


Figure 126 : Identification des translocations non-réciproques pré-existantes par la mise en évidence de cluster de marqueurs de même dominance en position télomérique et séparés par 25 cM ségrégeant avec un ratio 3:1 Les rectangles en bleu et en rouge représentent respectivement les translocations non-réciproques pré-existantes présentes dans le génome des variétés *Darmor-bzh* et *Yudal*.

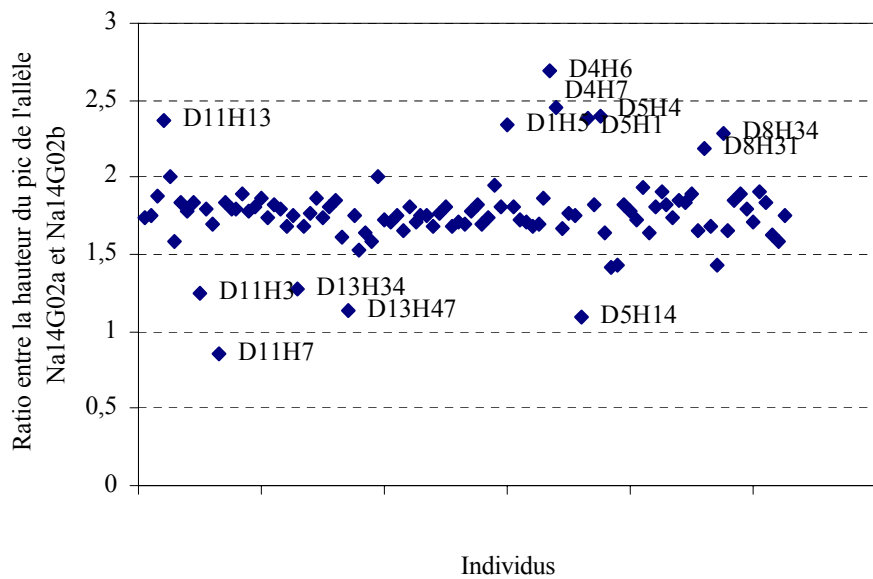


Figure 127 : Dosage de l'allèle *Darmor-bzh* au locus Na14G02a dans les descendants d'haplôides *Darmor-bzh*

L'absence d'interaction entre le génome et l'éloignement du centre de l'intervalle vis-à-vis du centromère indique que le génome, qui a un effet sur la fréquence des points de cassure (III.3), ne joue pas sur leur distribution sur le long des groupes de liaison (Figure 123). Ainsi, l'asymétrie du nombre moyen de régions non-transmises entre les génomes A et C ne résulte pas d'une différence de la distribution des crossing-overs au sein des groupes de liaison entre les génomes A et C mais d'une réduction de la fréquence des remaniements dans le génome C par rapport au génome A qui est indépendante de la position de l'intervalle vis-à-vis du centromère (Figure 124).

Ensuite, contrairement à la fréquence de non-transmission, l'interaction entre le génotype et l'éloignement vis-à-vis du centromère n'est pas significative. Ceci n'est pas surprenant dans la mesure où les différences d'évolution entre les descendants des haploïdes *Darmor-bzh* (+1% tous les 30 cM) ou *Yudal* (+0,5% tous les 30 cM) sont faibles et vraisemblablement insuffisantes pour être significatives compte tenu de la taille des populations étudiées (Figure 125).

III.5.2 Effet des translocations non-réciproques pré-existantes dans la chute des fréquences de non-transmission

Différentes études ont montré que des TNR pré-existent au sein du génome de colza chez la plupart des variétés analysées (Delourme *et al.*, 2001, Osborn *et al.*, 2003 ; Udall *et al.*, 2005). La présence de TNR pré-existantes au sein des génomes des variétés *Darmor-bzh* et *Yudal* n'a pas été documentée pour le moment. Cependant, un certain nombre d'éléments vont dans ce sens :

- Il existe des marqueurs dominants *Darmor-bzh* (bas de N1, Haut de N3, bas de N12) ou *Yudal* (bas de N11, haut de N13) qui ségrégent avec un ratio 3:1 dans la population en ségrégation utilisée pour établir la carte de référence et qui forment des clusters distaux, éloignés de 25 cM du marqueur le plus proche. Les marqueurs Na14F11a (bas de N1; *Yudal*), Na14F11b (bas de N11; *Darmor-bzh*) et Na14G02a (haut de N3; *Darmor-bzh*) utilisés au cours de mon analyse appartiennent à trois de ces cinq régions (Figure 126)
- Parmi le cluster de marqueurs dominants *Yudal* en bas de N1 (Na14F11a), le marqueur JLP015 est un marqueur PCR spécifique appartenant à une sous famille de rétroéléments SINE S1 spécifique de *B. oleracea* mais cartographié sur le génome A (Prieto *et al.*, 2005a).
- Le nombre de copies de l'allèle Na14G02a (*Darmor-bzh*) relativement au nombre de copies des allèles Na14G02c (*Yudal*) et Na14G02c (*Yudal*) varie de 0,5 (D11H3, D11H7...) à 2 (D4H6, D4H7...) dans les descendants d'haploïdes *Darmor-bzh*. Ce profil de ségrégation est compatible avec l'hypothèse selon laquelle Na14G02 est dupliqué chez *Darmor-bzh* (Figure 127)

Tableau 35 : Ségrégation et co-ségrégation observées et attendues des marqueurs Na14F11a et Na14F11b sous l'hypothèse de la présence de deux translocations non-réciproques pré-existantes, l'une en haut de N11 dans la variété *Darmor-bzh*, l'autre en haut de N1 dans la variété *Yudal*.

Observé				
		Na14F11a (N1)		Ségrégation observée des allèles <i>Darmor-bzh</i> et <i>Yudal</i> du locus Na14F11b dans la population
	Allèles	<i>Darmor-bzh</i> (absent)	<i>Yudal</i> (présent)	
Na14F11b (N11)	<i>Darmor-bzh</i> (présent)	46 (32%)	75 (52%)	121 (83%)
	<i>Yudal</i> (absent)	0 (0%)	24 (17%)	24 (17%)
Ségrégation observée des allèles <i>Darmor-bzh</i>		46 (31%)	99 (69%)	145 (100%)
Attendu				
		Na14F11a (N1)		Ségrégation de Na14F11b dans la population
	Allèles	Darmor (Absent)	Yudal (Présent)	
Na14F11b (N11)	Darmor (Présent)	25% (32,25)	50% (72,5)	104,75 (75%)
	Yudal (Absent)	0% (0)	25% (32,25)	32,25 (25%)
Ségrégation de Na14F11a dans la population		32,25 (25%)	104,75 (75%)	145 (100%)

Tableau 36 : Comparaison de la ségrégation et co-ségrégation observées et attendues sous l'hypothèse de la présence de deux TNR pré-existantes, l'une en haut de N11 dans la variété *Darmor-bzh*, l'autre en haut de N1 dans la variété *Yudal*.

	χ^2	Seuil de rejet de l'hypothèse H_0	Décision Hypothèse H_0
Ségrégation des allèles <i>Darmor-bzh</i> et <i>Yudal</i> au locus de Na14F11a dans la population HD	2,5	12%	Accepté
Ségrégation des allèles <i>Darmor-bzh</i> et <i>Yudal</i> au locus de Na14F11b dans la population HD	2,2	14%	Accepté
Co-ségrégation des allèles <i>Darmor-bzh</i> et <i>Yudal</i> au locus Na14F11a et Na14F11b dans la population HD	3,4	32%	Accepté

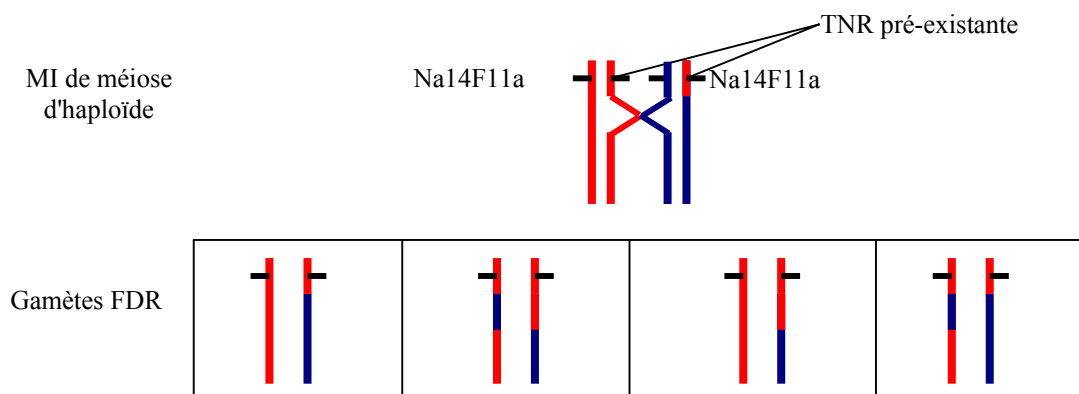


Figure 128 : Transmission par un gamète de type FDR dans une descendance d'haploïde d'un marqueur porté par une TNR pré-existante en présence d'un crossing-over induisant l'échange des régions dupliquées de la TNR. Bien qu'il y ait eu recombinaison, les marqueurs appartenant à la TNR sont transmis dans tous les gamètes. On ne peut détecter les événements de recombinaison

- Les allèles *Darmor-bzh* et *Yudal* de Na14F11a et Na14F11b ségrègent et coségrègent comme attendu sous l'hypothèse de la présence de deux TNR pré-existantes, l'une en haut de N11 dans la variété *Darmor-bzh*, l'autre en haut de N1 dans la variété *Yudal* (Tableau 35; Tableau 36).

Ces différentes observations suggèrent que trois TNR pré-existent dans le génome de *Darmor-bzh* (du bas de N1 sur le bas de N11, du bas de N2 sur le bas de N12 et du haut de N3 sur le haut de N13) et qu'une TNR pré-existe chez *Yudal* (du bas de N11 sur le bas N1) (Figure 126). La présence de tels remaniements permet d'expliquer pourquoi on observe une chute brutale de la fréquence de non-transmission des allèles du parent haploïde pour les locus Na14F11b et Na14G02a chez les descendants d'haploïdes *Darmor-bzh*, et pour le locus Na14F11a chez les descendants d'haploïdes *Yudal* (Figure 116), alors même que ces trois locus sont localisés dans des régions où on attend de nombreux réarrangements.

Ces ruptures brutales résultent certainement d'une forte sous-estimation des fréquences de recombinaison dans les intervalles analysés, en lien avec la présence de TNR. D'une part, la duplication des marqueurs appartenant aux TNR pré-existantes limite fortement notre capacité à détecter de nouvelles translocations dans ces régions puisque la perte d'un des marqueurs est masquée par la présence de sa copie dupliquée. Dans le meilleur des cas, on ne peut détecter que des réarrangements affectant les deux régions dupliquées simultanément (*i.e.* dans le même individu) ce qui est un événement très rare. D'autre part, on peut imaginer que de nombreux événements de recombinaison se réaliseront entre les deux régions dupliquées et qu'ils seront alors impossibles à détecter et ce quelle que soit la migration des chromatides recombinés (Figure 128)

III.5.3 Effet des variations structurales sur les réarrangements

D'autres variations structurales que les TNR pré-existantes pourraient jouer un rôle dans la distribution des remaniements le long des groupes de liaison.

Nous avons vu précédemment au §III.4.2 que le degré de colinéarité expliquait une part importante de la variation de la fréquence de remaniement entre les groupes de liaison. L'analyse de la fréquence de non-transmission des allèles du parent haploïde le long de N3 et N13 illustre parfaitement l'effet d'une rupture de colinéarité entre deux groupes de liaison homéologues. Ainsi, tandis que la fréquence de remaniement est très forte en haut de N13 qui est totalement colinéaire avec le haut de N3, elle chute en bas de ces groupes de liaison, là où ils présentent des différences structurales importantes.

Par ailleurs, de nombreux groupes de liaison présentent des relations d'homéologie multiples via leur deux bras chromosomiques. On peut observer que pour certains de ces groupes de liaison la fréquence de non-transmission est très déséquilibrée entre le haut et le bas du groupe de liaison. Ceci suggère fortement que ces groupes de liaison s'apparient et recombinent de façon préférentielle avec l'un des deux groupes de liaison avec lequel ils présentent des relations d'homéologie. Par exemple, la fréquence de non-transmission est respectivement 4 et 3 fois plus élevée en haut qu'en bas de N9 dans les descendants d'haploïdes *Darmor-bzh* (8,8% vs 1,8%) et *Yudal* (6,8% vs 1,8%). Ainsi, il est vraisemblable que le haut de N9 et le haut de N19 s'apparient de façon privilégiée en MI de méiose. De la même façon, chez les descendants d'haploïdes *Darmor-bzh* la fréquence de non-transmission est deux fois plus élevée en bas qu'en haut de N14 (7,3% vs 3%) indiquant que le bas de N4 s'associe de façon préférentielle avec le bas de N14 et nettement moins avec le haut de N5. Au contraire, chez les descendants d'haploïdes *Yudal*, la fréquence de non-transmission est équivalente voire légèrement inférieure en bas qu'en le haut de N14 indiquant que N14 s'associe indifféremment avec N5 et N4 chez les haploïdes *Yudal*. Par ailleurs, la non-transmission de l'allèle du parent haploïde en bas de N4 (OI11D12) est associée à la duplication de l'allèle du parent haploïde en bas de N14 (CB10335) pour 6 plantes sur 8 (75%) dans les descendants d'haploïdes *Darmor-bzh* contre 0 plantes sur 5 (0%) dans les descendants d'haploïdes *Yudal*. Dans ce cas précis, les couples de locus utilisés sont identiques dans les deux descendances d'haploïdes. Il est tentant d'interpréter ce résultat comme le reflet de différences structurales entre N4 et N14 chez *Yudal* qui empêchent ces chromosomes de recombiner au cours de la méiose des haploïdes *Yudal* alors qu'ils le font au cours de la méiose des haploïdes *Darmor-bzh* (Figure 57). Ces observations pourraient indiquer l'existence de différences structurales entre *Darmor-bzh* et *Yuda.l*

En conclusion, j'ai pu montrer que la fréquence des remaniement s'accroît de façon linéaire avec la distance vis-à-vis du centromère et par conséquent que les régions chromosomiques en position télomérique était plus fréquemment remaniées que celles en position centromérique. Par ailleurs, j'ai pu mettre en évidence que des variations structurales (TNR pré-existantes, rupture de synténie...) au sein des groupes de liaison sont susceptibles de faire varier de façon importante les fréquences de remaniement. Enfin, j'ai pu montrer que les distributions des événements de recombinaison non-homologues chez les haploïdes et homologues chez les euploïdes étaient corrélées, mais que l'inhibition de la recombinaison par le centromère était vraisemblablement plus importante chez les haploïdes que chez les euploïdes.

III.6 LA STRUCTURE HAPLOÏDE INDUIT LA RECOMBINAISON HOMÉOLOGUE

La structure de mon jeu de données m'a permis de comparer la fréquence des événements de recombinaison homéologue qui surviennent pour les mêmes intervalles (ou les mêmes locus) dans des formes haploïdes (AC, n=19) et euploïdes (AACC, 2n=38). Les données sur la fréquence des événements de recombinaison homéologue chez les euploïdes proviennent soit de mes propres analyses (développées ci-dessous) soit de l'exploitation des résultats de Udall *et al.* (2005).

III.6.1 Détection d'événements de recombinaison homéologue générés durant la méiose du parent euploïde dans les croisements haploïdes x euploïde

De la même manière que pour le parent haploïde, j'ai constaté qu'un certain nombre d'allèles du parent euploïde (2n=38) n'ont pas été transmis dans les deux populations que j'ai étudiées au cours de la thèse. Ceci indique que des réarrangements structuraux ont eu lieu durant la méiose du parent euploïde (2n=38), et ce aussi bien dans les variétés *Darmor-bzh* que *Yudal*.

Ces événements sont relativement rares et sont détectés en proportions égales dans la descendance des formes euploïdes de *Darmor-bzh* et de *Yudal* : 0,12 vs 0,13 réarrangements par individu, respectivement. Ces réarrangements concernent par ailleurs très peu de locus. Seuls 10% des locus ont été réarrangés au moins une fois durant la méiose des formes euploïdes de *Darmor-bzh* et de *Yudal*. Ces locus sont localisés en position distale sur les groupes de liaison présentant un très fort niveau de synténie avec leur homéologue (N13-N3 ; N2-N12 ; N1-N11 ; N9-N18). A titre d'exemple, les plus fortes fréquences de non-transmission de l'allèle du parent euploïde ont été observées en haut du groupe de liaison N13, à la fois dans la descendance des formes euploïdes de *Yudal* (1,9%) et de *Darmor-bzh* (3,1%).

Ces événements de non-transmission de l'allèle du parent euploïde résultent vraisemblablement d'événements de recombinaison homéologue au cours de la méiose du parent euploïde car ils sont systématiquement associés à la duplication de l'allèle du parent euploïde au locus homéologue. Ainsi, dans l'individu Y6H10, la non-transmission de l'allèle du parent euploïde *Darmor-bzh* aux locus CB10081b/O112F11b (N1-haut) est associée à la duplication de l'allèle du parent haploïde aux locus homéologues CB10081a/O112F11a (N11-haut). De la même façon, dans D5H16 et D13H48, j'ai pu observer une non transmission et duplication simultanée des allèles du

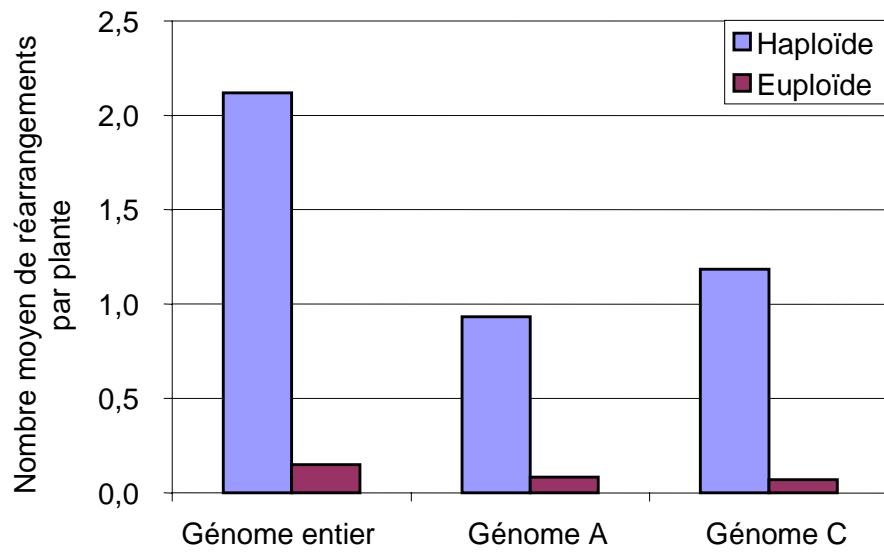


Figure 129 : Comparaison du nombre moyen de translocations non-réciproques par plante générées durant la méiose d'un haploïde et d'un euploïde.

parent euploïde *Yudal* aux locus exactement homéologues positionnés en haut de N12 (PFM519a-Na12H09b) (disparu ou dupliqué) et de N2 (PFM519b-Na12H09c) (disparu ou dupliqué).

III.6.2 Comparaison de la fréquence de recombinaison homéologue entre haploïde et euploïde

En comparant le taux de transmission de l'allèle des parents euploïde et haploïde de la variété *Darmor-bzh* et *Yudal* pour des marqueurs codominants, il est possible de comparer la fréquence des réarrangement chromosomiques qui surviennent durant la méiose des euploïdes *versus* celle des haploïdes aux mêmes locus et dans des fonds génétiques identiques. Par conséquent, cette analyse permet d'analyser l'effet de la structure haploïde sur la fréquence de réarrangement chromosomique.

Cette analyse montre que la fréquence de non transmission à un locus donné est accrue en moyenne d'un facteur 10 dans les haploïdes *Yudal* (1,4% vs 0,1%) et d'un facteur 50 dans les haploïdes *Darmor-bzh* (4,9% vs 0,1%) par rapport aux valeurs mesurées chez les formes euploïdes. Cette estimation n'a toutefois porté que sur un petit échantillon de locus.

Sous l'hypothèse que la non-transmission de plusieurs locus adjacents représente le même réarrangement, j'ai ensuite comparé le nombre moyen de réarrangements par individu générés durant la méiose des haploïdes et des euploïdes dans mon étude. La structure haploïde promeut très fortement les réarrangements structuraux puisqu'il accroît d'un facteur 5 à 20 selon le parent haploïde le nombre de réarrangements structuraux par rapport à une structure euploïde (2,1 vs 0,1 dans les descendants d'haploïdes *Darmor-bzh* et 0,5 vs 0,1 dans les descendants d'haploïdes *Yudal*).

Afin d'élargir la comparaison de la fréquence de recombinaison homéologue entre euploïde et haploïde à l'ensemble du génome, j'ai comparé mes résultats avec les fréquences des TNR homéologues obtenues par Udall *et al.* (2005) sur des colzas euploïdes naturels et synthétiques (Figure 129). Sur l'ensemble du génome, la fréquence de TNR est accrue d'un facteur 21 dans les descendants d'haploïdes *Darmor-bzh* et d'un facteur 7 dans les descendants d'haploïdes *Yudal*. On peut constater que ces facteurs sont du même ordre de grandeur que ceux obtenus dans notre étude.

Au-delà de ces valeurs moyennes, il est important de noter que le facteur avec lequel la fréquence de recombinaison est augmentée chez un haploïde par rapport à un euploïde varie d'un groupe de liaison à l'autre. Ainsi, certains groupes de liaison pour lesquels Udall *et al.* n'ont pu mettre en évidence aucune TNR dans les 658 individus de leur quatre populations sont parfois

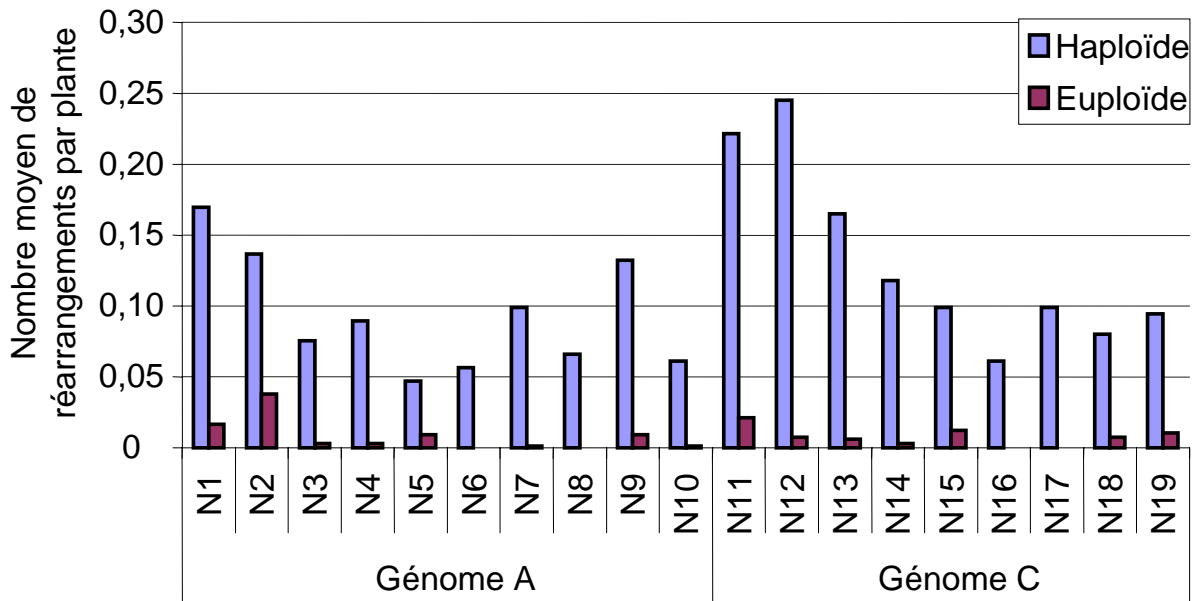


Figure 130 : Comparaison du nombre moyen de réarrangements par individu générés durant la méiose d'un haploïde et d'un euploïde (Udall *et al.*, 2005).

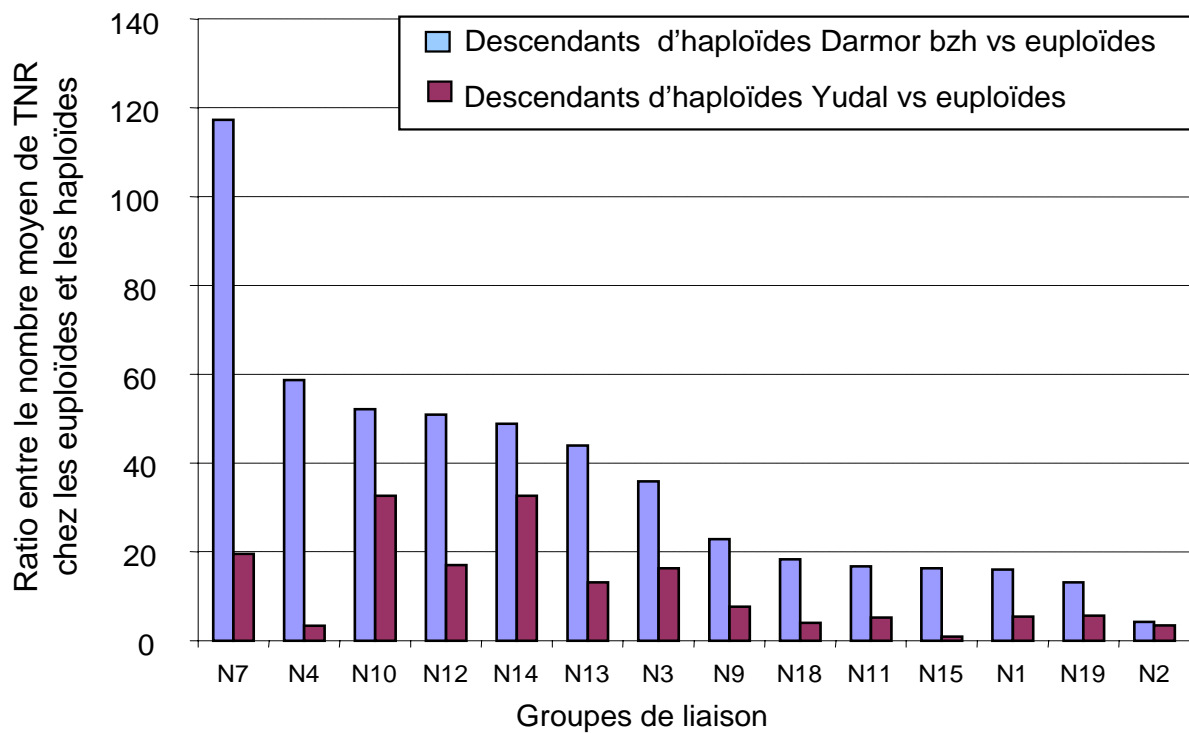


Figure 131 : Ratio entre le nombre moyen de réarrangements par individu chez les haploïdes et les euploïdes.

fortement réarrangés dans les descendants d'haploïdes (N6, N8, N16, N17). Par ailleurs, en dehors de ces quatre groupes de liaison, le nombre moyen de TNR est multiplié par 4 à 120 selon le groupe de liaison dans les descendants d'haploïdes *Darmor-bzh* et par 1 à 33 dans les descendants d'haploïdes *Yudal* (Figure 130). Si on exclut de la comparaison les groupes de liaison mal couverts par les marqueurs (N15, N19), on peut observer que plus le degré de synténie est important, moins l'accroissement de la fréquence de TNR chez les haploïdes est élevé. Ainsi, l'accroissement de la fréquence des TNR pour les groupes de liaison synténiques sur toute leur longueur N2, N1, N11 est inférieure à 20 dans les descendants d'haploïdes *Darmor-bzh* et à 5 dans les descendants d'haploïdes *Yudal*.

Enfin, la structure haploïde accroît fortement l'étendue des régions réarrangées et promeut des réarrangements structuraux plus diversifiés que chez les formes euploïdes.

Dans mon étude, on constate de même que l'étendue des régions chromosomiques susceptibles d'être réarrangées est moins importante puisque seuls 10% des locus ont été réarrangés au moins une fois durant la méiose des formes euploïdes de *Darmor-bzh* et de *Yudal* contre près de 80% au cours de la méiose des haploïdes correspondants. On observe par ailleurs que la quasi-totalité des locus réarrangés et des réarrangements chromosomiques chez les formes euploïdes sont situés en position distale et très peu en position interstitielle alors que de nombreux locus et régions chromosomiques en position interstitielle sont réarrangés chez les haploïdes. Enfin, les réarrangements chromosomiques entraînant la perte de plusieurs locus simultanément dans un individu sont rares chez les euploïdes alors qu'ils sont fréquents chez les haploïdes indiquant que la taille des réarrangements est vraisemblablement plus faible. Par ailleurs, tandis que les réarrangements semblent avoir lieu exclusivement entre régions homéologues durant la méiose des euploïdes, mes résultats suggèrent fortement qu'ils peuvent avoir lieu entre des régions paralogues chez les haploïdes.

L'étude de Udall *et al.* (2005) confirme ces observations. En effet, comparé aux TNR homéologues produites durant la méiose des euploïdes chez Udall *et al.*, les TNR homéologues sont plus diversifiées (variation de la taille des TNR, TNR interstitielles, triple crossing-over sur les groupes de liaison, étendue des régions réarrangées).

En conclusion, tandis que la variation génotypique fait varier le nombre moyen de réarrangements par individu d'un facteur 2-3 chez les haploïdes (*Darmor-bzh* vs *Yudal*), le changement de structure du génome (haploïde vs euploïde) fait varier le nombre moyen de réarrangements par individu d'un facteur 5-6. Ainsi, la part de variation de la fréquence de recombinaison homéologue due au changement de ploïdie (haploïde vs euploïde) est environ deux à trois fois plus importante que celle due à la variation génotypique (*Darmor-bzh* vs *Yudal*).

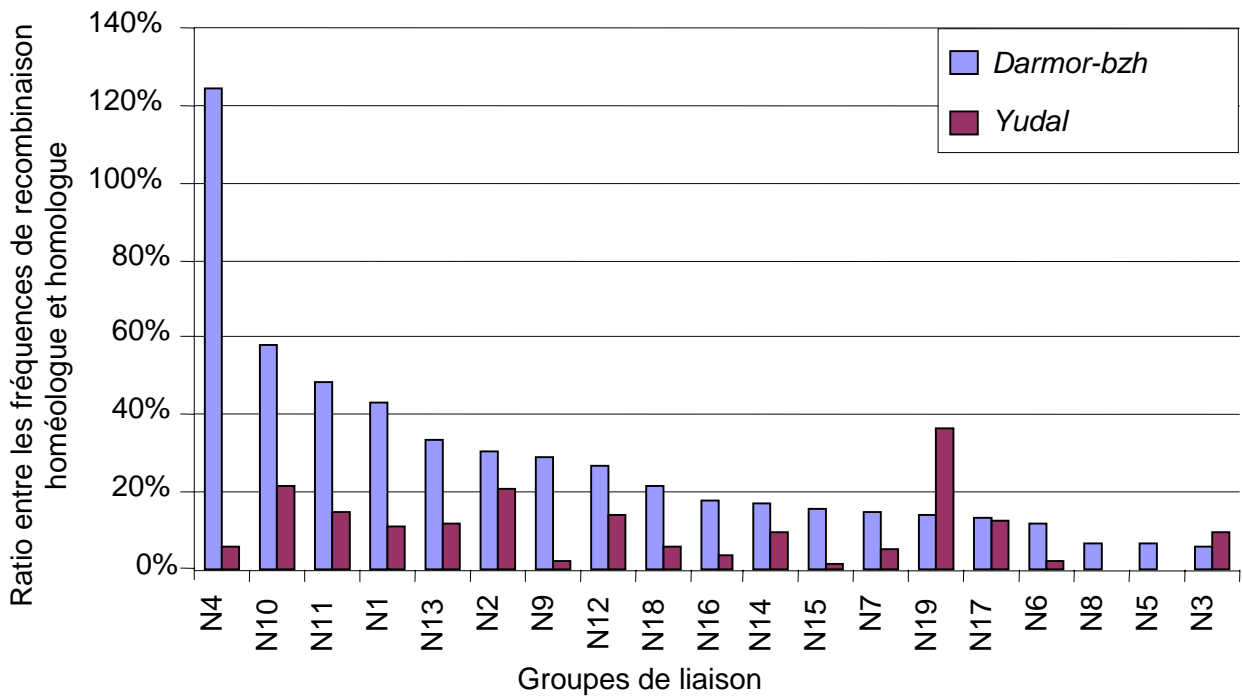


Figure 132: Ratio entre fréquences de recombinaison homologue et homéologue

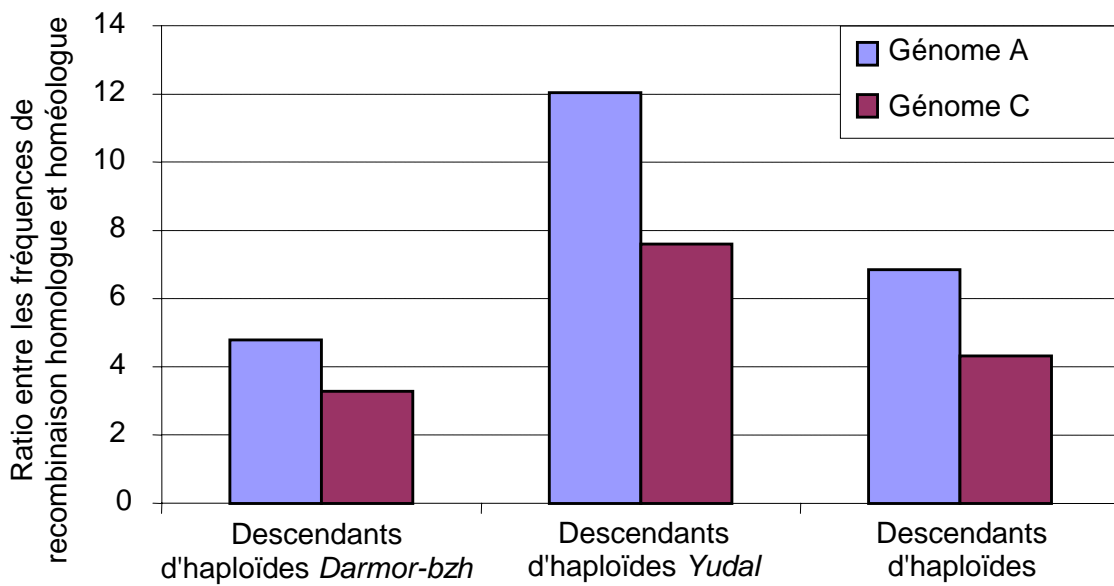


Figure 133: Ratio entre fréquence de recombinaison homologue et homéologue selon les genomes et le genotype de l'haploïde

III.7 COMPARAISON DES FREQUENCES DE RECOMBINAISON HOMOLOGUE ET HOMÉOLOGUE

Indépendamment des résultats du modèle présenté au paragraphe §III.5.1.2, la structure de mon jeu de données m'autorisait aussi à comparer la fréquence et la répartition des événements de recombinaison homologue et homéologue. En effet, les marqueurs analysés dans les descendants d'haploïdes avaient été préalablement cartographiés sur la carte de référence disponible au laboratoire et produite à partir des deux mêmes variétés que celles que j'ai utilisé. J'ai donc accès à la fréquence de recombinaison homologue pour les mêmes intervalles que ceux que j'ai analysés pour évaluer les fréquences de recombinaison homéologue. J'ai de même estimé que la fréquence de recombinaison homéologue était égale à la fréquence de point de cassure observée dans chaque intervalle. J'ai en effet considéré que le fait que la moitié des réarrangements détectés dans la descendance des haploïdes dérive d'événements de recombinaison homéologue (fréquence de points de cassure divisée par 2) compensait le fait que l'on ne détecte que la moitié des événements générés par les crossing-overs (fréquence de point de cassure multipliée par 2) (§I.5.2)

Pour l'ensemble des intervalles analysés (marqueurs codominants), la fréquence de recombinaison homéologue est réduite en moyenne d'un facteur 4 chez les haploïdes *Darmor-bzh* et d'un facteur 11 chez les haploïdes *Yudal* par rapport à la fréquence de recombinaison homologue. Cette réduction est plus forte dans le génome A (6,8 fois) que dans le génome C (4,3 fois)(Figure 133). Cette différence entre les génomes A et C tient principalement au fait que la fréquence de recombinaison homéologue a été estimée à partir de la fréquence des points de cassure des régions non-transmises et que je n'ai pas pu utiliser la fréquence de point de cassure des régions dupliquées sur l'ensemble du génome.

On peut également noter que le ratio entre les fréquences de recombinaison homologue et homéologue varie fortement d'un groupe de liaison à l'autre chez les haploïdes *Darmor-bzh* mais qu'il est relativement stable chez les haploïdes *Yudal* (Figure 132). Si on exclut les groupes de liaison mal couverts (N10, N15, N19), la réduction de la fréquence de recombinaison varie de 0% (N14) à 90% (N8, N5, N3) chez les haploïdes *Darmor-bzh* et de 80% (N2) à 100% (N8, N5) chez les haploïdes *Yudal* (Figure 132). On observe que la fréquence de recombinaison homéologue diminue beaucoup moins pour les groupes de liaison les plus synténiques (N4, N11, N1, N13, N2) chez les haploïdes *Darmor-bzh* alors que ce n'est pas le cas chez les haploïdes *Yudal*, la réduction de la recombinaison étant relativement homogène pour tous les groupes de liaison. Néanmoins, les groupes de liaisons pour lesquels la réduction de la fréquence de recombinaison est la plus forte sont les mêmes chez les haploïdes *Darmor-bzh* et *Yudal* (N8, N5, N3, N6). Tandis que pour N5

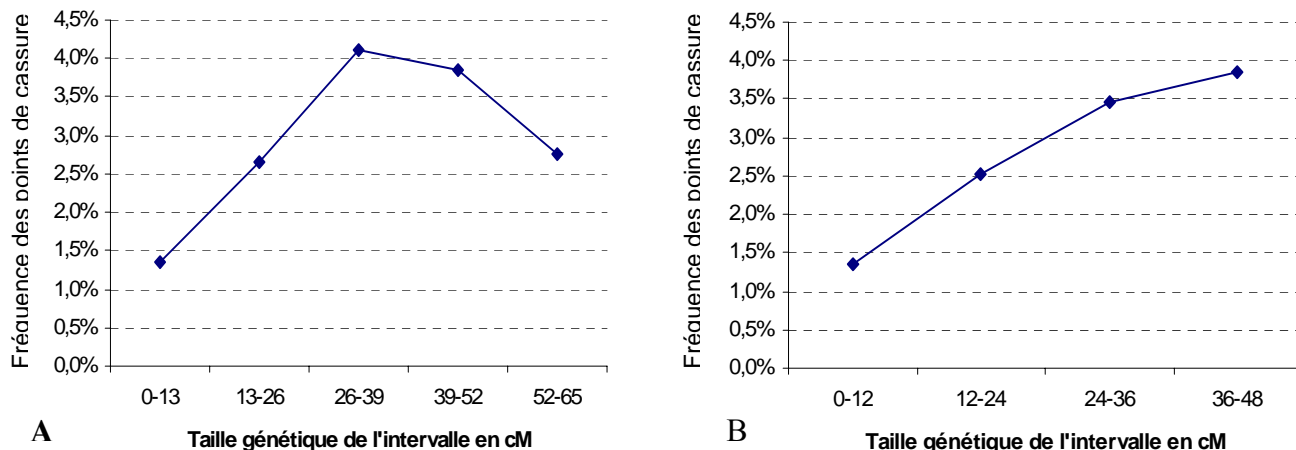


Figure 134: Relation entre la taille de l'intervalle et la fréquence des points de cassure selon le génome. (A) Avec et (B) Sans les intervalles supérieurs à 50 cM.

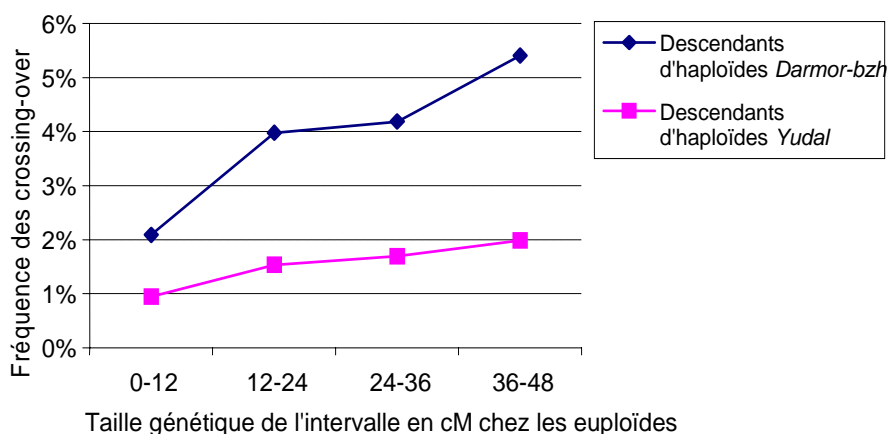


Figure 135: Relation entre la taille de l'intervalle et la fréquence de crossing-over homéologue selon les descendants d'haploïdes en supprimant les intervalles de grande taille (>50cM).

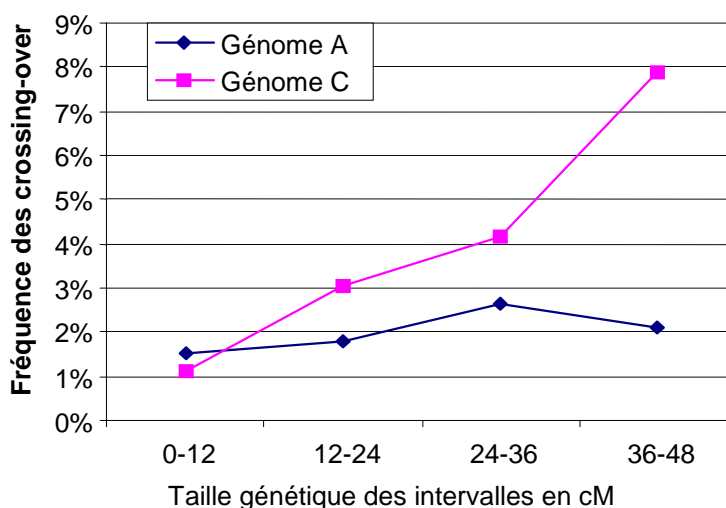


Figure 136: Relation entre la taille de l'intervalle et la fréquence de crossing-over homéologue selon le génome en supprimant les intervalles de grande taille (>50cM).

cette réduction pourrait résulter de l'absence de couverture d'un bras chromosomique (bas de N5), cette forte réduction de l'aptitude à recombiner pourrait pour les autres groupes de liaison résulter soit de la faible viabilité des événements de recombinaison, soit d'une plus faible affinité avec les groupes de liaison qui leur sont homéologues.

J'ai par ailleurs observé qu'il existe une corrélation moyenne mais significative entre les fréquences de recombinaison homologue et homéologue mesurées dans la descendance des haploïdes *Darmor-bzh* ($R^2=0,37$; $t=4$; $ddl=103$; $p<0,01\%$) ou *Yudal* ($R^2=0,24$; $t=2,5$; $ddl=101$; $p<0,01\%$). Cette corrélation montre que la distribution et la localisation physique des crossing-overs homologues et homéologues ne sont pas totalement indépendantes. Cette corrélation est illustrée par le fait qu'il existe une relation approximativement croissante et linéaire entre la taille de l'intervalle en cM et la fréquence de remaniement dans la descendance des haploïdes (Figure 134). Cette relation est vraie exceptée pour les intervalles de grande taille (>50 cM) pour lesquels la mesure de la fréquence de recombinaison homologue n'est vraisemblablement pas fiable (doubles crossing-overs, marqueurs indépendants). Lorsque ces intervalles sont supprimés de l'analyse, la relation entre les fréquences de recombinaison homologue et homéologue redevient linéaire dans les descendants d'haploïdes *Darmor-bzh* et *Yudal* (Figure 135) et dans les génomes A et C (Figure 136).

On peut donc analyser la relation entre les crossing-overs homologues et non-homologues en analysant l'effet de la taille de l'intervalle sur la variation de la fréquence de remaniement. Comme nous l'avons vu précédemment dans le modèle linéaire généralisé présenté au §III.5.1.2, la taille génétique des intervalles a un effet très significatif et important sur la variation de la fréquence de point de cassure. En moyenne, la fréquence de crossing-over croît de 1% lorsque la taille de l'intervalle augmente de 15 cM. On observe en outre que la variation de la fréquence de recombinaison homéologue en fonction de la taille génétique de l'intervalle est légèrement différente entre les haploïdes *Darmor-bzh* et *Yudal* (l'interaction entre le génotype et la taille de l'intervalle est proche d'être significative; $p\sim 10\%$), la fréquence de recombinaison homéologue croissant de façon moins rapide avec la taille de l'intervalle dans la descendance des haploïdes *Yudal* comparée à celle des haploïdes *Darmor-bzh* (Figure 135). Comme attendu, l'évolution de la fréquence de point de cassure en fonction de la taille de l'intervalle est différente d'un groupe de liaison à l'autre (l'interaction entre le facteur groupe de liaison et la taille de l'intervalle est significative; $p<0,01\%$).

Les résultats décrits au chapitre III.5.1 renseignent également sur la distribution comparée des crossing-overs homologues et homéologues le long des bras chromosomiques. Nous avons vu au chapitre III.5.1 que la fréquence de remaniement augmentait proportionnellement avec la

distance génétique vis-à-vis du centromère. Etant donné que j'ai mesuré l'effet de l'éloignement vis-à-vis du centromère sur la base de distances génétiques et non de distances physiques (données non disponibles sur une espèce comme le colza), cette observation indique que les crossing-overs non homologues ont lieu préférentiellement de façon plus distale sur le chromosome, ou que l'inhibition de la recombinaison dans les régions proches du centromère est plus forte lorsque la recombinaison a lieu entre des chromosomes non homologues.

III.8 CONCLUSION

En conclusion, j'ai montré que

- La méiose des haploïdes *Darmor-bzh* génère à peu près trois fois plus de remaniements chromosomiques que celle des haploïdes *Yudal*.
- Les haploïdes *Darmor-bzh* et *Yudal* diffèrent surtout par leur aptitude à mettre en place un premier crossing-over entre une paire de chromosomes donnée mais ils présentent la même chance de former des doubles et triples crossing-overs une fois le premier crossing-over réalisé. Les crossing-overs multiples sur les chromosomes semblent favorisés par rapport aux simples crossing-overs chez les haploïdes.
- La structure du génome du colza influence la fréquence des remaniements chromosomiques, notamment les TNR homéologues, parfois différemment selon le génotype du parent haploïde.
 - Les échanges entre les génomes A et C sont asymétriques. On détecte en effet plus de translocations de régions chromosomiques du génome A sur le génome C que de translocations de régions du génome C sur le génome A. Cette tendance est forte parmi les descendants d'haploïdes *Darmor-bzh*, et elle reste vraie, quoique moins frappante, dans les descendants d'haploïdes *Yudal*,
 - Tous les chromosomes sont susceptibles d'être remaniés à des fréquences variables dans les descendants d'haploïdes. Les différences d'aptitude à recombiner entre les chromosomes en prophase I de méiose résultent en partie de différences structurales entre les chromosomes au sein du génome du colza (degré de colinéarité entre les chromosomes, position du centromère sur le chromosome...). Elles pourraient aussi résulter de différences d'ordre structural, notamment du fait de la présence de TNR pré-existantes, au sein des génomes des haploïdes *Darmor-bzh* et *Yudal*,

- La fréquence de remaniement d'une partie des groupes de liaison était compatible avec la présence de chromosomes systématiquement appariés en MI de méiose chez *Darmor-bzh* mais pas chez *Yudal*. La réduction des fréquences des remaniements entre les descendants d'haploïdes *Darmor-bzh* et *Yudal* observée au niveau des groupes de liaison était identique à celle observée sur l'ensemble du génome (divisée par 3) excepté pour cinq groupes de liaison (N2, N14, N17, N4, N7),
- La fréquence des remaniements chromosomiques varie en fonction de leur position le long des bras chromosomiques. Il y a notamment un effet de la distance génétique au centromère. L'inhibition de la formation des remaniements à proximité du centromère semble légèrement plus forte chez les haploïdes de *Yudal* que chez ceux de *Darmor-bzh*.
- Les distributions des crossing-overs homologues et homéologues sont corrélées globalement positivement, même s'il semblerait que les crossing-overs homéologues se positionnent de façon plus distale que les crossing-overs homologues ou que l'inhibition de la recombinaison dans les régions proches du centromère soit plus forte lorsque la recombinaison a lieu entre des chromosomes non homologues.
- L'absence de chromosomes homologues dans un haploïde amplifie d'un facteur 5 à 20 la fréquence des TNR homéologues, mais cette augmentation n'est pas homogène le long du génome, l'amplification étant d'autant plus forte que la fréquence des TNR homéologues est faible chez les euploïdes.

Les haploïdes pourraient donc apparaître comme des plantes privilégiées pour induire des recombinaisons plus fréquentes et plus variées entre des chromosomes non homologues. Encore faut-il qu'elles ne soient pas contre-sélectionnées dans la descendance.

Quel est l'effet de ces remaniements sur la fitness de la plante ?

CHAPITRE IV

Relation entre fertilité, translocations non-réciproques et comportement méiotique

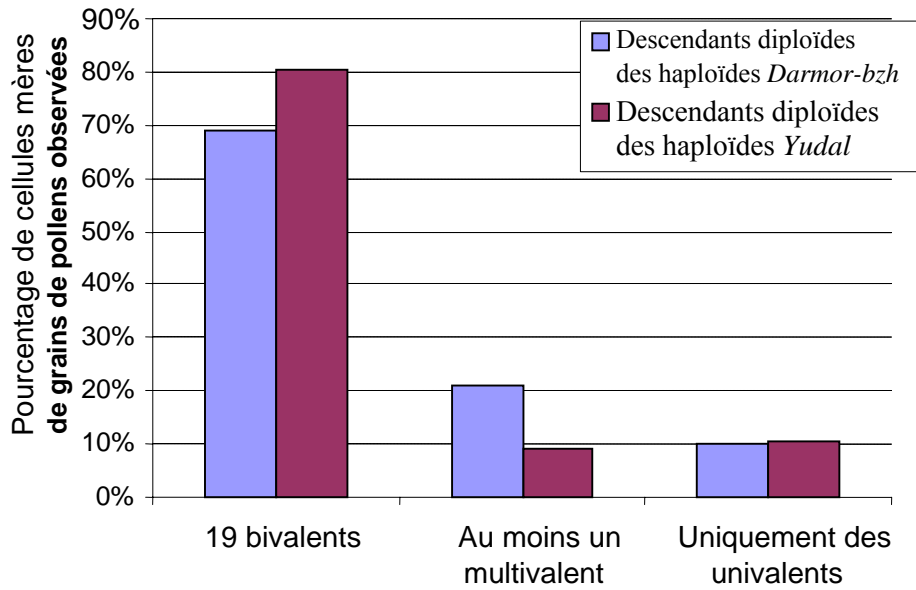


Figure 137: Répartition des cellules mères de pollen observées en fonction de la configuration en métaphase.

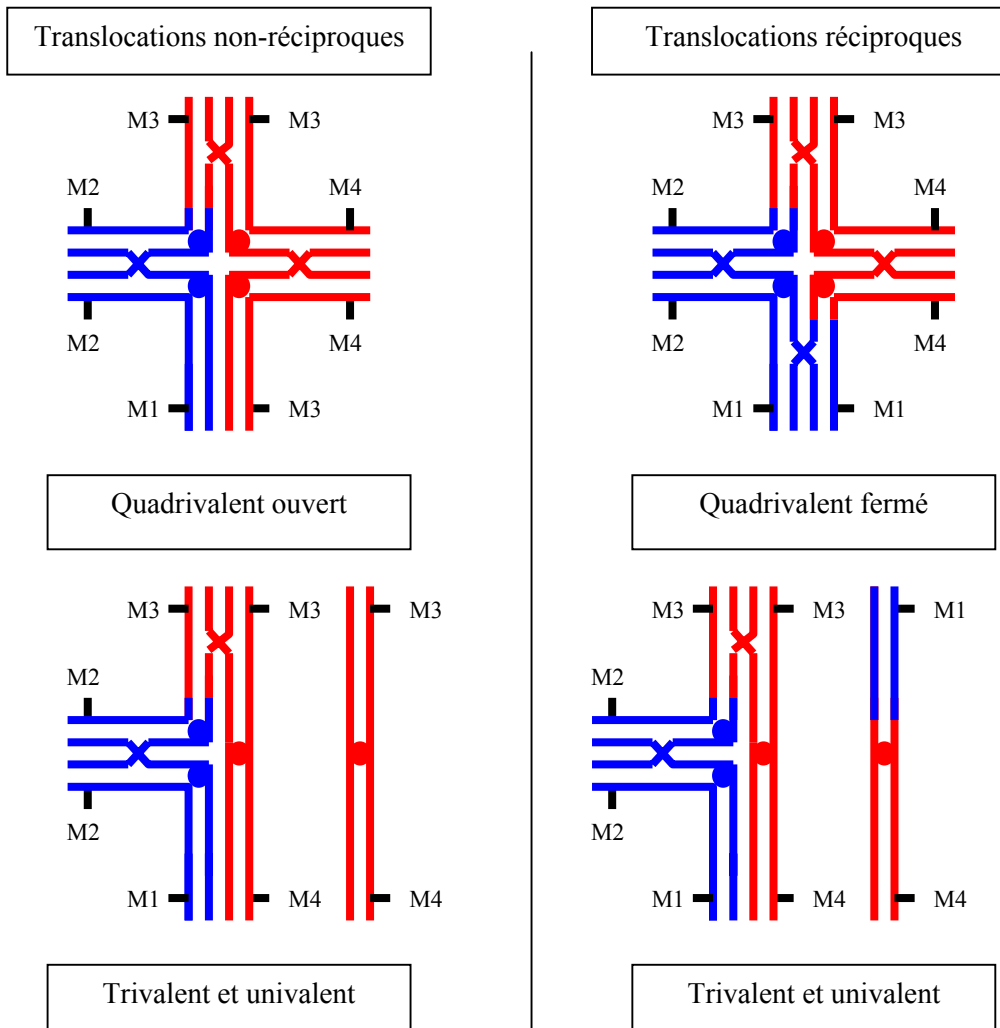


Figure 138: Formation de multivalents et translocations réciproques et non-réciproques.

IV RELATION ENTRE FERTILITE, TRANSLOCATIONS NON-RECIPROQUES ET COMPORTEMENT MEIOTIQUE

Nous avons vu dans les parties qui précèdent qu'un nombre variable et qu'une grande diversité (taille, position...) de réarrangements par plante sont générés au cours de la méiose des haploïdes de colza et transmis à leur descendance. Si on veut évaluer correctement dans quelle mesure ces remaniements pourraient participer à la dynamique de l'espèce, il convient de s'interroger sur leur devenir dans les générations suivantes et sur les conséquences qu'ils induisent sur la stabilité du comportement méiotique et sur les fertilités mâle et femelle des plantes qui les portent. Pour répondre à ces questions, les fertilités mâle (pourcentage de grains de pollen colorés) et femelle (nombre de graines par silique) ont été mesurées pour l'ensemble des 212 descendants d'haploïdes analysés avec les marqueurs moléculaires. De même, le comportement méiotique de 53 descendants d'haploïdes a été établi en observant environ 20 cellules mères de grains de pollen par plante.

IV.1 RELATION ENTRE TRANSLOCATIONS NON-RECIPROQUES ET STABILITE DU COMPORTEMENT MEIOTIQUE

Le comportement méiotique des 53 descendants d'haploïdes est clairement perturbé ; la fréquence des multivalents est significativement plus élevée chez ces plantes que chez les colzas témoins produits en croisant deux plantes euploïdes de *Darmor-bzh* et *Yudal* (17% vs ~1%). De même, près de 10% des CMP présentent des univalents (Figure 137) alors que ces derniers sont très rares chez les colzas témoins. On peut en outre constater que la fréquence des multivalents est environ deux fois plus importante chez les descendants d'haploïdes *Darmor-bzh* que chez les descendants d'haploïdes *Yudal* (21% vs 10%) (Figure 137), soit un ratio du même ordre de grandeur que la différence pour la fréquence de remaniement entre les deux descendance. Ces différentes observations amènent directement à s'interroger sur la relation entre la présence ou la taille des remaniements et la régularité du comportement méiotique (Figure 138).

Pour répondre à cette question, j'ai analysé le modèle linéaire généralisé binomial suivant :

$$\log(p_{ijk}/1-p_{ijk}) \sim \text{NbTNR}_i + \text{TailleTNR}_j + (\text{NbTNR} : \text{TailleTNR})_{ij} + \varepsilon_{ijk}$$

Tableau 37: Analyse de déviance du modèle linéaire généralisé sur l'influence du nombre de TNR et de la taille de génome réarrangée sur la régularité du comportement méiotique chez les descendants d'haploïdes *Darmor-bzh* et *Yudal*

Sources de variation	Descendants d'haploïdes <i>Darmor-bzh</i>			Descendants d'haploïdes <i>Yudal</i>		
	Déviance	ddl	p (%)	Déviance	ddl	p (%)
Nombre de TNR	1,6	1	20	2,2	1	13
Taille totale de génome réarrangé	0,6	1	43	4,1	1	4
Interaction entre le nombre et la taille totale de génome réarrangé	2,7	1	10	0,04	1	83
Résiduelle	37,9	23		24,5	14	

Tableau 38: Influence du nombre et de la taille de génome réarrangé sur le nombre de d'univalents et de bivalents chez les descendants d'haploïdes *Darmor-bzh*.

Source de variation	Univalents				Bivalents			
	Coefficient du modèle	erreur standard	z	p(%)	Coefficient du modèle	erreur standard	z	p(%)
Interception de la courbe à l'origine	-5,4	0,365	14	<0,1	4,3	0,25	17	<0,1
Nombre de TNR	0,1	0,095	1,2	22	-0,02	0,07	-0,3	73
Taille totale de génome réarrangé	0,01	0,002	4,2	<0,1	-0,009	0,002	-4,8	<0,1
Interaction entre le nombre de TNR et la taille	-0,01	0,001	-3	0,2	0,001	0,003	3,3	<0,1

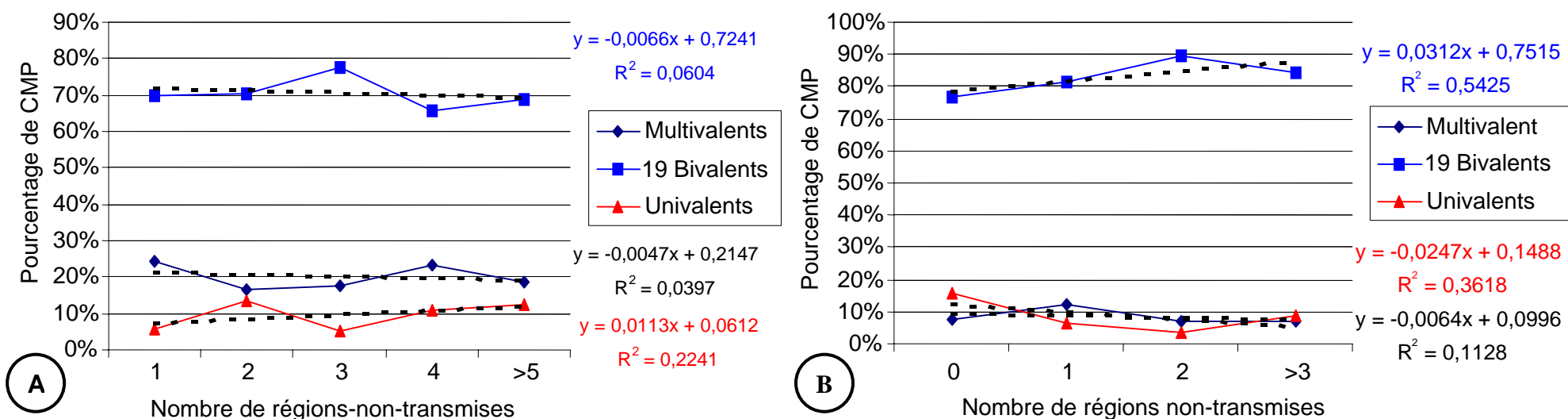


Figure 139: Pourcentage de cellules mères de pollen (CMP) à 19 bivalents, avec multivalents, et avec uniquement des univalents en fonction du nombre de réarrangements chez les descendants d'haploïdes *Darmor-bzh* (A) et *Yudal* (B)

Dans ce modèle, p_{ij} représente soit la fréquence des multivalents, soit le pourcentage de cellules à 19 bivalents dans l'individu, $NbTNR_j$ le nombre de TNR_i détectés dans l'individu, $TailleTNR_j$, la taille totale de génome remanié par les TNR dans l'individu. Compte tenu de la différence du nombre de réarrangements entre les descendants d'haploïdes *Darmor-bzh* et *Yudal*, j'ai analysé séparément chaque descendance d'haploïdes.

Chez les descendants d'haploïdes *Darmor-bzh*, il n'y a pas d'effet significatif du nombre de remaniements, ni de la taille cumulée des régions réarrangées, sur le pourcentage de CMP présentant 19 bivalents en MI ou au contraire sur la fréquence de multivalents (Cf annexe Tableau 43). Chez les descendants d'haploïdes *Yudal*, seul l'effet du nombre de remaniements sur la variation du pourcentage de cellules mères du pollen à 19 bivalents est significatif (Cf annexe Tableau 44), même s'il reste relativement faible (+3% de CMP avec 19 bivalents pour chaque réarrangement). Ainsi, le nombre de remaniements ne semble pas avoir un effet important sur la régularité du comportement méiotique (Tableau 37) et la présence de multivalents chez les descendants d'haploïdes.

J'ai utilisé le même modèle pour analyser de façon plus fine l'effet du nombre et de la taille cumulée des remaniements par individu sur la fréquence des univalents, des bivalents, des trivalents et des quadrivalents. Chez les descendants d'haploïdes *Darmor-bzh* comme chez ceux d'haploïdes *Yudal*, la taille cumulée du génome réarrangé et son interaction avec le nombre de remaniements par individu ont un effet significatif sur la fréquence des univalents et des bivalents (Tableau 38). Ainsi, plus la taille cumulée du génome réarrangé augmente, plus la fréquence des univalents est élevée. Inversement, plus la taille cumulée du génome réarrangé est faible dans un individu, plus la fréquence des bivalents est élevée dans cet individu. Enfin, pour une taille cumulée du génome réarrangé donnée, la fréquence des univalents décroît avec le nombre de remaniements chez les descendants d'haploïdes *Darmor-bzh* alors que c'est l'inverse pour la fréquence des bivalents (Figure 139). Ces résultats indiquent que c'est plus la taille des remaniements que leur nombre qui influencent la fréquence moyenne des univalents et des bivalents. Concernant la fréquence des multivalents (quadrivalents et trivalents), seule la fréquence des trivalents chez les descendants d'haploïdes *Darmor-bzh* semble légèrement influencée par la taille cumulée du génome réarrangé et le nombre de réarrangements: plus la taille cumulée du génome réarrangé croît, plus la fréquence des trivalents est élevée. Par contre, ni le nombre, ni la taille des réarrangements n'ont d'effet significatif sur la fréquence des quadrivalents chez les descendants d'haploïdes *Darmor-bzh* et *Yudal* (Figure 139).

De nombreux auteurs ont montré que les perturbations du comportement méiotique conduisent à une réduction des fertilités mâle et femelle en favorisant la formation de gamètes

aneuploïdes. On peut donc s'interroger sur la relation entre la présence ou la taille des remaniements et la fertilité mâle ou femelle des descendants d'haploïdes.

IV.2 LES TRANSLOCATIONS NON-RECIPROQUES AFFECTENT RELATIVEMENT PEU LA FERTILITE

Il y a une réduction significative des fertilités mâle et femelle moyennes chez les descendants d'haploïdes *Darmor-bzh* comparés aux descendants d'haploïdes *Yudal* :

- 18,5 vs 10,3 graines par silique ($t=14$; $ddl=209$; $p<0,01\%$). On peut remarquer que ces valeurs sont du même ordre de grandeur que celles mesurées sur des plantes euploïdes de génotype *Darmor-bzh* (13,1 graines par silique en moyenne) et *Yudal* (11,5 graines par silique en moyenne) et légèrement supérieures à celles estimées sur des plantes issues du croisement *Darmor-bzh* x *Yudal* (6,5 graines par silique en moyenne).
- 95% vs 82% de grains de pollen colorés ($\chi^2=9232$; $ddl=1$; $p<0,01\%$). On peut également constater que la fertilité mâle des descendants d'haploïdes *Yudal* est identique à celles de plantes euploïdes de génotype *Darmor-bzh* et *Yudal*, qui sont *a priori* indemnes des réarrangements structuraux (95% vs 96% ; $p>5\%$) ; Par contre, la fertilité mâle des descendants d'haploïdes *Darmor-bzh* est légèrement mais significativement réduite par rapport aux témoins (82% vs 96% ; $p<0,01\%$).

Il existe en outre une faible corrélation positive et significative entre la fertilité mâle et la fertilité femelle aussi bien chez les descendants d'haploïdes de *Darmor-bzh* ($\tau = 0,13$; $z = 2$; $p<5\%$) que chez ceux de *Yudal* ($\tau = 0,20$; $z = 2,9$; $p<5\%$). Cette faible corrélation indique que si les réductions de fertilité mâle et femelle sont pour partie liées, elles restent néanmoins largement indépendantes.

Les individus composant les deux populations analysées présentent le même fonds génétique (hybride *Darmor-bzh* × *Yudal*, et réciproque), aux réarrangements structuraux près. Il est donc tentant d'interpréter la réduction de fertilité observée entre les descendances d'haploïdes *Darmor-bzh* vs *Yudal* comme une conséquence de la différence existant dans le nombre et la taille cumulée de génome réarrangé entre les deux descendances.

Tableau 39: Analyse de l'effet du nombre et de la taille des translocations non-réciproques (TNR) sur la fertilité mâle par un modèle linéaire généralisé de type binomial.

Source de variation	Descendants d'haploïdes <i>Darmor-bzh</i>			Descendants d'haploïdes <i>Yudal</i>		
	Déviante	ddl	p (%)	Déviante	ddl	p (%)
Nombre de TNR	1533	1	<0,01	248	1	<0,01
Taille de génome réarrangé	560	1	<0,01	70	1	<0,01
Interaction entre le nombre et la taille de génome réarrangé	724	1	<0,01	1	1	32
Résiduelle	10977	97		1579	87	

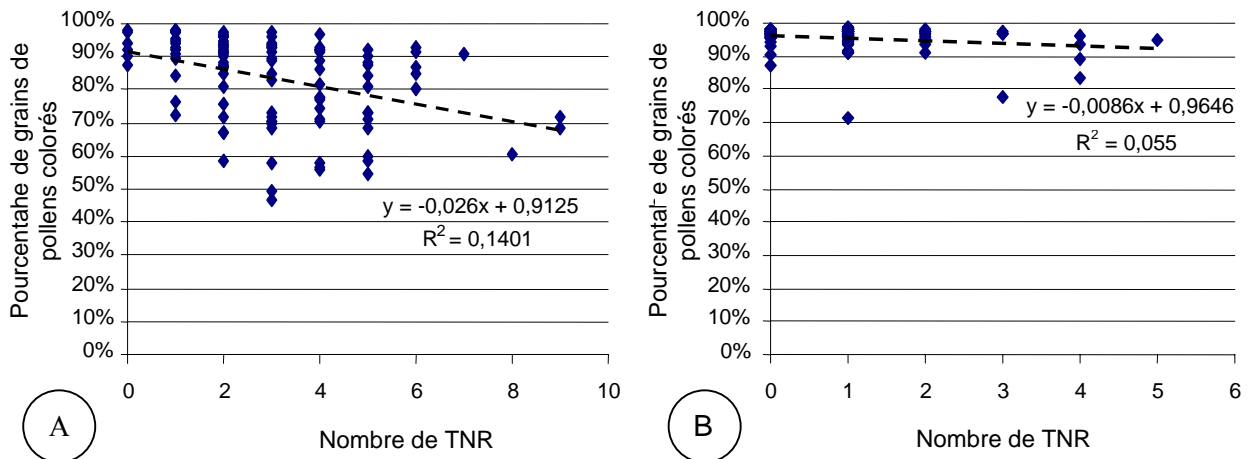


Figure 140: Influence du nombre de réarrangements sur la fertilité mâle chez les descendants des haploïdes *Darmor-bzh* (A) et *Yudal* (B).

Tableau 40: Analyse de l'effet du nombre de translocations non-réciproques (TNR) et de la taille de génome réarrangé sur la production de graines chez les descendants d'haploïdes *Darmor-bzh* et *Yudal*.

Source de variation	Descendants d'haploïdes <i>Darmor bzh</i>				Descendants d'haploïdes <i>Yudal</i>			
	SCE	ddl	F	p(%)	SCE	ddl	F	p(%)
Nombre de TNR	32,4	1	2	0,2	0,3	1	0,02	89
Taille de génome réarrangé	5,2	1	0,3	57	14,8	1	0,91	34
Interaction Taille:nombre de TNR	0,4	1	0,2	87	3,5	1	0,21	64
Résiduelle	1655	101			1529	94		

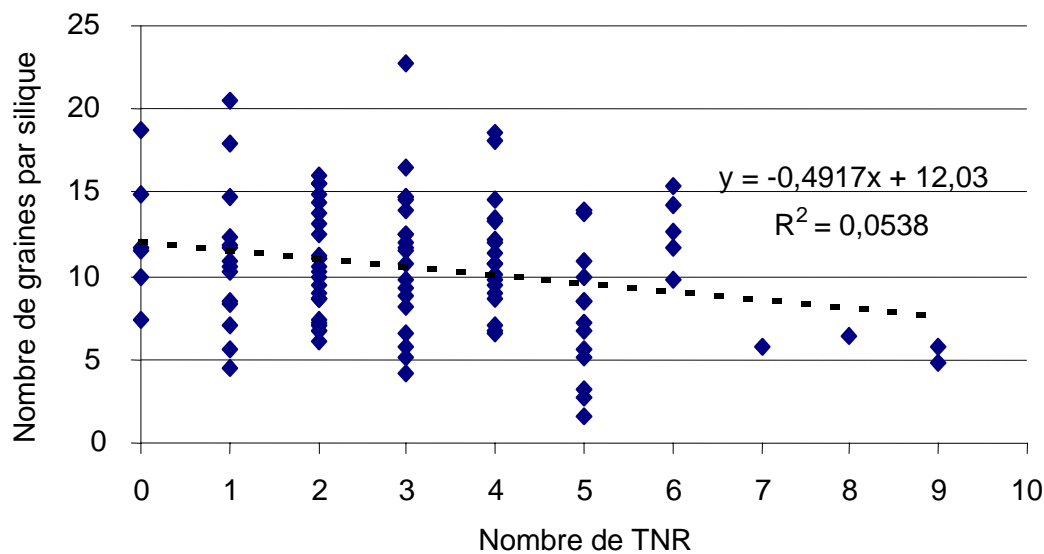


Figure 141: Relation entre la fertilité femelle et le nombre de réarrangements chez les descendants d'haploïdes *Darmor-bzh*.

Pour tester cette hypothèse, j'ai analysé le modèle linéaire généralisé binomial suivant :

$$\log(p_{ijk}/1-p_{ijk}) \sim \text{NbTNR}_i + \text{TailleTNR}_j + (\text{NbTNR}:\text{TailleTNR})_{ij} + \varepsilon_{ijk},$$

p_{ijk} représentant le pourcentage de grains de pollen colorés, NbTNR_i représentant le nombre de remaniements et TailleTNR_j la taille cumulée du génome réarrangé. Etant donné que les niveaux de réarrangement sont très différents entre les descendants des haploïdes *Darmor-bzh* et *Yudal*, j'ai analysé séparément chacune des deux descendance d'haploïdes.

L'analyse de ce modèle montre que le nombre de remaniements et leur taille cumulée dans le génome ont un effet significatif sur la fertilité mâle des descendants d'haploïdes *Darmor-bzh* et *Yudal*. Ainsi, plus le nombre de réarrangements et/ou la taille cumulée de génome réarrangé sont importants, plus la fertilité mâle est réduite dans les descendants d'haploïdes *Darmor-bzh* et *Yudal* (Tableau 39). On peut constater que la fertilité mâle décroît approximativement 2 à 3 fois plus rapidement dans les descendants d'haploïdes *Darmor-bzh* que dans les descendants d'haploïdes *Darmor-bzh*, pour un même incrément dans le nombre ou la taille cumulée des réarrangements. Enfin, il est important de noter que la fertilité mâle varie fortement pour un nombre de remaniements constant, indiquant que tous les réarrangements n'ont vraisemblablement pas le même effet sur la fertilité.

J'ai alors analysé l'effet de nombre et la taille cumulée de génome réarrangé sur le nombre de graines par silique (représentant en partie la fertilité femelle) à l'aide du modèle linéaire généralisé suivant:

$$\text{NbGrSil}_{ijk} \sim \text{NbTNR}_i + \text{TailleTNR}_j + (\text{NbTNR}:\text{TailleTNR})_{ij} + \varepsilon_{ijk}$$

NbGrSil_{ijk} représentant le nombre de graines par silique, NbTNR_i représentant le nombre de remaniements et TailleTNR_j la taille cumulée du génome réarrangé. J'ai analysé séparément chacune des deux descendance d'haploïdes.

Contrairement aux résultats de l'analyse de la fertilité mâle, je n'ai pas pu mettre en évidence d'effet significatif du nombre, ni de la taille cumulée de génome réarrangé sur la fertilité femelle (Figure 140 ; Tableau 40). Cette absence d'effet pourrait résulter de la très forte variabilité observée au sein des descendants d'haploïdes *Darmor-bzh* et *Yudal* entre des plantes contenant un même nombre de réarrangements (Figure 141). Par exemple, la fertilité femelle des plantes contenant un unique réarrangement varie entre 4,5 et 20,5 graines par silique chez les descendants d'haploïdes *Darmor-bzh* et entre 8,1 et 26,6 graines par silique chez les descendants d'haploïdes *Yudal*.

J'ai enfin analysé si les fertilités mâle et femelle sont affectées différemment selon la localisation des régions du génome qui ont été réarrangées (perdues et/ou dupliquées). On observe en effet que la réduction ou au contraire l'augmentation des fertilités mâle ou femelle chez des

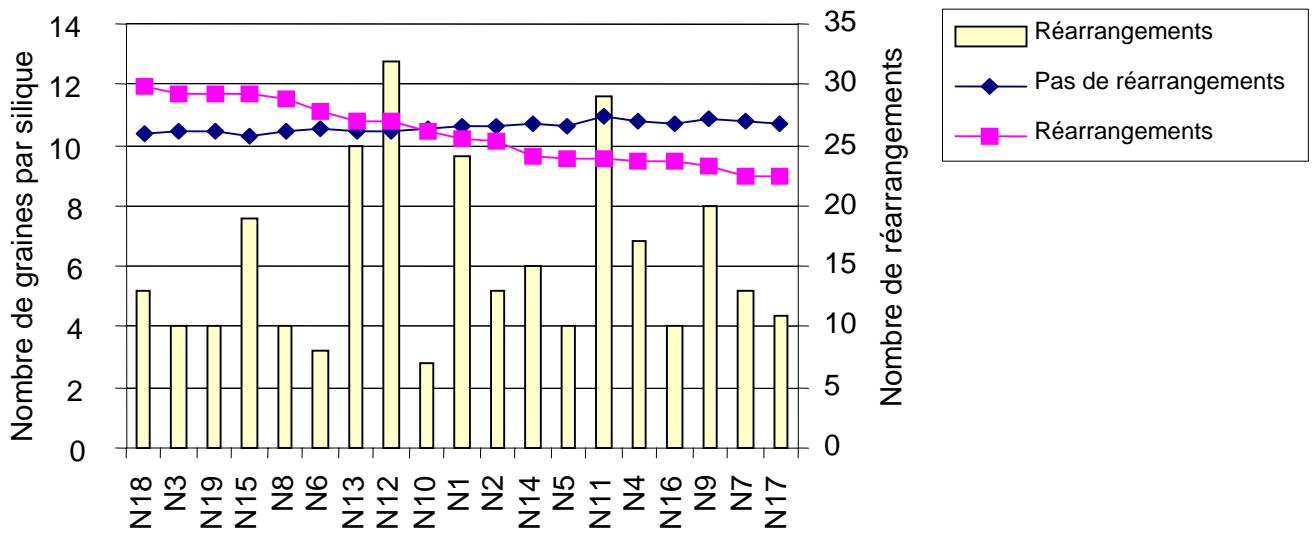


Figure 142: Influence des réarrangements sur la production de graines chez les descendants d'haploïdes *Darmor bzh*.

individus portant des TNR varient en fonction du/des groupe(s) de liaison considéré(s) (Figure 142). Afin de déterminer dans quelle mesure ces différences sont significatives, j'ai analysé l'effet de la taille des TNR sur les fertilités mâle et femelle avec les modèles suivants:

$$1. \text{NbGrSil}_i \sim \text{TailleTNR.N1} + \text{TailleTNR.N2} + \dots + \text{TailleTNR.N19} + \varepsilon_i$$

$$2. \log(p_i/(1-p_i)) \sim \text{TailleTNR.N1} + \text{TailleTNR.N2} + \dots + \text{TailleTNR.N19} + \varepsilon_i$$

Dans le modèle n°1, NbGrSil_i représente le nombre de graine par siliques, p_i le pourcentage de grains de pollens colorés, et TailleTNR.Nx la taille de génome remanié sur le groupe de liaison dans l'individu.

L'analyse du modèle n°1 montre que la présence de TNR sur les groupes de liaison N7 et N11 réduit de manière significative la fertilité femelle chez les descendants d'haploïdes *Darmor-bzh*. J'ai pu montrer en outre que la taille des réarrangements sur les groupes de liaison N7, N11 et N12 a un effet significatif sur la fertilité femelle chez les descendants d'haploïdes *Darmor-bzh*. Ainsi, plus la taille des réarrangements augmente sur N7 et N11, plus la fertilité femelle est faible alors que c'est le contraire sur N12. De la même façon, plus la taille des TNR augmente sur N17, plus la fertilité est réduite chez les descendants d'haploïdes *Yudal* alors que c'est le contraire sur le groupe de liaison N9. Ainsi, selon la position des TNR dans le génome, la fertilité femelle peut soit être réduite, soit au contraire être augmentée (Figure 142). De même que pour la fertilité femelle, l'analyse du modèle n°2 montre que les TNR peuvent réduire ou au contraire accroître le pourcentage de grains de pollen colorés selon le groupe de liaison qui a été réarrangé.

IV.3 CONCLUSION

L'effet des remaniements que j'ai détectés au cours de la thèse sur les fertilités mâle et femelle est plus complexe qu'attendu. Bien que l'accumulation de réarrangements et l'accroissement de la taille cumulée de génome réarrangé perturbent légèrement le comportement méiotique et réduisent de manière significative la fertilité mâle, leur effet sur la fertilité femelle est faible et contrasté en fonction du/des groupe(s) de liaison réarrangé(s). Ces résultats suggèrent que la différence de fertilité femelle dans les descendants des haploïdes *Darmor-bzh* et *Yudal* ne résulte qu'en partie des différences de niveaux de réarrangement entre les descendants d'haploïdes *Darmor-bzh* et *Yudal*.

Il est important de rappeler ici que je n'ai pas pu détecter, et donc prendre compte dans cette analyse, les translocations réciproques qui, au même titre que les translocations non-réciproques, peuvent perturber le comportement méiotique et affecter la fertilité. Ainsi, la grande variabilité observée pour le pourcentage de multivalents, pour la fertilité mâle ou femelle entre des individus possédant un nombre de réarrangements détectés constant pourrait résulter d'une variation du nombre de translocations réciproques au sein des descendants d'haploïdes. L'effet des réarrangements structuraux sur la variation des fertilités mâle et femelle est donc probablement sous-estimé. On peut aussi imaginer que les différences observées pourraient aussi résulter d'un effet cytoplasmique ou d'un effet lié au parent mâle utilisé dans le rétrocroisement puisque les descendants d'haploïdes *Darmor-bzh* et *Yudal* n'ont pas le même parent maternel et n'ont pas été rétrocroisés par le même parent mâle.

En tout état de cause, les fertilités mâle et femelle restent proches de celles mesurées chez les euploïdes ce qui indique que les perturbations méiotiques et les changements génomiques (pertes de régions génomiques/duplication de régions génomiques) engendrées par ces réarrangements sont remarquablement bien supportées par les descendants d'haploïdes. Ce résultat est cohérent avec le fait que la sélection gamétique à l'encontre des produits des crossing-overs chez les haploïdes est relativement faible, voire nulle.

En conclusion, la fréquence de recombinaison dans un intervalle et/ou de réarrangement à un locus est donc la résultante complexe du contrôle génétique, de la structure du génome (haploïde/euploïde ; degré de synténie fort/moyen ; génome A/C ; centromère/téломère ; TNR/pas de TNR) et de l'interaction entre ces gènes et la structure du génome de l'haploïde.

CHAPITRE V

DISCUSSION GENERALE

V DISCUSSION GENERALE

L'objectif de ma thèse était de déterminer quels sont les facteurs génétiques et structuraux qui influencent la fréquence et la distribution des remaniements chromosomiques produits par des crossing-overs au cours de la méiose des haploïdes et d'évaluer dans quelle mesure ces remaniements pouvaient participer à la dynamique du génome d'une espèce polyploïde, le colza.

Durant ma thèse, j'ai montré (i) que des remaniements chromosomiques d'une grande diversité (taille, type, position) sont produits à une fréquence élevée durant la méiose des haploïdes principalement via des crossing-overs ; (ii) qu'ils sont transmis à la descendance des haploïdes par des gamètes non-réduits de type FDR qui restaurent à la fois le caryotype normal ($2n=38$) et la fertilité des plantes ; (iii) que les niveaux de remaniement chromosomique dépendent à la fois d'un contrôle génétique de la recombinaison et de variations structurales au sein des génomes haploïdes.

Mes travaux amènent donc à s'interroger plus largement sur le rôle (i) de la recombinaison dans la production des remaniements chromosomiques chez les haploïdes et plus largement des hybrides interspécifiques, (ii) des gamètes non-réduits des haploïdes et des hybrides interspécifiques dans la dynamique des génomes des espèces polyploïdes, notamment lors de la phase de formation et de diploïdisation, (iii) du contrôle génétique et structural des niveaux de remaniement via la recombinaison, (iv) des remaniements chromosomiques dans l'adaptation des plantes à leur environnement.

V.1 RECOMBINAISON ET REMANIEMENTS CHROMOSOMIQUES CHEZ LES HAPLOÏDES DE COLZA

Le comportement méiotique en MI et la production de gamètes par des haploïdes de colza et des hybrides interspécifiques entre *B. oleracea* et *B. rapa* ont été décrits à plusieurs reprises (Morinaga et Fukushima, 1933; Olsson et Hagberg, 1955; Renard et Dosba, 1980; Attia et Röbbelen 1986; Tai et Innoken, 1988). Ces différentes études ont permis de montrer que (i) la majorité des gamètes viables produits par les haploïdes ou des hybrides interspécifiques sont non-réduits (ii) ces plantes présentent de nombreuses associations entre chromosomes en MI de méiose. Mes travaux de thèse permettent d'aller beaucoup plus loin dans la compréhension de ce qui se passe au cours de la méiose des haploïdes de colza.

V.1.1 Différents types de gamètes non-réduits pour différentes conséquences génétiques

J'ai pu montrer au cours de ma thèse que les fertilités mâle et femelle des haploïdes sont considérablement réduites comparées à celles des euploïdes. J'ai par exemple estimé que seule une mégaspore sur 100 aboutit à la formation d'une graine viable chez les haploïdes contre une sur 3 chez les euploïdes. Cette réduction résulte principalement de la plus faible capacité qu'ont les haploïdes à former des mégaspores et des microspores viables et fonctionnelles. Elle découle donc certainement de dysfonctionnements méiotiques.

L'analyse de la microgamétogénèse montre que les haploïdes de colza génèrent une grande diversité de types de cellule mère du pollen (CMP) à la fin de la méiose (tétrades, triades, dyades et monades). Pour autant, j'ai pu montrer que 75% à 90% des gamètes viables produits par les haploïdes sont des gamètes contenant 19 chromosomes. Cette double observation accrédite l'idée selon laquelle la sélection gamétique drastique observée résulterait principalement de l'élimination des gamètes aneuploïdes et/ou non équilibrés ($n \neq 19$). Cependant, compte tenu du fait que les mécanismes de formation des gamètes à 19 chromosomes n'ont pu être élucidés (§II.1.3), la proportion exacte de ce type de gamète demeure inconnue.

Mon analyse moléculaire montre que la très grande majorité des gamètes viables produits par les haploïdes transmettent l'intégralité de la garniture chromosomique du colza, aux remaniements près. Ces gamètes s'apparentent donc à des gamètes de type FDR. Comme je l'ai déjà évoqué dans la partie II.1.3, un certain nombre d'hypothèses peuvent être formulées quant au mode de formation de ces gamètes. La présence avérée d'une première division de méiose (plaque métaphasique, pôle d'anaphase I) amène à penser que des anomalies des fuseaux chromatiques en anaphase II (co-orientation, fusion, tripolaire) pourraient être responsables de la formation des gamètes non-réduits (§I.2.3). Toutefois, on ne peut exclure que des anomalies du fuseau en anaphase I puissent être aussi à l'origine d'une partie de ces gamètes puisqu'on observe un large excès de CMP en anaphase I avec la configuration 19/0, ce qui indique soit que tous les chromosomes migrent vers le même pôle, soit qu'ils ne migrent pas lors de l'anaphase I. La division équationnelle de ces chromosomes aboutirait à la formation de gamètes à 19 chromosomes.

La présence des sept descendants d'haploïdes à $2n=38$ (cinq de *Darmor-bzh* et deux de *Yudal*) pour lesquels aucun des marqueurs d'un groupe de liaison, notamment ceux de la région centromérique, n'ont été transmis, suggère qu'une partie des individus de ces descendance pourrait dériver de gamètes non-réduit de type IMR (Indeterminate Meiotic Restitution) (Lim *et al.*, 2001).

Ces gamètes sont formés lorsqu'il y a simultanément division équationnelle des chromosomes présents sous forme d'univalents et division réductionnelle des chromosomes présents sous forme de bivalents. Le fait que je n'ai pas observé, en dehors de ces sept plantes, la non-transmission des régions centromériques des groupes de liaison suggère que la fréquence de ce type de gamète est faible (<10%). La présence de quelques plantes aneuploïdes parmi les descendants d'haploïdes indique que des gamètes aneuploïdes viables contenant des chromosomes surnuméraires (duplication) ou absents (délétion) sont produits durant la méiose. La structure de ces gamètes n'a pas été étudiée durant ma thèse mais on peut penser qu'ils sont de type IMR ou SDR. La plupart du temps, les plantes aneuploïdes ne se différencient pas des euploïdes et sont relativement fertiles.

Les haploïdes de colza produisent donc une plus grande diversité de gamètes viables que ceux décrits dans la littérature (Morinaga et Fukushima, 1933 ; Olsson et Hagberg 1955). Mon étude confirme que les gamètes de type FDR sont certainement les plus viables et montre qu'ils permettent de transmettre à la descendance des haploïdes de nombreux remaniements chromosomiques qui sont remarquablement bien tolérés à l'état hétérozygote par les plantes.

V.1.2 Peu de sélection à l'encontre des remaniements produits au cours de la méiose chez les haploïdes

Mon étude a permis de mettre en évidence la présence de très nombreux réarrangements structuraux dans la descendance des haploïdes de colza. J'ai ainsi pu dénombrer un total de 453 réarrangements sur l'ensemble des deux populations (Figure 110). Mon travail de thèse a donc permis, pour la première fois, de démontrer que les gamètes de type FDR produits par les haploïdes de colza transmettent les réarrangements structuraux qui ont été produits au cours de la méiose des haploïdes. J'ai par ailleurs observé que certains descendants d'haploïdes pouvaient présenter jusqu'à cinq (*Yudal*) ou huit (*Darmor-bzh*) remaniements ce qui indique que ces gamètes non-réduits peuvent transmettre simultanément un grand nombre de réarrangements.

V.1.2.1 Pas de sélection contre les forts nombres de remaniements

J'ai montré que la sélection qui pourrait s'exercer à l'encontre des gamètes ou des zygotes portant des remaniements est certainement très faible. D'une part, la distribution des remaniements chez les descendants des haploïdes *Darmor-bzh* et *Yudal* suit une loi de Poisson, ce qui indique qu'elle est le fruit du hasard. Par conséquent, il n'y a pas de sélection à l'encontre des individus

contenant de nombreux remaniements. D'autre part, il n'y a pas de grosse différence entre le nombre moyen de chromosomes remaniés attendu d'après les observations cytogénétiques et celui estimé d'après les analyses moléculaires. Cette comparaison est basée sur l'hypothèse selon laquelle tous les réarrangements dériveraient de crossing-overs, hypothèse que soutiennent fortement mes résultats (voir VI.1.3). Le coefficient de sélection est compris entre 0 et 20% chez les descendants d'haploïdes *Darmor-bzh* et entre 10% et 25% chez les descendants d'haploïdes *Yudal*. Ce coefficient pourrait néanmoins être légèrement sous-estimé (erreur <5%) du fait de la présence de descendants d'haploïdes dérivant de gamètes IMR et qui portent systématiquement des translocations. Quoi qu'il en soit, les réarrangements structuraux qui surviennent au cours de la méiose des haploïdes de colza ne semblent donc pas ou peu délétères puisque le coefficient de sélection n'est pas plus élevé chez les descendants d'haploïdes *Darmor-bzh*, qui possèdent en moyenne trois fois plus de remaniements, que chez les descendants d'haploïdes *Yudal*.

V.1.2.2 Asymétrie des remaniements des génomes, une sélection à l'encontre des TNR du génome C sur le génome A ?

Un résultat surprenant et original de mon étude est l'asymétrie de la fréquence des remaniements entre les génomes A et C. J'ai en effet pu montrer que les régions du génome C sont plus fréquemment perdues durant la méiose que les régions du génome A, alors que c'est l'inverse pour les duplications (§III.3.2). Ces différences sont vraies, que l'on s'intéresse aux produits de recombinaison homéologue ou aux autres types de remaniements. J'ai notamment montré que les niveaux d'autosyndèse sont équivalents dans les génomes A et C.

On peut penser que l'asymétrie entre les génomes A et C résulte d'une différence *dans la transmission des TNR* générées par des crossing-overs, selon que les régions transloquées appartiennent au génome A ou au génome C. Elle refléterait donc une *légère sélection* contre les translocations, conduisant à la perte de régions du génome A (par exemple le haut de N1). L'intensité de cette contre-sélection (le déficit en régions non-transmises du génome A est d'environ 20%) est parfaitement compatible avec l'intervalle de confiance entourant l'estimation des coefficients de sélection présentés dans le chapitre précédent. Le déroulement de la gamétogénèse femelle permet également d'expliquer comment la sélection peut réduire le nombre de certains remaniements sans altérer le nombre total de réarrangements. Le gamétophyte femelle se développe en effet à partir d'une seule des mégaspores produites à l'issue du processus méiotique, les autres mégaspores étant éliminées. Chez les haploïdes, on peut donc imaginer que l'absence de certaines régions du génome A pourrait entraîner la dégénérescence préférentielle de la mégaspore

(de type FDR) concernée, au profit de l'autre mégaspore qui est, elle aussi, nécessairement « recombinante ». La distribution observée du nombre de chromosomes remaniés par individu peut donc être conforme à la distribution attendue d'après le nombre de bivalents observé en MI, alors même que les remaniements affectant le génome A sont légèrement contre-sélectionnés.

L'hypothèse selon laquelle la perte de certaines régions du génome A est faiblement délétère est supportée par l'observation de la transmission des chromosomes A ou C dans la descendance d'hybrides triploïdes di-génomiques AAC et ACC. Ainsi, si Leflon *et al.* (2006) ont montré que les chromosomes C sont transmis de façon quasi-aléatoire dans la descendance des hybrides triploïdes AAC (colza x navette), les chromosomes du génome A sont systématiquement transmis dans la descendance des triploïdes ACC (colza x chou) (Nagai, 1980). Ces observations confirment que certaines régions du génome A semblent indispensables à la survie des gamètes, contrairement aux régions homéologues portées par le génome C.

Différentes hypothèses peuvent être proposées pour expliquer ce phénomène. On peut tout d'abord supposer que la plus forte sélection à l'encontre des TNR du génome C sur le génome A résulte d'un effet « cytoplasmique ». Plusieurs variétés européennes de colza, dont *Primor*, qui est un des « ancêtres » de *Darmor-bzh*, ont en effet un cytoplasme plus proche de *B. rapa* que *B. oleracea*. Or, Lukens *et al.* (2006) ont récemment montré que les remaniements observés chez des colzas synthétiques affectent surtout le génome paternel (dans leur cas, *B. rapa*), prolongeant les résultats que Song *et al.* (1995) avaient obtenus dans des croisements réciproques entre *B. rapa* et *B. nigra*. L'asymétrie de la fréquence de remaniement observée entre les génomes A et C dans la descendance des haploïdes *Darmor-bzh* pourrait donc illustrer le fait que le génome nucléaire de l'espèce donneuse du cytoplasme est moins réarrangé. S'il est évident que le faible nombre de régions non-transmises détectées chez les descendants d'haploïdes *Yudal* limite la puissance du test statistique que j'ai réalisé sur cette descendance (cf III.3.4), il serait important que vérifier que l'absence d'effet significatif observé alors ne résulte pas d'une origine cytoplasmique différente.

Les travaux de Lukens *et al.* (2006) conduisent aussi à envisager que des différences de méthylation des génomes A et C pourraient être responsables de la plus faible viabilité des remaniements, entraînant la perte d'information provenant du génome A. Lukens *et al.* (2006) ont en effet observé que le génome paternel des colzas synthétiques subissait une plus forte méthylation *de novo* que le génome maternel, ce qui conduirait à une plus forte répression de l'activité des gènes « paternels ». Une fois méthylés, ces gènes sont soustraits à l'action de la sélection naturelle et peuvent donc accumuler des mutations pérennisant leur mise sous silence, ce qui contribue à leur élimination ultérieure (Wendel, 2000b). Thomas *et al.* (2006) ont ainsi montré que des gènes portés par un des génomes de l'ancêtre tétraploïde d'*A. thaliana* ont été préférentiellement éliminés,

vraisemblablement après avoir été « marqués » d'une empreinte épigénétique. On comprend bien comment des phénomènes équivalents pourraient altérer la viabilité des gamètes ou des zygotes portant des translocations remplaçant une région du génome A « active » par une région équivalente du génome C dont l'expression est réduite. Les résultats de Lukens *et al.* (2006) montrent aussi que les variations de méthylation ne concernent pas tous les CpG d'une région mais sont localisées à l'échelle d'un gène ou en deça. L'existence d'un patron équivalent chez les colzas naturels, qui reste à vérifier, pourrait expliquer pourquoi la sélection contre les translocations conduisant à la perte de régions du génome A n'est pas totale. En effet, des variations « locales » de la position des points de cassure (position que la densité des marqueurs que j'utilise ne permet pas de contrôler) pourraient modifier le nombre ou la nature des gènes mis sous silence ou éliminés dans les régions échangées et au-delà la sévérité de la sélection contre ces remaniements.

On peut donc penser que la sélection agissant contre les translocations éliminant une partie du génome A traduit une organisation et une évolution asymétrique des génomes du colza. L'origine biologique et l'étendue de ce cannibalisme génomique restent à éclaircir mais il est clair qu'il ne se limite pas au colza. Ainsi, par exemple, 14% des locus provenant d'*Aegilops sharonensis*, contre seulement 0,5% des locus d'*Ae. umbellulata*, sont éliminés dans un hybride interspécifique entre ces deux espèces. Liu *et al.* (1998), Ozkan *et al.* (2001) et Shaked *et al.* (2001) ont confirmé sur un ensemble de 35 hybrides interspécifiques produits entre différentes espèces d'*Aegilops* et de *Triticum* que l'élimination de séquences concerne préférentiellement un des deux génomes chez les tétraploïdes et deux des trois génomes chez les hexaploïdes. Cependant, ni le niveau de ploïdie, ni le sens du croisement n'affectent le sens de ce déséquilibre, ce qui indique que l'élimination de séquences chez les céréales n'est pas liée à des interactions nucléo-cytoplasmiques.

V.1.2.3 Sélection dans les générations ultérieures ?

Les réarrangements structuraux ne semblent pas non plus affecter la fertilité des descendants d'haploïdes qui est sensiblement équivalente à celles des euploïdes (voir IV). Il est probable que cette bonne fertilité tient aussi au fait que les gamètes de type FDR (ou IMR à 19 chromosomes) permettent de restaurer immédiatement le nombre de chromosomes euploïdes chez les descendants d'haploïdes. Par ailleurs, et bien que la fréquence des multivalents soit nettement et significativement plus élevée chez les descendants d'haploïdes que chez les euploïdes, je n'ai pas pu mettre en évidence d'effet très important du nombre ou de la taille cumulée des remaniements portés par les descendants d'haploïdes sur leur comportement méiotique. Ce résultat est étonnant car la présence de remaniements à l'état hemizygote est en général associée à une réduction de la

fertilité et de la fitness de la plante (Chandler *et al.*, 1986, Quillet *et al.*, 1995; Rieseberg *et al.*, 1996 ; Ramsey and Schemske, 2002), même si cette réponse est variable selon les espèces (Sites et Moritz, 1987; Coyne *et al.*, 1993; Rieseberg, 2001). Il est vraisemblable que l'effet des translocations sur la réduction de fertilité des hybrides interspécifiques ou intraspécifiques dépend à la fois de leur localisation, de leur nombre et de leur taille ainsi que du degré de redondance du génome des espèces considérées.

On peut constater sur la Figure 74 que cinq plantes dans la descendance de D1H29, qui est un descendant d'haploïde *Darmor-bzh* portant au moins une TNR de N1 sur N11 et présentant 25% de multivalents et 12% d'univalents en MI, ont une composition allélique anormale. Deux plantes ont un locus CB10081a manquant et trois ont une copie en plus au locus CB10081b. Parmi ces cinq plantes, deux sont aneuploïdes ($2n=37$ et $2n=39$) tandis que les trois autres ont un comportement méiotique très irrégulier, avec un grand nombre d'univalents (une plante : 60% de CMP) ou de multivalents (deux plantes : 75% et 50% de CMP). L'observation de ces plantes, dont la fréquence reste faible (5%), suggère que la présence de remaniements stimule la formation de réarrangements supplémentaires, voire l'apparition de plantes aneuploïdes dans les générations plus avancées. Udall *et al.* (2005) étaient arrivés à la même conclusion.

La très grande redondance de l'information génétique au sein du génome du colza pourrait expliquer la tolérance de cette espèce vis-à-vis des réarrangements structuraux et de l'aneuploïdie. Cette tolérance aux remaniements, due à un effet tampon des régions dupliquées, semble être une propriété relativement générale des polyploïdes, et plus particulièrement lorsqu'ils sont jeunes (Wendel, 2000b). Ainsi, tandis que l'aneuploïdie est souvent délétère chez les diploïdes, elle est en général bien tolérée chez les polyploïdes produisant des individus viables et fertiles (Ramsey et Schemske, 2002). Pour en revenir aux descendants d'haploïdes de colza, cette tolérance pourrait aussi s'expliquer par la qualité des remaniements chromosomiques générés au cours de la méiose des haploïdes, qui consistent principalement en l'échange de régions homéologues ou para(homéo)logues.

V.1.3 Les remaniements observés chez les descendants d'haploïdes dérivent-ils tous de crossing-overs entre des régions dupliquées ?

J'ai pu montrer que la majorité, si ce n'est la totalité des remaniements chromosomiques transmis par des gamètes non-réduits à 19 chromosomes, résulte de crossing-overs qui se réalisent de façon privilégiée entre les régions homéologues, mais qui peuvent également se former entre des régions paralogues ou para-homéologues.

V.1.3.1 Crossing-overs entre régions homéologues

Dans un premier temps, j'ai démontré que les pertes et duplications simultanées de locus appartenant à des régions homéologues peuvent être utilisées pour détecter des TNR homéologues, en montrant dans deux plantes, que des marqueurs appartenant respectivement à la région dupliquée et à celle adjacente au point de cassure de la région perdue co-ségrègent plus souvent qu'attendu par hasard. Cette co-ségrégation est due au fait que les TNR conduisent à la formation de groupes de liaison recombinés sur lesquels se créent des liaisons génétiques entre des marqueurs auparavant portés par des groupes de liaison différents. Dans un second temps, j'ai montré, en analysant les réarrangements structuraux portés par sept paires de régions homéologues couvrant 10% du génome et reflétant la diversité de structure du génome du colza, que la perte de l'allèle du parent haploïde était dans plus de la moitié des cas, associée à la duplication de l'allèle du parent haploïde au locus homéologue. Ces remaniements résultaient donc d'événements de recombinaison homéologue. En généralisant cette estimation à l'ensemble du génome, on peut donc estimer que plus de la moitié des remaniements que j'ai détectés sont le produit de crossing-overs entre des régions homéologues.

En réalité, cette proportion est vraisemblablement sous-estimée. Il est en effet très probable qu'une partie des réarrangements pour lesquels la perte de l'allèle du parent haploïde n'était pas associée à la duplication de l'allèle du parent haploïde au locus exactement homéologue a néanmoins été générée par des crossing-overs entre des régions homéologues. C'est notamment ce que l'on peut attendre quand les chromosomes homéologues sont impliqués dans la formation de multivalents ou lorsque les crossing-overs homéologues se font au niveau d'inversions para- ou péricentriques entre certains groupes de liaison. S'il est important de rappeler ici que 5 à 10% des chromosomes associés en MI le sont sous forme de multivalents, il n'est pas possible d'estimer avec plus de précision quelle est la part des remaniements résultant de ce type d'association.

Mes résultats de thèse permettent donc d'affirmer que les crossing-overs se forment de façon privilégiée entre des régions homéologues puisque plus de la moitié des réarrangements identifiés en sont le produit. Ces TNR homéologues sont très bien supportées par les plantes car elles correspondent au remplacement précis, au même site, d'une région par son homéologue qui présente globalement le même contenu en gènes (Rana *et al.*, 2004). Mes résultats suggèrent également qu'une partie des événements de recombinaison se produit entre d'autres régions dupliquées au sein du génome du colza.

V.1.3.2 *Crossing-overs entre régions paralogues ou para-homéologues*

Les données de cartographie comparée (Parkin *et al.*, 2003 ; Parkin *et al.*, 2005) et de « peinture » chromosomique (Lysak *et al.*, 2005) ont montré que les régions homéologues ne sont pas les seules régions apparentées au sein du génome du colza. Comme nous l'avons vu au chapitre I.4.2, il existe en effet des duplications intragénomiques (régions paralogues) et intergénomiques (régions para-homéologues). Bien que ces régions aient divergé depuis plus longtemps (13 à 17 millions d'années au lieu de 4 millions d'années ; Yang *et al.*, 2006) et qu'elles présentent donc plus de différences que les régions homéologues, elles n'en demeurent pas moins les régions qui présentent le plus fort degré d'apparement au sein des génomes A et C du colza après ces dernières. Mes travaux de thèse permettent d'avancer un certain nombre d'arguments en faveur de l'existence de crossing-overs entre des régions paralogues ou para-homéologues.

J'ai tout d'abord montré, en utilisant une sonde spécifique du génome C (BAC BoB014O06) en FISH, que les crossing-overs n'ont pas lieu exclusivement entre des régions homéologues. En moyenne plus d'un bivalent par CMP est formé entre deux chromosomes A ou deux chromosomes C et plus de 22% des associations (bivalents, multivalents) observées en MI de méiose chez les haploïdes *Darmor-bzh* sont autosyndétiques. Ces bivalents, qui ne sont pas différents des bivalents allosyndétiques, sont donc très vraisemblablement chiasmatisques. Il est de même probable qu'une partie des bivalents allosyndétiques résulte de crossing-overs entre des régions para-homéologues. Sous l'hypothèse qu'il y a autant de bivalents résultant de crossing-overs entre des régions parahoméologues que de bivalents autosyndétiques (soit 22% chacun), on s'attendrait à ce que 45% des événements de non-transmission et de duplication soient générés par des crossing-overs entre des régions paralogues ou para-homéologues (s'il n'y a pas de sélection contre les produits de ces crossing-overs). Cette estimation correspond globalement à la fréquence des réarrangements structuraux ne dérivant pas d'un crossing-over entre des régions homéologues.

J'ai également montré que la perte de certaines régions chromosomiques était associée chez plusieurs plantes à la duplication de régions paralogues ou para-homéologues. Comme on l'a vu dans le cas des régions homéologues, il s'agit d'un bon argument en faveur de l'existence de TNR paralogues ou parahoméologues. Je n'ai malheureusement pas pu confirmer l'existence de telles translocations par l'analyse de co-ségrégation des marqueurs appartenant respectivement à la région dupliquée et à celle adjacente au point de cassure de la région perdue. Ce dernier résultat doit néanmoins être interprété au regard de plusieurs verrous méthodologiques qui en limitent la portée. Ainsi :

- l'analyse a porté sur deux plantes qui ne font pas partie de celles pour lesquelles j'ai détecté des pertes et duplications simultanées de régions paralogues ou para-homéologues,
- nous n'avons pas pu analyser de façon exhaustive l'ensemble des régions paralogues et/ou para-homéologues à l'intérieur de ces deux plantes, du fait de l'absence de marqueurs polymorphes dans certaines régions,
- nous n'avons jamais pu étudier des couples de locus exactement paralogues ou exactement para-homéologues, et ce en raison (i) de l'absence d'un alignement précis entre la carte génétique que j'ai utilisée et celles ayant permis d'identifier les régions dupliquées au sein du génome du colza (Parkin *et al.*, 2003 ; Parkin *et al.*, 2005) ; (ii) de la plus faible taille des régions para(homéo)logues ; (iii) de leur plus faible degré de colinéarité, les copies para(homéo)logues ayant divergées depuis environ trois fois plus longtemps que les régions homéologues ; et (iv) du nombre de régions à analyser simultanément (en moyenne six régions).

Les résultats de l'analyse de co-ségrégation ne suffisent donc pas pour remettre en cause l'existence de TNR paralogues ou para-homéologues chez les descendants d'haploïdes de colza.

La formation de remaniements chromosomiques par recombinaison entre des régions dupliquées dispersées dans le génome (recombinaison ectopique) a été démontrée chez d'autres organismes ; comme la levure (Jinks-Robertson et Petes, 1986; Loidl et Nairz, 1997; Nag et Petes, 1990), *A. thaliana* (Nacry *et al.*, 1998) ou l'Homme (Bailey et Eichler, 2006; Linardopoulou *et al.*, 2005; Shaffer et Lupski, 2000), chez lequel ces réarrangements peuvent être responsables de maladie. Dans toutes ces études, les échanges par crossing-overs se sont faits entre des éléments dispersés naturellement dans le génome (éléments transposables, « low-copy repeats » chez l'Homme), ou introduits dans celui-ci (T-DNA dans le cas d'*A. thaliana*), qui présentent une très forte similitude de séquence (>95-97% dans le cas de Locus Control Region (LCR)). Les résultats de mon étude sont originaux en ce sens qu'ils suggèrent que des crossing-overs peuvent se former

entre des régions beaucoup plus divergentes, héritées probablement d'événements anciens de polyploïdisation. Des estimations récentes (ne portant que sur quelques régions) montrent ainsi que les régions paralogues au sein du génome du chou (Town *et al.*, 2006) ou de la navette (Yang *et al.*, 2006a) ne présentent plus aujourd'hui que 70 à 75% de gènes en commun ; ces derniers présentent un pourcentage d'identité nucléotidique (ou en acides aminés) de l'ordre de 80%. Malgré cela, la fréquence des événements de recombinaison paralogue ou para-homéologue est extrêmement élevée (>1,5 TNR par méiose chez les descendants d'haploïdes *Darmor-bzh*). Cette observation est à rapprocher des résultats d'(Opperman *et al.*, 2004)) qui montrent que l'effet de la divergence de séquence sur la réduction de la fréquence de recombinaison (somatique) est d'abord très fort, mais qu'il atteint rapidement un plateau à partir duquel l'augmentation du nombre de mésappariements n'influence plus la fréquence de recombinaison.

Mes résultats de thèse amènent à penser que la plupart des remaniements que j'ai détectés dans la descendance des haploïdes de colza résultent de crossing-overs entre des régions dupliquées et donc que la plupart, si ce n'est la totalité des associations chromosomiques observées en MI de méiose, sont chiasmatisques. On peut penser que les TNR entre régions paralogues ou para-homéologues sont en moyenne plus délétères que les TNR homéologues car elles conduisent à une perte et une duplication de régions qui ne contiennent plus exactement les mêmes gènes (Town *et al.*, 2006 ; Yang *et al.*, 2006) et parce qu'elles peuvent induire une modification plus profonde de l'architecture des chromosomes.

On ne peut enfin pas totalement exclure que d'autres types de remaniements chromosomiques se forment au cours de la méiose des haploïdes de colza.

V.1.3.3 *Translocations non réciproques robertsoniennes, conversions géniques et autres ?*

La réalisation de « conversions géniques » est fréquemment évoquée pour expliquer la perte de locus parentaux dans des formes polyploïdes néo-synthétisées (Song *et al.*, 1995) ainsi que l'homogénéisation entre des éléments répétés ou entre des séquences paralogues (Angers *et al.*, 2002). Les conversions géniques sont des événements de réparation de cassures double-brins de l'ADN induisant l'échange non réciproque de courtes séquences d'ADN (<2 kb) (Betran *et al.*, 1997; Borts et Haber, 1989; Hilliker *et al.*, 1994). Si les conversions géniques représentent à un locus donné la principale voie de réparation des cassures double-brins, la démonstration expérimentale de leur existence reste très compliquée et très peu d'études ont caractérisé d'un point de vue moléculaire des conversions géniques chez les plantes (voir Mézard 2006). Même si on ne

connaît pas avec précision la taille des régions réarrangées par conversion génique chez les plantes, elle est de toute façon incompatible (beaucoup trop petite) pour que la conversion génique soit un mécanisme susceptible d'expliquer la non-transmission des allèles du parent haploïde dans les descendances des haploïdes *Darmor-bzh* et *Yudal*. Rappelons ainsi que plus de la moitié des remaniements détectés concernent simultanément plus de deux locus adjacents et que la taille génétique moyenne estimée des remaniements est supérieur à 15 cM (Tableau 22).

Contrairement à la conversion génique qui implique généralement des séquences assez courtes, touchant un seul gène ou une partie de gène, d'autres mécanismes de réparation des cassures s'appliquent à des séquences beaucoup plus grandes (quelques centaines de kb). C'est notamment le cas de la BIR ou réplication induite par cassure qui conduit à la synthèse d'un nouveau brin d'ADN sur une région importante pouvant s'étendre sur plusieurs gènes, voire sur un chromosome entier (Bosco et Haber, 1998). Ce mécanisme, qui est dérivé du processus de recombinaison homologe, conduit principalement à la perte de fragments chromosomiques distaux, comme c'est le cas dans mon étude.

Enfin, il est vraisemblable que des translocations robertsoniennes et des isochromosomes se sont formées au cours de la méiose des haploïdes et qu'ils ont été transmis par des gamètes non-réduits aux descendants d'haploïdes. On observe en effet chez plusieurs individus que les points de cassure de plusieurs remaniements chromosomiques se produisent dans ou à proximité des régions centromériques et entraînent la perte d'un bras chromosomique entier (Figure 110). Cette description est caractéristique de translocations robertsoniennes. Chez quelques individus, la perte d'un bras chromosomique est associée à la duplication de l'autre bras indiquant vraisemblablement la présence d'isochromosomes. La formation de ces remaniements ne serait pas surprenante dans la mesure où on observe chez les haploïdes de nombreux univalents en MI de méiose et des ponts chromatiques entre des chromosomes aux deux pôles d'anaphase I. La présence d'univalents induit en effet la formation de fissions centriques (Kaszas *et al.*, 2002; Sears, 1950; Zhang *et al.*, 2001), c'est-à-dire la rupture de ces mêmes chromosomes au niveau de leur centromère ou de leurs régions péracentromériques, qui peuvent être réparées de différentes façons et conduire à plusieurs types de remaniements chromosomiques (Vega et Feldman, 1998). L'ajout d'un télomère conduit à la formation de chromosomes acrocentriques (Darlington, 1939; Perry *et al.*, 2004) ; la fusion avec d'autres chromosomes eux aussi cassés par fission centrique ou acrocentrique conduit à la formation de translocations robertsoniennes (Friebe *et al.*, 2005; Perry *et al.*, 2004) ; la fusion avec le bras sur l'autre chromatide conduit à la formation des isochromosomes (Darlington 1939; Perry *et al.*, 2004).

De la même façon, la rupture puis la réparation des ponts chromatiques peuvent conduire, selon le mode de réparation, à la formation de translocations par raboutage avec un autre chromosome cassé ou à la délétion d'une région chromosomique (et ajout d'un télomère). On peut noter que 90% des translocations robertsoniennes sont formées par recombinaison entre des séquences homologues portées par des chromosomes non homologues, ce qui indique que le mécanisme moléculaire à l'origine de ces remaniements est encore et toujours la recombinaison (Perry *et al.*, 2004 ; Cheung *et al.*, 1990; Daniel et Lam-Po-Tang, 1976; Gravholt *et al.*, 1992; Mattei *et al.*, 1979; Niebuhr, 1972; Wolff et Schwartz, 1992). Quelle que soit la façon de réparer les fissions centriques ou les ruptures des ponts chromatiques, les remaniements chromosomiques affectent la transmission des marqueurs moléculaires dans les descendants d'haploïdes.

Cependant, ces remaniements constituent vraisemblablement une faible part des remaniements observés chez les haploïdes *Darmor-bzh* et *Yudal*. En effet, étant donné les différences du nombre d'univalents en MI entre les haploïdes *Darmor-bzh* et *Yudal*, on s'attendrait à ce que les fissions centriques soient trois fois plus fréquentes chez les haploïdes *Yudal* que *Darmor-bzh*, et par conséquent à ce que les remaniements dérivant de fissions centriques soit trois fois plus fréquents chez les descendants d'haploïdes de *Yudal* que chez ceux de *Darmor-bzh*. Or, on l'a vu en détail, ce n'est pas le cas. La part des remaniements dérivant de fissions centriques est donc vraisemblablement faible ce qui corrobore l'observation de Jones (1998) selon laquelle les translocations robertsoniennes semblent relativement peu fréquentes chez les plantes. Il faut dire que ces remaniements conduisent souvent à la perte d'un bras chromosomique entier et à une profonde modification de l'architecture des chromosomes et qu'ils sont donc vraisemblablement plus contre-sélectionnés que les produits de recombinaison homéologue.

V.1.3.4 Conclusion

Mes résultats de thèse montrent donc clairement que l'écrasante majorité des remaniements détectés dans la descendance des haploïdes de colza dérive de crossing-overs qui ont lieu principalement entre des régions homéologues, moins fréquemment entre des régions paralogues ou para-homéologues, voire même peut être dans quelques cas entre des séquences « homologues » portées par des chromosomes ne présentant pas de duplication. La recombinaison génétique entre des séquences dupliquées est donc le principal mécanisme responsable de l'évolution structurale

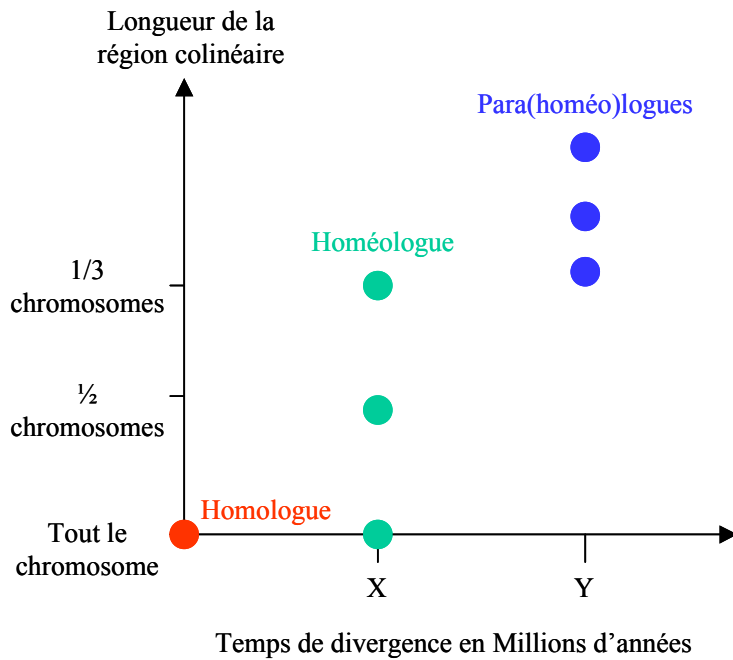


Figure 143: Représentation schématique de la réduction de la taille des régions colinéaires en fonction du temps de divergence des génomes chez le colza. La réduction de la taille des régions colinéaires s'accompagne de remaniements géniques importants (Rana *et al.*, 2004; Town *et al.*, 2006; Yang *et al.*, 2006)

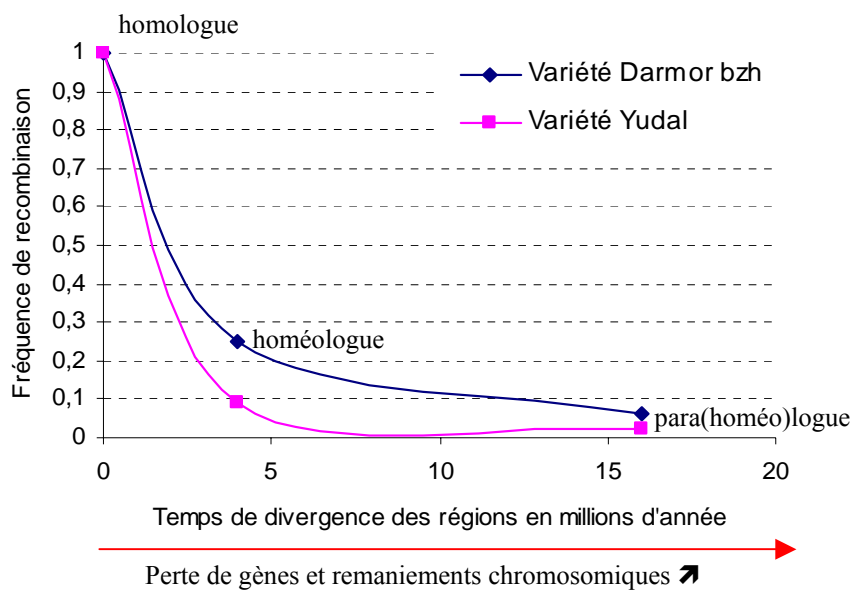


Figure 144: Evolution relative de la fréquence de recombinaison en situation homologue en fonction du temps de divergence entre les régions dupliquées. Le temps de divergence entre les régions dupliquées a été estimé pour les homéologues d'après les travaux de Inaba et Nishio (2002) et pour les para(homéo)logues d'après Town *et al.* (2006). Ce graphique est construit sur les hypothèses suivantes: (i) la fréquence de recombinaison est maximale entre les homologues (ii) les remaniements chromosomiques non homologues résultent de crossing-overs entre régions para(homéo)logues, (iii) le degré de divergence entre les régions a été maintenu après l'événement de polyploïdisation.(iv) les régions para(homéo)logues sont en moyenne tripliquées.

observée chez les descendants d'haploïdes de colza. Cette conclusion est soutenue par le fait que les différences de fréquence de remaniement observées dans les descendants des haploïdes *Darmor-bzh* et *Yudal* sont du même ordre de grandeur que les différences dans le nombre de chromosomes « appariés » en MI de méiose chez les haploïdes parentaux. La légère différence observée entre les nombres moyens de chromosomes remaniés attendus et observés dans la descendance des haploïdes *Yudal*, alors qu'ils ne diffèrent pas dans la descendance des haploïdes *Darmor-bzh*, pourrait toutefois indiquer que les associations chromosomiques observées en métaphase I de méiose chez les haploïdes *Yudal* ne sont pas toutes chiasmatisques (*i.e.* n'induisent pas toutes des réarrangements structuraux) alors qu'elles le sont toutes chez *Darmor-bzh*. Cette légère différence pourrait également résulter de différences dans la nature, la taille ou la position des réarrangements les descendants d'haploïdes *Darmor-bzh* vs *Yudal* qui induiraient des différences de viabilité des gamètes ou fausseraient fortement l'extrapolation du nombre de remaniements détectés sur la totalité du génome à partir des observations moléculaires sur 75% du génome.

V.1.4 Divergence des génomes, compétition et crossing-overs

J'ai pu montrer au cours de ma thèse que si la fréquence de crossing-over entre deux régions du génome est d'autant plus forte que ces régions sont peu divergentes (crossing-overs homologues > crossing-overs homéologues > crossing-overs para(homéo)logues : Figure 143 et Figure 144), elle est aussi fortement influencée par le degré de compétition qui existe entre les différentes régions susceptibles de recombiner. Ainsi, la fréquence de crossing-overs entre régions homéologues est réduite respectivement d'un facteur 5 (euploïde vs haploïde de *Yudal*) ou d'un facteur 20 (euploïde vs haploïde de *Darmor-bzh*) quand les chromosomes homéologues sont en compétition avec les chromosomes homologues. Les crossing-overs entre régions homéologues représentent moins de 1% de tous les crossing-overs détectés chez les formes euploïdes mais plus de 50% des crossing-overs détectés chez les formes haploïdes au sein desquelles la compétition se fait entre régions homéologues et para(homéo)logues. J'ai aussi observé que la compétition entre chromosomes/régions homéologues et homologues réduit d'autant moins la fréquence de recombinaison homéologue que les groupes de liaison homéologues sont moins divergents, au moins chez les haploïdes *Darmor-bzh*.

Ces observations suggèrent au moins deux choses :

- d'une part, que le taux de crossing-overs mesuré entre deux régions du génome ne peut pas être considéré comme une valeur « absolue » mais relative. Mon étude montre bien par exemple que

le faible nombre de crossing-overs observés entre régions homéologues chez les euploïdes de colza ne signifie pas que ces régions sont dans l'incapacité de s'apparier et de recombiner mais que leurs appariements est fortement régulés. Ainsi, le niveau de recombinaison de certains chromosomes colinéaires chez les haploïdes *Darmor-bzh* est proche de celui observé chez les euploïdes (§III.7).

- d'autre part, qu'il existe un processus de tri actif des chromosomes et/ou des régions susceptibles de recombiner au cours de la méiose, tri qui favorise la réalisation de crossing-overs entre les régions les moins divergentes. Selon les espèces (végétales polyploïdes), ce tri peut intervenir à différentes étapes de la prophase préalables à la formation des crossing-overs (Jenczewski et Alix, 2004 ; §I.3.2.4.1) et se faire de façon très précoce chez certaines d'entre elles comme le blé par exemple. Chez cette espèce, il semblerait que l'association précoce des centromères (Martinez-Perez *et al.*, 2003), qui précède la formation du bouquet télomérique, contribue activement à cette procédure de tri.

L'idée qu'il puisse y avoir une compétition entre chromosomes en fonction de leur degré de divergence revêt également une autre dimension. On peut d'abord constater que la fréquence des multivalents (en particulier des trivalents) est comparativement très faible eu égard au nombre de partenaires potentiels susceptibles de recombiner, notamment lorsqu'on s'intéresse aux groupes de liaison entretenant des relations de synténie claires avec deux groupes de liaison différents sur chacun de leurs bras chromosomiques (N3, N14, N5, N15, N7, N9, N19). On peut alors remarquer qu'à l'exception de N9 et de N15 (chez *Darmor-bzh*), ces groupes « moyennement synténiques » recombinent 1,5 à 3 fois moins que les groupes entièrement colinéaires (III.4.2). Cette différence est d'autant plus frappante que l'on peut supposer que N15, dont le bras inférieur est entièrement avec le bras inférieur de N5, a très peu de chance de recombiner avec N6 compte tenu du grand nombre de remaniements portés par ce dernier groupe de liaison (Figure 67). Il semblerait donc que la formation de multivalents soit « réprimée » au cours de la méiose des haploïdes de colza, conduisant à la formation préférentielle de bivalents. Cette limitation « spontanée » du nombre de multivalents a également été observée chez des formes auto- et allopolyploïdes néo-synthétisées, chez lesquelles les chromosomes s'associent plus fréquemment qu'attendu par paires (Ramsey et Shemske, 2002). Cet effet, qui s'exprime chez les haploïdes de colza alors même qu'ils présentent une forte probabilité de doubles crossing-overs conditionnellement au premier, pourrait accentuer la compétition existant entre les différentes régions susceptibles de recombiner : l'association et l'alignement des régions paralogues ou para-homéologues sont en effet plus susceptibles de conduire à la mise en place de structures compliquées impliquant plusieurs partenaires simultanément. On peut penser que la résolution de ces structures se fait alors le plus souvent au

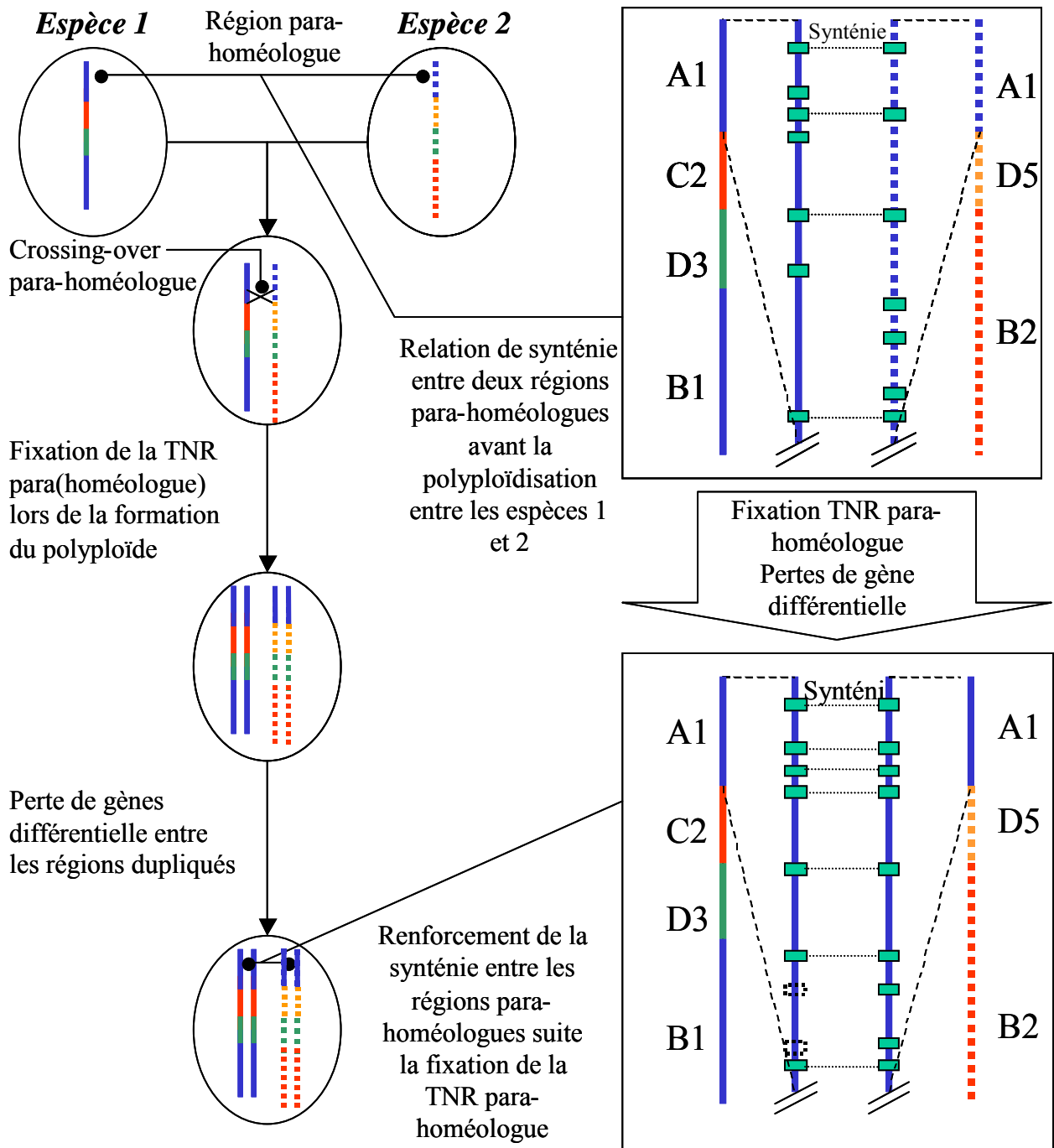


Figure 145 : Renforcement de la synténie entre les régions para-homologues suite à la fixation d'une translocation non-réciproque para-homologue durant la phase de formation d'un polyploïde.

détriment des crossing-overs entre régions paralogues ou para-homéologues.

Cete dernière conclusion n'est toutefois pas en accord avec une observation inattendue qui ressort de la mesure du taux d'autosyndèse en MI chez les haploïdes *Darmor-bzh* (cf. II.2.2.1). Comme on l'a vu, il existe vraisemblablement une compétition entre régions homéologues et para(homéo)logues au sein des haploïdes de colza, qui tourne largement en faveur de la réalisation de crossing-overs entre des chromosomes ou des régions homéologues : plus de 50% des crossing-overs ont en effet lieu entre des régions homéologues, alors que cette « configuration » ne représente que 20% des couples possibles (si chaque région est présente en six copies dont deux sont homéologues). On pouvait donc s'attendre, compte tenu de cette compétition, à ce que la fréquence des bivalents autosyndétiques soit moins élevée chez les haploïdes de colza que chez les haploïdes de *B. oleracea* et de *B. rapa*. Ce n'est pas le cas ! On observe en effet 0,15 bivalent par CMP chez les haploïdes de *B. oleracea* (Armstrong et Keller, 1982) contre 0,7 bivalent CC par CMP chez les haploïdes de colza et 0,3 bivalent par CMP chez les haploïdes de *B. rapa* (Armstrong et Keller, 1982) contre 0,8 bivalent AA par CMP chez les haploïdes de colza. Plusieurs hypothèses peuvent être avancées pour expliquer ces différences, qui devront bien sûr être confirmées sur un effectif de cellules plus grand :

- On peut tout d'abord penser qu'il existe une variabilité du comportement méiotique en MI chez les haploïdes de chou et de navette (Armstrong et Keller, 1981; Armstrong et Keller, 1982), au même titre que celle décrite chez le colza. Sous cette hypothèse, les différences d'autosyndèse observées pourraient venir du fait que nous avons utilisé un des génotypes de colza qui présente le plus de bivalents en MI alors que Armstrong et Keller pourraient avoir utilisé des haploïdes de chou et de navette présentant moins de bivalents en MI que la moyenne. Si tel est le cas, on s'attend à ce que la fréquence d'autosyndèse soit plus faible chez les haploïdes de colza de la variété *Yudal*.

- Une seconde hypothèse est que des échanges entre des régions para-homéologues ont eu lieu de façon concomitante ou juste après à la formation du colza, réduisant le degré de divergence entre ces mêmes régions en le ramenant au niveau mesuré entre homéologues (Figure 145). Ces remaniements, s'ils existent, ne peuvent être détectés par des approches de cartographie comparée, mais on peut s'attendre à ce qu'ils soient polymorphes entre des variétés de colza ayant une origine évolutive différente (rappelons que le colza est polyphylétique).

- Enfin, il y a tout lieu de penser que le nombre et la distribution des crossing-overs entre chromosomes peut varier de façon substantielle en fonction du contexte génomique. M. Leflon

(2007) a ainsi montré que les crossing-overs entre les mêmes chromosomes de navette (A_r) sont trois fois plus fréquents dans les hybrides triploïdes ($A_rA_rC_n$) que dans les hybrides diploïdes (A_rA_r). Nagpal *et al.* (1996) ont de même montré qu'il n'y a aucun crossing-over entre les génomes de *Brassica tournefortii* (TT) et ceux de *B. rapa* (A_rA_n), *B. nigra* (B_nB_n) et *B. oleracea* (C_oC_o) lors de la méiose des hybrides A_rT , B_nT ou C_oT , alors qu'ils observent au moins deux bivalents entre ces mêmes génomes dans des hybrides A_rTCC , B_nTAA ou C_oTAA . On pourrait donc imaginer, en généralisant les conclusions tirées de ces deux études, que la mise en place privilégiée de crossing-overs entre des régions homéologues, ou que la présence systématique d'univalents dans toutes les cellules méiotiques des haploïdes de colza, favorise d'une façon encore très mystérieuse l'autosyndèse.

V.1.5 Les facteurs « structuraux » faisant varier la fréquence de recombinaison chez les haploïdes

Nous avons déjà vu et discuté du fait que les génomes A et C ne présentent pas le même nombre de remaniements dans les descendants des haploïdes de colza. Mes résultats ont également permis de mettre en évidence plusieurs autres sources de variation de la fréquence des remaniements qui surviennent au cours de la méiose des haploïdes de colza.

V.1.5.1 Variations entre groupes de liaison

J'ai pu montrer durant ma thèse que les chromosomes sont remaniés à des fréquences variables au cours de la méiose des haploïdes de colza. Etant donné que la plupart de ces remaniements dérive de crossing-overs et qu'ils sont faiblement contre-sélectionnés, cette variation de la fréquence des remaniements entre les groupes de liaison indique que les chromosomes n'ont pas la même probabilité de recombiner.

J'ai tout d'abord montré que tous les chromosomes sont susceptibles de recombiner mais que très peu d'entre eux le font de façon systématique : N1, N9, N11, N12, N13 et N15, voire N2 et N5 chez les haploïdes *Darmor-bzh* et aucun chez ceux de *Yudal*. Nous avons aussi vu que ces derniers ne recombinent pas toujours avec le même partenaire puisque, par exemple, cinq plantes (sur 19) ne présentent pas de perte et de duplication simultanées de l'allèle du parent haploïde *Darmor-bzh* en haut de N1 et de N11 (voir II.2.1.3). Par conséquent, ce ne sont presque jamais les mêmes paires de chromosomes que l'on observe sous forme de bivalents d'une CMP à l'autre.

Si la taille physique des groupes de liaison semble sans effet, j'ai montré que le degré de colinéarité (III.4.2), la présence d'ADN ribosomique 45S et le type de chromosome (III.4.3) influencent la fréquence de remaniement. Comme on l'a vu, il est cependant difficile de dissocier les effets propres de chacun de ces facteurs et il n'est pas exclu que certains effets de confusion puissent exister. On peut penser que le degré de colinéarité entre chromosomes homéologues joue un rôle prépondérant sur la fréquence de remaniement, notamment en modifiant le degré de compétition entre les différents partenaires potentiels. On reconnaît d'ailleurs parmi les chromosomes systématiquement appariés en MI, deux paires correspondant à des groupes de liaison entièrement colinéaires (N1-N11 et N2-N12) qui présentent les fréquences de recombinaison homéologues les plus élevées chez les euploïdes, ainsi que le groupe de liaison N13 qui est entièrement colinéaire avec le groupe de liaison N3 sur toute sa partie haute et qui recombine dans cette région à une fréquence intermédiaire chez les euploïdes. L'effet « négatif » de la présence des ADN ribosomiques 45S sur la fréquence de remaniement est plus surprenant, d'autant que les ADN ribosomiques 5S n'ont, quant à eux, aucun effet. Cet effet pourrait trouver leur origine dans le fait que les ADNr 45s forment des blocs d'hétérochromatines qui sont des régions froides de recombinaisons. Cependant, étant donné que les chromosomes portant les 45S sont moyennement et faiblement synténiques vis-à-vis de leurs homéologues, il se pourrait aussi que la réduction de la fréquence des remaniements observée pour ces chromosomes soit un effet induit de la réduction du degré de colinéarité. Par contre, l'effet du type de chromosome (métacentrique, submétacentrique, acrocentrique) est certainement un effet propre qui est plus facile à expliquer. La présence de deux bras chromosomiques susceptibles de recombiner chez les chromosomes métacentriques et submétacentriques multiplie en effet par deux leur probabilité de recombiner. On peut ainsi imaginer que le chromosome métacentrique correspondant à N9 recombine tantôt avec N19, tantôt avec N18 (qui est acrocentrique), ce dernier restant le plus souvent sous forme d'univalent quand il ne recombine pas avec N9. Ce scénario explique pourquoi et comment le chromosome correspondant à N9 est systématiquement impliqué dans la formation d'un bivalent en MI alors que celui correspondant à N18 ne l'est que dans une cellule sur deux en moyenne. Le type de chromosome joue aussi sur la formation des réarrangements multiples qui ont lieu dans l'immense majorité des cas sur des chromosomes métacentriques (Figure 110). Nous avons en effet vu que les réarrangements interstitiels, qui sont les seuls réarrangements multiples possibles sur un chromosome acrocentrique, représentent moins de 25% des remaniements. Le fait que les chromosomes métacentriques se comportent différemment chez les descendants des haploïdes *Darmor-bzh* et *Yudal*, et notamment qu'ils soient aussi peu remaniés que des chromosomes acrocentriques chez les descendants d'haploïdes *Yudal*, reste néanmoins difficile à expliquer.

J'ai enfin montré que la présence de remaniements structuraux pré-existants est susceptible de modifier la fréquence des remaniements (ou leur détection !) dans les régions adjacentes. J'ai d'une part présenté un certain nombre d'arguments en faveur de la présence de trois TNR pré-existantes dans le génome de *Darmor-bzh* (en bas de N11, en bas de N12, en haut de N13) et d'une TNR pré-existante en bas de N1 chez *Yudal* (III.5.2). Il est vraisemblable que la présence de ces TNR favorise les recombinaisons entre les chromosomes qui portent des régions homologues dupliquées. C'est exactement ce qu'ont observé Udall *et al.* (2005) : ils ont montré que les nouveaux remaniements générés au cours de la méiose de colzas synthétiques avaient lieu préférentiellement dans le voisinage des régions où des TNR pré-existantes avaient été préalablement détectées. Il pourrait donc sembler étonnant que j'aie observé de très faibles fréquences de remaniement dans les intervalles correspondant ou bordant les TNR pré-existantes dans le génome de *Darmor-bzh* ou de *Yudal*. Comme je l'ai explicité dans le chapitre III.5.2, ces résultats sont ni contradictoires, ni paradoxaux mais ils reflètent vraisemblablement le fait que de nombreux remaniements ne puissent être détectés du fait (i) de la duplication des marqueurs appartenant à la TNR et (ii) que de nombreux événements de recombinaison se réaliseront entre les deux régions homologues dupliquées. J'ai par ailleurs montré qu'il existe vraisemblablement d'autres remaniements dans le génome de *Darmor-bzh* ou de *Yudal* qui limitent la réalisation ultérieure de nouveaux réarrangements. Je reviendrai plus en détail sur le point dans le chapitre V.2.

V.1.5.2 Influence du centromère

J'ai pu montrer que la plupart des remaniements chromosomiques ont lieu en position distale et qu'il y a un fort effet positif de l'accroissement de la distance génétique au centromère sur la fréquence de réarrangement (III.5.1). Cette variation résulte principalement de l'accumulation des remaniements chromosomiques générés par des simples crossing-overs lorsqu'on s'éloigne du centromère mais elle reflète également un effet de la distance au centromère sur la fréquence de crossing-over (que l'on peut appréhender au travers de celle des points de cassure). Cette dernière observation est cohérente avec le fait que les régions centromériques et péricentromériques sont de manière générale faiblement recombinogènes comparées aux régions interstitielles et subtélomériques (Lukaszewski *et al.*, 2004).

J'ai également pu montrer que les distributions des crossing-overs homologues et « homéologues » le long du chromosome sont globalement corrélées, la fréquence de points de cassure s'accroissant de façon significative avec la taille génétique de l'intervalle. Cette corrélation significative indique que les localisations des crossing-overs homologues et « homéologues » ne

sont pas totalement indépendantes et que, par conséquent, les facteurs structuraux gouvernant la distribution des crossing-overs entre chromosomes homologues gouvernent aussi en partie la distribution des crossing-overs en situation d'homéologie. Toutefois, le fait que la fréquence de points de cassure observée chez dans les descendants d'haploïdes croisse avec la distance au centromère indique que les crossing-overs « homéologues » se positionnent vraisemblablement de façon plus distale que les crossing-overs homologues ou que l'inhibition de la recombinaison dans les régions proches du centromère est plus forte lorsque la recombinaison a lieu entre des chromosomes non homologues.

Ces différences de fréquences de remaniement des locus en fonction de l'éloignement du centromère font écho aux variations des taux de duplication et de délétion observés en fonction de l'éloignement du centromère chez le blé (Akhunov *et al.* 2003a; Akhunov *et al.* 2003b). En effet, ces auteurs observent que la perturbation de la synténie entre les chromosomes homéologues (taux de délétion ou duplication) est corrélée positivement avec la distance physique au centromère et la fréquence de recombinaison (Akhunov *et al.* 2003a; Akhunov *et al.* 2003b, Dvorak et Akhunov, 2005).

Comme nous allons le voir, mon étude permet également de mieux comprendre la nature des différences de comportement méiotique observées entre les haploïdes de *Darmor-bzh* et de *Yudal*, et ainsi de préciser le mode d'action du gène *PrBn* et des autres locus avec lesquels il interagit.

Tableau 41 : Résumé de l'ensemble des caractères comparés entre *Darmor-bzh* et *Yudal*

Caractère	Différence entre <i>Darmor-bzh</i> et <i>Yudal</i>
Comportement méiotique en Métaphase I	Forte
Ségrégation des chromosomes en Anaphase I	pas de différence
Proportion de dyades	pas de différence
Nbre de descendants d'haploïdes à $2n=38$	pas de différence
Fréq ou nbre moyen de remaniements chez les descendants d'haploïdes	$D-bzh \gg Y$
Nbre moyen de remaniements par descendant d'haploïde	$D-bzh \gg Y$
Taille moyenne des remaniements distaux	$D-bzh > Y$
Taille moyenne des remaniements interstitiels	pas de différence
Types de remaniements (distaux, interstitiels)	pas de différence
Fréquence relative de réarrangements multiples	pas de différence
Position des points de cassure	plus distale chez <i>Y</i> que <i>D-bzh</i>
Proportion de CO entre régions homéologues	pas de différence en moyenne
Fertilité femelle	
* nombre d'ovules par pistil	pas de différence
* taux de graines par pistil	pas de différence
* taux de germination	pas de différence
* examen des sacs embryonnaires	pas de différence
Fertilité mâle	$D-bzh > Y ?$
Sélection contre les produits de CO	$D-bzh < Y$

V.2 PRBN ET LA RECOMBINAISON, UNE RELATION COMPLEXE

Le Tableau 41 résume l'ensemble des caractères pour lesquels j'ai pu juger d'une différence éventuelle entre les haploïdes de *Darmor-bzh* et de *Yudal*, ainsi que dans leurs descendance. Ce tableau montre clairement que les deux génotypes diffèrent principalement par leur phénotype de recombinaison. Même si aucune preuve définitive n'a été obtenue à ce jour, on peut penser que cette différence résulte plus vraisemblablement d'un contrôle actif chez les haploïdes *Yudal*. En effet, les haploïdes *Darmor-bzh* présentent des comportements méiotiques très similaires à ceux des hybrides interspécifiques A×C entre *B.oleracea* et *B.rapa*, chez lesquels on peut supposer qu'il n'y a eu aucune pré-adaptation.

V.2.1 Contrôle génétique de la fréquence de recombinaison chez les haploïdes

Comme nous l'avons vu en préambule (§I.4.5), les haploïdes de colza, en particulier ceux des variétés *Darmor-bzh* et *Yudal*, présentent des comportements méiotiques très contrastés et diffèrent notamment pour le nombre d'univalents en MI de méiose (Jenczewski *et al.*, 2003). Un des objectifs initiaux de ma thèse était de déterminer si ces différences reflètent des différences d'aptitude (i) à former des crossing-overs entre des régions dupliquées au sein du génome du colza, (ii) à maintenir des chiasmas après résolution des crossing-overs ou (iii) à former des associations secondaires non chiasmatisques. Mes résultats vont très clairement dans le sens de la première hypothèse.

En effet, j'ai montré que la méiose des haploïdes *Darmor-bzh* génère à peu près trois fois plus de remaniements chromosomiques que celle des haploïdes *Yudal*. Cette différence de fréquence de remaniement est du même ordre de grandeur, quoique légèrement supérieure, à celle mesurée pour le nombre de chromosomes « appariés » en MI chez les haploïdes *Darmor-bzh* et *Yudal* ce qui est cohérent avec le fait que la quasi-totalité des remaniements observés chez les descendants d'haploïdes est le produit de crossing-overs entre régions dupliquées. Etant donné que les différences de comportement méiotique sont sous le contrôle d'un gène/QTL majeur (*PrBn: Pairing regulator Brassica napus*) ségrégeant dans un fond polygénique (Liu *et al.*, 2006), mes résultats démontrent clairement que ces locus contrôlent la fréquence de recombinaison entre régions dupliquées chez les haploïdes du colza. *PrBn*, et ses partenaires, ne jouent donc ni sur la capacité à maintenir des chiasmas après résolution des crossing-overs (donc sur la cohésion entre chromatides sœurs), ni sur celle à former des associations secondaires non chiasmatisques.

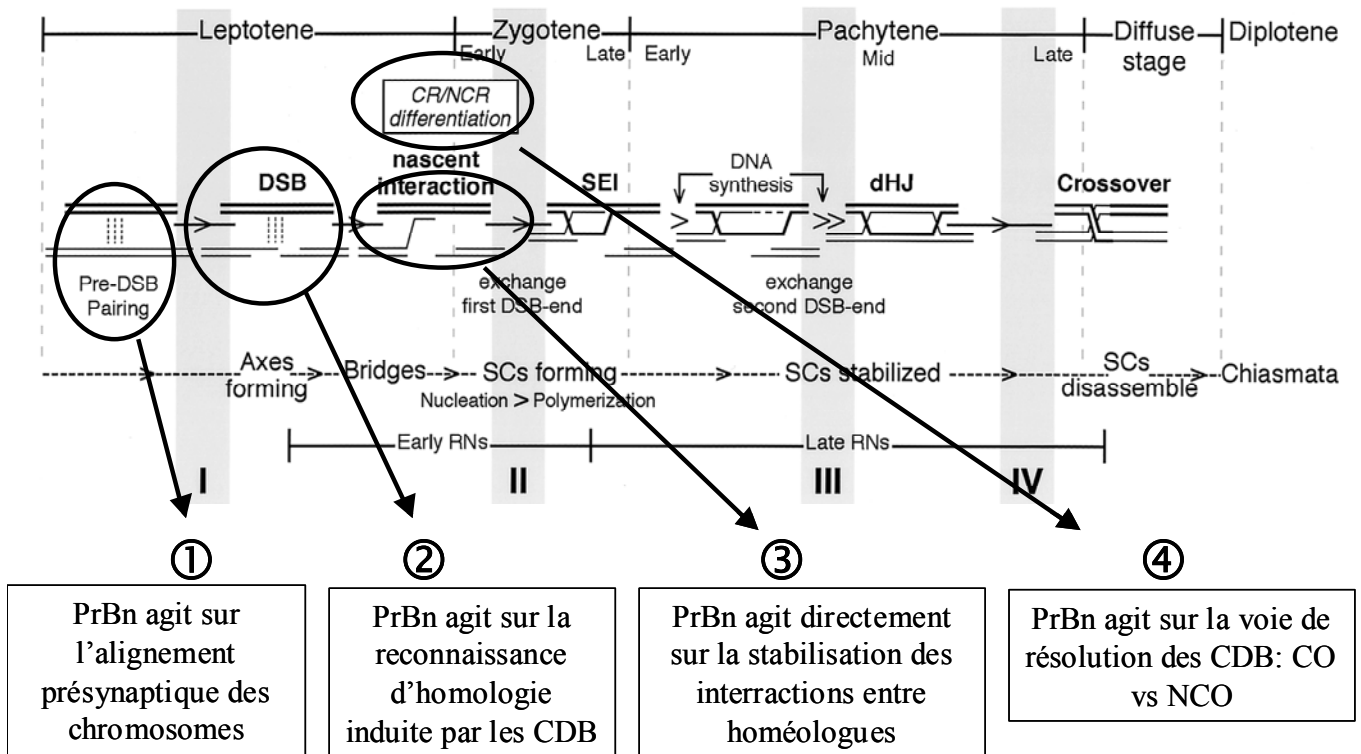


Figure 146: Plusieurs hypothèses concernant le mode d'action de PrBn. La figure reconstituant les étapes de la prophase 1 de méiose est tirée de Hunter et Kleckner, (2001)

La légère amplification de la différence entre *Darmor-bzh* et *Yudal* observée dans mon analyse moléculaire par rapport aux observations en MI de méiose pourrait s'expliquer simplement par un effet d'échantillonnage ou par le fait que mon analyse moléculaire permet de prendre en compte des doubles et des triples crossing-overs qui sont très difficiles, voire impossibles à observer en MI de méiose. Elle pourrait aussi s'expliquer par une sélection légèrement plus forte contre les produits de recombinaison dans les haploïdes *Yudal* comparés aux haploïdes *Darmor-bzh*. Enfin, elle pourrait résulter d'une différence de distribution des crossing-overs le long des bras chromosomiques chez les haploïdes *Yudal* vs *Darmor-bzh* conduisant, pour une couverture de génome identique, à détecter moins de remaniements chez les descendants d'haploïdes *Yudal* que chez les descendants d'haploïdes *Darmor-bzh*. En effet, si, comme le suggère l'analyse de la taille des remaniements et la position des points de cassure, les crossing-overs se font en position légèrement plus distale chez les haploïdes *Yudal* que chez les haploïdes *Darmor-bzh*, l'absence de couverture des régions distales aura donc plus d'effet sur la détection des réarrangements chez les descendants d'haploïdes *Yudal* que chez ceux d'haploïdes *Darmor-bzh*.

Mes résultats indiquent enfin que les haploïdes *Darmor-bzh* et *Yudal* diffèrent surtout par leur aptitude à mettre en place un premier crossing-over entre une paire de chromosomes donnée mais qu'ils présentent la même chance de former des doubles et triples crossing-overs une fois ce premier crossing-over réalisé. Compte tenu de la différence de niveau de recombinaison entre les haploïdes *Darmor-bzh* et *Yudal*, le maintien de la probabilité de former des crossing-over multiples entre les haploïdes *Darmor-bzh* et *Yudal* indique en fait que la formation des doubles et triples crossing-overs est plus fortement induite chez les haploïdes *Yudal* comparé à *Darmor-bzh*.

V.2.2 Mode d'action de *PrBn*

De nombreux gènes sont susceptibles d'agir directement (formation des cassures double-brins, stringence de la reconnaissance de l'homologie de séquence, choix de la voie de résolution des cassures double-brins en crossing-over ou conversion génique) ou indirectement (rapprochement et alignement des chromosomes, durée de la prophase, association pré-méiotique, stabilisation des associations) sur la formation des crossing-overs et donc la fréquence de recombinaison entre des régions partiellement homologues (homéologues et para(homéo)logues) (Figure 146 et cf §I.3.2 pour plus de détails). Un examen attentif des résultats que j'ai obtenus permet d'avancer quelques pistes précisant le mode d'action et les étapes au cours desquelles *PrBn* pourrait agir.

Mes travaux apportent peu de soutien à l'hypothèse selon laquelle *PrBn*, et les locus avec lesquels il interagit, pourraient jouer sur la stringence de la reconnaissance de la divergence entre les régions dupliquées au sein du génome de colza. J'ai d'une part montré que la proportion de remaniements résultant de crossing-overs entre des régions homéologues est identique dans les deux descendances, ce qui suggère que la proportion de remaniements résultant de crossing-overs entre des régions plus divergentes (paralogues et para-homéologue) est elle aussi similaire. Cette dernière conclusion devra bien sûr être validée, notamment en analysant le taux d'autosyndèse en MI chez les haploïdes de *Yudal*. Mes résultats montrent d'autre part sans ambiguïté que les différences observées en MI de méiose entre les haploïdes *Darmor-bzh* et *Yudal* ne résultent pas d'une différence pour le nombre de chromosomes susceptibles de recombiner mais d'une réduction globale et relativement homogène de l'aptitude des chromosomes à recombiner. Ainsi tous les chromosomes sont capables de recombiner au cours de la méiose chez les haploïdes *Yudal*, et aucun ne le fait de façon systématique. J'ai de même pu constater que les nombres moyens de remaniements par groupe de liaison sont significativement et positivement corrélés entre les deux descendances. Il semblerait donc que la façon avec laquelle la divergence (de séquence, de micro-structure) est perçue, et les conséquences qu'elle induit sur le processus même de recombinaison (Cf. I.3.2), sont assez similaires chez les deux génotypes. Cette conclusion est cohérente avec les résultats de Leflon *et al.* (2006) qui ont montré qu'il n'y a pas plus de trivalents ou de bivalents allosyndétiques (entre A_r/A_n et C_n) en MI chez des hybrides triploïdes digénomiques $A_rA_nC_n$ produits en croisant une plante de *B.rapa* avec un colza de la variété *Darmor-bzh* ou *Yudal*.

Si *PrBn* semble avoir une influence globale sur le niveau de recombinaison dans chaque intervalle, mes travaux n'indiquent pas qu'il a un effet direct sur la fréquence de crossing-over. Sous cette hypothèse, on s'attendrait en effet à ce que la proportion de crossing-overs multiples soit plus importante chez les haploïdes *Darmor-bzh* que chez les haploïdes *Yudal*. Or, comme on l'a vu, les deux génotypes présentent la même probabilité de former des doubles ou des triples crossing-overs conditionnellement au premier (Figure 101). De même, mes résultats suggèrent que les crossing-overs multiples sont plus fréquents qu'attendu dans les deux descendances. Ces résultats contrastent avec ceux obtenus par M. Leflon (2007) qui a montré que la fréquence de crossing-over entre chromosomes homologues (A_r et A_n) est significativement réduite dans les hybrides triploïdes $A_rA_nC_n$ lorsque la variété de colza utilisée pour les produire est *Yudal* au lieu de *Darmor-bzh*. Il est toutefois difficile de déterminer dans quelle mesure les variations observées chez les haploïdes et chez les hybrides $A_rA_nC_n$ résultent de l'action des mêmes gènes, puisque nous avons l'un et l'autre comparé l'effet des génotypes et non des gènes qu'ils portent. Il est aussi important de noter que les structures génomiques examinées sont différentes (A_nC_n vs $A_rA_nC_n$) de sorte que l'expression ou

l'interaction entre les différents locus pourraient être différentes (haplo-insuffisance éventuelle des locus portés par le génome A ? rôle du génome apporté par la navette chez les triploïdes ?). Il est ici intéressant de noter que M. Leflon (2007) n'a pas trouvé de différence dans les fréquences de crossing-over entre chromosomes homologues (A_r et A_n) mesurées sur des hybrides tétraploïdes $A_rA_nC_nC_o$ produits en croisant un colza synthétique avec *Yudal* ou *Darmor-bzh*.

Mes résultats suggèrent que *PrBn* agit avant la formation des crossing-overs, puisque une fois réunis par un premier crossing-over, les chromosomes recombinent de façon identique chez les haploïdes *Darmor-bzh* et *Yudal*. *PrBn* pourrait notamment agir sur le rapprochement, l'alignement pré-synaptique ou sur tout autre mécanisme intervenant dans la reconnaissance précoce des chromosomes amenés à recombiner, ces différentes étapes se réalisant de façon plus efficace chez les haploïdes *Darmor-bzh* que chez les haploïdes *Yudal*. Il a par exemple été démontré que l'élimination du bouquet télomérique (§I.3.1.5) conduit à une forte réduction de la fréquence de recombinaison homologues (Golubovskaya *et al.*, 2002 ; Chua et Roeder, 1997; Trelles et Sticken, 2000; Cooper *et al.*, 1998; Ding *et al.*, 2004; Davis *et al.*, 2006) et à une augmentation de la fréquence de recombinaison ectopique conduisant à la formation de translocations entre des régions non-homologues (Bass *et al.*, 2000; Niwa *et al.*, 2000). On ne sait rien de l'existence d'un bouquet télomérique chez les formes euploïdes ou haploïdes de colza (rappelons que chez *A. thaliana*, les télomères semblent interagir au niveau du nucléole et non pas sur l'enveloppe nucléaire (Armstrong *et al.*, 2001). Mais si *PrBn* agissait sur le bouquet, on s'attendrait à observer légèrement plus de recombinaisons ectopiques chez les haploïdes de *Yudal* que chez ceux de *Darmor-bzh*, ce qui pourrait se traduire par une légère augmentation de la part des remaniements résultant de crossing-overs entre régions paralogues ou para-homéologues. Comme on l'a vu, ce n'est pas ce que j'ai observé, mais il faut reconnaître que je n'ai pu estimer la part relative de remaniements générés par des crossing-overs homéologues vs para(homéo)logues que sur une faible proportion du génome (<10%). La présence de TNR générées par recombinaison ectopique pourrait expliquer toutefois la plus forte sélection estimée chez les haploïdes *Yudal* que chez *Darmor-bzh* contre la présence de réarrangements. Il serait de même intéressant de savoir si les centromères des chromosomes de colza s'associent avant la formation du bouquet, comme cela a été montré chez de nombreuses espèces dont le blé (Martinez-Perez *et al.*, 2003) et la levure *Saccharomyces cerevisiae* (Tsubouchi et Roeder, 2005) chez lesquelles on suppose que ces associations, qui se forment d'abord entre des chromosomes non homologues, facilitent la reconnaissance et donc le tri des chromosomes.

Pour conclure, il convient de noter que les deux dernières hypothèses que je viens de discuter (*PrBn* joue sur la recombinaison ou sur la reconnaissance précoce des chromosomes amenés à

recombinaison) ne sont en aucun cas antagonistes puisque des données récentes suggèrent que plusieurs mécanismes propres à la recombinaison méiotique jouent indépendamment les uns des autres un rôle essentiel dans le rapprochement, la juxtaposition et donc la reconnaissance précoce des chromosomes (Peoples-Holst et Burgess, 2005). On pourrait donc supposer que *PrBn* intervient dans un des mécanismes précoces de la recombinaison et qu'il modifie ainsi tout à la fois (et en fonction de la structure génomique) le rapprochement des régions susceptibles de recombiner et le niveau avec lequel elles vont le faire.

V.2.3 Architecture du contrôle génétique de la recombinaison chez les haploïdes de colza

L'analyse génétique menée par Liu *et al.* (2006) a permis de cartographier le gène *PrBn* dans un intervalle de 10 cM sur le groupe de liaison N19 (génome C) et de détecter trois à six QTL mineurs. Mes travaux suggèrent qu'une partie de ces QTL pourrait en fait correspondre à des différences structurales entre les génomes des variétés *Darmor-bzh* et *Yudal*.

Liu *et al.* (2006) ont ainsi identifié deux QTL additifs en bas de N1 et en bas de N11. Il s'agit exactement des régions où j'ai identifié deux TNR pré-existants, l'une chez *Darmor-bzh* (bas de N11) et l'autre chez *Yudal* (bas de N1). On comprendrait facilement que la présence d'une de ces deux TNR puisse favoriser l'appariement en MI des chromosomes correspondant à N1 et N11, indépendamment des allèles présents au locus *PrBn* (Figure 126). On s'attendrait également à ce que la présence ou l'absence simultanées de ces deux TNR défavorise l'appariement en MI des chromosomes correspondant à N1 et N11. J'ai vérifié qu'il y a un excès d'allèles *Yudal* sur le bas de N1 et un très fort déficit d'allèles *Darmor-bzh* sur le bas de N11 chez les haploïdes de la population en ségrégation analysée par Liu *et al.* (2006) qui présentent peu d'univalents en MI, bien que l'allèle au locus *PrBn* soit de type *Yudal*. Cette observation peut être interprétée par la présence de la seule TNR *Yudal* qui favorise la formation d'un bivalent entre N1 et N11. J'ai par contre observé de façon inattendue qu'il y a un déficit d'allèles *Yudal* sur le bas de N1 (moins de TNR *Yudal*) et un très fort excès d'allèle *Darmor-bzh* sur le bas de N11 (présence de TNR *Darmor-bzh*) chez les haploïdes de la population en ségrégation analysée par Liu *et al.* (2006) qui présentent peu d'univalents en MI, bien que l'allèle au locus *PrBn* soit de type *Darmor-bzh*. Il semblerait donc que la présence de la TNR pré-existant sur le bas de N11 chez *Darmor-bzh* défavorise les recombinaisons, ce qui est tout à fait cohérent avec la chute brutale des fréquences de remaniements que j'ai observée à cet endroit (Figure 116). Liu *et al.* (2006) ont également montré que le

remplacement de l'allèle *Darmor-bzh* (TNR *Darmor-bzh*) par l'allèle *Yudal* (pas de TNR) au QTL correspondant à cette région diminue le nombre d'univalents de -1,6 univalents.

J'ai par ailleurs montré que la fréquence de remaniement varie différemment selon le génotype du parent haploïde pour certains groupes de liaison (notamment pour N2, N4, N7, N14 et N17 ; §III.4.1). Or, Liu *et al.* (2006) ont identifié sur une partie de ces derniers (N4, N14) des locus qui interagissent avec *PrBn* et expliquent une part significative de la variation du nombre d'univalents en MI, notamment pour des plantes ayant un comportement méiotique différent de celui que l'on peut prédire sur la base de leur génotype dans la région de *PrBn*. Le cas de N4 et de N14 est particulièrement intéressant à détailler. Ces deux groupes de liaison présentent de fortes relations d'homéologie puisque N4 est entièrement colinéaire avec le bas de N14. Pour autant, je n'ai détecté aucun remaniement sur N4 dans la descendance des haploïdes *Yudal* alors que de nombreux crossing-overs « homéologues » se forment entre ces deux chromosomes chez les haploïdes *Darmor-bzh* (§II.2.1.3). Il semblerait donc que N4 et N14 présentent une forte affinité chez les haploïdes *Darmor-bzh* mais pas chez *Yudal*, suggérant l'existence de différences structurales entre les deux génotypes pour ces groupes de liaison. On peut d'ailleurs constater que le haut de N14 est la seule région à avoir une fréquence de remaniement plus élevée dans la descendance des haploïdes *Yudal* comparée à celle des haploïdes *Darmor-bzh*. Ce résultat est cohérent avec ce qui précède. Il montre que le fait que N4 ne recombine pas avec le bas de N14 permet à celui-ci de recombiner, sur son autre bras, de façon préférentielle avec N5 chez les haploïdes *Yudal* alors que, chez les haploïdes *Darmor-bzh*, N14 recombine préférentiellement avec N4 et donc moins souvent avec N5. Mes résultats vont aussi dans le même sens que ceux de Liu *et al.* (2006) qui ont observé que (i) les allèles *Darmor-bzh* sont significativement plus fréquents pour tous les marqueurs positionnés sur le bas de N4 chez les haploïdes qui présentent peu d'univalents en MI bien que l'allèle au locus *PrBn* soit de type *Yudal* et réciproquement que (ii) les allèles *Yudal* sont significativement plus fréquents dans la même région chez les haploïdes qui présentent de nombreux univalents en MI, bien que l'allèle au locus *PrBn* soit de type *Darmor-bzh*. On peut donc supposer que le QTL détecté sur le bas de N4 correspond lui aussi à un remaniement structural entre *Darmor-bzh* et *Yudal*.

On peut constater plus globalement la correspondance entre les régions qui ont été détectées comme ayant un effet (propre ou en interaction) sur la fréquence des univalents en MI dans la population en ségrégation analysées par Liu *et al.* (2006) et celles que j'ai moi-même identifiées comme présentant des fréquences de remaniement inattendues (N1, N3 et N13 font exception à cette règle). Des variations structurales entre les génomes des variétés *Darmor-bzh* et *Yudal* pourraient donc expliquer une partie des différences de comportement méiotique et de fréquence de

remaniement observées entre ces deux génotypes. Mais il est bien évident qu'elles ne suffisent pas à tout expliquer. Il est en effet difficile d'imaginer que la ségrégation au hasard de différents réarrangements structuraux favorisant ou réduisant localement la fréquence de crossing-over puisse expliquer la dichotomie du comportement méiotique observée par Jenczewski *et al.* (2003). La réalité d'un contrôle génétique, je veux dire ici par des gènes, du comportement méiotique des haploïdes de colza ne peut être remise en doute.

V.3 ENSEIGNEMENTS TIRES SUR L'EVOLUTION POSSIBLE DES GENOMES DU COLZA ET DES POLYPLOÏDES EN GENERAL

Les résultats que j'ai obtenus au cours de ma thèse amènent à s'interroger plus globalement sur le rôle des gamètes non-réduits et des haploïdes dans l'évolution du génome des espèces polyploïdes.

V.3.1 Gamètes non-réduits, formation et évolution des neopolyploïdes

Comme on l'a vu (§I.2.3), les gamètes non-réduits constituent la voie principale de formation des polyploïdes dans la nature (Harlan et De Wet, 1975, Ramsey et Shemske, 1998) et ce, même si le doublement somatique ou postzygotique du génome d'un hybride interspécifique peut parfois conduire à la formation d'un néopolyploïde (Stebbins et Vaarama, 1954). Toutefois, l'immense majorité des études qui ont été menées sur l'évolution des génomes des néopolyploïdes ont porté sur des polyploïdes synthétiques générés par doublement à la colchicine d'hybrides interspécifiques, mimant ainsi la voie certainement la plus anecdotique de formation des polyploïdes. Certaines de ces études ont montré que de nombreux changements génomiques et épigénétiques de la structure et de l'expression du génome étaient induits au cours des premières générations faisant suite à la formation du néopolyploïde (§I.2.6). Un petit nombre d'entre elles ont conclu à l'existence d'une « stase génomique » (Liu *et al.*, 2006) ou au fait que les remaniements structuraux n'étaient pas produits dès la première génération mais s'accumulaient progressivement. Les travaux récents de Lukens *et al.* (2006) ont ainsi conclu en la quasi-additivité des génomes progéniteurs de 50 lignées de colza synthétiques de première génération (S0) obtenus soit par doublement à la colchicine, soit par doublement somatique spontané (à l'exception notable des patrons de méthylation). Au vu de mes résultats et du comportement méiotique des hybrides interspécifiques entre *B. oleraceae* et *B. rapa*, qui présentent moins d'univalents en moyenne que

les haploïdes de *Darmor-bzh* (Armstrong et Keller, 1981; Armstrong et Keller, 1982; Jenczewski *et al.*, 2003), on peut penser que le nombre et la diversité des remaniements chromosomiques détectés chez ces colzas synthétiques auraient été considérablement accrus s'ils avaient été produits par des gamètes non-réduits, ce que confirment les résultats obtenus au laboratoire par Anne-Marie Chèvre (comm. pers.). La très grande diversité dans le nombre (par individu et/ou par groupe de liaison), la position (entre et au sein des groupes de liaison), la taille ou la nature (produits de crossing-overs entre régions homéologues ou para(homéo)logues, translocations robertsoniennes, isochromosomes, etc.) des remaniements que j'ai observés dans la descendance des haploïdes amène aussi à penser que chaque néopolyploïde produit par la voie des gamètes non-réduits devrait posséder un génome unique et différent des espèces progénitrices. Les espèces polyploïdes résultant souvent d'événements d'hybridation répétés faisant intervenir des génotypes parentaux différents (Soltis et Soltis, 1999), on peut penser que la diversité génétique initiale des espèces polyploïdes naissantes pourrait donc être beaucoup plus large qu'on ne le pensait jusqu'à présent.

Il est aussi facile d'imaginer que la fixation aléatoire de remaniements différents dans la descendance de formes néopolyploïdes générées par la voie des gamètes non-réduits puisse conduire à la formation de différentes sous-populations dont les génomes sont différents et séparés les uns des autres, et de leurs espèces progénitrices, par différents remaniements chromosomiques. J'ai en effet montré durant ma thèse que la fréquence de recombinaison est fortement réduite au sein des TNR dans les euploïdes et que les chromosomes totalement synténiques recombinaient plus que les chromosomes moyennement et faiblement synténiques. De la même manière, différentes études montrent que la recombinaison est fortement réduite entre les régions réarrangées chez les hybrides interspécifiques (Livingstone et Rieseberg, 2004; Rieseberg, 2001; Rieseberg *et al.*; Rieseberg *et al.*, 1995; Templeton, 1981), contribuant ainsi à maintenir les associations entre gènes au sein des TNR. Il serait donc ainsi théoriquement possible de former à partir d'un unique hybride interspécifique différentes espèces, et ceci en quelques générations. Je ne connais pas d'exemple d'espèces polyploïdes illustrant le bienfondé de cette hypothèse. Soltis et al. (2004) rapportent au contraire qu'il n'y a pas de réarrangements chromosomiques majeurs dans les populations de *Tragopogon mirus* et *T. miscellus*, deux espèces allopolyploïdes très récentes ayant chacune une origine polyphylétique évidente. On peut toutefois rappeler que plusieurs espèces homoploïdes (espèces ayant une origine hybride mais restant diploïdes) d'*Helianthus*, qui diffèrent par d'importants remaniements structuraux, sont issues du seul croisement entre *H. annuus* et *H. petiolaris* (Rieseberg *et al.*, 1996). De même, plusieurs études montrent que la perte de gènes, la fixation des translocations et des transpositions sont responsables de la spéciation dans le genre *Saccharomyces* (Cliften *et al.*, 2006; Dujon *et al.*, 2004; Fischer *et al.*, 2001; Fischer *et al.*, 2006;

Koszul *et al.*, 2004; Liti *et al.*, 2006; Scannell *et al.*, 2006). Plusieurs auteurs s'accordent toutefois à penser que l'accumulation des remaniements serait plus une conséquence qu'une cause de la spéciation (Sites et Moritz, 1987).

Mes résultats permettent également de mieux cerner un des mécanismes moléculaires à l'origine de l'évolution de la structure du génome des néopolyploïdes (au moins ceux formés par la voie des gamètes non-réduits) : la recombinaison. Mais, à la phase de formation et d'évolution rapide du polyploïde, succède une phase de diploïdisation au cours de laquelle les régions dupliquées sont progressivement éliminées et le nombre de chromosomes est réduit par d'importants remaniements (fission et fusion de chromosomes) dont les mécanismes demeurent mal connus (Perry *et al.*, 2004).

V.3.2 Les gamètes non-réduits d'haploïdes, une source récurrente de remaniements ?

J'ai pu montrer au cours de la thèse que la méiose des haploïdes de colza génère un grand nombre et une grande diversité de réarrangements structuraux qui sont transmis à la descendance des haploïdes. Or les haploïdes de colza « apparaissent » spontanément dans les champs à une fréquence variable qui peut atteindre 7/1000, cette fréquence variant en fonction de la variété utilisée et d'une année à l'autre (Prakash et Hinata, 1980; Renard et Dosba, 1980; Stringham et Downey, 1973; Thompson, 1969). En tenant compte de la fréquence relative de remaniements générés par les haploïdes et les euploïdes de colza (tirée de Udall *et al.* 2005), de la réduction de fertilité femelle observée chez les haploïdes par rapport aux euploïdes et de la fréquence relative des plantes haploïdes dans un champs de colza, on peut estimer que la part des remaniements générés par les haploïdes représente à peu près 0,5 à 1,5% du total des réarrangements générés. Toutefois, l'impact des remaniements générés par les haploïdes sur l'évolution du génome du colza pourrait être beaucoup plus important que ne le laisse penser cette seule estimation quantitative. En effet :

1. les translocations "détectées" résultent exclusivement d'échanges entre des régions homéologues chez les euploïdes alors que chez les haploïdes la moitié d'entre elles ont vraisemblablement lieu entre des régions paralogues ou para-homéologues,
2. les remaniements affectant certains chromosomes ou des bras chromosomiques (N17, N16, N7, N14 haut, N5 haut, N13 bas, etc.) ne se rencontrent que dans la descendance des haploïdes et sont au mieux très rares chez les euploïdes,

3. la diversité des réarrangements est bien supérieure chez les haploïdes par rapport aux euploïdes, avec notamment beaucoup plus de remaniements interstitiels (détectés sur 17 groupes de liaison au lieu de 3 chez les euploïdes),
4. la taille des réarrangements est beaucoup plus variable chez les haploïdes que chez les euploïdes,
5. enfin et surtout, l'immense majorité des nouvelles translocations homéologues détectées par Udall *et al.* (2005) dans la descendance des euploïdes se sont formées dans le voisinage de translocations pré-existantes, dont on ne connaît pas l'origine. Ce n'est pas le cas chez les haploïdes, chez lesquels j'ai montré que tous les chromosomes sont susceptibles d'être remaniés.

On peut donc penser que les haploïdes de colza, et les gamètes non-réduits qu'ils produisent, sont une source récurrente non négligeable de remaniements chromosomiques chez cette espèce et il n'est pas interdit de penser que l'impact des haploïdes pourrait être beaucoup plus général. Des haploïdes sont en effet produits naturellement et à une fréquence variable par la plupart des espèces, qu'elles soient polyploïdes ou non (voir revue de Ramssey et Schemske, 1998). Bien que très peu fertiles, les haploïdes produits (naturellement ou artificiellement) chez des espèces polyploïdes produisent généralement une descendance fertile lorsqu'ils sont croisés avec la forme euploïde dont ils sont issus (Ramsey et Shemske, 2002) ; chez le blé (Jauhar, 2003; Sears, 1936), le tabac (Rao et Stokes, 1963), *Medicago sativa* (Lesins, 1952), *Parthenium argentatum* (Gerstel et Mishanec, 1950). A ma connaissance, la présence de réarrangements structuraux dans la descendance de ces différents haploïdes n'a pas été étudiée.

La présence de formes haploïdes au sein des populations euploïdes pourraient donc contribuer à l'évolution de la structure du génome des espèces en fournissant à chaque génération et de façon simultanée des combinaisons différentes de translocations d'une très grande diversité. Ces remaniements, ou leur combinaison, pourraient ensuite être éliminés ou fixés selon l'avantage sélectif ou adaptatif qu'ils confèrent.

On peut s'étonner, compte tenu de leurs forts potentiels d'évolution structural (présence d'haploïdes, bonne tolérance aux remaniements), que les génomes A et C aient été aussi bien conservés depuis l'événement de polyploïdisation. La présence de TNR pré-existantes au sein du colza a toutefois été documentée à de multiples reprises (Udall *et al.*, 2005 ; Piquemal *et al.*, 2005 ; Lombard et Delourme, 2001 ; mon étude). En dehors de ces remaniements, la bonne conservation des génomes A et C du colza vis-à-vis de ceux de ses progéniteurs a été déduite de nombreuses études de cartographie comparée (Parkin *et al.*, 1995 ; Bohuon *et al.*, 1996 ; Parkin *et al.*, 1997, 2003) ou d'analyses comparées encore très ponctuelles de la microstructure (Rana *et al.*, 2004) entre

B. rapa, *B. oleracea* et *B. napus* et de la régularité du comportement méiotique d'hybrides produits entre le colza et ses progéniteurs (par exemple Attia et Röbbelen, 1986; Parkin *et al.*, 1995 ; Leflon *et al.*, 2006). Il est probable que ces études n'aient pas pu détecter des remaniements de petite taille et que, l'événement de polyploïdisation du colza étant récent, le processus de réorganisation du génome soit toujours en cours. Il est également probable que les processus de domestication, puis de sélection aient fortement réduit la base génétique des formes contemporaines de colza et aient conduit à éliminer bon nombre de remaniements plus ou moins délétères ou responsables de mauvaises caractéristiques agronomiques.

V.3.3 Variation structurale au sein des polyploïdes et variation phénotypique induite

J'ai montré tout au long de mon étude que de nombreux remaniements chromosomiques, notamment ceux dérivant de crossing-overs entre régions homéologues, sont remarquablement bien tolérés par le colza. Cette observation peut facilement être généralisable à d'autres espèces polyploïdes, comme le blé ou le tabac, ou diploïdes, comme l'orge, le pois, le maïs (Fu et Dooner, 2002) ou l'Homme, chez lequel de récentes études montrent que 12% du génome est composé de régions ayant un nombre de copies variable entre individus (Redon *et al.*, 2006; Feuk *et al.*, 2006; Sharp *et al.*, 2005).

Cette variabilité structurale, qui a longtemps été supposée délétère, est également une source de diversité phénotypique. Plusieurs études ont montré que, chez le colza, des TNR homéologues sont une source de variation pour plusieurs caractères d'intérêt agronomique comme la précocité de floraison (Pires *et al.*, 2004b), le rendement (Osborn *et al.*, 2003) ou la résistance aux maladies (Zhao *et al.*, 2006). L'équipe de Loren Rieseberg a également démontré, dans une remarquable série d'études, que les remaniements structuraux qui ont accompagné la spéciation homoploïde de plusieurs espèces d'*Helianthus* ont permis à ces espèces de s'adapter et de coloniser de nouveaux milieux (Rieseberg *et al.* 1995; Rieseberg *et al.*, 2003; Rosenthal *et al.*, 2005). La reproductibilité des régions transloquées dans des formes synthétiques des espèces produites au laboratoire suggérant que ces remaniements sont sélectionnés, leur correspondance avec les remaniements observés chez les espèces naturelles, la présence au sein de ces régions transloquées de QTL spécifiques correspondant aux caractéristiques des milieux (résistance à la sécheresse pour *H. deserticus*, etc.) démontrent sans ambiguïté que l'adaptation et la spéciation de ces trois espèces

sont intimement liées à la production et à la sélection des remaniements chromosomiques. Plusieurs auteurs proposent également que des variations structurales pourraient être responsables de l'effet d'hétérosis observé chez le maïs, l'absence d'un gène dans un des parents étant compensé par la présence du gène chez l'autre parent (Birchler *et al.*, 2003). Il serait intéressant de tester si l'effet d'hétérosis qui semble exister également chez le colza pourrait avoir les mêmes causes. En plus d'un effet de compensation, les remaniements structuraux (en particulier les TNR) peuvent avoir un effet direct sur les variations phénotypiques en modifiant le dosage et la balance entre les différentes copies d'un même gène (Birchler *et al.*, 2005; Guo *et al.*, 1996; Veitia, 2003; Veitia, 2004; Veitia, 2005), en altérant la régulation des réseaux géniques (Birchler *et al.*, 2005; Riddle et Birchler, 2003) ou en délétant/duplicant/remplacant des gènes dont l'expression est spécifique de certains organes (Adams *et al.*, 2003; Bottley *et al.*, 2006; Wang *et al.*, 2006) ou de certains stades de développement. Lai *et al.*, (2006) ont ainsi montré que l'expression inégale des copies de gènes « homéologues » pouvait contribuer à des variations phénotypiques adaptatives chez *Helianthus deserticola*.

En conclusion, les remaniements chromosomiques peuvent contribuer, au même titre que la variation allélique, à la variation phénotypique et constituer des réponses adaptatives aux variations environnementales (Ungerer et Rieseberg, 2003). Chez les espèces polyploïdes, cette variation structurale pourrait compenser la faible variabilité allélique qui résulte de l'effet de fondation qui accompagne l'événement de polyploïdisation.

V.4 ENSEIGNEMENTS TIRES POUR L'AMELIORATION DES PLANTES

Si la variabilité structurale est une source de diversité et d'adaptation pour les espèces sauvages, elle pourrait également être exploitée en amélioration des plantes, si elle ne l'est pas déjà sans le savoir. Certains remaniements ont d'ailleurs été parfois fixés par la sélection humaine dans différentes variétés commerciales de plantes, ce qui confirme qu'ils n'affectent pas nécessairement les caractères d'intérêt agronomique et qu'ils pourraient au contraire avoir contribué à améliorer ces variétés. Le lien entre les translocations et la variabilité des caractères agronomiques a ainsi été clairement établi chez le colza (Osborn *et al.*, 2003a; Pires *et al.*, 2004; Schranz et Osborn, 2004) et chez d'autres espèces comme le blé. La duplication de QTL d'intérêt agronomique, de gènes de résistance aux stress biotiques et abiotiques ou de gènes intervenant dans la qualité de la graine, ou la délétion de gènes défavorables offrent de nombreuses possibilités en matière d'amélioration des plantes.

Mes travaux suggèrent que l'utilisation des formes haploïdes, croisées par des plantes euploïdes, pourrait permettre de générer un creuset de variabilité structurale dans lequel le sélectionneur pourrait puiser de nouveaux caractères ou de nouveaux phénotypes. La très grande diversité de réarrangements structuraux (taille, type, nombre) générés au cours de la méiose des haploïdes ouvre un champ plus vaste de possibilités, notamment pour étudier les conséquences du cumul du nombre de copies de certains QTL (cluster de gènes de résistance, précocité de floraison). Les travaux de Pires *et al.* (2004b) montrent notamment que la duplication, par TNR homéologue, des gènes FLC (Flowering Locus C) permet de modifier la précocité de floraison. L'induction de translocations entre régions paralogues ou para-homéologues au cours de la méiose des haploïdes pourrait permettre d'augmenter encore plus, ou de jouer sur, le nombre de doses. Mes travaux suggèrent en effet que l'accumulation de remaniements n'est pas nécessairement délétère, même s'il faudra vérifier au cas par cas les conséquences de ces remaniements.

De la même manière que chez le colza, on observe que la majorité des descendants d'haploïdes de tabac, de blé, et de différents haploïdes produits à partir d'espèces polyploïdes sont euploïdes (Ramsey et Schemske, 1998). La fertilité des haploïdes, comme celle des hybrides interspécifiques, semble dépendre principalement de leur aptitude à produire des gamètes non-réduits de type FDR, aptitude qui est au moins en partie contrôlée génétiquement (Bretagnolle et Thompson, 1995) et qui répond très bien à la sélection humaine avec des héritabilités relativement élevées (Tavoletti *et al.*, 1991). La production de gamètes non-réduits dépend malgré tout de facteurs environnementaux comme la température (qui agit sur les fuseaux et de manière générale sur le cytosquelette) ou l'existence de stress biotiques ou abiotiques (Bretagnolle et Thompson, 1995; Ramsey et Schemske, 1998).

CHAPITRE VI

PERSPECTIVES

VI PERSPECTIVES

VI.1 RECOMBINAISON ET REMANIEMENTS

VI.1.1 Contrôle génétique de la recombinaison homéologue

Plusieurs expériences peuvent être proposées pour vérifier les hypothèses que j'ai formulées sur le mode d'action de *PrBn*.

- **Stringence de la reconnaissance d'homologie.** L'étude de l'autosyndèse chez les haploïdes de la variété *Yudal* permettrait de déterminer si *PrBn* a un effet sur la stringence de la reconnaissance d'homologie. Si tel est le cas, on s'attend à ce que le nombre de bivalents autosyndétiques soit plus faible chez les haploïdes *Yudal* que celui reporté chez les haploïdes *Darmor-bzh*. Dans le cas contraire, on s'attend à ce que la fréquence d'autosyndèse soit identique chez les deux génotypes. Cette analyse permettra en outre de vérifier si l'augmentation de l'autosyndèse observée chez les haploïdes de colza relativement aux haploïdes de chou et de navette est une propriété générale ou si elle dépend du génotype. On pourrait également envisager d'analyser le comportement méiotique (nombre d'associations) d'hybrides interspécifiques produits en croisant des plantes de *Darmor-bzh* et de *Yudal* mâle-stériles, avec trois espèces présentant un niveau croissant de divergence vis-à-vis du colza (*Raphanus raphanistrum*, *Sinapis arvensis*, *Brassica nigra*).
- **Haplo-insuffisance et rôle de *PrBn* chez les euploïdes.** Jenczewski *et al.* (2003) ont proposé que *PrBn* pourrait être haplo-insuffisant et que la présence de deux copies du gène chez les formes euploïdes de *Yudal* et de *Darmor-bzh* pourrait rétablir la fonction perturbée à l'état haploïde. Mes résultats ne vont pas dans ce sens puisque j'ai montré qu'il y avait autant de TNR générées au cours de la méiose des plantes euploïdes de *Yudal* que de *Darmor-bzh* (cf II.6.1). Mes résultats suggèrent donc que *PrBn* ne joue pas sur la stabilité du comportement méiotique du colza (ce ne serait pas un locus équivalent à *Ph1*) à l'état euploïde. Il est important de tester cette hypothèse de façon plus détaillée en estimant la fréquence de recombinaison homéologue sur une grosse population (quelques milliers d'individus) à quelque locus (CB10081a, CB10081b, OI12F11a, OI12F11b, etc.) présentant des différences importantes à l'état haploïde. La fréquence de recombinaison homéologue pourrait être évaluée de la même façon que chez les haploïdes, en analysant la fréquence de

non-transmission et de duplication à des locus homéologues de l'allèle de chacun des parents euploïdes au moyen de marqueurs codominants.

- **Description de la prophase I.** L'étude comparée par FISH en microscopie confocale de la position des centromères et des télomères durant l'interphase et le début de la prophase de méiose des haploïdes *Darmor-bzh* et *Yudal* pourrait permettre de déterminer si *PrBn* agit sur la formation du bouquet télomérique ou l'association pré-méiotiques des centromères. Plus généralement, une analyse détaillée et une description comparée des différentes étapes de la prophase (alignement ? synapse ? etc.) seront importantes pour déterminer le stade de la méiose à partir duquel on peut observer une différence de comportement méiotique entre des haploïdes de *Darmor nain* et de *Yudal*, et ce faisant, l'étape probable sur laquelle joue *PrBn* (induit-il un comportement asynaptique ou désynaptique ?). L'utilisation d'anticorps marquant l'élément central du complexe synaptonémale (*Zip1*) et/ou les cohésines (*Scc3* et *Rec8* d'*Arabidopsis*) permettrait de comparer l'alignement et la formation du complexe synaptonémal entre les haploïdes *Darmor-bzh* et *Yudal*. L'utilisation d'anticorps marquant les cassures doubles brins (*Rad51*) et les crossing-over (*Mlh1*) permettrait de déterminer dans quelle mesure *PrBn* joue sur le nombre de CDB et de crossing-over et le ratio de CDB aboutissant à la formation de crossing-over, c'est à dire sur le processus de différenciation des CDB en crossing-over
- **Effet sur la recombinaison homologue.** Il serait particulièrement intéressant de comparer les distances génétiques mesurées à l'aide de marqueurs moléculaires dans différentes populations d'haploïdes doublés produites en croisant (1) deux génotypes présentant de nombreux univalents à l'état haploïde (dont *Yudal*), (2) deux génotypes présentant peu d'univalents à l'état haploïde (dont *Darmor-bzh*), et (3) un génotype présentant peu d'univalents et un génotype présentant de nombreux univalents à l'état haploïde (la population *Darmor-bzh* x *Yudal* a été utilisée pour construire la carte génétique de référence du laboratoire). Il serait aussi utile d'analyser lors des comparaisons un certain nombre d'intervalles adjacents de façon à estimer l'intensité relative de l'interférence.

Les résultats inattendus du clonage de *Ph1* (Griffiths *et al.*, 2006) montrent que la seule façon de répondre de façon définitive à la question de la nature de *PrBn* sera de cloner ce locus. Les travaux sont en cours mais la tâche ne sera vraisemblablement pas moins hardue qu'elle ne le fut pour *Ph1*.

VI.1.2 Recombinaison paralogue

Mes résultats suggèrent fortement la présence de recombinaisons paralogues au sein des haploïdes de colza. Il serait intéressant de déterminer quels sont les chromosomes susceptibles de recombiner de façon autosyndétique et en particulier de comprendre si l'autosyndèse concerne n'importe quelle paire de régions paralogues (les bivalents autosyndétiques sont-ils toujours les mêmes ?). Il serait également intéressant de comparer le degré de divergence des régions paralogues et homéologues échangées, notamment pour le contenu en gène, afin de déterminer grossièrement la relation entre divergence et recombinaison chez les haploïdes. Différentes expérimentations peuvent être proposées pour valider et quantifier la recombinaison paralogue au sein des haploïdes de colza:

- **TNR paralogues.** J'ai identifié plusieurs individus qui présentent une perte et duplication simultanées de marqueurs portés par des régions paralogues. Il serait intéressant de valider la présence de TNR paralogues chez ces individus en étudiant, comme je l'ai fait avec succès pour les TNR homéologues, comment co-ségrègent les locus dupliqués et ceux appartenant aux groupes de liaison montrant une perte.
- **Quantification.** L'utilisation de marqueurs supplémentaires en dosage d'allèles permettrait de mieux quantifier la part des recombinaisons paralogues, et ainsi de valider ou d'invalider l'hypothèse selon laquelle les remaniements qui surviennent au cours de la méiose du colza sont quasi-exclusivement le produit de crossing-overs entre des régions dupliquées. De plus, il offrirait une belle démonstration de l'effet de la divergence des génomes au niveau de la séquence (homologue/homéologue/paralogue/para-homéologue) et de la structure du génome (synténie totale/partielle/très partielle) dans la réduction de la recombinaison.
- **Observation méiotique:** Comme je l'ai dit au paragraphe précédent, il serait intéressant de comparer l'autosyndèse entre différentes variétés et plus largement avec des colzas synthétiques afin de déterminer dans quelle mesure l'accroissement de l'autosyndèse au sein du colza par rapport au espèces progénitrices résultent de l'événement de polyploïdisation, de remaniements au sein du colza favorisant la recombinaison paralogues, ou d'une variation du contrôle génétique.
- **Effet phénotypique:** Compte tenu de leur degré de divergence, il serait en outre intéressant de comparer l'effet phénotypique de ces TNRs para(homéo)logues et de les comparer avec des TNR homéologues afin d'évaluer dans quelle mesure le degré de divergence restreint l'aptitude à échanger du matériel génétique de façon viable et/ou ces TNRs pourrait être utilisé pour générer de la variabilité génétique.

VI.2 ASYMETRIE DES ECHANGES ENTRE LES GENOMES A ET C

Nous avons vu que l'hypothèse la plus simple pour expliquer l'asymétrie dans le nombre de remaniements affectant les génomes A et C du colza est qu'une légère sélection agit contre les remaniements conduisant à une perte d'information portée par le génome A. Différentes hypothèses peuvent être formulées et testées pour expliquer la moindre viabilité de la non-transmission du génome A:

- Il sera tout d'abord important de tester si le sens de l'asymétrie dépend du cytoplasme, et donc de l'origine du parent paternel. Song *et al.* (1992) ont montré que le colza a une origine polyphylétique et que certaines variétés ont un cytoplasme plus proche de *B. rapa* que de *B. oleracea* (c'est le cas des variétés européennes, dont *Darmor-bzh*) alors que d'autres ont un cytoplasme plus proche de *B. oleracea* que de *B. rapa*. Il sera donc intéressant de déterminer l'origine du cytoplasme de *Yudal*, et, le cas échéant, d'analyser si on détecte toujours une asymétrie dans le nombre de remaniements générés par des haploïdes de colza présentant peu d'univalents en MI mais ayant cytoplasme plus proche de *B. oleracea* que de *B. rapa*.
- Il serait important d'évaluer le niveau de méthylation global des génomes A et C de plusieurs colzas ayant des cytoplasmes différents suivant le sens du croisement, et d'étudier plus en détail le degré de méthylation des régions pour lesquelles j'ai détecté des asymétries de fréquence de non-transmission des allèles du parent haploïde. Ceci pourrait se faire en cartographiant des marqueurs M-SAP (Methylation-Sensitive Amplified Polymorphism) produits avec des enzymes isoschisomères sensibles/insensibles à la méthylation sur la carte *Darmor-bzh* et *Yudal*. Ces approches permettront de déterminer si (i) les régions du génome paternel sont de manière générale plus méthylées que les régions du génome maternel, et (ii) si les régions homéologues qui sont transmises de façon asymétrique sont plus fréquemment méthylées sur le génome A que sur le génome C.
- On pourrait enfin envisager, même si cela représente un énorme travail, de comparer le contenu en gènes, notamment ceux intervenant dans la méiose/recombinaison, des régions homéologues pour lesquelles j'ai montré que la non-transmission du génome A est contre-sélectionnée. Cette approche pourrait se concentrer dans un premier temps sur le haut de N1 et le haut de N11.

Enfin il serait intéressant d'évaluer si l'asymétrie des échanges concerne uniquement certaines régions génomiques ou toutes les régions du génome. Cette analyse pourrait être effectuée en complétant la détection des duplications par dosage d'allèles à plusieurs régions homéologues.

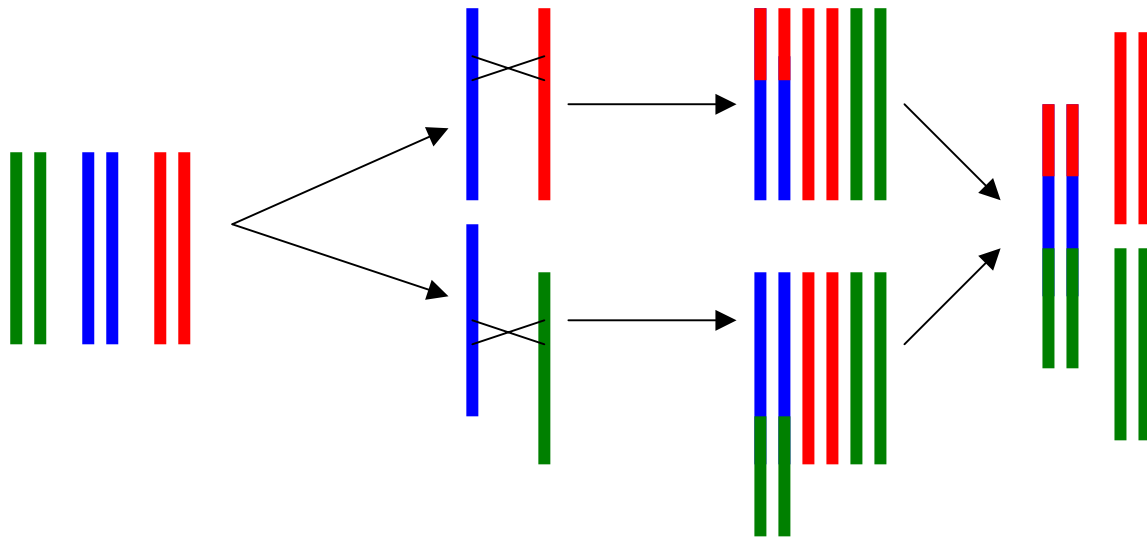


Figure 147 : Evolution structurale des génomes polyploïdes par recombinaison successive. En vert, en bleu, en rouge trois chromosomes contenant des régions colinéaires (homéologues/para(homéo)logues). Des haploïdes sont produits spontanément induisant la formation de TNR entre ces régions dupliquées. Ces remaniements générés durant la méiose sont transmis à la population euploïde par des gamètes non réduits qui restaurent la garniture chromosomique de l'espèce aux remaniements près. Les individus portant ces remaniements peuvent à leur tour induire par recombinaison homologue de nouveaux remaniements dans le génome. Par ailleurs, en fonction du caractère favorable ou défavorable des remaniements pour les plantes, les gènes promouvant ou restreignant ces remaniements (contrôlant la fréquence d'haploïdes, d'appariements en MI, et de gamètes non réduits) seront contre-sélectionnés ou au contraire répandus dans les populations euploïdes.

VI.3 ROLE DES PLANTES HAPLOÏDES DANS L'ÉVOLUTION DES GÉNOMES POLYPLOÏDES

Comme on l'a vu (V.3.2), mes résultats de thèse posent la question du rôle des haploïdes dans l'évolution structurale des génomes polyploïdes (sur le moyen terme)(Figure 147). Plusieurs expérimentations peuvent être proposées pour explorer cette question plus en détail :

- **Impact des remaniements sur la fertilité des haploïdes et des descendants d'haploïdes.** L'absence ou le faible effet des TNR sur les fertilités mâle et femelle sont surprenants dans la mesure où les translocations génèrent un taux élevé de multivalents. Il serait intéressant de valider cette observation en complétant l'analyse moléculaire sur l'ensemble du génome afin d'évaluer de façon exhaustive l'ensemble des TNR présentes chez les descendants d'haploïdes. On peut également envisager de comparer la fertilité mâle, la fertilité femelle et l'aptitude à la germination (i) des descendants d'haploïdes *Darmor-bzh* avec des plantes F1 issues d'un croisement d'un euploïde *Darmor-bzh* par *Yudal* et réciproquement (ii) des descendants d'haploïdes *Yudal* avec des plantes F1 issues du croisement d'un euploïde *Yudal* par *Darmor-bzh*. Cette approche devrait permettre de discriminer clairement les effets respectifs du sens de croisement (au cas où il serait significatif) de celui des remaniements. Elle permettra également d'évaluer l'effet moyen des TNR générées par la voie des gamètes non-réduits sur la fertilité et la fitness des plantes.
- **Evaluation de l'effet individuel des TNR sur la fertilité des plantes.** Les TNR pourraient être viables à l'état hémizygote mais délétères à l'état homozygote parce qu'elles induisent alors des pertes de gènes. Au contraire, les translocations favorisent la formation des multivalents à l'état hémizygote alors que la fixation des TNR à l'état homozygote est certainement plus favorable pour restaurer ou assurer la fertilité. Il serait donc intéressant d'analyser l'effet de la fixation des différentes TNR sur les fertilités mâle et femelle pour déterminer dans quelle mesure les TNR produites par les haploïdes sont viables en fonction de leur position dans le génome, de leur taille, et de leur origine (homéologue *vs* paralogue).
- **Effet des TNR sur le phénotype, la transcription et l'expression des gènes (Cf VI.6).** Il serait intéressant de déterminer plus précisément quel est l'effet des variations structurales sur le phénotype des plantes qui les portent. Ceci permettrait d'évaluer dans quelle mesure les TNR pourraient accroître le potentiel adaptatif des plantes. Ce travail pourrait en outre permettre d'évaluer l'intérêt des TNR et des croisements entre haploïdes et euploïdes pour l'amélioration des plantes (§VI.6). Enfin, en analysant l'effet des remaniements chromosomiques sur la

transcription et l'expression des gènes, on pourrait décortiquer quelles sont les voies métaboliques et de régulation affectées par ces changements génomiques et responsables de ces variations phénotypiques, indépendamment du fonds génétique.

- **Rôle des haploïdes en fonction de l'ancienneté de l'événement de polyploïdisation.** Il serait intéressant d'étudier les croisements haploïdes x euploïdes pour d'autres espèces polyploïdes, notamment en fonction de l'ancienneté de l'événement de polyploïdisation. Il s'agirait de déterminer dans quelle mesure l'haploïdie contribue à l'évolution d'espèces polyploïdes d'âges différents ou appartenant à des phylums différents, afin de déterminer la généralité de ce mécanisme.
- **Modélisation de l'impact d'une population haploïde sur la fréquence de remaniement dans une population euploïde.** Il serait enfin intéressant d'intégrer ces différents paramètres dans un modèle permettant de simuler, voire de prédire, l'impact des réarrangements structuraux générés par les haploïdes dans l'évolution structurale et fonctionnelle d'une population euploïde. Mes résultats montrent que ce modèle devrait tenir compte de :
 - a. la fréquence des haploïdes dans la population,
 - b. le nombre de crossing-overs au cours de la méiose des haploïdes, qui est fonction de $PrBn$,
 - c. la fertilité des haploïdes, qui est fonction de la proportion de gamètes non-réduits de type FDR produits par les haploïdes,
 - d. la fréquence des réarrangements qui varie en fonction de la localisation dans le génome (degré de macrosynténie / position par rapport au centromère),
 - e. la valeur sélective relative des TNR, qui est fonction de leur localisation dans le génome, de leur taille, de l'environnement,
 - f. la fréquence de réarrangement chez les euploïdes qui est fonction de la présence de TNR pré-existantes et de la synténie.

Le principal problème des modèles de réarrangement est lié à la spatialisation des réarrangements. On pourrait considérer dans un premier temps que les TNR n'ont lieu qu'entre des régions dupliquées homéologues ou para(homéo)logues. Il est vraisemblable que de multiples cycles de réarrangements par la voie haploïde peuvent conduire à réassocier des gènes homéologues et homologues au sein des groupes de liaison et conduire ainsi à la diploïdisation des génomes.

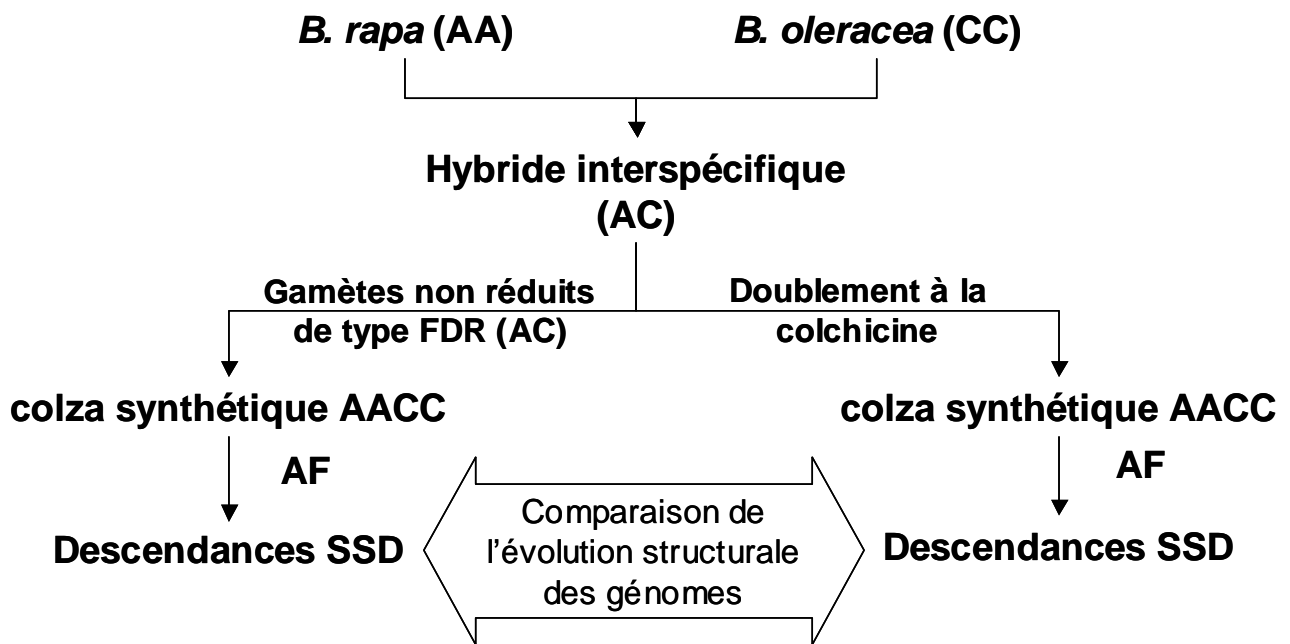


Figure 148 : Schéma de croisement pour comparer l'effet de deux voies de formation de néopolyploïdes de colza sur l'évolution structurale du génome. AF = Autofécondation ; SSD = « Single Seed Descent »

VI.4 ROLE DES GAMETES NON-REDUITS DANS LA FORMATION DES POLYPLOÏDES

Il serait intéressant de comparer l'effet des différentes voies de formation d'un néopolyploïde (gamètes non-réduits *vs* doublement postzygotique / voie triploïde *vs* autofécondation) sur la fréquence et la nature des réarrangements (remaniements *vs* méthylation *vs* rétrotransposons etc.) et sur la diversification des phénotypes (comportement méiotique, fertilité, précocité de floraison, hauteur) qui accompagnent généralement les premières étapes de la vie d'un polyploïde (Figure 148). Cette étude est en cours au laboratoire et donnera vraisemblablement des résultats intéressants et originaux. Une fois que l'impact des différentes voies de formation sur l'évolution du génome des néopolyploïdes sera mieux compris, il sera possible de comparer le phénotype (fertilité, précocité de floraison, hauteur, rendement) des différents hybrides, en particulier ceux qui présentent des remaniements « spécifiques » d'une des voies, et d'évaluer le potentiel adaptatif que confèrent les remaniements, en analysant la réponse des différentes populations à différentes pressions de sélection. Il sera en retour possible de déterminer quels sont les facteurs qui ont contribué à l'adaptation.

VI.5 UTILISATION DES HAPLOÏDES EN AMÉLIORATION DES PLANTES: DES CROISEMENTS HAPLOÏDES X EUPLOÏDES POUR GÉNÉRER DU POLYMORPHISME STRUTURAL

La variation structurale est une source de variabilité intraspécifique relativement peu explorée et exploitée en amélioration des plantes. Il est vraisemblable que cela tient au fait qu'on a longtemps considéré que les réarrangements structuraux étaient au moins partiellement délétères. Malgré tout, la présence de translocations exploitées par l'Homme, notamment chez le blé (par exemple la translocation de la variété *Capelle-Desprez*; blé dur/blé tendre), ainsi que les travaux récents montrant l'effet direct de certains remaniements sur la variabilité des caractères d'intérêt agronomique (Pires *et al.*, 2004b; Osborn *et al.*, 2003) amènent à inverser les perspectives, au moins dans une certaine mesure. On pourrait notamment imaginer d'induire le plus grand nombre et la plus grande diversité de translocations possibles, puis de rechercher, parmi tous ces remaniements, ceux qui pourraient conduire à améliorer des caractères agronomiques.

Le premier obstacle dans ce schéma est d'induire un grand nombre et une plus grande diversité de translocations. C'est théoriquement possible chez le blé, en utilisant les « mutations » *ph1b* et *ph1c*. L'expérience montre toutefois qu'il est souvent difficile de trier parmi tous les remaniements induits par la levée du contrôle exercé par *Ph1* (Jahier, comm. pers.). On peut également envisager d'irradier les génomes pour induire les cassures et favoriser les transferts. Cette approche conduit souvent à des translocations au hasard dans le génome qui sont souvent défavorables pour la plante et pourraient être à l'origine de la "mauvaise réputation" des translocations. Mes travaux de thèse montrent que la production et l'exploitation des formes haploïdes de colza constituent une alternative crédible pour générer de nombreux remaniements via des crossing-overs entre régions dupliquées (et donc dont la position n'est pas aléatoire). Notons par ailleurs que ces haploïdes ont une structure équivalente à celle d'hybrides interspécifiques (tous les chromosomes sont à l'état monosomique) de sorte que les travaux portant sur les uns éclairent ceux à mener sur les autres. L'utilisation des haploïdes, et des remaniements qui sont produits au cours de leur méiose, pourraient ainsi permettre de :

1. modifier très largement le nombre de copies de gènes ou de QTL d'intérêt (effet dosage),
2. éliminer des gènes indésirables ou de les remplacer par une copie homéologue plus intéressante d'un point de vue agronomique (gènes de l'acide érucique),

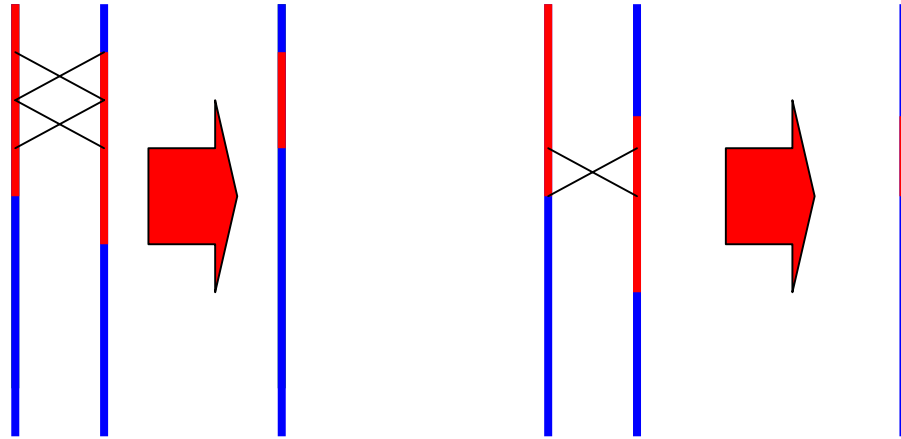


Figure 149: Réduction de la taille des TNR homologues par recombinaison. En bleu et en rouge deux chromosomes homologues. Dans une première phase des TNR de différentes tailles sont induites par recombinaison homéologue dans une structure haploïde dans un fond génétique fort appariement. Dans une seconde phase, la taille des TNR est réduite par recombinaison homologue dans une struture soit euploïde soit haploïde en croisant des plantes contenant des TNR de tailles différentes.

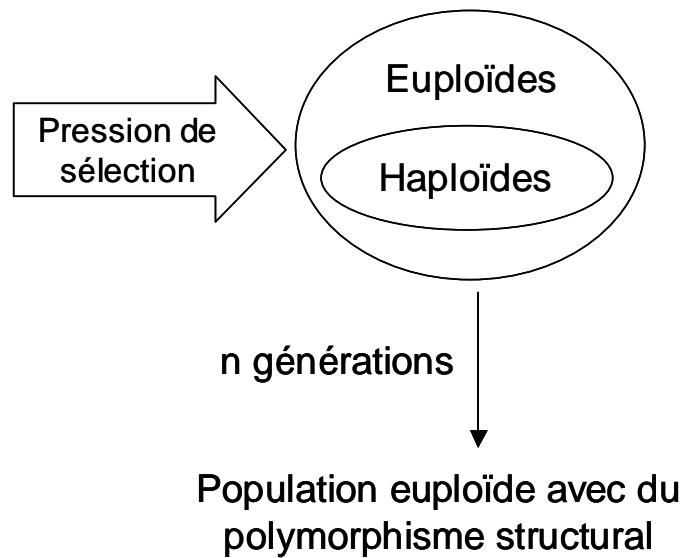


Figure 150 : Schéma de sélection utilisant des haploïdes pour générer une variabilité structurale améliorante chez le colza

3. remplacer des gènes ou des QTL par leur homéologue/paralogue ayant un effet différent (précocité de floraison), modifier des réseaux d'interactions entre gènes en remplaçant des variants alléliques par leurs homéologue ou leur paralogues,
4. encapsuler des QTL favorables dans des TNR homéologues ou paralogues, les « pyramider » puisque les TNR recombinent peu ou pas avec leur homologues lors du processus de sélection,
5. encapsuler des interactions épistatiques favorables en intégrant les régions épistatiques dans une TNR.

Ces différents points illustrent une approche ciblée sur une région, un gène / QTL ou un réseau. On peut alors exploiter le fait que la taille des TNR est très variable, que de nombreuses TNR sont interstitielles, que le couplage avec le gène *PrBn* permet de moduler la fréquence de réarrangement dans le génome et qu'il est possible d'utiliser des combinaisons de TNR de différentes tailles pour réduire la taille de la région échangée par recombinaison homologue (Figure 149). Cette approche peut aussi être envisagée en fin de schéma de sélection, sur des variétés pré-commerciales, et permettre de décliner différentes versions d'une même variété à condition que ces TNR soient stables et qu'elle n'affectent pas trop les autres caractères d'intérêts agronomiques. On sait, par exemple, que l'alimentation humaine nécessite des variétés de colza pauvres en acide érucique, alors que l'utilisation de l'huile de colza à des fins non alimentaires (lubrifiant par exemple), nécessite au contraire des variétés riches en acide érucique. Le réarrangement des régions impliquées dans la synthèse de l'acide érucique pourrait éventuellement permettre de fournir deux versions d'une même variété, l'une riche en acide érucique l'autre pauvre en acide érucique.

Mais on peut également envisager d'utiliser les croisements haploïdes x euploïdes sans *a priori* pour produire une importante variabilité structurale et phénotypique utilisable en amélioration des plantes au début du schéma de sélection. On pourrait ainsi imaginer de faire des populations en mélange de formes haploïdes (en excès ou en fréquence variable) et euploïdes, au sein desquelles de nombreux remaniements vont se produire, et les laisser évoluer dans des environnements contrastés, qui vont conduire à sélectionner les remaniements les plus favorables ou les meilleures combinaisons (Figure 150). C'est un peu ce que Pires *et al.* (2004) ont fait, en exerçant une sélection divergente sur une population de colzas synthétiques ayant une constitution génomique uniforme au départ. Il est vraisemblable que bon nombre de translocations seront défavorables et elles seront alors éliminées naturellement par la sélection naturelle. Cette approche nécessiterait de réfléchir à la fréquence et la périodicité auxquelles les haploïdes doivent être intégrés dans les populations, ainsi qu'à la meilleure façon de favoriser les inter-croisements entre les plantes euploïdes portant des remaniements (le taux d'allogamie du colza qui est de l'ordre de

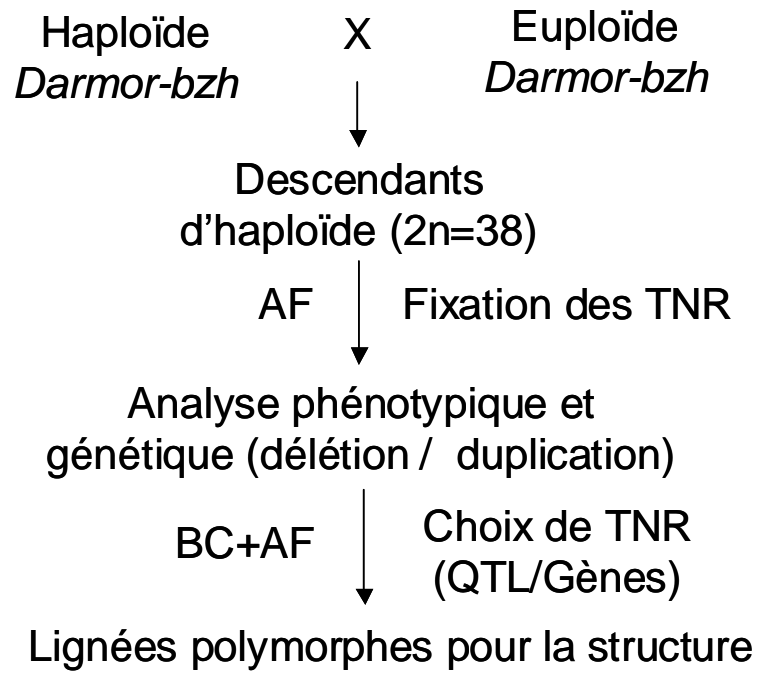


Figure 151 : Schéma pour créer des lignées quasi-isoréarrangées, c'est à dire ne différant les unes des autres que par un unique réarrangement. AF = autofécondation ; TNR = Translocation Non Réciproque ; BC = BackCross.

20% est-il suffisant ou doit-on envisager d'utiliser des gènes de stérilité mâle et des allèles restaurateurs ?.

Enfin, on peut aussi envisager d'utiliser des croisements haploïde x euploïde provenant d'une même lignée pour créer des lignées quasi-isoréarrangées, c'est à dire qui ne diffèrent les unes des autres que par un unique réarrangement (Figure 151). En effet, si les plantes haploïdes provenant d'une culture de microspores d'une lignée homozygote euploïde sont ensuite rétro-croisés avec cette même lignée homozygote, alors les descendants d'haploïdes sont des lignées homozygotes aux réarrangements près. Ces réarrangements générés durant la méiose des haploïdes sont présents à l'état hétérozygote dans les descendants d'haploïdes. Ils peuvent ensuite être fixés à l'état homozygote en auto-fécondant les descendants d'haploïdes et ainsi être détectés en analysant la présence/absence des marqueurs moléculaires des parents. Ces lignées quasi-isoréarrangées constitueraient un matériel végétal idéal pour étudier l'effet individuel et en combinaison des différents réarrangements sur le phénotype et notamment sur des caractères d'intérêt agronomiques tel la fertilité, le rendement, ou la qualité de la graine.

CONCLUSION GENERALE

CONCLUSION GENERALE

Des remaniements chromosomiques d'une grande diversité sont générés à une fréquence très élevée par des crossing-overs entre des régions homéologues et para(homéo)logues durant la méiose des haploïdes de colza et transmis à une descendance euploïde ($2n=38$) par des gamètes non réduits de type FDR ou IMR qui restaurent tout à la fois la fertilité de la plante et partiellement la stabilité du comportement méiotique. Ainsi, la méiose d'un haploïde de colza génère en moyenne autant de remaniements que la totalité des remaniements chromosomiques fixés durant 0,1-0,3 millions d'années chez les *Brassica*, 1-3 millions d'année chez *Arabidopsis*. De façon surprenante, j'ai montré que ces remaniements semblent peu contre sélectionnés et affectent relativement peu le fonctionnement et la fertilité des descendants d'haploïdes. Ainsi, la fertilité des haploïdes de colza semble dépendre principalement de leur aptitude à produire des gamètes non réduits de type FDR et finalement relativement peu de la quantité de remaniements chromosomiques générée. Enfin, j'ai montré que le taux de remaniements chromosomiques est génétiquement contrôlé et qu'il dépend de la structure du génome, plus particulièrement de la position le long du chromosome (télomériques >> centromérique), de la macrosynténie existant entre les chromosomes (totalement colinéaires >> partiellement colinéaires) et du degré de divergence entre les régions (homéologues >> para(homéo)logues).

De récentes études ont montré par ailleurs que les remaniements chromosomiques et/ou géniques (duplication/délétion) peuvent contribuer fortement aux variations phénotypiques chez le colza, mais aussi chez le blé, le maïs ou l'homme et que contrairement à l'idée communément admise ces remaniements ne sont pas forcément défavorables pour l'organisme mais peuvent avoir au contraire une valeur adaptative. Plus largement, il est généralement admis que les remaniements participent à la spéciation .

Les haploïdes de colza et plus généralement de polyploïdes pourraient être une source récurrente de remaniements chromosomiques au sein des populations euploïdes générant ainsi des variations phénotypiques et structurales sur lesquelles la sélection humaine et naturelle pourrait agir. Par ailleurs, la présence de gènes contrôlant la fréquence des appariements et recombinaisons au cours de la méiose des haploïdes, la fréquence même des haploïdes et celle de gamètes non réduits pourrait indiquer que le taux de remaniements chromosomiques au sein des populations est génétiquement contrôlé et donc soumis à sélection. Enfin, la plupart des auteurs s'accordent à penser que les allopolyploïdes sont formés via la formation de gamètes non réduits durant la méiose d'hybrides interspécifiques dont la structure est analogue à celle des haploïdes de colza. Etant

donné que la structure des hybrides interspécifiques est analogue à celle des haploïdes de colza, on peut donc s'interroger sur l'impact des voies de formation sur la dynamique des génomes des néopolyploïdes.

Quel est la contribution des remaniements chromosomiques générés durant la méiose des haploïdes de polyploïdes ou d'hybrides interspécifiques et transmis par la voie des gamètes non réduits dans l'évolution structurale des génomes, l'adaptation aux variations environnementales et la spéciation?

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Adams, K. L., Cronn, R., Percifield, R. et Wendel, J. F., 2003 Genes duplicated by polyploidy show unequal contributions to the transcriptome and organ-specific reciprocal silencing. *Proceedings Of The National Academy Of Sciences Of The United States Of America* **100**: 4649-4654.
- Adams, K. L., Percifield, R. et Wendel, J. F., 2004 Organ-Specific Silencing of Duplicated Genes in a Newly Synthesized Cotton Allotetraploid. *Genetics* **168**: 2217-2226.
- Adams, K. L. et Wendel, J. F., 2005 Polyploidy and genome evolution in plants. *Current Opinion In Plant Biology* **8**: 135-141.
- Agashe, B., Prasad, C. K. et Siddiqi, I., 2002 Identification and analysis of DYAD: a gene required for meiotic chromosome organisation and female meiotic progression in Arabidopsis. *Development* **129**: 3935-3943.
- Ainouche, M. L., Baumel, A. et Salmon, A., 2004 *Spartina anglica* C. E. Hubbard: a natural model system for analysing early evolutionary changes that affect allopolyploid genomes. *Biological Journal Of The Linnean Society* **82**: 475-484.
- Akhunov, E. D., Akhunova, A. R., Linkiewicz, A. M., Dubcovsky, J., Hummel, D. *et al.*, 2003a Synteny perturbations between wheat homoeologous chromosomes caused by locus duplications and deletions correlate with recombination rates. *PNAS* **100**: 10836-10841.
- Akhunov, E. D., Goodyear, A. W., Geng, S., Qi, L.-L., Echalié, B. *et al.*, 2003b The Organization and Rate of Evolution of Wheat Genomes Are Correlated With Recombination Rates Along Chromosome Arms. *Genome Res.* **13**: 753-763.
- Altschul, S. F., Madden, T. L., Schaffer, A. A., Zhang, J., Zhang, Z. *et al.*, 1997 Swiss-Prot Protein Knowledgebase, release 47.3
- Gapped BLAST and PSI-BLAST: a new generation of protein database search programs. *Nucleic Acids Res* **25**: 3389 - 3402.
- Ananiev, E. V., Phillips, R. L. et Rines, H. W., 1998 Chromosome-specific molecular organization of maize (*Zea mays* L.) centromeric regions. *Proc Natl Acad Sci U S A* **95**: 13073-13078.
- Anderson, L. K., Hooker, K. D. et Stack, S. M., 2001 The Distribution of Early Recombination Nodules on Zygotene Bivalents From Plants. *Genetics* **159**: 1259-1269.
- Anderson, L. K. et Stack, S. M., 2002 Meiotic Recombination in Plants. *Current Genomics* **3**: 507-525.
- Anderson, L. K. et Stack, S. M., 2005 Recombination nodules in plants. *Cytogenetic and Genome Research* **109**: 198.
- Aragon-Alcaide, L., Reader, S., Beven, A., Shaw, P., Miller, T. *et al.*, 1997 Association of homologous chromosomes during floral development. *Curr Biol* **7**: 905-908.
- Armstrong, K. C. et Keller, W. A., 1981 Chromosome pairing in haploids of *Brassica campestris*. *Theoretical And Applied Genetics* **59**: 49-52.
- Armstrong, K. C. et Keller, W. A., 1982 Chromosome pairing in haploids of *Brassica oleracea*. *Canadian Journal of Genetics and Cytology*: 735-739.
- Armstrong, S. J., Franklin, F. C. H. et Jones, G. H., 2001 Nucleolus-associated telomere clustering and pairing precede meiotic chromosome synapsis in Arabidopsis thaliana. *J Cell Sci* **114**: 4207-4217.
- Attia, T. et Robbelen, G., 1986 Cytogenetic relationship within cultivated Brassica analyzed in amphihaploids from the three diploid ancestors. *Canadian Journal of Genetics and Cytology* **28**: 323-329.
- Attia, T. et Röbbelen, G., 1986 Meiotic pairing in haploids and amphihaploids of spontaneous versus synthetic origin in rape, *Brassica napus* L. *Canadian Journal of Genetics and Cytology*: 330-334.
- Aury, J.-M., Jaillon, O., Duret, L., Noel, B., Jubin, C. *et al.*, 2006 Global trends of whole-genome duplications revealed by the ciliate *Paramecium tetraurelia*. *Nature* **444**: 171-178
- Baack, E. J., Whitney, K. D. et Rieseberg, L. H., 2005 Hybridization and genome size evolution: timing and magnitude of nuclear DNA content increases in Helianthus homoploid hybrid species. *New Phytologist* **167**: 623-630.
- Badaeva, E. D., Badaev, N. S., Gill, B. S. et Filatenko, A. A., 1994 Intraspecific karyotype divergence in *Triticum araraticum* (Poaceae). *Plant Systematics and Evolution* **192**: 117-145.
- Bailey, J. A. et Eichler, E. E., 2006 Primate segmental duplications: crucibles of evolution, diversity and disease. *Nat Rev Genet* **7**: 552.
- Barton, N. et Bengtsson, B. O., 1986 The barrier to genetic exchange between hybridising populations. *Heredity* **57**: 357-376.
- Barton, N. H. et Otto, S. P., 2005 Evolution of recombination due to random drift. *Genetics* **169**: 2353-2370.
- Bass, H. W., Riera-Lizarazu, O., Ananiev, E. V., Bordoli, S. J., Rines, H. W. *et al.*, 2000 Evidence for the coincident initiation of homolog pairing and synapsis during the telomere-clustering (bouquet) stage of meiotic prophase. *J Cell Sci* **113**: 1033-1042.

- Baudat, F. et Nicolas, A., 1997 Clustering of meiotic double-strand breaks on yeast chromosome III. *Proc Natl Acad Sci U S A* **94**: 5213-5218.
- Belyayev, A., Raskina, O., Korol, A. et Nevo, E., 2000 Coevolution of A and B genomes in allotetraploid *Triticum dicoccoides*. *Genome* **43**: 1021-1026.
- Benavente, E., Begona, F.-C. et Orellana, J., 1996 Relationship between the levels of wheat-rye metaphase I chromosomal pairing and recombination revealed by GISH. *Chromosoma* **105**: 92-96.
- Bennett, M. D., 2004 Perspectives on polyploidy in plants - ancient and neo. *Biological Journal Of The Linnean Society* **82**: 411-423.
- Bennett, M. D. et Smith, C., 1972 The Effects of Polyploidy on Meiotic Duration and Pollen Development in Cereal Anthers. *Proceedings of the Royal Society of London*. **181**: 81-107.
- Bennetzen, J. L., 2000 Comparative sequence analysis of plant nuclear genomes: Microcolinearity and its many exceptions. *Plant Cell* **12**: 1021-1029.
- Bennetzen, J. L., 2005 Transposable elements, gene creation and genome rearrangement in flowering plants. *Current Opinion In Genetics & Development* **15**: 621-627.
- Bennetzen, J. L. et Kellogg, E. A., 1997 Do Plants Have a One-Way Ticket to Genomic Obesity? *Plant Cell* **9**: 1509-1514.
- Bennetzen, J. L. et Ma, J., 2003 The genetic colinearity of rice and other cereals on the basis of genomic sequence analysis. *Current Opinion in Plant Biology* **6**: 128.
- Bennetzen, J. L., Ma, J. et Devos, K. M., 2005 Mechanisms of Recent Genome Size Variation in Flowering Plants. *Ann Bot* **95**: 127-132.
- Betran, E., Rozas, J., Navarro, A. et Barbadilla, A., 1997 The Estimation of the Number and the Length Distribution of Gene Conversion Tracts From Population DNA Sequence Data. *Genetics* **146**: 89-99.
- Birchler, J. A., Auger, D. L. et Riddle, N. C., 2003 In search of the molecular basis of heterosis. **15**: 2236.
- Birchler, J. A., Riddle, N. C., Auger, D. L. et Veitia, R. A., 2005 Dosage balance in gene regulation: biological implications. *Trends In Genetics* **21**: 219-226.
- Birchler, J. A. et Veitia, R. A., 2007 The Gene Balance Hypothesis: From Classical Genetics to Modern Genomics. *Plant Cell* **19**: 395-402.
- Bishop, D. K. et Zickler, D., 2004 Early Decision: Meiotic Crossover Interference prior to Stable Strand Exchange and Synapsis. *Cell* **117**: 9.
- Blanc, G. et Wolfe, K. H., 2004a Functional Divergence of Duplicated Genes Formed by Polyploidy during Arabidopsis Evolution. *Plant Cell* **16**: 1679-1691.
- Blanc, G. et Wolfe, K. H., 2004b Widespread Paleopolyploidy in Model Plant Species Inferred from Age Distributions of Duplicate Genes. *Plant Cell* **16**: 1667-1678.
- Blanc, G. et Wolfe, K. H., 2004c Widespread paleopolyploidy in model plant species inferred from age distributions of duplicate genes. *Plant Cell* **16**: 1667-1678.
- Bleuyard, J. Y., Gallego, M. E. et White, C. I., 2006 Recent advances in understanding of the DNA double-strand break repair machinery of plants. *Dna Repair* **5**: 1-12.
- Bohuon, E. J. R., Keith, D. J., Parkin, I. A. P., Sharpe, A. G. et Lydiate, D. J., 1996 Alignment of the conserved C genomes of *Brassica oleracea* and *Brassica napus*. *Theoretical and Applied Genetics* **93**: 833-839.
- Bonierbale, M. W., Plaisted, R. L. et Tanksley, S. D., 1988 RFLP Maps Based on a Common Set of Clones Reveal Modes of Chromosomal Evolution in Potato and Tomato. *Genetics* **120**: 1095-1103.
- Borner, G. V., Kleckner, N. et Hunter, N., 2004 Crossover/noncrossover differentiation, synaptonemal complex formation, and regulatory surveillance at the leptotene/zygotene transition of meiosis. *Cell* **117**: 29-45.
- Borts, R. H. et Haber, J. E., 1989 Length and Distribution of Meiotic Gene Conversion Tracts and Crossovers in *Saccharomyces cerevisiae*. *Genetics* **123**: 69-80.
- Bosco, G. et Haber, J. E., 1998 Chromosome Break-Induced DNA Replication Leads to Nonreciprocal Translocations and Telomere Capture. *Genetics* **150**: 1037-1047.
- Bottley, A., Xia, G. M. et Koebner, R. M. D., 2006 Homoeologous gene silencing in hexaploid wheat. *The Plant Journal* **47**: 897-906.
- Bowers, J. E., Chapman, B. A., Rong, J. K. et Paterson, A. H., 2003 Unravelling angiosperm genome evolution by phylogenetic analysis of chromosomal duplication events. *Nature* **422**: 433-438.
- Bretagnolle, F. et Thompson, J. D., 1995 Tansley Review No-78 - Gametes With The Somatic Chromosome-Number - Mechanisms Of Their Formation And Role In The Evolution Of Autopolyploid Plants. *New Phytologist* **129**: 1-22.
- Brown, M. S., Menzel, M. Y., Hasenkampf, C. A. et Naqi, S., 1981 Chromosome configurations and orientations in 58 heterozygous translocations in *Gossypium hirsutum*. *J Hered* **72**: 161-168.
- Brunner, S., Fengler, K., Morgante, M., Tingey, S. et Rafalski, A., 2005 Evolution of DNA Sequence Nonhomologies among Maize Inbreds. *Plant Cell* **17**: 343-360.
- Carlton, P. M., Farruggio, A. P. et Dernburg, A. F., 2006 A link between meiotic prophase progression and crossover control. *PLoS Genet* **2**: e12.

- Carpenter, A. T., 1987 Gene conversion, recombination nodules, and the initiation of meiotic synapsis. *Bioessays* **6**: 232-236.
- Carputo, D., Frusciante, L. et Peloquin, S. J., 2003 The Role of 2n Gametes and Endosperm Balance Number in the Origin and Evolution of Polyploids in the Tuber-Bearing *Solanums*. *Genetics* **163**: 287-294.
- Cervantes, M. D., Farah, J. A. et Smith, G. R., 2000 Meiotic DNA breaks associated with recombination in *S. pombe*. *Mol Cell* **5**: 883-888.
- Chandler, J. M., Jan, C.-C. et Beard, B. H., 1986 Chromosomal Differentiation among the Annual *Helianthus* Species. *Systematic Botany* **11**: 354-371.
- Chantret, N., Salse, J., Sabot, F., Rahman, S., Bellec, A. *et al.*, 2005 Molecular Basis of Evolutionary Events That Shaped the Hardness Locus in Diploid and Polyploid Wheat Species (Triticum and Aegilops). *Plant Cell* **17**: 1033-1045.
- Chen, C. et Kolodner, R. D., 1999 Gross chromosomal rearrangements in *Saccharomyces cerevisiae* replication and recombination defective mutants. *Nat Genet* **23**: 81-85.
- Chen, M., SanMiguel, P., de Oliveira, A. C., Woo, S. S., Zhang, H. *et al.*, 1997 Microcolinearity in sh2-homologous regions of the maize, rice, and sorghum genomes. *PNAS* **94**: 3431-3435.
- Chen, W. et Jinks-Robertson, S., 1999 The role of the mismatch repair machinery in regulating mitotic and meiotic recombination between diverged sequences in yeast. *Genetics* **151**: 1299-1313.
- Chen, Z. J. et Ni, Z. F., 2006 Mechanisms of genomic rearrangements and gene expression changes in plant polyploids. *Bioessays* **28**: 240-252.
- Chen, Z. J. et Zhongfu, N., 2006 Mechanisms of genomic rearrangements and gene expression changes in plant polyploids. *Bioessays* **28**: 240-252.
- Cheung, W. Y., Champagne, G., Hubert, N. et Landry, B. S., 1997 Comparison of the genetic maps of *Brassica napus* and *Brassica oleracea*. *Theoretical and Applied Genetics* **94**: 569-582.
- Christoffels, A., Koh, E. G. L., Chia, J.-m., Brenner, S., Aparicio, S. *et al.*, 2004 Fugu Genome Analysis Provides Evidence for a Whole-Genome Duplication Early During the Evolution of Ray-Finned Fishes. *Mol Biol Evol* **21**: 1146-1151.
- Chua, P. R. et Roeder, G. S., 1997 Tam1, a telomere-associated meiotic protein, functions in chromosome synapsis and crossover interference. *Genes Dev* **11**: 1786-1800.
- Civardi, L., Xia, Y., Edwards, K. J., Schnable, P. S. et Nikolau, B. J., 1994 The Relationship Between Genetic and Physical Distances in the Cloned a1-sh2 Interval of the *Zea Mays* L. Genome. *PNAS* **91**: 8268-8272.
- Cliften, P. F., Fulton, R. S., Wilson, R. K. et Johnston, M., 2006 After the Duplication: Gene Loss and Adaptation in *Saccharomyces* Genomes. *Genetics* **172**: 863-872.
- Coghlan, A., Eichler, E. E., Oliver, S. G., Paterson, A. H. et Stein, L., 2005 Chromosome evolution in eukaryotes: a multi-kingdom perspective. *Trends in Genetics* **21**: 673-682.
- Coghlan, A. et Wolfe, K. H., 2002 Fourfold Faster Rate of Genome Rearrangement in Nematodes Than in *Drosophila*. *Genome Res.* **12**: 857-867.
- Comai, L., 2005 The Advantages and Disadvantages of being polyploid. *Nature Reviews Genetics* **6**: 836-842.
- Cook, P. R., 1997 The transcriptional basis of chromosome pairing. *J Cell Sci* **110 (Pt 9)**: 1033-1040.
- Cooper, J. P., Watanabe, Y. et Nurse, P., 1998 Fission yeast Taz1 protein is required for meiotic telomere clustering and recombination. *Nature* **392**: 828-831.
- Cornu, A., Farcy, E. et Mousset, C., 1989 A genetic basis for variations in meiotic recombination in *Petunia hybrida*. *Genome* **32**: 46-53.
- Coyne, J. A., Meyers, W., Crittenden, A. P. et Sniegowski, P., 1993 The Fertility Effects of Pericentric Inversions in *Drosophila melanogaster*. *Genetics* **134**: 487-496.
- Coyne, J. A. et Orr, H. A., 1998 The evolutionary genetics of speciation. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* **353**: 287-305.
- Cronn, R., Small, R. L., Haselkorn, T. et Wendel, J. F., 2003 Cryptic repeated genomic recombination during speciation in *Gossypium gossypoides*. *Evolution* **57**: 2475-2489.
- Cuadrado, C., Romero, C. et Lacadena, J., 1991 Meiotic pairing control in wheat-rye hybrids. I. Effect of different wheat chromosome arms of homoeologous groups 3 and 5. *Genome* **34**: 72-75.
- Cui, L. Y., Wall, P. K., Leebens-Mack, J. H., Lindsay, B. G., Soltis, D. E. *et al.*, 2006 Widespread genome duplications throughout the history of flowering plants. *Genome Research* **16**: 738-749.
- Daniel, A. et Lam-Po-Tang, P., 1976 Structure and inheritance of some heterozygous Robertsonian translocations in man. *J Med Genet* **13**: 381-388.
- Darlington, C. D., 1939 Misdivision and the genetics of the centromere. *J. Genet.* **37**: 341-364.
- Datta, A., Hendrix, M., Lipsitch, M. et Jinks-Robertson, S., 1997 Dual roles for DNA sequence identity and the mismatch repair system in the regulation of mitotic crossing-over in yeast. *PNAS* **94**: 9757-9762.
- Davis, L. et Smith, G. R., 2006 The Meiotic Bouquet Promotes Homolog Interactions and Restricts Ectopic Recombination in *Schizosaccharomyces pombe*. *Genetics* **174**: 167-177.

- Dawe, R. K., 1998 Meiotic Chromosome Organization And Segregation In Plants. *Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol* **49**: 371-395.
- Dawe, R. K., Sedat, J. W., Agard, D. A. et Cande, W. Z., 1994 Meiotic chromosome pairing in maize is associated with a novel chromatin organization. *Cell* **76**: 901-912.
- de Massy, B., 2003 Distribution of meiotic recombination sites. *Trends in Genetics* **19**: 514.
- De Wet, J. et Harlan, J., 1975 Weeds and domesticates: evolution in the man-made habitat. *Econ. Bot.* **29**: 99-107.
- Dehal, P. et Boore, J. L., 2005 Two Rounds of Whole Genome Duplication in the Ancestral Vertebrate. *PLoS Biology* **3**: e314.
- Devos, K. M., 2005 Updating the 'Crop circle'. *Current Opinion In Plant Biology* **8**: 155-162.
- Devos, K. M. et Gale, M. D., 2000 Genome relationships: the grass model in current research. *Plant Cell* **12**: 637-646.
- Diers, B. W. et Osborn, T. C., 1994 Genetic diversity of oilseed Brassica napus germ plasm based on restriction fragment length polymorphisms. *Theoretical and Applied Genetics* **88**: 662-668.
- Ding, D.-Q., Yamamoto, A., Haraguchi, T. et Hiraoka, Y., 2004 Dynamics of Homologous Chromosome Pairing during Meiotic Prophase in Fission Yeast. *Developmental Cell* **6**: 329-341.
- Dobzhansky, T., 1930 Translocation involving the third and fourth chromosomes of *Drosophila Melanogaster*. *Genetics* **15**: 347-399.
- Dover, G. A. et Riley, R., 1972 Variation at two loci affecting homoeologous meiotic chromosome pairing in *Triticum aestivum* x *Aegilops mutica* hybrids. *Nat New Biol* **235**: 61-62.
- Dover, G. A. et Riley, R., 1973 The Effect of Spindle Inhibitors Applied before Meiosis on Meiotic Chromosome Pairing. *J Cell Sci* **12**: 143-161.
- Dover, G. A. et Riley, R., 1977 Inferences from genetical evidence on the course of meiotic chromosome pairing in plants. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* **277**: 313-326.
- Doyle, J. J., Doyle, J. L., Rauscher, J. T. et Brown, A. H. D., 2004 Diploid and polyploid reticulate evolution throughout the history of the perennial soybeans (*Glycine* subgenus *Glycine*). *New Phytologist* **161**: 121-132.
- Drouaud, J., Camilleri, C., Bourguignon, P.-Y., Canaguier, A., Berard, A. *et al.*, 2006 Variation in crossing-over rates across chromosome 4 of *Arabidopsis thaliana* reveals the presence of meiotic recombination "hot spots". *Genome Res.* **16**: 106-114.
- Dubcovsky, J., Luo, M. et Dvorak, J., 1995 Differentiation between homoeologous chromosomes 1A of wheat and 1Am of *Triticum monococcum* and its recognition by the wheat Ph1 locus. *Proc Natl Acad Sci U S A* **92**: 6645-6649.
- Dujon, B., Sherman, D., Fischer, G., Durrens, P., Casaregola, S. *et al.*, 2004 Genome evolution in yeasts. *Nature* **430**: 35-44.
- Dutrillaux, B., 1979 Chromosomal evolution in Primates: Tentative phylogeny from *Microcebus murinus* (Prosimian) to man. *Human Genetics* **48**: 251-314.
- Dvorak, J. et Akhunov, E. D., 2005 Tempos of Gene Locus Deletions and Duplications and Their Relationship to Recombination Rate During Diploid and Polyploid Evolution in the *Aegilops-Triticum* Alliance. *Genetics* **171**: 323-332.
- Dvorak, J., Deal, K. R. et Luo, M.-C., 2006 Discovery and Mapping of Wheat Ph1 Suppressors. *Genetics* **174**: 17-27
- Dvorak, J., Yang, Z. L., You, F. M. et Luo, M. C., 2004 Deletion polymorphism in wheat chromosome regions with contrasting recombination rates. *Genetics* **168**: 1665-1675.
- Eber, F., Letanneur, J. C. et Chèvre, A. M., 1997 Chromosome number of oilseed rape (*Brassica napus*)-wild radish (*Raphanus raphanistrum*) spontaneous hybrids and of their progeny estimated by Flow cytometry. *Cruciferae Newsletter*: 17-18.
- Eichler, E. E. et Sankoff, D., 2003 Structural Dynamics of Eukaryotic Chromosome Evolution. *Science* **301**: 793-797.
- Ellis, T. H. N., Turner, L., Hellens, R. P., Lee, D., Harker, C. L. *et al.*, 1992 Linkage Maps in Pea. *Genetics* **130**: 649-663.
- Ellstrand, N. C., Whitkus, R. et Rieseberg, L. H., 1996 Distribution of spontaneous plant hybrids. *Proceedings Of The National Academy Of Sciences Of The United States Of America* **93**: 5090-5093.
- Evans, G. M. et Macefield, A. J., 1972 Suppression of homoeologous pairing by B chromosomes in a *Lolium* species hybrid. *Nat New Biol* **236**: 110-111.
- Fan, Q. Q. et Petes, T. D., 1996 Relationship between nuclease-hypersensitive sites and meiotic recombination hot spot activity at the HIS4 locus of *Saccharomyces cerevisiae*. *Mol Cell Biol* **16**: 2037-2043.
- Feldman, M., 1966 The Effect of Chromosomes 5B, 5D, and 5A on Chromosomal Pairing in *Triticum Aestivum*. *PNAS* **55**: 1447-1453.
- Feldman, M., 1993 Cytogenetic activity and mode of action of the pairing homoeologous (Ph1) gene of wheat. *Plant Breeding* **33**: 894-897.
- Feldman, M., Liu, B., Segal, G., Abbo, S., Levy, A. A. *et al.*, 1997 Rapid Elimination of Low-Copy DNA Sequences in Polyploid Wheat: A Possible Mechanism for Differentiation of Homoeologous Chromosomes. *Genetics* **147**: 1381-1387.
- Feuillet, C. et Keller, B., 2002 Comparative Genomics in the Grass Family: Molecular Characterization of Grass Genome Structure and Evolution. *Ann Bot* **89**: 3-10.

- Feuk, L., Carson, A. R. et Scherer, S. W., 2006 Structural variation in the human genome. *Nat Rev Genet* **7**: 85.
- Fischer, G., James, S. A., Roberts, I. N., Oliver, S. G. et Louis, E. J., 2000 Chromosomal evolution in *Saccharomyces*. *Nature* **405**: 451-454.
- Fischer, G., Neugeglise, C., Durrens, P., Gaillardin, C. et Dujon, B., 2001 Evolution of Gene Order in the Genomes of Two Related Yeast Species. *Genome Res.* **11**: 2009-2019.
- Fischer, G., Rocha, E. P., Brunet, F., Vergassola, M. et Dujon, B., 2006 Highly variable rates of genome rearrangements between hemiascomycetous yeast lineages. *PLoS Genet* **2**: e32.
- Fitch, W. M., 1970 Distinguishing Homologous from Analogous Proteins. *Systematic Zoology* **19**: 99-113.
- Francis, K. E., Lam, S. Y., Harrison, B. D., Bey, A. L., Berchowitz, L. E. *et al.*, 2007 Pollen tetrad-based visual assay for meiotic recombination in *Arabidopsis*. *Proc Natl Acad Sci U S A* **104**: 3913-3918.
- Freeman, J. L., Perry, G. H., Feuk, L., Redon, R., McCarroll, S. A. *et al.*, 2006 Copy number variation: New insights in genome diversity. *Genome Res.* **16**: 949-961.
- Friebe, B. et Gill, B. S., 1994 C-band polymorphism and structural rearrangements detected in common wheat (*Triticum aestivum*). *Euphytica* **78**: 1-5.
- Friebe, B., Jiang, J., Raupp, W. J., McIntosh, R. A. et Gill, B. S., 1996 Characterization of wheat-alien translocations conferring resistance to diseases and pests: current status. *Euphytica* **91**: 59-87.
- Friebe, B., Zhang, P., Linc, G. et Gill, B. S., 2005 Robertsonian translocations in wheat arise by centric misdivision of univalents at anaphase I and rejoining of broken centromeres during interkinesis of meiosis II. *Cytogenetic And Genome Research* **109**: 293.
- Froenicke, L., 2005 Origins of primate chromosomes as delineated by Zoo-FISH and alignments of human and mouse draft genome sequences. *Cytogenetic and Genome Research* **108**: 122-138.
- Fu, H. et Dooner, H. K., 2002 Intraspecific violation of genetic colinearity and its implications in maize. **99**: 9573.
- Gallardo, M. H., Kausel, G., Jimenez, A., Bacquet, C., Gonzalez, C. *et al.*, 2004 Whole-genome duplications in South American desert rodents (Octodontidae). *Biological Journal of the Linnean Society* **82**: 443-451.
- Gaut, B. S., 2002 Evolutionary dynamics of grass genomes. *New Phytologist* **154**: 15-28.
- Gerton, J. L., DeRisi, J., Shroff, R., Lichten, M., Brown, P. O. *et al.*, 2000 Inaugural Article: Global mapping of meiotic recombination hotspots and coldspots in the yeast *Saccharomyces cerevisiae*. *PNAS* **97**: 11383-11390.
- Goldman, A. S. et Lichten, M., 1996 The efficiency of meiotic recombination between dispersed sequences in *Saccharomyces cerevisiae* depends upon their chromosomal location. *Genetics* **144**: 43-55.
- Golubovskaya, I. N., Harper, L. C., Pawlowski, W. P., Schichnes, D. et Cande, W. Z., 2002 The *pam1* Gene Is Required for Meiotic Bouquet Formation and Efficient Homologous Synapsis in Maize (*Zea mays* L.). *Genetics* **162**: 1979-1993.
- Gravholt, C., Friedrich, U., Caprani, M. et Jorgensen, A., 1992 Breakpoints in Robertsonian translocations are localized to satellite III DNA by fluorescence in situ hybridization. *Genomics* **14**: 924-930.
- Griffiths, S., Sharp, R., Foote, T. N., Bertin, I., Wanous, M. *et al.*, 2006 Molecular characterization of Ph1 as a major chromosome pairing locus in polyploid wheat. *Nature* **439**: 749-752.
- Gu, X., Wang, Y. F. et Gu, J. Y., 2002 Age distribution of human gene families shows significant roles of both large- and small-scale duplications in vertebrate evolution. *Nature Genetics* **31**: 205-209.
- Guo, M., Davis, D. et Birchler, J. A., 1996 Dosage Effects on Gene Expression in a Maize Ploidy Series. *Genetics* **142**: 1349-1355.
- Haber, J. E., Borts, R. H., Connolly, B., Lichten, M., Rudin, N. *et al.*, 1988 Physical monitoring of meiotic and mitotic recombination in yeast. *Prog Nucleic Acid Res Mol Biol* **35**: 209-259.
- Haber, J. E., Leung, W. Y., Borts, R. H. et Lichten, M., 1991 The frequency of meiotic recombination in yeast is independent of the number and position of homologous donor sequences: implications for chromosome pairing. *Proc Natl Acad Sci U S A* **88**: 1120-1124.
- Hamant, O., Ma, H. et Cande, W. Z., 2006 Genetics of meiotic Prophae I in Plants. *Annual Review of Plant Biology* **57**: 267-302.
- Han, F., Fedak, G., Guo, W. et Liu, B., 2005a Rapid and Repeatable Elimination of a Parental Genome-Specific DNA Repeat (pGcIR-1a) in Newly Synthesized Wheat Allopolyploids. *Genetics* **170**: 1239-1245.
- Han, F. P., Fedak, G., Guo, W. L. et Liu, B., 2005b Rapid and repeatable elimination of a parental genome-specific DNA repeat (pGcIR-1a) in newly synthesized wheat allopolyploids. *Genetics* **170**: 1239-1245.
- Harlan, J. R. et De wet, J. M., 1975 On O Winge and a prayer: the origins of polyploidy. *Botanical Review* **41**: 361-390.
- Heacock, M., Spangler, E., Riha, K., Puizina, J. et Shippen, D. E., 2004 Molecular analysis of telomere fusions in *Arabidopsis*: multiple pathways for chromosome end-joining. *Embo Journal* **23**: 2304-2313.
- Hegarty, M. J., Barker, G. L., Wilson, I. D., Abbott, R. J., Edwards, K. J. *et al.*, 2006 Transcriptome Shock after Interspecific Hybridization in *Senecio* Is Ameliorated by Genome Duplication. *Current Biology* **16**: 1652-1659.
- Hegarty, M. J. et Hiscock, S. J., 2005 Hybrid speciation in plants: new insights from molecular studies. *New Phytologist* **165**: 411-423.
- Henikoff, S., Ahmad, K. et Malik, H. S., 2001 The Centromere Paradox: Stable Inheritance with Rapidly Evolving DNA. *Science* **293**: 1098-1102.

- Hilliker, A. J., Harauz, G., Reaume, A. G., Gray, M., Clark, S. H. *et al.*, 1994 Meiotic Gene Conversion Tract Length Distribution Within the *rosy* Locus of *Drosophila melanogaster*. *Genetics* **137**: 1019-1026.
- Hilu, K. W., 1993 Polyploidy And The Evolution Of Domesticated Plants. *American Journal Of Botany* **80**: 1494-1499.
- Hodges, C. A., Revenkova, E., Jessberger, R., Hassold, T. J. *et al.*, 2005 SMC1 β -deficient female mice provide evidence that cohesins are a missing link in age-related nondisjunction. *Nat Genet* **37**: 1351-1355.
- Hoffmann, E. R. *et al.*, 2004 Meiotic recombination intermediates and mismatch repair proteins. *Cytogenetic and Genome Research* **107**: 232-248.
- Holliday, R., 1964. A mechanism for gene conversion in fungi. *Genet. Res.* **5**: 282-304.
- Hollingsworth, N. M., Ponte, L. *et al.*, 1995 MSH5, a novel MutS homolog, facilitates meiotic reciprocal recombination between homologs in *Saccharomyces cerevisiae* but not mismatch repair. *Genes Dev* **9**: 1728-1739.
- Hunter, N. *et al.*, 2001 The single-end invasion: an asymmetric intermediate at the double-strand break to double-holliday junction transition of meiotic recombination. *Cell* **106**: 59-70.
- Hurst, L. D., Pal, C. *et al.*, 2004 The evolutionary dynamics of eukaryotic gene order. *Nature Reviews Genetics* **5**: 299-310.
- Inaba, R. *et al.*, 2002 Phylogenetic analysis of Brassicaceae based on the nucleotide sequences of the S-locus related gene, SLR1. *Theoretical And Applied Genetics* **105**: 1159-1165.
- Jannoo, N., Grivet, L., David, J., D'Hont, A. *et al.*, 2004 Differential chromosome pairing affinities at meiosis in polyploid sugarcane revealed by molecular markers. *Heredity* **93**: 460-467.
- Jauhar, P. P., 2003 Formation of 2n gametes in durum wheat haploids: Sexual polyploidization. *Euphytica* **133**: 81-94.
- Jenczewski, E. *et al.*, 2004 From diploids to allopolyploids: The emergence of efficient pairing control genes in plants. *Critical Reviews In Plant Sciences* **23**: 21-45.
- Jenczewski, E., Eber, F., Grimaud, A., Huet, S., Lucas, M. O. *et al.*, 2003 PrBn, a Major Gene Controlling Homeologous Pairing in Oilseed Rape (*Brassica napus*) Haploids. *Genetics* **164**: 645-653.
- Jiang, J., Birchler, J. A., Parrott, W. A. *et al.*, 2003 A molecular view of plant centromeres. *Trends in Plant Science* **8**: 570-575.
- Jiang, J. *et al.*, 1994 Different species-specific chromosome translocations in *Triticum timopheevii* and *T. turgidum* support the diphyletic origin of polyploid wheats. *Chromosome Res* **2**: 59-64.
- Jimenez, M., Diez, M. *et al.*, 1994 Synaptic patterns of rye B chromosomes. III. The deficient B. *Chromosome Res* **2**: 93-98.
- Jinks-Robertson, S., Michelitch, M. *et al.*, 1993 Substrate length requirements for efficient mitotic recombination in *Saccharomyces cerevisiae*. *Mol Cell Biol* **13**: 3937-3950.
- Jinks-Robertson, S. *et al.*, 1986 Chromosomal Translocations generated by high-frequency meiotic recombination repeated Yeast genes. *Genetics* **114**: 731-752.
- Jones, G. H., 1984 The control of chiasma distribution. *Symp Soc Exp Biol* **38**: 293-320.
- Jones, K., 1998 Robertsonian fusion and centric fission in karyotype evolution of higher plants. *Botanical Review* **64**: 273-289.
- Jones, G. H. *et al.*, 2006 Meiotic Crossing-over: Obligation and Interference. *Cell* **126**: 285-295
- Joppa, L. R., Nevo, E. *et al.*, 1995 Chromosome translocations in wild populations of tetraploid emmer wheat in Israel and Turkey. *Theoretical and Applied Genetics* **91**: 713-719.
- Kashkush, K., Feldman, M. *et al.*, 2002 Gene Loss, Silencing and Activation in a Newly Synthesized Wheat Allotetraploid. *Genetics* **160**: 1651-1659.
- Kashkush, K., Feldman, M. *et al.*, 2003 Transcriptional activation of retrotransposons alters the expression of adjacent genes in wheat. *Nat Genet* **33**: 102-106.
- Kaszas, E., Kato, A. *et al.*, 2002 Cytological and molecular analysis of centromere misdivision in maize. *Genome* **45**: 759-768.
- Kawabe, A., Hansson, B., Forrest, A., Hagenblad, J. *et al.*, 2006 Comparative gene mapping in *Arabidopsis lyrata* chromosomes 6 and 7 and *A. thaliana* chromosome IV: evolutionary history, rearrangements and local recombination rates. *Genetical Research* **88**: 45-56.
- Keeney, S., 2001 Mechanism and control of meiotic recombination initiation, *Current Topics In Developmental Biology*. **52**: 1-53
- Keeney, S., Giroux, C. N. *et al.*, 1997 Meiosis-Specific DNA Double-Strand Breaks Are Catalyzed by Spo11, a Member of a Widely Conserved Protein Family. *Cell* **88**: 375-384.
- Kellis, M., Birren, B. W. *et al.*, 2004 Proof and evolutionary analysis of ancient genome duplication in the yeast *Saccharomyces cerevisiae*. *Nature* **428**: 617-624.
- Khanna, K. K. *et al.*, 2001 DNA double-strand breaks: signaling, repair and the cancer connection. *Nat Genet* **27**: 247-254.
- King, M., 1993 *Species Evolution*.
- Kleckner, N., 2006 Chiasma formation: chromatin/axis interplay and the role(s) of the synaptonemal complex. *Chromosoma* **115**: 175-194.

- Knight, C. A., Molinari, N. A. et Petrov, D. A., 2005 The Large Genome Constraint Hypothesis: Evolution, Ecology and Phenotype. *Ann Bot* **95**: 177-190.
- Koch, M. A. et Kiefer, M., 2005 Genome evolution among cruciferous plants: a lecture from the comparison of the genetic maps of three diploid species--*Capsella rubella*, *Arabidopsis lyrata* subsp. *petraea*, and *A. thaliana*. *Am. J. Bot.* **92**: 761-767.
- Koella, J., 1993 Ecological correlates of chiasma frequency and recombination index of plants. *Biological Journal of the Linnean Society* **48**: 227-238.
- Kogoma, T., 1996 Recombination by replication. *Cell* **85**: 625-627.
- Kogoma, T., 1997 Stable DNA replication: interplay between DNA replication, homologous recombination, and transcription. *Microbiol Mol Biol Rev* **61**: 212-238.
- Konishi, T. et Linde-Laursen, I., 1988 Spontaneous chromosomal rearrangements in cultivated and wild barleys. *Theoretical and Applied Genetics* **75**: 237-243.
- Koszul, R., Caburet, S., Dujon, B. et Fischer, G., 2004 Eucaryotic genome evolution through the spontaneous duplication of large chromosomal segments. *Embo J* **23**: 234-243.
- Kowalski, S. P., Lan, T. H., Feldmann, K. A. et Paterson, A. H., 1994 Comparative Mapping of *Arabidopsis thaliana* and *Brassica oleracea* Chromosomes Reveals Islands of Conserved Organization. *Genetics* **138**: 499-510.
- Kupiec, M. et Petes, T. D., 1988 Allelic and ectopic recombination between Ty elements in yeast. *Genetics* **119**: 549-559.
- Lagercrantz, U., 1998 Comparative Mapping Between *Arabidopsis thaliana* and *Brassica nigra* Indicates That *Brassica* Genomes Have Evolved Through Extensive Genome Replication Accompanied by Chromosome Fusions and Frequent Rearrangements. *Genetics* **150**: 1217-1228.
- Lagercrantz, U. et Lydiate, D. J., 1996 Comparative genome mapping in *Brassica*. *Genetics* **144**: 1903-1910.
- Lai, Z., Gross, B. L., Zou, Y. I., Andrews, J. et Rieseberg, L. H., 2006 Microarray analysis reveals differential gene expression in hybrid sunflower species. *Molecular Ecology* **15**: 1213-1227.
- Lande, R., 1985 The fixation of chromosomal rearrangements in a subdivided population with local extinction and colonization. *Heredity* **54**: 323-332.
- Langdon, T., Seago, C., Mende, M., Leggett, M., Thomas, H. *et al.*, 2000 Retrotransposon evolution in diverse plant genomes. *Genetics* **156**: 313-325.
- Lange, W., Linde-Laursen, I., Larsen, J., Ljungberg, A. et Ellerström, S., 1987 Cytogenetic analysis of structural rearrangements in three varieties of common wheat, *Triticum aestivum*. *TAG Theoretical and Applied Genetics* **73**: 635-645.
- Lee, J. M., Grant, D., Vallejos, C. E. et Shoemaker, R. C., 2001 Genome organization in dicots. II. *Arabidopsis* as a 'bridging species' to resolve genome evolution events among legumes. *Theoretical and Applied Genetics* **103**: 765-773.
- Leflon, M., Eber, F., Letanneur, J. C., Chelysheva, L., Coriton, O. *et al.*, 2006 Pairing and recombination at meiosis of *Brassica rapa* (AA) × *Brassica napus* (AACC) hybrids. *TAG Theoretical and Applied Genetics* **113**: 1467-1480.
- Leggett, J. M., Thomas, H. M., Meredith, M. R., Humphreys, M. W., Morgan, W. G. *et al.*, 1994 Intergenomic translocations and the genomic composition of *Avena maroccana* Gdgr. revealed by FISH. *Chromosome Research* **2**: 163-164.
- Leitch, I. J. et Bennett, M. D., 1997 Polyploidy in angiosperms. *Trends In Plant Science* **2**: 470-476.
- Leitch, I. J., Soltis, D. E., Soltis, P. S. et Bennett, M. D., 2005 Evolution of DNA Amounts Across Land Plants (Embryophyta). *Ann Bot* **95**: 207-217.
- Lenormand, T. et Dutheil, J., 2005 Recombination difference between sexes: a role for haploid selection. *PLoS Biol* **3**: e63.
- Lesins, K., 1952 Some data on the cytogenetics of alfalfa. *J Hered* **43**: 287-292.
- Levin, D. A., 2002 The Role of Chromosomal Change in Plant Evolution.
- Levings, C. S. et Alexander, D. E., 1966 Double reduction in autotetraploid Maize. *Genetics* **54**: 1297-1305.
- Levy, A. A. et Feldman, M., 2002 The Impact of Polyploidy on Grass Genome Evolution. *Plant Physiol.* **130**: 1587-1593.
- Li, L. L., Jean, M. et Belzile, F., 2006 The impact of sequence divergence and DNA mismatch repair on homeologous recombination in *Arabidopsis*. *Plant Journal* **45**: 908-916.
- Lichten, M., Borts, R. H. et Haber, J. E., 1987 Meiotic gene conversion and crossing over between dispersed homologous sequences occurs frequently in *Saccharomyces cerevisiae*. *Genetics* **115**: 233-246.
- Liharska, T., Koornneef, M., vanWordragen, M., vanKammen, A. et Zabel, P., 1996 Tomato chromosome 6: Effect of alien chromosomal segments on recombinant frequencies. *Genome* **39**: 485-491.
- Lim, K. B., Ramanna, M. S., Jong, J. H. d., Jacobsen, E. et Tuyl, J. M. v., 2001 Indeterminate meiotic restitution (IMR): a novel type of meiotic nuclear restitution mechanism detected in interspecific lily hybrids by GISH. *TAG Theoretical and Applied Genetics* **103**: 219-230.

- Lim, J. K. et Simmons, M. J., 1994 Gross chromosome rearrangements mediated by transposable elements in *Drosophila melanogaster*. *Bioessays* **16**: 269-275.
- Linardopoulou, E. V., Williams, E. M., Fan, Y., Friedman, C., Young, J. M. *et al.*, 2005 Human subtelomeres are hot spots of interchromosomal recombination and segmental duplication. *Nature* **437**: 94-100.
- Linares, C., Irigoyen, M. L. et Fominaya, A., 2000 Identification of C-genome chromosomes involved in intergenomic translocations in *Avena sativa* L., using cloned repetitive DNA sequences. *Theoretical And Applied Genetics* **100**: 353-360.
- Linder, C. R., Taha, I., Seiler, G. J., Snow, A. A. et Rieseberg, L. H., 1998 Long-term introgression of crop genes into wild sunflower populations. *Theoretical And Applied Genetics* **96**: 339-347.
- Liti, G., Barton, D. B. H. et Louis, E. J., 2006 Sequence Diversity, Reproductive Isolation and Species Concepts in *Saccharomyces*. **174**: 839-850
- Liu, A. H., Wang, J. B. et Zhu, Y. G., 2003 RAPD analysis on the genome evolution of polyploids in Brassica. *Acta Phytotaxonomica Sinica* **41**: 520-530.
- Liu, B., Brubaker, C. L., Mergeai, G., Cronn, R. C. et Wendel, J. F., 2001 Polyploid formation in cotton is not accompanied by rapid genomic changes. *Genome* **44**: 321-330.
- Liu, B., Vega, J. M. et Feldman, M., 1998a Rapid genomic changes in newly synthesized amphiploids of Triticum and Aegilops. II. Changes in low-copy coding DNA sequences. *Genome* **41**: 535-542.
- Liu, B., Vega, J. M., Segal, G., Abbo, S., Rodova, H. *et al.*, 1998b Rapid genomic changes in newly synthesized amphiploids of Triticum and Aegilops. I. Changes in low-copy noncoding DNA sequences. *Genome* **41**: 272-277.
- Liu, J., Wu, T. C. et Lichten, M., 1995 The location and structure of double-strand DNA breaks induced during yeast meiosis: evidence for a covalently linked DNA-protein intermediate. *Embo J* **14**: 4599-4608.
- Liu, Z., Adamczyk, K., Manzanares-Dauleux, M., Eber, F., Lucas, M.-O. *et al.*, 2006 Mapping PrBn and Other Quantitative Trait Loci Responsible for the Control of Homeologous Chromosome Pairing in Oilseed Rape (*Brassica napus* L.) Haploids. *Genetics* **174**: 1583-1596.
- Livingstone, K. et Rieseberg, L., 2004 Chromosomal evolution and speciation: a recombination-based approach. *New Phytologist* **161**: 107-112.
- Loidl, J., 1990 The initiation of meiotic chromosome pairing: the cytological view. *Genome* **33**: 759-778.
- Loidl, J. et Nairz, K., 1997 Karyotype Variability in Yeast Caused by Nonallelic Recombination in Haploid Meiosis. *Genetics* **146**: 79-88.
- Lombard, V. et Delourme, R., 2001 A consensus linkage map for rapeseed (*Brassica napus* L.): construction and integration of three individual maps from DH populations. *Theoretical And Applied Genetics* **103**: 491-507.
- Llorente, B., Malpertuy, A., Neuveglise, C., de Montigny, J., Aigle, M. *et al.*, 2000 Genomic Exploration of the Hemiascomycetous Yeasts: 18. Comparative analysis of chromosome maps and synteny with *Saccharomyces cerevisiae*. *FEBS Letters* **487**: 101-112.
- Lukaszewski, A. J., 1995 Physical distribution of translocation breakpoints in homoeologous recombinants induced by the absence of the *Ph1* gene in wheat and triticale. *Theoretical and Applied Genetics* **90**: 714-719.
- Lukaszewski, A. J. et Curtis, C. A., 1993 Physical distribution of recombination in B-genome chromosomes of tetraploid wheat. *TAG Theoretical and Applied Genetics* **86**: 121-127.
- Lukaszewski, A. J., Rybka, K., Korzun, V., Malyshev, S. V., Lapinski, B. *et al.*, 2004 Genetic and physical mapping of homoeologous recombination points involving wheat chromosome 2B and rye chromosome 2R. *Genome* **47**: 36-45.
- Lukens, L. N., Pires, J. C., Leon, E., Vogelzang, R., Oslach, L. *et al.*, 2006 Patterns of Sequence Loss and Cytosine Methylation within a Population of Newly Resynthesized *Brassica napus* Allopolyploids. *Plant Physiol.* **140**: 336-348.
- Lukens, L. N., Quijada, P. A., Udall, J., Pires, J. C., Schranz, M. E. *et al.*, 2004 Genome redundancy and plasticity within ancient and recent Brassica crop species. *Biological Journal Of The Linnean Society* **82**: 665-674.
- Luo, M. C., Dubcovsky, J. et Dvorak, J., 1996 Recognition of Homeology by the Wheat Ph1 Locus. *Genetics* **144**: 1195-1203.
- Lynch, M. et Conery, J. S., 2000 The evolutionary fate and consequences of duplicate genes. *Science* **290**: 1151-1155.
- Lynch, M. et Force, A. G., 2000 The origin of interspecific genomic incompatibility via gene duplication. *American Naturalist* **156**: 590-605.
- Lysak, M. A., Berr, A., Pecinka, A., Schmidt, R., McBreen, K. *et al.*, 2006a Mechanisms of chromosome number reduction in *Arabidopsis thaliana* and related Brassicaceae species. *PNAS* **103**: 5224-5229.
- Lysak, M. A., Berr, A., Pecinka, A., Schmidt, R., McBreen, K. *et al.*, 2006b Mechanisms of chromosome number reduction in *Arabidopsis thaliana* and related Brassicaceae species. *Proceedings Of The National Academy Of Sciences Of The United States Of America* **103**: 5224-5229.
- Lysak, M. A., Koch, M. A., Pecinka, A. et Schubert, I., 2005 Chromosome triplication found across the tribe Brassicaceae. *Genome Res.* **15**: 516-525.
- Lysak, M. A. et Lexer, C., 2006 Towards the era of comparative evolutionary genomics in Brassicaceae. *Plant Systematics and Evolution* **259**: 175-198.

- Ma, J. X., SanMiguel, P., Lai, J. S., Messing, J. et Bennetzen, J. L., 2005 DNA rearrangement in orthologous Orp regions of the maize, rice and sorghum genomes. *Genetics* **170**: 1209-1220.
- Ma, X. F., Fang, P. et Gustafson, J. P., 2004 Polyploidization-induced genome variation in triticale. *Genome* **47**: 839-848.
- Madlung, A. et Comai, L., 2004 The effect of stress on genome regulation and structure. *Annals Of Botany* **94**: 481-495.
- Madlung, A., Masuelli, R. W., Watson, B., Reynolds, S. H., Davison, J. *et al.*, 2002 Remodeling of DNA Methylation and Phenotypic and Transcriptional Changes in Synthetic Arabidopsis Allotetraploids. *Plant Physiol.* **129**: 733-746.
- Madlung, A., Tyagi, A. P., Watson, B., Jiang, H., Kagechi, T. *et al.*, 2005 Genomic changes in synthetic Arabidopsis polyploids. *The Plant Journal* **41**: 221-230.
- Maestra, B., Hans de Jong, J., Shepherd, K. et Naranjo, T., 2002 Chromosome arrangement and behaviour of two rye homologous telosomes at the onset of meiosis in disomic wheat-5RL addition lines with and without the Ph1 locus. *Chromosome Res* **10**: 655-667.
- Maguire Marjorie, P., 1978 Evidence for separate genetic control of crossing over and chiasma maintenance in maize. *Chromosoma* **65**: 173-183.
- Martinez-Perez, E., Shaw, P., Aragon-Alcaide, L. et Moore, G., 2003 Chromosomes form into seven groups in hexaploid and tetraploid wheat as a prelude to meiosis. *The Plant Journal* **36**: 21-29.
- Martinez-Perez, E., Shaw, P. et Moore, G., 2001 The Ph1 locus is needed to ensure specific somatic and meiotic centromere association. *Nature* **411**: 204-207.
- Martinez-Perez, E., Shaw, P., Reader, S., Aragon-Alcaide, L., Miller, T. *et al.*, 1999 Homologous chromosome pairing in wheat. *J Cell Sci* **112**: 1761-1769.
- Martinez, M., Cuadrado, C., Laurie, D. A. et Romero, C., 2005 Synaptic behaviour of hexaploid wheat haploids with different effectiveness of the diploidizing mechanism. *Cytogenetic and Genome Research* **109**: 210-214.
- Martinez, M., Cuñado, N., Carcelén, N. et Romero, C., 2001 The Ph1 and Ph2 loci play different roles in the synaptic behaviour of hexaploid wheat *Triticum aestivum*. *TAG Theoretical and Applied Genetics* **103**: 398-405.
- Martini, E., Diaz, R. L., Hunter, N. et Keeney, S., 2006 Crossover homeostasis in yeast meiosis. *Cell* **126**: 285-295.
- Masterson, J., 1994 Stomatal size in fossil plants - Evidence for polyploidy in majority of angiosperms. *Science* **264**: 421-424.
- Mattei, M., Mattei, J., S, A. et Giraud, F., 1979 Dicentric Robertsonian translocations in man. *Hum Genet* **54**: 265-267.
- McEachern, M. J. et Haber, J. E., 2006 Break-Induced Replication and recombinational telomere elongation in yeast. *Annual Review of Biochemistry* **75**: 111-135.
- Meagher, T. R. et Vassiliadis, C., 2005 Phenotypic impacts of repetitive DNA in flowering plants. *New Phytologist* **168**: 71-80.
- Mello-Sampayo, T., 1968 Homoeologous chromosome pairing in pentaploid hybrids of wheat. *Proc 3rd Int Wheat Genet Symp*: 179-195.
- Mello-Sampayo, T. et Cannas, A., 1973 Suppressors of meiotic chromosome pairing in common wheat. *Proc 4th Int Wheat Genet Symp*: 709-713.
- Menzel, M. Y., Hasenkampf, C. A., Dougherty, B. J., Richmond, K. L. et Campbell, L. B., 1986 Characteristics of duplications and deficiencies from chromosome translocations in *Gossypium hirsutum*. *J Hered* **77**: 189-201.
- Mercier, R., 2001 La méiose chez *Arabidopsis thaliana*: caractérisation du gène SWI1, requis pour la mise en place de la cohésion entre les chromatides soeurs. Thèse. Université Paris XI
- Mezard, C., Vignard, J., Drouaud, J. et Mercier, R., 2007 The road to crossovers: plants have their say. *Trends Genet* **23**: 91-99.
- Mikhailova, E., I., Naranjo, T., Shepherd, K., Eden, J. W.-v., Heyting, C. *et al.*, 1998 The effect of the wheat Ph1 locus on chromatin organisation and meiotic chromosome pairing analysed by genome painting. *Chromosoma* **107**: 339-350.
- Moens P. B. and Pearlman R. E., 1988 Chromatin organization at meiosis. *BioEssays* **9**: 151-153
- Moens, P. B., Chen, D. J., Shen, Z., Kolas, N., Tarsounas, M. *et al.*, 1997 Rad51 immunocytology in rat and mouse spermatocytes and oocytes. *Chromosoma* **106**: 207-215.
- Montgomery, E. A., Huang, S. M., Langley, C. H. et Judd, B. H., 1991 Chromosome Rearrangement by Ectopic Recombination in *Drosophila melanogaster*: Genome Structure and Evolution. *Genetics* **129**: 1085-1098.
- Moore, G., 2000 Cereal Chromosome Structure, Evolution and Pairing. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* **51**: 195-222.
- Moore, R. C. et Purugganan, M. D., 2005 The evolutionary dynamics of plant duplicate genes. *Curr Opin Plant Biol* **8**: 122-128.
- Moore, G., Devos, K. M., Wang, Z. et Gale, M. D., 1995 Cereal Genome Evolution: Grasses, line up and form a circle. *Current Biology* **5**: 737-739.
- Morinaga, T. et Fukushima, E., 1933 Karyological studies on a spontaneous haploid mutant of *Brassica napella*. *Cytologia* **4**: 457-460.
- Mosig, G., 1987 The essential role of recombination in phage T4 growth. *Annu Rev Genet* **21**: 347-371.

- Muller, H., 1916 The Mechanism of Crossing-Over. *American Naturalist* **50**: 193-221.
- Murphy, W. J., Larkin, D. M., der Wind, A. E.-v., Bourque, G., Tesler, G. *et al.*, 2005 Dynamics of Mammalian Chromosome Evolution Inferred from Multispecies Comparative Maps. *Science* **309**: 613-617.
- Narcy, P., Camilleri, C., Courtial, B., Caboche, M. et Bouchez, D., 1998 Major Chromosomal Rearrangements Induced by T-DNA Transformation in *Arabidopsis*. *Genetics* **149**: 641-650.
- Nag, D. K. et Petes, T. D., 1990 Meiotic recombination between dispersed repeated genes is associated with heteroduplex formation. *Mol. Cell. Biol.* **10**: 4420-4423.
- Nairz, K. et Klein, F., 1997 mre11S--a yeast mutation that blocks double-strand-break processing and permits nonhomologous synapsis in meiosis. *Genes Dev* **11**: 2272-2290.
- Namaï, H., 1987 Inducing cytogenetical alterations by means of interspecific and intergeneric hybridization in brassica crops. *Gamma Field Symposia* **26**.
- Naranjo, T. et Corredor, E., 2004 Clustering of centromeres precedes bivalent chromosome pairing of polyploid wheats. *Trends in Plant Science* **9**: 214-217.
- Naranjo, T., Fernández-Rueda, P. et Maestra, B., 1997 Chromosome rearrangements and homoeologous pairing: Implications for introgressions of alien genes into wheat. *Current topic in plant cytogenetics related to plant improvement*: 192-205.
- Naranjo, T. et Fernández-Rueda, P., 1991 Homoeology of rye chromosome arms to wheat. *Theoretical and Applied Genetics* **82**: 577-586.
- Naranjo, T. et Fernández-Rueda, P., 1996 Pairing and recombination between individual chromosomes of wheat and rye in hybrids carrying the ph1b mutation. *Theoretical and Applied Genetics* **93**: 242-248.
- Navarro, A. et Barton, N. H., 2003 Accumulating postzygotic isolation genes in parapatry: a new twist on chromosomal speciation. *Evolution Int J Org Evolution* **57**: 447-459.
- Niebuhr, E., 1972 Dicentric and monocentric Robertsonian translocations in man. *Humangenetik* **16**: 217-226.
- Niwa, O., Shimanuki, M. et Miki, F., 2000 Telomere-led bouquet formation facilitates homologous chromosome pairing and restricts ectopic interaction in fission yeast meiosis. *Embo J* **19**: 3831-3840.
- Noor, M. A. F., Grams, K. L., Bertucci, L. A. et Reiland, J., 2001 Chromosomal inversions and the reproductive isolation of species. *PNAS* **98**: 12084-12088.
- O'Neill, C. M. et Bancroft, I., 2000 Comparative physical mapping of segments of the genome of *Brassica oleracea* var. *alboglabra* that are homoeologous to sequenced regions of chromosomes 4 and 5 of *Arabidopsis thaliana*. *Plant Journal* **23**: 233-243.
- Olsson, G. et Hagberg, A., 1955 Investigations on haploid rape. *Hereditas*: 227-237.
- Opperman, R., Emmanuel, E. et Levy, A. A., 2004 The Effect of Sequence Divergence on Recombination Between Direct Repeats in *Arabidopsis*. *Genetics* **168**: 2207-2215.
- Orellana, J., 1985 Most of the Homoeologous pairing at Metaphase I in Wheat-Rye hybrids is not chiasmatic. *Genetics* **111**: 917-931.
- Orr, H. A., 1990 Why polyploidy is rarer in animals than in plants revisited. *American Naturalist*.
- Osborn, T. C., Butrulle, D. V., Sharpe, A. G., Pickering, K. J., Parkin, I. A. P. *et al.*, 2003 Detection and Effects of a Homeologous Reciprocal Transposition in *Brassica napus*. *Genetics* **165**: 1569-1577.
- Otto, S. P. et Barton, N. H., 2001 Selection for recombination in small populations. *Evolution Int J Org Evolution* **55**: 1921-1931.
- Otto, S. P. et Whitton, J., 2000 Polyploid incidence and evolution. *Annual Review Of Genetics* **34**: 401-437.
- Ozkan, H. et Feldman, M., 2001 Genotypic variation in tetraploid wheat affecting homoeologous pairing in hybrids with *Aegilops peregrina*. *Genome* **44**: 1000-1006.
- Ozkan, H., Levy, A. A. et Feldman, M., 2001 Allopolyploidy-Induced Rapid Genome Evolution in the Wheat (*Aegilops-Triticum*) Group. *Plant Cell* **13**: 1735-1747.
- Ozkan, H., Levy, A. A. et Feldman, M., 2002 Rapid differentiation of homeologous chromosomes in newly-formed allopolyploid wheat. *Israel Journal Of Plant Sciences* **50**: S65-S76.
- Ozkan, H., Tuna, M. et Arumuganathan, K., 2003 Nonadditive changes in genome size during allopolyploidization in the wheat (*Aegilops-Triticum*) group. *Journal Of Heredity* **94**: 260-264.
- Panopoulou, G. et Poustka, A. J., 2005 Timing and mechanism of ancient vertebrate genome duplications - the adventure of a hypothesis. *Trends in Genetics* **21**: 559-567.
- Paques, F. et Haber, J. E., 1999 Multiple Pathways of Recombination Induced by Double-Strand Breaks in *Saccharomyces cerevisiae*. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* **63**: 349-404.
- Parquet, A., Inbar, O. et Kupiec, M., 1995 Recombination of Ty elements in yeast can be induced by a double-strand break. *Genetics* **140**: 67-77.
- Parker, J. S., 1975 Chromosome-specific control of chiasma formation. *Chromosoma* **49**: 391-406.
- Parker, J. S., Palmer, R. W., Whitehorn, M. A. F. et Edgar, L. A., 1982 Chiasma frequency effects of structural chromosome change. *Chromosoma* **85**: 673-686.
- Parkin, I. A. P., Gulden, S. M., Sharpe, A. G., Lukens, L., Trick, M. *et al.*, 2005 Segmental structure of the *Brassica napus* genome based on comparative analysis with *Arabidopsis thaliana*. *Genetics* **171**: 765-781.

- Parkin, I. A. P., Sharpe, A. G., Keith, D. J. et Lydiate, D. J., 1995 Identification of the A and C genomes of amphidiploid *Brassica napus* (oilseed rape). *Genome* **38**: 1122-1131.
- Parkin, I. A. P., Sharpe, A. G. et Lydiate, D. J., 2003 Patterns of genome duplication within the *Brassica napus* genome. *Genome* **46**: 291-303.
- Pastwa, E. et Blasiak, J., 2003 Non-homologous DNA end joining. *Acta Biochim Pol* **50**: 891-908.
- Paterson, A. H., Bowers, J. E. et Chapman, B. A., 2004 Ancient polyploidization predating divergence of the cereals, and its consequences for comparative genomics. *PNAS* **101**: 9903-9908.
- Patterson, T. B. et Givnish, T. J., 2004 Geographic cohesion, chromosomal evolution, parallel adaptive radiations, and consequent floral adaptations in *Calochortus* (*Calochortaceae*): evidence from a cpDNA phylogeny. *New Phytologist* **161**: 253-264.
- Peoples-Holst, T. L. et Burgess, S. M., 2005 Multiple branches of the meiotic recombination pathway contribute independently to homolog pairing and stable juxtaposition during meiosis in budding yeast. *Genes Dev.* **19**: 863-874.
- Perry, J., Slater, H. R. et Choo, K. H. A., 2004 Centric fission - simple and complex mechanisms. *Chromosome Research* **12**: 627-640.
- Pfeiffer, P., 1998 The mutagenic potential of DNA double-strand break repair. *Toxicol Lett* **96-97**: 119-129.
- Piquemal, J., Cinquin, E., Couton, F., Rondeau, C., Seignoret, E. *et al.*, 2005 Construction of an oilseed rape (*Brassica napus* L.) genetic map with SSR markers. *Theoretical And Applied Genetics* **111**: 1514-1523.
- Pires, J. C., Lim, K. Y., Kovarik, A., Matyasek, R., Boyd, A. *et al.*, 2004a Molecular cytogenetic analysis of recently evolved *Tragopogon* (*Asteraceae*) allopolyploids reveal a karyotype that is additive of the diploid progenitors. *Am. J. Bot.* **91**: 1022-1035.
- Pires, J. C., Zhao, J., Schranz, M. E., Leon, E. J., Quijada, P. A. *et al.*, 2004b Flowering time divergence and genomic rearrangements in resynthesized *Brassica* polyploids (*Brassicaceae*). *Biological Journal of the Linnean Society* **82**: 675-688.
- Pontes, O., Neves, N., Silva, M., Lewis, M. S., Madlung, A. *et al.*, 2004 Chromosomal locus rearrangements are a rapid response to formation of the allotetraploid *Arabidopsis suecica* genome. *PNAS* **101**: 18240-18245.
- Prakash, S. et Hinata, K., 1980 Taxonomy, cytogenetics, and origin of crop *Brassica*, a review. *Opera. Bot.* **55**: 1-59.
- Prieto, J. L., Pouilly, N., Jenczewski, E., Deragon, J. M. et Chevre, A. M., 2005a Development of crop-specific transposable element (SINE) markers for studying gene flow from oilseed rape to wild radish. *Theoretical And Applied Genetics* **111**: 446-455.
- Prieto, P., Moore, G. et Reader, S., 2005b Control of conformation changes associated with homologue recognition during meiosis. *Theor Appl Genet* **111**: 505-510.
- Prieto, P., Shaw, P. et Moore, G., 2004 Homologue recognition during meiosis is associated with a change in chromatin conformation. *Nat Cell Biol* **6**: 906-908.
- Puchta, H., 2005 The repair of double-strand breaks in plants: mechanisms and consequences for genome evolution. *Journal Of Experimental Botany* **56**: 1-14.
- Quillet, M. C., Madjidian, N., Griveau, Y., Serieys, H., Tersac, M. *et al.*, 1995 Mapping genetic factors controlling pollen viability in an interspecific cross in *Helianthus* sect. *Helianthus*. *TAG Theoretical and Applied Genetics* **91**: 1195-1202.
- Quiros, C. F., Truco, M. J. et Hu, J., 1995 Sequence comparison of two codominant RAPD markers in *Brassica nigra*: Deletions, substitutions and microsatellites. *Plant Cell Reports* **15**: 268-270.
- Ramsey, J. et Schemske, D. W., 1998 Pathways, Mechanisms, an Rates of polyploid formation in flowering plants. *Annual Review Of Ecology And Systematics* **29**: 467-501.
- Ramsey, J. et Schemske, D. W., 2002 Neopolyploidy in flowering plants. *Annual Review Of Ecology And Systematics* **33**: 589-639.
- Rana, D., Boogaart, T., O'Neill, C. M., Hynes, L., Bent, E. *et al.*, 2004 Conservation of the microstructure of genome segments in *Brassica napus* and its diploid relatives. *Plant Journal* **40**: 725-733.
- Rao, P. N. et Stokes, G. W., 1963 Cytogenetic analysis of the F1 of haploid x diploid. *Genetics* **48**: 1423-1433.
- Rapp, R. A. et Wendel, J. F., 2005 Epigenetics and plant evolution. *New Phytologist* **168**: 81-91.
- Redon, R., Ishikawa, S., Fitch, K. R., Feuk, L., Perry, G. H. *et al.*, 2006 Global variation in copy number in the human genome. *Nature* **444**: 444.
- Renard, M. et Dosba, F., 1980 Etude de l'haploidie chez le colza (*Brassica napus* L. var *oleifera* Metzger). *Annale Amélioration des Plantes*: 191-209.
- Renauld, H. et Gasser, S. M., 1997 Heterochromatin: a meiotic matchmaker? *Trends in Cell Biology* **7**: 201-205.
- Richards, R. I., Holman, K., Yu, S. et Sutherland, G. R., 1993 Fragile X syndrome unstable element, p(CCG)_n, and other simple tandem repeat sequences are binding sites for specific nuclear proteins. *Hum Mol Genet* **2**: 1429-1435.
- Riddle, N. C. et Birchler, J. A., 2003 Effects of reunited diverged regulatory hierarchies in allopolyploids and species hybrids. *Trends In Genetics* **19**: 597-600.
- Rieseberg, L. H., 1997 Hybrid origins of plant species. *Annual Review Of Ecology And Systematics* **28**: 359-389.
- Rieseberg, L. H., 2001 Chromosomal rearrangements and speciation. *Trends in Ecology & Evolution* **16**: 351-358.

- Rieseberg, L. H., Arias, D. M., Ungerer, M. C., Linder, C. R. et Sinervo, B., 1996 The effects of mating design on introgression between chromosomally divergent sunflower species. *Theoretical And Applied Genetics* **93**: 633-644.
- Rieseberg, L. H. et Carney, S. E., 1998 Plant hybridization. *New Phytologist* **140**: 599-624.
- Rieseberg, L. H., Linder, C. R. et Seiler, G. J., 1995 Chromosomal And Genic Barriers To Introgression In *Helianthus*. *Genetics* **141**: 1163-1171.
- Rieseberg, L. H., Raymond, O., Rosenthal, D. M., Lai, Z., Livingstone, K. *et al.*, 2003 Major Ecological Transitions in Wild Sunflowers Facilitated by Hybridization. *Science* **301**: 1211-1216.
- Rieseberg, L. H., Whitton, J. et Gardner, K., 1999 Hybrid zones and the genetic architecture of a barrier to gene flow between two sunflower species. *Genetics* **152**: 713-727.
- Rieseberg, L. H. et Ellstrand, N. C., 1993 What can molecular and morphological markers tell us about plant hybridization? *Critical Reviews In Plant Sciences* **3**: 213-241.
- Riley, R., Chapman, V. et Kimber, G., 1959 Genetic control of chromosome pairing in intergeneric hybrids with wheat. *Nature* **183**: 1244-1246.
- Riley, R. et Chapman, V., 1958 Genetic control of the cytologically diploid behaviour of hexaploid wheat. *Nature* **182**: 713-715.
- Robertson, K. D. et Jones, P. A., 1997 Dynamic interrelationships between DNA replication, methylation, and repair. *Am J Hum Genet* **61**: 1220-1224.
- Rockmill, B. et Roeder, G. S., 1998 Telomere-mediated chromosome pairing during meiosis in budding yeast. *Genes Dev.* **12**: 2574-2586.
- Rosenthal, D. M., Rieseberg, L. H. et Donovan, L. A., 2005 Re-creating ancient hybrid species' complex phenotypes from early-generation synthetic hybrids: Three examples using wild sunflowers. *American Naturalist* **166**: 26-41.
- Ross-Ibarra, J., 2004 The evolution of recombination under domestication: a test of two hypotheses. *Am Nat* **163**: 105-112.
- Ross-Macdonald, P. et Roeder, G. S., 1994 Mutation of a meiosis-specific MutS homolog decreases crossing over but not mismatch correction. *Cell* **79**: 1069-1080.
- Salina, E. A., Numerova, O. M., Ozkan, H. et Feldman, M., 2004 Alterations in subtelomeric tandem repeats during early stages of allopolyploidy in wheat. *Genome* **47**: 860-867.
- Salmon, A., Ainouche, M. L. et Wendel, J. F., 2005 Genetic and epigenetic consequences of recent hybridization and polyploidy in *Spartina* (Poaceae). *Molecular Ecology* **14**: 1163-1175.
- Samatadze, T. E., Muravenko, O. V., Bolsheva, N. L., Amosova, A. V., Gostimsky, S. A. *et al.*, 2005 Investigation of Chromosomes in Varieties and Translocation Lines of Pea *Pisum sativum* L. by FISH, Ag-NOR, and Differential DAPI Staining. *Russian Journal of Genetics* **41**: 1381-1388.
- Sanchez-Moran, E., Armstrong, S. J., Santos, J. L., Franklin, F. C. et Jones, G. H., 2002 Variation in chiasma frequency among eight accessions of *Arabidopsis thaliana*. *Genetics* **162**: 1415-1422.
- Sanchez-Moran, E., Benavente, E. et Orellana, J., 2001 Analysis of karyotypic stability of homoeologous-pairing (ph) mutants in allopolyploid wheats. *Chromosoma* **110**: 371-377.
- SanMiguel, P., Tikhonov, A., Jin, Y. K., Motchoulskaia, N., Zakharov, D. *et al.*, 1996 Nested retrotransposons in the intergenic regions of the maize genome. *Science* **274**: 765-768.
- Scannell, D. R., Byrne, K. P., Gordon, J. L., Wong, S. et Wolfe, K. H., 2006 Multiple rounds of speciation associated with reciprocal gene loss in polyploid yeasts. *Nature* **440**: 341-345.
- Schaeffer, S. W., Goetting-Minesky, M. P., Kovacevic, M., Peoples, J. R., Graybill, J. L. *et al.*, 2003 Evolutionary genomics of inversions in *Drosophila pseudoobscura*: Evidence for epistasis. *Proceedings Of The National Academy Of Sciences Of The United States Of America* **100**: 8319-8324.
- Schemske, D. W., 2000 Understand the origin of species. *Evolution* **54**: 1069-1073.
- Scherthan, H., 2007 Telomere attachment and clustering during meiosis. *Cell Mol Life Sci* **64**: 117-124.
- Schlecht, H. B., Lichten, M. et Goldman, A. S. H., 2004 Compartmentalization of the Yeast Meiotic Nucleus Revealed by Analysis of Ectopic Recombination. *Genetics* **168**: 1189-1203.
- Schluter, D., 2001 Ecology and the origin of species. *Trends in Ecology & Evolution* **16**: 372-380.
- Schranz, M. E., Lysak, M. A. et Mitchell-Olds, T., 2006 The ABC's of comparative genomics in the Brassicaceae: building blocks of crucifer genomes. *Trends in Plant Science* **11**: 535-542.
- Schranz, M. E. et Osborn, T. C., 2004 De novo variation in life-history traits and responses to growth conditions of resynthesized polyploid *Brassica napus* (Brassicaceae). *American Journal Of Botany* **91**: 174-183.
- Schuermann, D., Molinier, J., Fritsch, O. et Hohn, B., 2005 The dual nature of homologous recombination in plants. *Trends Genet* **21**: 172-181.
- Schwarzacher, T., 2003 Meiosis, recombination and chromosomes: a review of gene isolation and fluorescent in situ hybridization data in plants. *J. Exp. Bot.* **54**: 11-23.
- Sears, E. et Okamoto, M., 1958 Intergenic chromosome relationships in hexaploid wheat. *Proc 10th Int Congr Genet*: 258-259.
- Sears, E. R., 1939 Cytogenetic studies with polyploid species of wheat. I. Chromosomal aberrations in the progeny of haploid *triticum vulgare*. *Genetics* **24**: 509-523.

- Sears, E. R., 1950 Misdivision of univalents in common wheat. *Chromosoma* **4**: 535.
- Sears, E. R., 1954 The aneuploids of common wheat. *Research Bulletin* **572**: 1-58.
- Sears, E. R., 1976 Genetic control of chromosome pairing in wheat. *Annu Rev Genet* **10**: 31-51.
- Seoighe, C. et Wolfe, K. H., 1999 Updated map of duplicated regions in the yeast genome. *Gene* **238**: 253-261.
- Seyis, F., Snowdon, R. J., Luhs, W. et Friedt, W., 2003 Molecular characterization of novel resynthesized rapeseed (*Brassica napus*) lines and analysis of their genetic diversity in comparison with spring rapeseed cultivars. *Plant Breeding* **122**: 473-478.
- Shaffer, L. G. et Lupski, J. R., 2000 Molecular mechanisms for constitutional chromosomal rearrangements in humans. *Annual Review Of Genetics* **34**: 297-329.
- Shaked, H., Kashkush, K., Ozkan, H., Feldman, M. et Levy, A. A., 2001 Sequence Elimination and Cytosine Methylation Are Rapid and Reproducible Responses of the Genome to Wide Hybridization and Allopolyploidy in Wheat. *Plant Cell* **13**: 1749-1759.
- Sharp, A. J., Locke, D. P., McGrath, S. D., Cheng, Z., Bailey, J. A. *et al.*, 2005 Segmental duplications and copy-number variation in the human genome. *Am J Hum Genet* **77**: 78-88.
- Sharpe, A. G., Parkin, I. A. P., Keith, D. J. et Lydiate, D. J., 1995 Frequent nonreciprocal translocations in the amphidiploid genome of oilseed rape (*Brassica napus*). *Genome* **38**: 1112-1121.
- Shen, P. et Huang, H. V., 1986 Homologous recombination in *Escherichia Coli*: Dependence on substrate length and homology. *Genetics* **112**: 441-457.
- Sherman, J. D. et Stack, S. M., 1995 Two-Dimensional Spreads of Synaptonemal Complexes from Solanaceous Plants. VI. High-Resolution Recombination Nodule Map for Tomato (*Lycopersicon esculentum*). *Genetics* **141**: 683-708.
- Singer, G. A., Lloyd, A. T., Huminiecki, L. B. et Wolfe, K. H., 2005 Clusters of co-expressed genes in mammalian genomes are conserved by natural selection. *Mol Biol Evol* **22**: 767-775.
- Sites, J. W. et Moritz, C., 1987 Chromosomal and speciation revisited. *Syst. Zool.* **19**: 254-271.
- Skalicka, K., Lim, K. Y., Matyasek, R., Matzke, M., Leitch, A. R. *et al.*, 2005 Preferential elimination of repeated DNA sequences from the paternal, *Nicotiana tomentosiformis* genome donor of a synthetic, allotetraploid tobacco. *New Phytologist* **166**: 291-303.
- Smithies, O. et Powers, P. A., 1986 Gene conversions and their relation to homologous chromosome pairing. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* **312**: 291-302.
- Snowdon, R. J., Köhler, W., Friedt, W. et Köhler, A., 1997 Genomic in situ hybridization in *Brassica* amphidiploids and interspecific hybrids. *TAG Theoretical and Applied Genetics* **95**: 1320-1324.
- Soltis, D. E. et Soltis, P. S., 1993 Molecular-Data And The Dynamic Nature Of Polyploidy. *Critical Reviews In Plant Sciences* **12**: 243-273.
- Soltis, D. E. et Soltis, P. S., 1995 The Dynamic Nature Of Polyploid Genomes. *Proceedings Of The National Academy Of Sciences Of The United States Of America* **92**: 8089-8091.
- Soltis, D. E., Soltis, P. S., Pires, J. C., Kovarik, A., Tate, J. A. *et al.*, 2004a Recent and recurrent polyploidy in *Tragopogon* (*Asteraceae*): cytogenetic, genomic and genetic comparisons. *Biological Journal Of The Linnean Society* **82**: 485-501.
- Soltis, D. E., Soltis, P. S. et Tate, J. A., 2004b Advances in the study of polyploidy since Plant speciation. *New Phytologist* **161**: 173.
- Soltis, P. S., 2005 Ancient and recent polyploidy in angiosperms. *New Phytologist* **166**: 5-8.
- Song, K. et Osborn, T. C., 1992 Polyphyletic origins of *Brassica napus*: new evidence based on organelle and nuclear RFLP analyses. *Genome* **35**: 992-1001.
- Song, K., Tang, K. et Osborn, T. C., 1993 Development of synthetic *Brassica* amphidiploids by reciprocal hybridization and comparison to natural amphidiploids. *TAG Theoretical and Applied Genetics* **86**: 811-821.
- Song, K., Lu, P., Tang, K. et Osborn, T. C., 1995 Rapid Genome Change in Synthetic Polyploids of *Brassica* and Its Implications for Polyploid Evolution. *PNAS* **92**: 7719-7723.
- Stack, S. M. et Anderson, L. K., 2002 Crossing over as assessed by late recombination nodules is related to the pattern of synapsis and the distribution of early recombination nodules in maize. *Chromosome Res* **10**: 329-345.
- Stankiewicz, P. et Lupski, J. R., 2002 Genome architecture, rearrangements and genomic disorders. *Trends Genet* **18**: 74-82.
- Stebbins, G. L., 1971 *Chromosomal Evolution in Higher Plants*. Addison-Wesley, Reading, MA.
- Stebbins, G. L. et Vaarama, A., 1954 Artificial and natural hybrids in the gramineae tribe *Hordeae*. VII. Hybrids and allopolyploids between *Elymus Glaucus* and *Sitanion* spp.. *Genetics* **39**: 378-395.
- Storey, J. D. et Tibshirani, R., 2003 Statistical significance for genomewide studies. *Proc Nat Acad Sci USA* **100**: 9440 - 9445.
- Stringham, G. R. et Downey, R. K., 1973 Haploid frequencies in *Brassica napus*. *Canadian Journal of Plant Science* **53**: 229-231.
- Sturvetant, A. H., 1917 Genetic factors affecting the strength of linkage in *Drosophila*. *Proc. Nat. Aca. Sci* **3**: 555-558.
- Sun, H., Treco, D., Schultes, N. P. et Szostak, J. W., 1989 Double-strand breaks at an initiation site for meiotic gene conversion. *Nature* **338**: 87-90.

- Sybenga, J., 1975 *Meiotic Configurations*. Springer-Verlag, Berlin.
- Sybenga, J., 1996 Chromosome pairing affinity and quadrivalent formation in polyploids: Do segmental allopolyploids exist? *Genome* **39**: 1176-1184.
- Sybenga, J., 1999 What makes homologous chromosomes find each other in meiosis? A review and an hypothesis. *Chromosoma* **108**: 209-219.
- Szostak, J. W., Orr-Weaver, T. L., Rothstein, R. J. et Stahl, F. W., 1983 The double-strand-break repair model for recombination. *Cell* **33**: 25-35.
- Tai, W. et Ikonen, H., 1988 Incomplete bivalent pairing in dihaploids of *Brassica napus* L. *Genome* **30**: 450-457.
- Tamura, K., Adachi, Y., Chiba, K., Oguchi, K. et Takahashi, H., 2002 Identification of Ku70 and Ku80 homologues in *Arabidopsis thaliana*: evidence for a role in the repair of DNA double-strand breaks. *The Plant Journal* **29**: 771-781.
- Tanksley, S. D., Bernatzky, R., Lapitan, N. L. et Prince, J. P., 1988 Conservation of Gene Repertoire but not Gene Order in Pepper and Tomato. *PNAS* **85**: 6419-6423.
- Tate, J. A., Ni, Z., Scheen, A.-C., Koh, J., Gilbert, C. A. *et al.*, 2006 Evolution and Expression of Homeologous Loci in *Tragopogon miscellus* (Asteraceae), a Recent and Reciprocally Formed Allopolyploid. *Genetics* **173**: 1599-1611.
- Tavoletti, S., Mariani, A. et Veronesi, F., 1991 Phenotypic recurrent selection for 2n pollen and 2n egg production in diploid alfalfa. *Euphytica* **57**: 97-102.
- Taylor, J. S., Van de Peer, Y. et Meyer, A., 2001 Genome duplication, divergent resolution and speciation. *Trends In Genetics* **17**: 299-301.
- Taylor, I. B. et Evans, G. M., 1976 The effect of B chromosomes on homeologous pairing in species hybrids. *Chromosoma* **57**: 25-32.
- Tease, C. et Jones, G. H., 1976 Chromosome-specific control of chiasma formation in *Crepis capillaris*. *Chromosoma* **57**: 33-49.
- Templeton, A. R., 1981 Mechanisms of speciation – a population genetic approach. *Annu. Rev. Ecol. Syst.* **12**: 23–48.
- Tesse, S., Storlazzi, A., Kleckner, N., Gargano, S. et Zickler, D., 2003 Localization and roles of Ski8p protein in *Sordaria* meiosis and delineation of three mechanistically distinct steps of meiotic homolog juxtaposition. *PNAS* **100**: 12865-12870.
- Thomas, B. C., Pedersen, B. et Freeling, M., 2006 Following tetraploidy in an *Arabidopsis* ancestor, genes were removed preferentially from one homeolog leaving clusters enriched in dose-sensitive genes. *Genome Res.* **16**: 934-946.
- Thompson, K. F., 1969 Frequencies of haploids in spring oilseed rape (*Brassica napus*). *Heredity* **24**: 318-319.
- Tikhonov, A. P., SanMiguel, P. J., Nakajima, Y., Gorenstein, N. M., Bennetzen, J. L. *et al.*, 1999 Colinearity and its exceptions in orthologous adh regions of maize and sorghum. *PNAS* **96**: 7409-7414.
- Town, C. D., Cheung, F., Maiti, R., Crabtree, J., Haas, B. J. *et al.*, 2006 Comparative Genomics of *Brassica oleracea* and *Arabidopsis thaliana* Reveal Gene Loss, Fragmentation, and Dispersal after Polyploidy. *Plant Cell* **18**:1348-1359
- Trelles-Sticken, E., Dresser, M. E. et Scherthan, H., 2000 Meiotic Telomere Protein Ndj1p Is Required for Meiosis-specific Telomere Distribution, Bouquet Formation and Efficient Homologue Pairing. *J. Cell Biol.* **151**: 95-106.
- Truco, M. J., Hu, J., Sadowski, J. et Quiros, C. F., 1996 Inter- and intra-genomic homology of the *Brassica* genomes: Implications for their origin and evolution. *Theoretical And Applied Genetics* **93**: 1225-1233.
- Tsubouchi, H. et Ogawa, H., 1998 A novel mre11 mutation impairs processing of double-strand breaks of DNA during both mitosis and meiosis. *Mol Cell Biol* **18**: 260-268.
- Tsubouchi, T. et Roeder, G. S., 2005 A Synaptonemal Complex Protein Promotes Homology-Independent Centromere Coupling. *Science* **308**: 870-873.
- U, N., 1935 Genomic analysis in *Brassica* with special reference to the experimental formation of *B. napus* and peculiar mode of fertilization. *Japanese Journal of Botanic* **7**: 389-452.
- Udall, J. A., Quijada, P. A. et Osborn, T. C., 2005 Detection of Chromosomal Rearrangements Derived From Homeologous Recombination in Four Mapping Populations of *Brassica napus* L. *Genetics* **169**: 967-979.
- Ungerer, M. C. et Rieseberg, L. H., 2003 Genetic architecture of a selection response in *Arabidopsis thaliana*. *Evolution* **57**: 2531-2539.
- Ungerer, M. C., Strakosh, S. C. et Zhen, Y., 2006 Genome expansion in three hybrid sunflower species is associated with retrotransposon proliferation. *Current Biology* **16**: R872-R873.
- Vega, J. M. et Feldman, M., 1998 Effect of the Pairing Gene Ph1 on Centromere Misdivision in Common Wheat. *Genetics* **148**: 1285-1294.
- Veilleux, R. E., 1985 Diploid and polyploid gametes in crop plants: mechanisms of formation and utilization in plant breeding. *Plant Breeding Review*: 253-288.
- Veitia, R. A., 2003 Nonlinear effects in macromolecular assembly and dosage sensitivity. *Journal Of Theoretical Biology* **220**: 19-25.
- Veitia, R. A., 2004 Gene Dosage Balance in Cellular Pathways: Implications for Dominance and Gene Duplicability. *Genetics* **168**: 569-574.
- Veitia, R. A., 2005 Paralogs in Polyploids: One for All and All for One? *Plant Cell* **17**: 4-11

- Vilenchik, M. M. et Knudson, A. G., 2003 Endogenous DNA double-strand breaks: production, fidelity of repair, and induction of cancer. *Proc Natl Acad Sci U S A* **100**: 12871-12876.
- Villeneuve, A. M. et Hillers, K. J., 2001 Whence Meiosis? *Cell* **106**: 647-650.
- Virgin, J. B. et Bailey, J. P., 1998a The M26 hotspot of *Schizosaccharomyces pombe* stimulates meiotic ectopic recombination and chromosomal rearrangements. *Genetics* **149**: 1191-1204.
- Vision, T. J., 2005 Gene order in plants: a slow but sure shuffle. *New Phytologist* **168**: 51-60.
- Volff, J. N., 2005 Genome evolution and biodiversity in teleost fish. *Heredity* **94**: 280-294.
- Vulic, M., Dionisio, F., Taddei, F. et Radman, M., 1997 Molecular keys to speciation: DNA polymorphism and the control of genetic exchange in enterobacteria. *PNAS* **94**: 9763-9767.
- Wall, A., Riley, R. et Chapman, V., 1971 Wheat mutants permitting homoeologous meiotic chromosome pairing. *Genet Res* **18**: 311-328.
- Walsh, J. B., 1982 Rate of Accumulation of Reproductive Isolation by Chromosome Rearrangements. *Am. Nat.* **120**: 510-532.
- Wang, J., Tian, L., Lee, H.-S., Wei, N. E., Jiang, H. *et al.*, 2006 Genomewide Nonadditive Gene Regulation in *Arabidopsis* Allotetraploids. *Genetics* **172**: 507-517.
- Wang, J., Tian, L., Madlung, A., Lee, H.-S., Chen, M. *et al.*, 2004 Stochastic and Epigenetic Changes of Gene Expression in *Arabidopsis* Polyploids. *Genetics* **167**: 1961-1973.
- Wendel, J. F., 2000 Genome evolution in polyploids. *Plant Molecular Biology* **42**: 225-249.
- Wendel, J. F., Schnabel, A. et Seelanan, T., 1995 An unusual ribosomal DNA sequence from *Gossypium gossypoides* reveals ancient, cryptic, intergenomic introgression. *Mol Phylogenet Evol* **4**: 298-313.
- White, M. J. D., 1978 Mode of speciation.
- Wienberg, J., 2004 The evolution of eutherian chromosomes. *Curr Opin Genet Dev* **14**: 657-666.
- Williams, C. G., Goodman, M. M. et Stuber, C. W., 1995 Comparative Recombination Distances Among Zea-Mays L - Inbreds, Wide Crosses And Interspecific Hybrids. *Genetics* **141**: 1573-1581.
- Williams, E. J. et Bowles, D. J., 2004 Coexpression of neighboring genes in the genome of *Arabidopsis thaliana*. *Genome Res* **14**: 1060-1067.
- Wolfe, K. H. et Shields, D. C., 1997 Molecular evidence for an ancient duplication of the entire yeast genome. *Nature* **387**: 708-713.
- Wolff, D. et Schwartz, S., 1992 Characterization of Robertsonian translocations by using fluorescence in situ hybridization. *Am J Hum Genet* **50**: 174-181.
- Wong, S., Butler, G. et Wolfe, K. H., 2002 Gene order evolution and paleopolyploidy in hemiascomycete yeasts. *PNAS* **99**: 9272-9277.
- Wu, T. C. et Lichten, M., 1995 Factors that affect the location and frequency of meiosis-induced double-strand breaks in *Saccharomyces cerevisiae*. *Genetics* **140**: 55-66.
- Yacobi, Y. Z., Mello-Sampayo, T. et Feldman, M., 1982 Genetic induction of bivalent interlocking in common wheat. *Chromosoma* **87**: 165.
- Yang, T.-J., Kim, J. S., Kwon, S.-J., Lim, K.-B., Choi, B.-S. *et al.*, 2006a Sequence-Level Analysis of the Diploidization Process in the Triplicated FLOWERING LOCUS C Region of *Brassica rapa*. *Plant Cell* **18**: 1339-1347.
- Yang, X., Timofejeva, L., Ma, H. et Makaroff, C. A., 2006b The *Arabidopsis* SKP1 homolog ASK1 controls meiotic chromosome remodeling and release of chromatin from the nuclear membrane and nucleolus. *J Cell Sci* **119**: 3754-3763.
- Zawadzki, P., Roberts, M. S. et Cohan, F. M., 1995 The Log-Linear Relationship Between Sexual Isolation and Sequence Divergence in *Bacillus* Transformation is Robust. *Genetics* **140**: 917-932.
- Zhang, L., Pickering, R. et Murray, B., 1999 Direct measurement of recombination frequency in interspecific hybrids between *Hordeum vulgare* and *H. bulbosum* using genomic in situ hybridization. *Heredity* **83**: 304-309.
- Zhang, L. Q., Liu, D. C., Yan, Z. H., Lan, X. J., Zheng, Y. L. *et al.*, 2004 Rapid changes of microsatellite flanking sequence in the allopolyploidization of new synthesized hexaploid wheat. *Science In China Series C-Life Sciences* **47**: 553-561.
- Zhang, P., Friebe, B., Lukaszewski, A. J. et Gill, B. S., 2001 The centromere structure in Robertsonian wheat-rye translocation chromosomes indicates that centric breakage-fusion can occur at different positions within the primary constriction. *Chromosoma* **110**: 335-344.
- Zhao, J. W., Udall, J. A., Quijada, P. A., Grau, C. R., Meng, J. L. *et al.*, 2006 Quantitative trait loci for resistance to *Sclerotinia sclerotiorum* and its association with a homeologous non-reciprocal transposition in *Brassica napus* L. *Theoretical And Applied Genetics* **112**: 509-516.
- Zhao, X.-p., Si, Y., Hanson, R. E., Crane, C. F., Price, H. J. *et al.*, 1998 Dispersed Repetitive DNA Has Spread to New Genomes Since Polyploid Formation in Cotton. *Genome Res.* **8**: 479-492.
- Zickler, D., 2006 From early homologue recognition to synaptonemal complex formation. *Chromosoma* **115**: 158-174.
- Zickler, D. et Kleckner, N., 1999 Meiotic chromosomes: integrating structure and function. *Annu Rev Genet* **33**: 603-754.

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Représentation schématique des relations de synténie au sein des céréales.....	7
Figure 2 : Reconstitution de l'évolution structurale du génome des Arabidopsis à partir de l'hybridation in situ de BAC physiquement ancré dans le génome d'Arabidopsis.....	8
Figure 3 : Comparaison des régions introgressées dans un hybride naturel et synthétique entre <i>H. annuus</i> et <i>H. petiolaris</i> soumis à des pressions de sélection identique.....	10
Figure 4 : Variation du taux des remaniements chromosomiques au cours de l'évolution des mammifères.....	12
Figure 5 : Evolution de la fréquence de remaniement génique au cours du temps et selon les phylums chez les levures.....	13
Figure 6 : Conservation de la synténie chez les levures.....	14
Figure 7 : Evolution de la fréquence des macroréarrangements au cours du temps et stabilité du génome au sein des phylums.....	14
Figure 8 : Conservation de l'ordre des gènes au sein de cluster en fonction des distances phylogénétiques selon que les gènes soient essentiels aux microorganismes (sa suppression est délétère) ou pas.....	15
Figure 9 : Différents types de remaniements.....	16
Figure 10 : Occurrence et datation des événements de polyploïdisation au cours de la diversification des angiospermes (cercles en bleu sur l'arbre phylogénétique).....	17
Figure 11 : Différentes voies de formation des polyploïdes.....	18
Figure 12 : Représentation schématique des deux voies de formation principales des gamètes non-réduit (possédant le même niveau de ploïdie que la plante mère) et des conséquences sur le contenu chromosomique des gamètes.....	19
Figure 13 : Origine simple (a) ou multiple (b) des espèces allopolyploïdes.....	20
Figure 14 : Origine des jeunes allotétraploïdes <i>Tragopogon</i>	20
Figure 15 : Les différents mécanismes moléculaires à l'origine des changements génétiques et épigénétiques.....	25
Figure 16 : Recombinaisons intergénomiques chez le tabac.....	27
Figure 17 : Taux de pertes et de duplications des gènes en fonction de la distance au centromère chez le blé.....	27
Figure 18 : Evolution du nombre de chromosomes par inversion paracentrique et translocation.....	28
Figure 19 : Cycle de polyploïdisation – diploïdisation.....	28
Figure 20 : Devenir des gènes dupliqués chez les espèces polyploïdes.....	29
Figure 21 : Divergence fonctionnelle et concertée de réseaux de gènes paralogues.....	29
Figure 22 : Evolution de la quantité d'ADN au cours des différentes étapes de la méiose.....	30
Figure 23 : Représentation schématique de la ségrégation des chromosomes en méiose.....	31
Figure 24 : Les différentes étapes de la méiose : le ballet chromosomique des chromosomes au cours des différentes étapes de la méiose pour une cellule ($2n=6$).....	31
Figure 25 : Chronologie des différentes étapes dans la formation des crossing-over et du complexe synaptonémal au cours de la prophase I avec les différents intermédiaires produits.....	32
Figure 26 : Représentation schématique du bivalent au pachytène. Les différentes protéines impliquées dans la réalisation du complexe synaptonémal (CS) et la cohésion des chromatides sœurs.....	32
Figure 27 : Représentation schématique des différentes étapes de la recombinaison et de la formation du complexe synaptonémal durant le prophase I méiose.....	32
Figure 28 : Sporogénèse et gamétogénèse chez <i>Arabidopsis thaliana</i>	33
Figure 29 : Modèle Double-Strand Break.....	34
Figure 30 : Représentation schématique des différents types de remaniements susceptibles d'être générés par des recombinaisons entre des séquences répétées dans le génome.....	37
Figure 31 : Les différents mécanismes de réparation des cassures doubles brins.....	38
Figure 32 : Associations non chiasmatisques des chromosomes en MI de méiose (end to end) chez des haploïdes de blé.....	42
Figure 33 : Associations non chiasmatisques des chromosomes en MI de méiose chez des hybrides interspécifiques issus du croisement de <i>Hordeum bulbosum</i> par <i>H. vulgare</i>	42
Figure 34 : Variation de la fréquence de la fréquence de recombinaison homologue et homéologue en fonction de l'éloignement physique du centromère chez le blé.....	43
Figure 35 : Effet de la structure du génome et du schéma de croisement sur la fréquence d'introgression (recombinaison).....	45
Figure 36 : Effet de la divergence des génomes exprimés en % sur le logarithme de la fréquence de recombinaison chez les entoréobactéries.....	45
Figure 37 : Effet des gènes contrôlant les mésappariements Mut et de la recombinase RecA sur la fréquence de recombinaison.....	46

Figure 38 : Relation entre le degré de divergence entre les espèces sur la fréquence de recombinaison chez <i>Lycopersicum</i>	46
Figure 39 : Caractérisation du Locus Ph1 chez le blé.....	49
Figure 40 : Proposition de modèle d'appariement via les centomères chez le blé.....	50
Figure 41 : Proposition de mécanisme d'action de <i>Ph1</i> chez le blé.....	51
Figure 42: Chromosome de blés en « interlocking ».....	52
Figure 43 : Evolution des Surfaces (histogramme) et de la production (courbe) de colza en France entre 1973 et 2005	54
Figure 44 : Le triangle de U.....	55
Figure 45 :Phylogénie des Brassicacées.....	55
Figure 46 : Triplification des segments chromosomiques au sein des Brassica révélée par hybridation <i>in situ</i> au moyen de BAC physiquement ancré dans <i>Arabidopsis</i>	56
Figure 47 : Cartographie comparée entre les groupes de liaison des génomes A et C mettant en évidence les relations d'homéologie.....	56
Figure 48 : Duplication intragénomique au sein du génome du colza.....	57
Figure 49 : Perte de gènes et temps de divergence entre les régions paralogues contenant les locus FLC (Flowering Locus C) chez <i>B. rapa</i> et la région orthologue sur <i>A. thaliana</i>	57
Figure 50 : Détection de translocations non-réciproques homéologues via la perte et duplication de marqueurs porté par les régions homéologues.....	58
Figure 51 : Distribution et quantification des événements de Translocations Non-Réciproques Homéologues <i>de novo</i> générés au cours de la méiose de 4 génotypes différents de colza (3 colzas naturels et un synthétiques SYN).....	59
Figure 52 :Variation de la précocité de floraison en fonction de la ségrégation dans la descendance d'une translocation non réciproque homéologue de <i>B. rapa</i> dans <i>B. oleracea</i> contenant des gènes de précocité de floraison respectivement de <i>B. rapa</i> (transloquée) ou <i>B. oleracea</i> (non transloquée).....	59
Figure 53 : Distribution du nombre d'univalents dans les haploïdes issus d'une F1 entre deux variétés contrastées pour le nombre d'univalents en MI de méiose : <i>Darmor-bzh</i> (faible nombre d'univalents) et <i>Yudal</i> (nombre élevé d'univalents).....	60
Figure 54 : Architecture du contrôle génétique de la fréquence d'univalents en métaphase I de méiose chez les haploïdes de colza.....	60
Figure 55 : Haploïdes de colza en métaphase I. A gauche un haploïde de la variété <i>Yudal</i> (faible nombre d'univalents), à droite un haploïde de la variété <i>Darmor-bzh</i> (nombre élevé d'univalents).....	62
Figure 56 : Effet des différents types de gamètes d'haploïdes (FDR, SDR, Double division) sur la correspondance entre transmission de marqueurs moléculaires et fréquence de recombinaison.....	62
Figure 57 : Détection d'événements de recombinaison homéologue dans des haploïdes de colza.....	63
Figure 58 : Généalogie du matériel végétal (F1) utilisée pour détecter des événements de recombinaison dans des parents haploïdes <i>Darmor-bzh</i> et <i>Yudal</i>	64
Figure 59 : Répartition du nombre d'individus en fonction du nombre estimé de chromosomes d'après la valeur cytométrique.....	67
Figure 60 : Résultats d'une analyse de cytométrie en flux.....	67
Figure 61 : Métaphase I de méiose de descendants d'haploïdes tripléides montrant 22 bivalents et 13 univalents.....	68
Figure 62 : Métaphase I de méiose descendants d'haploïdes.....	69
Figure 63 : Comparaison de la ségrégation des chromosomes observée en anaphase I de méiose et attendue sous l'hypothèse que les chromosomes migrent au hasard de part et d'autre de la plaque anaphasique.....	70
Figure 64 : Types de cellules mères du pollen observés à la fin de la méiose chez les haploïdes <i>Darmor-bzh</i> et <i>Yudal</i>	70
Figure 65 : Comparaison de la quantité d'amplicons de l'allèle <i>Darmor-bzh</i> par rapport à l'allèle <i>Yudal</i> au locus CB10081b et au locus homéologue CB10081a par l'analyse de la hauteur des pics des allèles <i>Darmor-bzh</i> et <i>Yudal</i> aux locus CB10081b et CB10081a sur capillaire.....	73
Figure 66 : Relation entre la hauteur du pic de l'allèle <i>Darmor-bzh</i> et celle de l'allèle <i>Yudal</i> au locus CB10081b.....	73
Figure 67 : Cartographie comparée entre les groupes de liaison des génomes A et C mettant en évidence les relation d'homéologie.....	74
Figure 68 : Effet des relations d'homéologie entre couples de locus sur l'estimation de la fréquence de recombinaison homéologue.....	75
Figure 69 : Effet des translocations non-réciproques sur les liaisons génétiques.....	76
Figure 70 : Backcross des descendants d'haploïdes en vue d'analyser la ségrégation et la coségrégation de marqueurs	76
Figure 71 : Caractérisation de la translocation non-réciproque N11.N1(T) portée par D1H29.....	77
Figure 72 : Caractérisation de la translocation non-réciproque N18.N9(T) portée par D1H2.....	78
Figure 73 : Analyse combinée de co-ségrégation et de composition allélique.....	78
Figure 74 : Détection des recombinants dans un intervalle contenant le point de cassure d'une translocation non-réciproque.....	79
Figure 75 : Détection d'autosyndèse en métaphase I (MI) par utilisation de FISH sur des cellules mères de pollen (CMP) issues d'haploïdes <i>Darmor-bzh</i>	81

Figure 76 : Recombinaison paralogue de N4 avec des régions paralogues/para-homéologues situées sur N18, N5, et N8. 190	
Figure 77 : Caractérisation d'un réarrangement interstitiel porté par Y9H11.	83
Figure 78 : Comparaison de la production de graines des haploïdes et des euploïdes <i>Darmor-bzh</i> et <i>Yudal</i>	85
Figure 79 : Réduction de la fertilité femelle des haploïdes comparée à celle des euploïdes pour différentes composantes de la fertilité.	85
Figure 80 : Types de sacs embryonnaires observés chez les haploïdes <i>Darmor-bzh</i> et <i>Yudal</i>	86
Figure 81 : Comparaison de la fertilité mâle établie par coloration des grains de pollen entre les euploïdes et les haploïdes des variétés <i>Darmor-bzh</i> et <i>Yudal</i>	86
Figure 82 : Distribution du nombre de chromosomes réarrangés détectables connaissant la distribution des chromosomes appariés en métaphase I de méiose.	88
Figure 83 : Comparaison des distributions observées et attendues des différents individus en fonction du nombre de remaniements qu'ils portent.	89
Figure 84 : Comparaison des distributions observées et attendues d'après des observations cytogénétiques des différents individus en fonction du nombre de chromosomes réarrangés qu'ils portent.	89
Figure 85 : Représentation schématique de la procédure de ré-échantillonnage utilisée pour extrapoler le nombre de chromosomes réarrangés « attendus » si la totalité du génome était couverte.	90
Figure 86 : Extrapolation du nombre de chromosomes réarrangés en fonction du pourcentage de génome couvert chez les descendants des haploïdes <i>Darmor-bzh</i> et <i>Yudal</i>	91
Figure 87 : Relation entre le pourcentage de doubles crossing-overs et la détection des translocations non-réciproques	91
Figure 88 : Relation entre la densité de locus et la détection des translocations non-réciproques interstitielles.	91
Figure 89 : Evolution de la relation entre la couverture du génome et le nombre de moyen de chromosomes réarrangés par pourcent de génome couvert chez les descendants des haploïdes <i>Darmor-bzh</i> et <i>Yudal</i>	92
Figure 90 : Extrapolation du nombre moyen de chromosomes réarrangés par plante attendu sur la totalité du génome à partir du nombre de chromosomes réarrangés observé dans des échantillons de locus couvrant des pourcentages variables du génome.	92
Figure 91 : Distribution observée et attendue du nombre de chromosomes réarrangés d'après les observations cytogénétiques chez les descendants d'haploïdes <i>Darmor-bzh</i> et <i>Yudal</i>	93
Figure 92 : Position des locus génotypés sur les différents groupes de liaison du colza de la carte de référence <i>Darmor-bzh</i> x <i>Yudal</i>	95
Figure 93 : Les trois différentes approches pour analyser la fréquence des remaniements chromosomiques chez les haploïdes.	96
Figure 94 : Fréquence de non-transmission observée pour l'ensemble des locus génotypés (codominants + dominants) en fonction du génotype, du groupe de liaison et du génome.	97
Figure 95 : Représentation schématique du modèle d'analyse de la fréquence de non-transmission de l'allèle du parent haploïde.	98
Figure 96 : Effet de l'ajustement linéaire sur des variables à expliquer continues, discrètes et binaires, sur la valeur prédictive du modèle, le calcul de l'erreur et sa distribution.	100
Figure 97 : Différence de fréquence de non-transmission entre les descendants d'haploïdes <i>Darmor bzh</i> pour les locus codominants.	109
Figure 98 : Répartition des individus en fonction du nombre de locus réarrangés chez les descendants d'haploïdes <i>Darmor-bzh</i> et <i>Yudal</i>	109
Figure 99 : Représentation schématique des différents types de réarrangements observés chez les descendants d'haploïdes.	110
Figure 100 : Nombre moyen de régions non-transmises par individu selon leur type.	110
Figure 101 : Fréquence relative des différents types de réarrangement et du nombre de points de cassure (PC) sur les chromosomes chez les descendants des haploïdes <i>Darmor-bzh</i> et <i>Yudal</i>	110
Figure 102 : Trois méthodes pour estimer la taille des réarrangements en fonction de la transmission (+) et de la non-transmission (-) des allèles du parent haploïde aux locus M1, M2, M3, M4.	111
Figure 103 : Comparaison du nombre de chromosomes réarrangés en fonction de la couverture du génome dans les génomes A (bleu) et C (rouge).	112
Figure 104 : Asymétrie des fréquences de non-transmission et de duplication dans les descendants d'haploïdes <i>Darmor-bzh</i> aux différents locus étudiés.	113
Figure 105 : Comparaison du nombre moyen de réarrangements conduisant à la perte d'une région chromosomique entre les génome A et C chez les descendants d'haploïdes <i>Darmor-bzh</i> et <i>Yudal</i>	114
Figure 106 : Variation du nombre moyen de réarrangements dans les descendants d'haploïdes <i>Darmor-bzh</i> et <i>Yudal</i>	115
Figure 107 : Variation du nombre moyen de points de cassure par individu dans les descendants d'haploïdes <i>Darmor-bzh</i> et <i>Yudal</i>	115
Figure 108 : Comparaison du nombre moyen de régions non-transmises avec le nombre moyen de région attendus dans chacun des génomes (trait rouge) chez les descendants d'haploïdes <i>Darmor-bzh</i> (A) et <i>Yudal</i> (B).	115

Figure 109 : Variation du pourcentage d'individus réarrangés par groupe de liaison dans les descendants des haploïdes <i>Darmor-bzh</i> et <i>Yudal</i>	116
Figure 110 : Distribution des régions non-transmises le long du génome et variation de la fréquence de non-transmission.....	117
Figure 111 : Comparaison du nombre de points de cassure observé et attendu sur quatre groupe de liaison différents chez les descendants d'haploïdes <i>Darmor-bzh</i>	118
Figure 112 : Variation de la taille moyenne des réarrangements en fonction du groupe de liaison.....	118
Figure 113 : Effet du degré de synténie sur la fréquence des régions non-transmises.....	120
Figure 114 : Effet du type de chromosome sur le nombre moyen de régions non-transmises par individu.....	122
Figure 115 : Influence des ADN ribosomiques 45S.....	122
Figure 116 : Variation de la fréquence de non-transmission le long du génome.....	123
Figure 117 : Distribution des déviations standardisées aux différents locus avec le modèle linéaire généralisé complet avec éloignement du centromère.....	124
Figure 118 : Fréquence de non-transmission de l'allèle du parent haploïde en fonction de l'éloignement au centromère chez les descendants d'haploïdes <i>Darmor-bzh</i> (A) et <i>Yudal</i> (B).....	124
Figure 119 : Fréquence moyenne de non-transmission de l'allèle du parent haploïde en fonction de l'éloignement du centromère et du génome.....	125
Figure 120 : Fréquence moyenne de non-transmission de l'allèle du parent haploïde en fonction de l'éloignement vis-à-vis du centromère et du génotype du parent haploïde.....	125
Figure 121 : Distribution des déviations standardisées dans le modèle linéaire généralisé complet par rapport à une distribution normale.....	126
Figure 122 : Ecart entre les fréquences de point de cassure observées et prédites par le modèle linéaire généralisé complet dans les différents intervalles en fonction de la descendance des haploïdes (marqueur codominants).....	126
Figure 123 : Variation de la fréquence des points de cassure (à droite du groupe de liaison) et de la fréquence de non-transmission le long des groupes de liaison et variation de la fréquence de non-transmission.(à gauche du groupe de liaison).....	127
Figure 124 : Variation de la fréquence de point de cassure en fonction de l'éloignement du centromère et du génome.....	127
Figure 125 : Influence de l'éloignement vis-à-vis du centromère sur la fréquence de point de cassure chez les descendants d'haploïdes <i>Darmor bzh</i> et <i>Yudal</i>	127
Figure 126 : Identification des translocations non-réciproques pré-existantes par la mise en évidence de cluster de marqueurs de même dominance en position télomérique et séparés par 25 cM ségrégeant avec un ratio 3:1.....	127
Figure 127 : Dosage de l'allèle <i>Darmor-bzh</i> au locus Na14G02a dans les descendants d'haploïdes <i>Darmor-bzh</i>	127
Figure 128 : Transmission par un gamète de type FDR dans une descendance d'haploïde d'un marqueur porté par une TNR pré-existantes en présence d'un crossing-over induisant l'échange des régions dupliquées de la TNR.....	128
Figure 129 : Comparaison du nombre moyen de translocations non-réciproques par individu générées durant la méiose d'un haploïde et d'un euploïde.....	131
Figure 130 : Comparaison du nombre moyen de réarrangements par individu générés durant la méiose d'un haploïde et d'un euploïde (Udall <i>et al.</i> , 2005).....	132
Figure 131 : Ratio entre le nombre moyen de réarrangements par individu chez les haploïdes et les euploïdes.....	132
Figure 132 : Ratio entre fréquences de recombinaison homologue et homéologue.....	133
Figure 133 : Ratio entre fréquence de recombinaison homologue et homéologue selon les genomes et le genotype de l'haploïde.....	133
Figure 134 : Relation entre la taille de l'intervalle et la fréquence des points de cassure selon le génome. (A) Avec et (B) Sans les intervalles supérieurs à 50 cM.....	134
Figure 135 : Relation entre la taille de l'intervalle et la fréquence de crossing-over homéologue selon les descendants d'haploïdes en supprimant les intervalles de grande taille (>50cM).....	134
Figure 136 : Relation entre la taille de l'intervalle et la fréquence de crossing-over homéologue selon le génome en supprimant les intervalles de grande taille (>50cM).....	134
Figure 137 : Répartition des cellules mères de pollen observées en fonction de la configuration en métaphase.....	137
Figure 138 : Formation de multivalents et translocations réciproques et non-réciproques.....	137
Figure 139 : Pourcentage de cellules mères de pollen (CMP) à 19 bivalents, avec multivalents, et avec uniquement des univalents en fonction du nombre de réarrangements chez les descendants d'haploïdes <i>Darmor-bzh</i> (A) et <i>Yudal</i> (B).....	139
Figure 140 : Influence du nombre de réarrangements sur la fertilité mâle chez les descendants des haploïdes <i>Darmor-bzh</i> (A) et <i>Yudal</i> (B).....	140
Figure 141 : Relation entre la fertilité femelle et le nombre de réarrangements chez les descendants d'haploïdes <i>Darmor-bzh</i>	140
Figure 142 : Influence des réarrangements sur la production de graines chez les descendants d'haploïdes <i>Darmor bzh</i>	142

Figure 143 : Représentation schématique de la réduction de la taille des régions colinéaires en fonction du temps de divergence des génomes chez le colza. 157

Figure 144 : Evolution relative de la fréquence de recombinaison en situation homologue en fonction du temps de divergence entre les régions dupliquées. 157

Figure 145 : Renforcement de la synténie entre les régions para-homéologues suite à la fixation d'une translocation non-réciproque para-homéologue durant la phase de formation d'un polyploïde. 159

Figure 146 : Plusieurs hypothèses concernant le mode d'action de PrBn 165

Figure 147 : Evolution structurale des génomes polyploïdes par recombinaison successive. 181

Figure 148 : Schéma de croisement pour comparer l'effet de deux voies de formation de néopolyploïdes de colza sur l'évolution structurale du génome. 183

Figure 149 : Réduction de la taille des TNR homéologues par recombinaison. 185

Figure 150 : Schéma de sélection utilisant des haploïdes pour générer une variabilité structurale améliorante chez le colza 185

Figure 151 : Schéma pour créer des lignées quasi-isoréarrangées, c'est à dire ne différant les unes des autres que par un unique réarrangement. 186

Figure 152 : Représentation schématique de l'alignement des différents groupes de liaison du colza sur le génome d'*Arabidopsis thaliana* d'après Parkin *et al.* (2005). 249

Figure 153 : Mécanisme de formation d'une translocation non-réciproque paralogue du bas de N4 sur le haut de N13 via une recombinaison paralogue et entre N9 et N12. 250

Figure 154 : Variation de la fréquence de point de cassure dans les intervalles en fonction du génotype, du groupe de liaison et du génome 251

Figure 155 : Nombre total de régions non-transmises détectées chez les descendants d'haploïdes *Darmor-bzh* et *Yudal* selon le groupe de liaison pour la totalité des marqueurs. 252

Figure 156 : Variabilité de la fréquence relative des différents types de réarrangements chez les descendants d'haploïdes *Darmor-bzh*. 253

Figure 157 : Variation du nombre d'individus réarrangés en fonction du groupe de liaison et du type des réarrangements détectés chez les descendants d'haploïdes *Darmor-bzh*. 253

Figure 158 : Variation du nombre de réarrangements générés par simples doubles et triples crossing-overs chez les descendants d'haploïdes *Darmor-bzh*. 253

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1 : Analyse de variance à un facteur sur des mesures cytométriques réalisées sur 311 individus.....	67
Tableau 2 : Distribution des individus en fonction de leur configuration chromosomique probable.	68
Tableau 3 : Fréquence de non-transmission et de duplication pour différents locus portés par différents groupes de liaison.....	72
Tableau 4 : Association entre non-transmission et duplication de l'allèle du parent haploïde au locus homéologue.	75
Tableau 5 : Analyse conjointe de la perte et de la duplication des allèles du parent haploïde <i>Darmor-bzh</i> dans deux régions homéologues N11-N1 et N9-N18.....	75
Tableau 6 : Ségrégation et co-ségrégation des marqueurs appartenant à la région dupliquée et la région non-transmise.....	77
Tableau 7 : Analyse combinée de la co-ségrégation et du dosage d'allèles dans un intervalle entre CB10081b et Na12C08.....	79
Tableau 8 : Comportement méiotique des haploïdes de <i>Darmor-bzh</i> et de <i>Yudal</i> en métaphase I de méiose.....	88
Tableau 9 : Relation entre couverture du génome et nombre de réarrangements détectés chez les descendants des haploïdes <i>Darmor-bzh</i> et <i>Yudal</i>	90
Tableau 10 : Nombre d'allèles du parents haploïde transmis et non-transmis pour les différents types de locus génotypés chez les descendants des haploïdes <i>Darmor-bzh</i> et <i>Yudal</i>	96
Tableau 11 : Nombre de régions non-transmises détectées chez les descendants des haploïdes <i>Darmor-bzh</i> et <i>Yudal</i> en fonction du type de locus utilisé.....	96
Tableau 12 : Nombre de points de cassure détectés en fonction du génotype du parent haploïde et du type de marqueur utilisé.....	96
Tableau 13 : Test des différents effets aléatoires dans le modèle linéaire mixte n°1 (Approche Locus).....	103
Tableau 14 : Test des modèles linéaires généralisés n°1 bis et n°2 bis.....	105
Tableau 15 : Analyse comparée des résultats de l'analyse de la fréquence de non-transmission pour le modèle linéaire mixte et le modèle linéaire généralisé (Régression logistique) pour les locus.....	106
Tableau 16 : Analyse comparée des résultats de l'analyse de la fréquence de crossing-over par le modèle linéaire mixte et le modèle linéaire généralisé (Régression logistique).....	106
Tableau 17 : Analyse comparée des résultats de l'analyse de la fréquence de crossing-over par le modèle linéaire mixte et le modèle linéaire généralisé (Régression Poissonienne).....	106
Tableau 18 : Comparaison des résultats de l'analyse du modèle linéaire mixte avec les marqueurs codominants ou dominants sur la variation de la fréquence de non-transmission (approche locus).....	108
Tableau 19 : Influence du génotype sur le nombre moyen de réarrangements par individu.....	108
Tableau 20 : Corrélation entre le nombre moyen de régions non-transmises et le nombre de points de cassure par individu dans les descendants d'haploïdes <i>Darmor-bzh</i> et <i>Yudal</i>	109
Tableau 21 : Amplitude de variation de la fréquence de remaniement pour les différentes approches entre les descendants d'haploïde <i>Darmor-zh</i> et <i>Yudal</i>	109
Tableau 22 : Estimation de la taille des réarrangements chromosomiques par différentes méthodes.....	111
Tableau 23 : Comparaison des fréquences de remaniement (non-transmission) entre les génomes A et C.....	112
Tableau 24 : Comparaison de la taille moyenne des réarrangements entre les génomes A et C dans les descendants des haploïdes <i>Darmor-bzh</i> et <i>Yudal</i>	114
Tableau 25 : Comparaison des fréquences de remaniement entre les génomes A et C dans les descendants d'haploïdes <i>Darmor-bzh</i> et <i>Yudal</i>	114
Tableau 26 : Résultat des tests de comparaison multiple entre les groupes de liaison pour les régions non-transmises chez les descendants d'haploïdes <i>Darmor-bzh</i>	116
Tableau 27 : Effet des facteurs génétiques et structuraux sur la taille des réarrangements.....	119
Tableau 28 : Effet de la synténie sur la fréquence de remaniement. Analyse par un modèle linéaire généralisé.....	119
Tableau 29 : Effet de la synténie sur la fréquence de remaniement. Analyse par un modèle linéaire généralisé :.....	120
Tableau 30 : Information sur la structure et la morphologie des groupes de liaison (GL).....	121
Tableau 31 : Effet du type de chromosome sur le nombre moyen de régions non-transmises :.....	121
Tableau 32 : Analyse de la déviance du modèle linéaire généralisé sur la variation de la fréquence de non-transmission en fonction de l'éloignement vis-à-vis du centromère (marqueurs codominants).....	124
Tableau 33 : Analyse de la corrélation entre la fréquence de point de cassure chez les descendants d'haploïdes <i>Darmor-bzh</i> et <i>Yudal</i>	126
Tableau 34 : Résultat de l'analyse de déviance du modèle linéaire généralisé.....	126
Tableau 35 : Ségrégation et co-ségrégation observées et attendues des marqueurs Na14F11a et Na14F11bs sous l'hypothèse de la présence de deux translocations non-réciproques pré-existantes, l'une en haut de N11 dans la variété <i>Darmor-bzh</i> , l'autre en haut de N1 dans la variété <i>Yudal</i>	128

Tableau 36 : Comparaison de la ségrégation et co-ségrégation observée et attendue sous l'hypothèse de la présence de deux TNR pré-existantes, l'une en haut de N11 dans la variété <i>Darmor-bzh</i> , l'autre en haut de N1 dans la variété <i>Yudal</i> .	128
Tableau 37 : Analyse de déviance du modèle linéaire généralisé sur l'influence du nombre de TNR et de la taille de génome réarrangée sur la régularité du comportement méiotique chez les descendants d'haploïdes <i>Darmor-bzh</i> et <i>Yudal</i> .	139
Tableau 38 : Influence du nombre et de la taille de génome réarrangé sur le nombre de d'univalents et de bivalents chez les descendants d'haploïdes <i>Darmor-bzh</i> .	139
Tableau 39 : Analyse de l'effet du nombre et de la taille des translocations non-réciproques (TNR) sur la fertilité mâle par un modèle linéaire généralisé de type binomial.	141
Tableau 40 : Analyse de l'effet du nombre de translocations non-réciproques (TNR) et de la taille de génome réarrangé sur la production de graines chez les descendants d'haploïdes <i>Darmor-bzh</i> et <i>Yudal</i> .	141
Tableau 41 : Résumé de l'ensemble des caractères comparés entre <i>Darmor-bzh</i> et <i>Yudal</i> .	164
Tableau 42 : Test de l'appariement systématique des chromosomes chez les haploïdes <i>Darmor-bzh</i> et <i>Yudal</i> .	252
Tableau 43 : Résumé du modèle linéaire généralisé sur l'influence du nombre de translocations non-réciproques (TNR) et de la taille de génome réarrangée sur la régularité du comportement méiotique chez les descendants d'haploïdes <i>Darmor-bzh</i> .	254
Tableau 44 : Résumé du modèle linéaire généralisé sur l'influence du nombre de TNR et de la taille de génome réarrangée sur la régularité du comportement méiotique chez les descendants d'haploïdes <i>Yudal</i> .	254
Tableau 45 : Résumé du modèle sur l'effet du nombre et de la taille des translocations non-réciproques (TNR) sur la fertilité mâle.	254

ANNEXES

Annexe n°1 : Article publié dans Genetics en 2007 « Homeologous recombination play a major role in chromosome rearrangements in Brassica napus haploids ». Cet article résume les résultats présentés dans le chapitre II de la thèse, sur la nature et transmission des réarrangements chromosomiques produits durant la méiose des haploïdes.....	212
Annexe n°2 : Principaux scripts utilisés sous R et SAS pour l'analyse des données (Dosage d'allèle, Modèle linéaire généralisé, Couverture du génome).....	229
Annexe n°3 : Tableau de synthèse des données brutes sur les locus chez <i>Darmor-bzh</i> et <i>Yudal</i> ...	240
Annexe n°4 : Tableau de synthèse des données brutes sur les plantes (Nb de locus lu, Nb de locus réarrangé, fréquence de non transmission, nb de réarrangements, fertilité mâle et femelle).....	242
Annexe n°5 : Tableau de synthèse du comportement méiotique des descendants d'haploïdes analysés.....	244
Annexe n°6 : Tableau de synthèse des données brutes sur les intervalles (points de cassure, fréquence de points de cassure en situation homologue et homéologue).....	245
Annexe n°7 : Tableau de synthèse des données brutes sur les groupes de liaisons (Nombre de réarrangements, Nombre de points de cassures, Transmission de l'allèle du parent haploïde).....	247
Annexe n°8 : Tableau de synthèse des informations physiques sur la structure du génome.....	248
Annexe n°9 : Figures et tableaux.....	249

Script du dosage d'allèle du parent haploïde dans la population (R)

```

library("MASS") # pour charger ltsregdonn
# chargez les données
donn <- read.table("H:/These/Articles/Article méthode/Analyse stat/CB10081.txt", header=TRUE,
  sep="\t", na.strings="NA", dec=".", strip.white=TRUE)
#renommez les variables à analyser Aire 1 = aire dont la dose est connu; Aire 2 = aire dont #la dose
est inconnu
noinit <- names (donn)
names(donn)[c(10)] <- c("aire1")
names(donn)[c(11)] <- c("aire2")
nouveaunom <- names (donn)
# Graphiques
par(mfrow=c(2,2))
plot(donn$aire1,donn$aire2)
donn.2zero <- donn[donn$aire2==0,]
donn.2zero # individu dont l'allèle du parent haploïde a été non-transmis
donn.2notzero <- donn[donn$aire2!=0,] # on retire les aires 2 nulles de l'analyse
storage.mode(donn.2notzero$Individus) <- "character"
reglin <- lm(donn.2notzero$aire2~ -1 + donn.2notzero$aire1)
aire2nz.reg <- ltsreg(aire2 ~ -1 + aire1, data = donn.2notzero)
Coef<-coef (aire2nz.reg)
lines( c(0,22000), Coef*c(0,22000))
lines( c(0,22000), Coef*2*c(0,22000))
#Fonction de vraisemblance
vraisblce.f <- fonction(theta, data=donn.2notzero)
{
  b <- theta[1] ; s <- theta[2]^2 ; g <- theta[3] ; p <- (1.5+atan(theta[4]))/3
  aire1 <- data$aire1
  aire2 <- data$aire2
  mu1 <- b*aire1
  mu2 <- 2*b*aire1
  sig <- s+g*aire1
  f1 <- (1/sig)*exp(-0.5*( (aire2-mu1)/sig )^2)
  f2 <- (1/sig)*exp(-0.5*( (aire2-mu2)/sig )^2)
  ff <- p*f1 + (1-p)*f2
  -sum( log(ff) )
}
#fonction d'optimisation de la vraisemblance
stat <- donn.2notzero$aire2/donn.2notzero$aire1
sd(stat)^2
theta0 <- c(2.23, 100, 0.418, 0.9) # dans l'ordre: coeff de regress, 2 parametres de la
variance, proportion p
opti.f <- fonction(theta0)
{
  theta0[2] <- sqrt(theta0[2])
  theta0[4] <- tan(3*theta0[4] - 1.5)
  toto <- optim(theta0, vraisblce.f)
  theta.estimate <- toto$par
  theta.estimate[2] <- theta.estimate[2]^2
  theta.estimate[4] <- (1.5+atan(theta.estimate[4]))/3
  names(theta.estimate) <- c("beta","sigma0","sigma.pte","p")
  print("Theta estime")
  print(theta.estimate)
  print("- log vraisemblance")
  print(toto$value)
  toto
}
toto <- opti.f( theta0 )
beta <-toto$par[1]
intercept<- toto$par[2]^2
coefres<-toto$par[3]
dose1 <- (1.5+atan(toto$par[4]))/3
dose2<- 1 - dose1
# MAINTENANT, ON A TOUT NOTRE MODELE:
# RESTE A CALCULER LES PROBAS D'AVOIR rhoi = 1 ou 2, POUR CHAQUE i (dose de l'allèle du parent
haploïde pour chaque individu)
# On a : P(rhoi=1 | Xi,Yi) = dnorm(Yi | Xi, rhoi=1) * dmixture(Yi) / P(rhoi=1) et P(rhoi=2 | Xi,Yi)
= dnorm(Yi | Xi, rhoi=2) * dmixture(Yi) / P(rhoi=2)
# Ce qui nous intéresse c'est le rapport entre ces probas: P(rhoi=1 | Xi,Yi) / P(rhoi=2 | Xi,Yi) Et
il est préférable pour le calcul de calculer les log
# on rappelle que select identifie les points plus proches de la drte de regression rho=1 que de la
drte de regression rho=2
# Et on a vraiment tout maintenant pour calculer les probas

```

ANNEXES N 2 : SCRIPTS UTILISES POUR L'ANALYSE DES DONNEES

```

aire2nz.prob.ratio <- dnorm( (donn.2notzero$aire2 - beta*donn.2notzero$aire1) / (
intercept+coefres*donn.2notzero$aire1), log=T ) + dose1 - dnorm((donn.2notzero$aire2 -
2*beta*donn.2notzero$aire1) / (intercept+coefres*donn.2notzero$aire1), log=T ) - dose2
aire2nz.prob.ratio
# RECAPITULONS: aire2nz.prob.ratio est un vecteur de longueur le nbre d'individus (sauf ceux qui ont
une aire nulle) il contient le log des "odd-ratios", terme anglais designant les #cotes dans les
paris:
#-- si log-odd-ratio de i est positif, alors la proba d'avoir rhoi=1 est > la proba d'avoir #rhoi=2
#-- sinon c'est l'inverse
#-- attention tt de meme aux cas où le log-odd-ratio est de valeur absolue inférieure à, disons, 1 ou 1.5 : dans ce cas il est difficile de trancher
select2 <- aire2nz.prob.ratio >0
select3 <- aire2nz.prob.ratio <0
select4 <- exp(1-aire2nz.prob.ratio)>1000
select5 <- exp(aire2nz.prob.ratio)>1000
select6 <- exp(aire2nz.prob.ratio)<1000 & exp(1-aire2nz.prob.ratio)<1000
# Graphique où les individus sont identifiés en fonction de la dose de l'allèle du parent haploïde :
1000 fois plus de chance d'avoir dose = 2 / dose = 1 (triangle) et d'avoir dose1 / dose 2 (croix)
par(mfrow=c(1,1))
plot(donn$aire1,donn$aire2,type="p", lwd=0.1)
points( donn.2notzero$aire1[select4], donn.2notzero$aire2[select4], pch=2)
points( donn.2notzero$aire1[select5], donn.2notzero$aire2[select5], pch=3)
# + de chance d'avoir 1 dose que 2 dose
supchancealleledose1<-data.frame(cbind(donn.2notzero$Individus, donn.2notzero$aire1,
donn.2notzero$aire2, round( exp(aire2nz.prob.ratio), 2))[select2,])
# + de chance d'avoir 2 doses que 1 dose (Nb de fois)
supchancealleledose2<-data.frame(cbind(donn.2notzero$Individus, donn.2notzero$aire1,
donn.2notzero$aire2, exp(aire2nz.prob.ratio))[select3,])
#MAXIMUM de vraisemblance: chance d'avoir dose d'allèle = 2 sur chance d'avoir dose d'allèle = 1
connaissant dose d'allèle 1
oddsratiodose2<-data.frame(cbind(donn.2notzero$Individus, donn.2notzero$aire1,
onn.2notzero$aire2, signif(exp(1-aire2nz.prob.ratio),2)))
#individus ayant un LODSCORE de 3 en faveur de dose = 2 (Nb de fois)
allele1000dose2<- data.frame(cbind(donn.2notzero$Individus, donn.2notzero$aire1,
donn.2notzero$aire2, signif(exp(1-aire2nz.prob.ratio),2))[select4,])
#individus ayant un LODSCORE de 3 en faveur de dose = 2
allele1000dose1<-data.frame(cbind(donn.2notzero$Individus, donn.2notzero$aire1,
donn.2notzero$aire2, exp(aire2nz.prob.ratio))[select5,])
#Individus intermédiaires (+ de chance d'avoir 2 dose / 1 doses)
dosealleleinconnu<-cbind(donn.2notzero$Individus, donn.2notzero$aire1, donn.2notzero$aire2,
exp(1-aire2nz.prob.ratio))[select6,]
#Pourcentage
nbplante<-nrow(donn)
percentalleledose2<-nrow(allele1000dose2)/nrow(donn)*100
percentalleledose1<-nrow(allele1000dose1)/nrow(donn)*100
percentalleledose1ou2<-nrow(dosealleleinconnu)/nrow(donn)*100
percentalleledose0<- nrow(donn.2zero)/nrow(donn)*100
Pourcentage <-
c(percentalleledose0,percentalleledose1,percentalleledose2,percentalleledose1ou2,nbplante)
names(Pourcentage) <- c("dose=0","dose=1","dose=2","dose 1 ou 2","nombre plantes génotypés")
Pourcentage <- data.frame(Pourcentage)
Theta <- c(beta, intercept, coefres, dose1)
names(theta) <- c("beta","sigma0","sigma.pte","p")
names(oddsratiodose2) <- c("Individus","Aire 1","Aire 2","Oddsratio")
names(allele1000dose2) <- c("Individus","Aire 1","Aire 2","Oddsratio")
#Résumé
#Tableau de donnée importé
donn
#Régression linéaire sur les plantes possédant au moins une dose d'allèle
summary(reglin)
#Base de calcul Aire 1 = et Aire 2 =
cbind(nominit,nouveaunom)
#Pente initial
aire2nz.reg
#Coefficient final
Theta
#Oddratio (nb de fois + de chance d'avoir 2 dose d'allèles du parent haploïde / 1 dose)
oddsratiodose2
#Individus qui ont 1000 fois + de chance d'avoir 2 dose d'allèles / 1 dose
allele1000dose2
#Individus intermédiaires
dosealleleinconnu
#Répartition plantes selon dose d'allèle
Pourcentage

```

Script permettant d'analyser la relation entre la couverture du génome et le nombre de chromosome réarrangé détecté (R)

```

# Chargez les données de génotypage
Dataset <- read.table("H:/These/Rédaction/AnalyseStat/Entrée/GenotypeTtDY130906.csv",
  header=TRUE, sep=";", na.strings="NA", dec=".", strip.white=TRUE)
# La fonction « recouv » permet de tirer au hasard « Nrep » fois avec remise une proportion « PourcentLoc » de
# locus parmi ceux génotypés dans un tableau de donnée « Dataset ». Cette fonction permet de calculer le nombre
# de chromosome réarrangé et la couverture du génome pour tous les jeux de locus tirés au hasard et génère un
# tableau contenant pour chaque échantillon le nombre de chromosome réarrangé et la couverture du génome en
# cM.
indiceDataset<-as.numeric(rownames(Dataset))#
Dataset<-cbind(indiceDataset,Dataset)
reccouv<-function(PourcentLoc,Nbrep,Dataset)
{
mCouv<-matrix(0,6,Nbrep)
rownames(mCouv)<-c('NbChr','CouvertureGL','NonCouvertureGL','NbRec','NbLocusLu','NbLocus')
for (ww in 1:Nbrep)
{
b<-length(levels(Dataset$Locus))#nb total de locus
c<-round(b*PourcentLoc)#nb locus à prendre parmi tous les locus
indiceLocus<-vector(length=0)#les indices des locus
ChoixLocus<-sample(levels(Dataset$Locus),c,replace=FALSE)#tirage au hasard de c locus
##Récupération des loci
for (ii in 1:length(ChoixLocus))
{
d<-which(Dataset$Locus==ChoixLocus[ii])
indiceLocus<-c(indiceLocus,d)
}
indiceLocus<-as.data.frame(indiceLocus)
Dataset2<-merge(indiceLocus,Dataset, by.x= "indiceLocus",by.y = "indiceDataset")#retrouver
les marqueurs
##Nb de chromatide recombiné par GL
countchr<-function(x){ifelse(length(which(x=='1'))>0,1,0)} countlocuslu<-
function(x){length(which(x=='0'))+length(which(x=='1'))}
CountGLchr<- tapply(Dataset2$Genotypage, list(GL=Dataset2$GL, Individus=Dataset2$Individus),
countchr) # counts par GL et par individus
CountGLlu<- tapply(Dataset2$Genotypage, list(GL=Dataset2$GL, Locus=Dataset2$Individus),
countlocuslu) #counts des locus par GL
CountGLLocus<- tapply(Dataset2$Genotypage, list(GL=Dataset2$GL, Locus=Dataset2$Locus),
countchr) # counts par GL et par individus du nb de locus lu
CountGLl<- tapply(Dataset2$Genotypage, list(GL=Dataset2$GL, Individus=Dataset2$Individus),
sum,na.rm=TRUE) # counts par GL et par individus des rec
CountGLchr<-as.matrix(CountGLchr)
CountGLl<-as.matrix(CountGLl)
CountGLlu<-as.matrix(CountGLlu)
CountGLLocus<-as.matrix(CountGLLocus)
Nbchr<-sum(CountGLchr,na.rm=TRUE)
mGL<-matrix(0,length(levels(Dataset$GL)),4)
rownames(mGL)<-rownames(CountGLchr)
colnames(mGL)<-c('NbChr','NbRec','NbLocusLu','NbLocus')
for (ii in 1:length(levels(Dataset$GL)))
{
mGL[,1][ii]<-sum(CountGLchr[ii,],na.rm=TRUE)
mGL[,2][ii]<-sum(CountGLl[ii,],na.rm=TRUE)
mGL[,3][ii]<-sum(CountGLlu[ii,],na.rm=TRUE)
mGL[,4][ii]<-sum(CountGLLocus[ii,],na.rm=TRUE)
}
##Couverture du génome
Dataset3<-subset(Dataset2,Dataset2$Genotypage!='NA')
IPmin<- tapply(Dataset3$IP, list(GL=Dataset3$Individus, Individus=Dataset3$GL),min,na.rm=FALSE)
#renvoie l'IPmax de chaque GL pour chaque individu
IPmax<- tapply(Dataset3$IP, list(GL=Dataset3$Individus, Individus=Dataset3$GL),max,na.rm=FALSE)
#renvoie l'IPmin de chaque GL pour chaque individu
TailleGL<-tapply(Dataset$TailleGL, list(GL=Dataset$Individus,
Individus=Dataset$GL),min,na.rm=FALSE)
IPcentro<-tapply(Dataset$IPcentro, list(GL=Dataset$Individus,
Individus=Dataset$GL),min,na.rm=FALSE)
IPmin<-as.matrix(IPmin)
IPmax<-as.matrix(IPmax)
TailleGL<-as.matrix(TailleGL)
IPcentro<-as.matrix(IPcentro)
IPcentro[1,]

```

```

    CouvertureGL<-ifelse(IPmax-IPmin!=0, (IPmax-
    IPmin)*TailleGL, ifelse(IPmax<IPcentro, IPmax*TailleGL, (1-IPmax)*TailleGL))
#Tableau de couverture
rownames(mGLcouverture)<-colnames(IPmin)
colnames(mGLcouverture)<-
c('CouvertureGL', 'NonCouvertureGL', 'CouvertureHaut', 'NonCouvertureHaut', 'CouvertureBas', 'Non
CouvertureBas')
mGLcouverture
  for (ii in 1:length(levels(Dataset$GL)))
  {
    mGLcouverture[,1][ii]<-sum(CouvertureGL[,ii],na.rm=TRUE)
    mGLcouverture[,2][ii]<-sum(TailleGL[,ii],na.rm=TRUE)-
    sum(CouvertureGL[,ii],na.rm=TRUE)
    mGLcouverture[,3][ii]<-sum(CouvertureGLhaut[,ii],na.rm=TRUE)
    mGLcouverture[,4][ii]<-sum(IPcentro[,ii]*TailleGL[,ii])
    sum(CouvertureGLhaut[,ii],na.rm=TRUE)
    mGLcouverture[,5][ii]<-sum(CouvertureGLBas[,ii],na.rm=TRUE)
    mGLcouverture[,6][ii]<-sum((1-IPcentro[,ii])*TailleGL[,ii],na.rm=TRUE)-
    sum(CouvertureGLBas[,ii],na.rm=TRUE)
  }
mGLrec<-cbind(mGL,mGLcouverture)
mGLrec<-as.data.frame(mGLrec)
NbChr<-sum(mGLrec$NbChr)
NbRec<-sum(mGLrec$NbRec)
NbLocusLu<-sum(mGLrec$NbLocusLu)
NbLocus<-sum(mGLrec$NbLocus)
CouvertureGL<-sum(mGLrec$CouvertureGL)
NonCouvertureGL<-sum(mGLrec$NonCouvertureGL)
mCouv[,ww]<-c(NbChr,CouvertureGL,NonCouvertureGL,NbRec,NbLocusLu,NbLocus)
mCouv
}
mCouv<-t(mCouv)
mCouv
}
# Nb de chromosome réarrangé et couverture du génome pour la totalité des locus génotypés
a<-reccouv(1,1,Dataset)
a
# Calcul du Nb de chromosomes réarrangés et de la couverture du génome pour une proportion variable
de locus tirés au hasard parmi les locus génotypés
Pourcent<-seq(0.05,0.75,0.1) #Pourcentage de locus tirés au hasard
Nbrep<-100 # Nb de jeu de locus tirés au hasard pour ce pourcentage
# Création des tableaux pour différents % de locus génotypés
a1<-reccouv(Pourcent[1],Nbrep,Dataset)# 5% des locus génotypés
a2<-reccouv(Pourcent[2],Nbrep,Dataset)# 15%
a3<-reccouv(Pourcent[3],Nbrep,Dataset)# 25%
a4<-reccouv(Pourcent[4],Nbrep,Dataset)# 35%
a5<-reccouv(Pourcent[5],Nbrep,Dataset)# 45%
a6<-reccouv(Pourcent[6],Nbrep,Dataset)# 55%
mCouvRange<-rbind(a1,a2,a3,a4,a5,a6) # réunion de tous les tableaux
#chargement des packages et du fichier nécessaire pour l'analyse
library(e1071)
library(BRugs)
library(MASS)
# Analyse des données
couvRec<-mCouvRange
couvRec<-as.data.frame(couvRec)
#calcul du pourcentage de génome couvert pour chaque échantillon
PourcentCouv<-round(couvRec$CouvertureGL/(couvRec$CouvertureGL+couvRec$NonCouvertureGL),2)
# calcul du nombre moyen de chromosome réarrangé par 100 cM
NbChr100cM<-couvRec$NbChr/couvRec$CouvertureGL*100
Fdisp<-round(couvRec$NbRec/couvRec$NbLocusLu,3)
couvRec<-cbind(couvRec,PourcentCouv,Fdisp,NbChr100cM)
plot(couvRec)
#Sous échantillonnage des jeux de locus pour un intervalle de couverture
subset(couvRec,couvRec$CouvertureGL>50000&couvRec$CouvertureGL<130000)
#Diagnostic globale
summary(couvRec)
plot(couvRec)
#Couverture maximale du génome pour les 212 individus (toutes les extrémité des GL couverts sur ts
les individus)
couvMaxPop<-
(sum(couvRec$CouvertureGL)+sum(couvRec$NonCouvertureGL))/length(couvRec$CouvertureGL)
# couverture de 100% du génome sur un individu
couvMaxInd<-couvMaxPop/212
#Analyse des corrélations entre nombre de chromosome réarrangé et la couverture du génome
ttest<-t.test(couvRec$NbChr100cM, alternative='two.sided', mu=0.0, conf.level=.99)
ttest

```

```

ttest$conf.int*couvMaxPop/100/212
#Régression linéaire entre nombre de chromosome réarrangé et couverture du génome
# définition du modèle
RegModel.3 <- lm(NbChr~CouvertureGL, data=couvRec)
summary(RegModel.3)# Résumé
anova(RegModel.3)# pourcentage de variation du nombre de chromosome réarrangé expliqué par la
variation du modèle
confint(RegModel.3,level=0.999) # intervalle de confiance du coefficient
#Représentation graphique
par(mfcol=c(1,1))
plot(couvRec$CouvertureGL,couvRec$NbChr,xlab='couverture GL', ylab='Nombre de chromatide
recombiné')
abline(reg=RegModel.3,lwd=2,col='blue') # droite de régression
#Intervalle de confiance de la droite de régression avec 99,9% de chance de ne pas se tromper
abline(coef=confint(RegModel.3,level=0.999)[,1],lty=5,col='blue',lwd=2)
abline(coef=confint(RegModel.3,level=0.999)[,2],lty=5,col='blue',lwd=2)
#Nombre de chromatide recombiné pour la pop et l'individu extrapolé si on couvrait 100% du génome
#avec intercept = zero
confint(RegModel.3)*couvMaxPop # Nb de chr réarrangé pour la population
confint(RegModel.3)*couvMaxInd # Nb de chr réarrangé par plante
#avec intercept diff de zero
couvint999pop<-confint(RegModel.3,level=0.999)[2,]*couvMaxPop
couvint999pop[1]<-couvint999pop[1]+confint(RegModel.3)[1]
couvint999pop[2]<-couvint999pop[2]+confint(RegModel.3)[3]
couvint999ind<-couvint999pop/212
couvint999pop # Nb de chr réarrangé pour la population
couvint999ind # Nb de chr réarrangé par plante
#Exporter les données
write.table(couvRec, "H:/These/Rédaction/AnalyseStat/Analyse/couvRecC.txt", sep="\t",
col.names=TRUE, row.names=TRUE, quote=TRUE, na="NA")

```

Script pour calculer le coefficient de coïncidence (R)

```

#Charger les données
Dataset <- read.table("H:/These/Rédaction/AnalyseStat/Entrée/Intervalle020107DY.csv",
header=TRUE, sep=";", na.strings=".", dec=".", strip.white=TRUE)
#Transformer en facteur une donnée numérique
Dataset$COFact <- factor(Dataset$CO, labels=c('NonRec','Rec'))
#Sélectionner les descendants d'haploïdes Yuda
DatasetY<-subset(Dataset,Dataset$Parent=='Y')
write.table(DatasetY, "C:/Program Files/SciViews/DatasetY.txt", sep=";", col.names=TRUE,
row.names=TRUE, quote=TRUE, na="NA")
DatasetY <- read.table("C:/Program Files/SciViews/DatasetY.txt", header=TRUE, sep=";",
na.strings="NA", dec=".", strip.white=TRUE)
#Sélectionner les descendants d'haploïdes Darmor-bzh
DatasetD<-subset(Dataset,Dataset$Parent=='D')
write.table(DatasetD, "C:/Program Files/SciViews/DatasetD.txt", sep=";", col.names=TRUE,
row.names=TRUE, quote=TRUE, na="NA")
DatasetD <- read.table("C:/Program Files/SciViews/DatasetD.txt", header=TRUE, sep=";",
na.strings="NA", dec=".", strip.white=TRUE)
#Calcul du coefficient de coïncidence pour tous les intervalles
Coincidence<-matrix(0,0,13)
for (x in 1:19)
{
Dataset<-subset(DatasetD,DatasetD$GLInt==levels(DatasetD$GLInt)[x])
write.table(Dataset, "C:/Program Files/SciViews/Dataset.txt", sep=";", col.names=TRUE,
row.names=TRUE, quote=TRUE, na="NA")
Dataset <- read.table("C:/Program Files/SciViews/Dataset.txt", header=TRUE, sep=";",
na.strings="NA", dec=".", strip.white=TRUE)
b<- xtabs(~Intervalle+COFact, data=Dataset)
Freq<-b[,2]/(b[,1]+b[,2])
d<-cbind(b,Freq)
#fréquence attendu de double crossing-over
Intervalle<-row.names(d)
m<-matrix(0,0,5)
colnames(m)<-c('Int','FreqAtt','Freq00','Fre10','Freq01')
for (i in 1:length(d[,1]))
{
Intervalle[i]
for (ii in i:length(d[,1]))
{

```

```

      Int<-paste(Intervalle[i], '-', Intervalle[ii])
      FreqAtt<-d[i,][3]*d[ii,][3]
      Freq00<-(1-d[i,][3])*(1-d[ii,][3])
      Freq10<-d[i,][3]*(1-d[ii,][3])
      Freq01<-(1-d[i,][3])*d[ii,][3]
      f<-cbind(Int, FreqAtt, Freq00, Freq10, Freq01)
      m<-rbind(m, f)
    }
  }
  rownames(m)<-m[,1]
  Att<-as.data.frame(m)
  GL<-levels(DatasetY$GLInt)[x]
  Att<-cbind(GL, Att)
#fréquence observé de double crossing-over
a<-tapply(Dataset$CO, list(Intervalle=Dataset$Intervalle, Individus=Dataset$Individus), sum,
na.rm=TRUE)
Intervalle2<-rownames(a)
m<-matrix(0,0,3)
  for (w in 1:length(a[1,]))
  {
    for (i in 1:length(a[,1]))
    {
      g<-matrix(0,0,3)
      for (z in i:length(a[,1]))
      {
        Int<-paste(Intervalle2[i], '-', Intervalle2[z])
        DoubleRec<-paste(a[i,][w], '-', a[z,][w])
        f<-cbind(Int, DoubleRec)
        Individus<-colnames(a)[w]
        f<-cbind(Individus, Int, DoubleRec)
        g<-rbind(g, f)
      }
      m<-rbind(m, g)
    }
  }
Obs<- xtabs(~Int+DoubleRec, data=m)
Obs
Somme<-Obs[,1]+Obs[,2]+Obs[,3]+Obs[,4]
FreqObs<-(Obs[,3]/(Obs[,1]+Obs[,2]+Obs[,3]+Obs[,4]))
Obs<-cbind(Obs, Somme, FreqObs)
w<-cbind(Obs, Att)
Coincidence<-rbind(Coincidence, w)
Coincidence
}
Coincidence<-as.data.frame(Coincidence)
#Exporter les données
write.table(Coincidence, "H:/These/Rédaction/AnalyseStat/Analyse/CoincidenceD.csv",
sep=";", dec=',', col.names=TRUE, row.names=TRUE, quote=TRUE, na="NA")
write.table(w, "H:/These/Rédaction/AnalyseStat/Analyse/CoincidenceY3.csv", sep=";", dec=',',
col.names=TRUE, row.names=TRUE, quote=TRUE, na="NA")

```

Script pour analyser l'effet des facteurs génétiques sur la variation de la fréquence de disparition et la fréquence de crossing-over, le long du génome au moyen d'un modèle linéaire généralisé (Régression logistique, R)

```

#chargez les packages nécessaire
library(boot)
library(stats)
library(lmtest)
library(zoo)
library(methods)
library(multcomp)
library(MASS)
library(multilevel)
library(Hmisc)
library(concord)
library(multtest)
library(strucchange)
library(e1071)
library(Rcmdr)
library(leaps)
library(boot)

```

```

###Chargez les données
  Dataset      <-      read.table("H:/These/Rédaction/AnalyseStat/Entrée/GenotypeTtDY130906.csv",
  header=TRUE, sep=";", na.strings="NA", dec=".", strip.white=TRUE)
###Transformer le génotypage en facteur
  Dataset$GenotypageFactor  <-  factor(Dataset$GenotypageFactor,  levels=c('Present','Absent'),
  ordered=TRUE)

###Définition du modèle linéaire de type binomial
  GLMfreq  <-  glm(GenotypageFactor ~ Parent+GL+EloignCentroEchFact,  family=binomial(logit),
  data=Dataset, trace=TRUE)

###Résumé du modèle
  summary(GLMfreq)

###Test des facteurs du modèles
  anova(GLMfreq,test='Chisq')

###Résumé de la GLM en imposant la dispersion tel que Dispersion= Déviance/ddl résiduel du modèle
#La dispersion de mon modèle, sous-dispersion dans le modèle si d<1, sur-dispersion si d>1,
dispersion du modèle deviance/(n-p) (n-p) degré de liberté p nombre de parmètres, n nombre
d'observations
  summary(GLMfreq)$dispersion
#Résumé avec la dispersion réelle
  summary(GLMfreq,correlation=FALSE,dispersion=(GLMfreq$deviance/GLMfreq$df.residual))
  summary(GLMfreq,correlation=FALSE,dispersion=TRUE)

###Ajoutez et éliminer les variables du modèle pour définir le bon modèle
#Enlevez des variables séquentiellement (utile pour tester les variables séparément... / à l'anova)
  dropGLM<-drop1(GLMfreq,test='Chisq',trace=TRUE)
  dropGLM
#Ajouter des variables séquentiellement
  addGLM<-add1(GLMfreq, ~.+GL:Parent,test='Chisq',trace=TRUE)
  addGLM
#charger le package MASS pour stepAIC
  stepGLM<-stepAIC(GLMfreq,~.+GL:Parent, test='Chisq',direction="both")
  summary(stepGLM)
  stepGLM$anova
#Updater le modèle en ajoutant des variables
  GLMfreq2<-update(GLMfreq,~.+GL:Parent)
#Comparez différents modèles avec une statistique de Chi2
  anova(GLMfreq,GLMfreq2,test='Chisq')

###les effets du modèles
  library(effects)
  all.effects(GLMfreq)
  effectGLMfreq<-effect("GL",GLMfreq, se=TRUE, confidence.level=.95, typical=mean)
  summary(effectGLMfreq,type='link')
  plot(effectGLMfreq,type="p")

###les coefficients et les effets des différents facteurs
  GLMfreq$coefficients
#Leurs odds ratio
  oddsratio<-round(exp(GLMfreqcoeff),digit=2)
  oddsratio
#Intervalle de confiance des coefficients
  coefest(GLMfreq)

###la réponse prédites (log(p/1-p)) pour chaque éléments
  response2<-predict(GLMfreq,Dataset,se.fit=FALSE)

###Vérification du lien: ajout du carré de linear.predictors, si le lien est bon, on ne doit pas
avoir de changement
  lp2=predict(GLMfreq,Dataset,se.fit=FALSE)^2
  lp2
  GLMfreqlin <- update(GLMfreq,~.+lp2)
  GLMfreqlin
  GLMfreq
  anova(GLMfreq,GLMfreqlin,test='Chisq')

###Test de l'ajustement du modèle
###AIC = -2 log L + k*edf (equivalent degree of freedom=number of parameters) k = number of
parameters
  extractAIC(GLMfreq)
###BIC (n=nb d'observation)
  extractAIC(GLMfreq,k=log(length(Dataset$Genotypage)))

```



```

#Test de comparaison simultanée des niveaux de facteurs entre eux
simttest(GLMfreq, type="Tukey", whichf="Parent")
psubset=names(GLMfreq$coefficient[2:18]),type='Dunnet',ttype="logical")
GL<-simttest(GLMfreq,type='Tukey',cmatrix=m,whichf="GL")
GL<-simttest(GLMfreq,type='helmert',whichf="GL",alternative='two.sided')

##Calcul de la statistique de test du modèle à partir de la déviance (pas très correct)
deviance(GLMfreq)
goft = fonction(fit)
{
  pval=pchisq(deviance(fit),df.residual(fit),lower.tail=F)
  cat('\n Pr(>Dev) = ',pval,'\n')
}
goft(GLMfreq)

##Calcul de la statistique de Pearson
#statistique de test
X2<-sum(na.omit((residuals(GLMfreq,
  type='response'))^2/(exp(predict(GLMfreq,type='link',se.fit=FALSE,scale=residual.scale))))))
#Nb de degré de liberté
df1<-length(na.omit((residuals(GLMfreq, type='response'))))-length(coefficients(GLMfreq))-1
#Test
p.value <- 1 - pchisq(X, df1)
p.value

###Test de rapport de vraisemblance du modèle. Il compare la vraisemblance du modèle sans
coefficient (uniquement avec l'intercept) et avec les coefficient. Il peut aussi être utiliser pour
comparer la vraisemblance des modèles
#calcul des loglikelihood L(0) avec uniquement l'intercept et L(modèle)
GLMfreqIntercept <- glm(GenotypageFactor ~ 1, family=binomial(logit), data=Dataset,
na.action=na.exclude,trace=TRUE)
GLMfreqIntercept <- glm(cbind(NbRec,NbnonRec) ~ 1,family=binomial(logit),data=Feloign)
L0<-logLik(GLMfreqIntercept)
LB<-logLik(GLMfreq)
#statistique de test G=-2(L0/LB)
nbpar<-GLMfreq$df.null-GLMfreq$df.residual
G=-2*(L0-LB)
G
#test
lr<-lrtest(GLMfreq)
lr
lr$LogLik
##Test du modèle (statistique de test W = B/se(B)
waldtest(GLMfreq)

###Test de corrélation de rang entre les donnée prédites et réelle
##Tau, concordance entre les rangs de génotypage et fitted.values
cor.test(Dataset$Genotypage,fitted.values(GLMfreq),method='kendall')
##Rho
cor.test(Dataset$Genotypage,fitted.values(GLMfreq),method='spearman')

##ROC = Aire sous la courbe du modèle GLMfreq ROC=> courbe tel que sensibilité = fonction(1-
spécificité)
Fit<-fitted.values(GLMfreq)
#supprimez les données manquantes
Fit<-subset(Fit,Fit!='NA')
Genot<-subset(Dataset$Genotypage,Dataset$Genotypage!='NA')
#supprimez les données manquantes
Genot<-subset(Feloign,Feloign$PourcentRec!='NA')
#fonction permettant d'obtenir l'aire sous la courbe
ROCarea<-fonction(Genot,Fit)
{
#Détermine le nombre de classe nn à utiliser
nn<-20
FitMin<-min(Fit,na.rm=TRUE)
FitMax<-max(Fit,na.rm=TRUE)
#Détermine le pas d pour dessiner l'aire sous la courbe
d<-(FitMax-FitMin)/nn
rocc<-matrix(0,nn,2)
#calcul pour chaque d quantile la fréquence des individus bien classés par la procédure tel que
P(Y=1/X=1) (sensibilité) tel que P(Y=0/X=0) (spécificité) ROC=> se=f(1-sp)
for (ii in (1:nn))
  {#sensibilité
  rocc[ii,1]<-sum(Genot*(Fit>ii*d))/sum(Genot)
  #spécificité
  rocc[ii,2]<-1-sum((1-Genot)*(Fit<=ii*d))/sum((1-Genot))
  }
}

```

```

ord<-order(rocc[,2],rocc[,1])
roccl<-rocc[ord,]
##calcul de l'aire en dessous de la courbe
roca<-0
  for (ii in (2:nn))
  {
    delta<-roccl[ii,2]-roccl[ii-1,2]
    roca<-roca+delta*((roccl[ii,1]-roccl[ii-1,1])/2+roccl[ii-1,1])
  }
roca # Aire sous la courbe retourné par la fonction ROCarea
}
ROC<-ROCarea(Genot,Fit)
#Aire sous la courbe ROC
#Courbe ROC
#Détermine le nombre nn de classe utiliser pour construire la courbe ROC FitMin<-min(Fit,na.rm=TRUE)
FitMax<-max(Fit,na.rm=TRUE)
nn<-20
#Détermine le pas de la courbe roc
d<-(FitMax-FitMin)/nn
rocc<-matrix(0,nn,2)
#calcul pour chaque d quantile la fréquence des individus bien classés par la procédure tel que
P(Y=1/X=1) (sensibilité) tel que P(Y=0/X=0) (spécificité) ROC=> se=f(1-sp)
for (ii in (1:nn))
{#sensibilité
roccl[ii,1]<-sum(Genot*(Fit>ii*d))/sum(Genot)
#spécificité
roccl[ii,2]<-1-sum((1-Genot)*(Fit<=ii*d))/sum((1-Genot))
}
ord<-order(rocc[,2],rocc[,1])
roccl<-rocc[ord,]
#la courbe
plot(roccl[,2],roccl[,1],xlab='spécificité',ylab='sensibilité')
#valeur pour laquelle la spécificité et la sensibilité sont maximales simultanément
ecart<-roccl[,1]-roccl[,2]
plot(roccl[,2],ecart)
roccl[which.max(ecart)-1,]
roccl[which.max(ecart),]
roccl[which.max(ecart)+1,]
#au maximum sensmax% d'individus sont prédits 1 alors qu'ils sont codés 1 (P(Y=1/X=1))
sensmax<-roccl[which.max(ecart),][1]
sensmax
#au maximum specmax% d'individus sont prédits 0 alors qu'ils sont codés 0 (P(Y=0/X=0))
roccl[which.max(ecart),][2]
spemax<-1-roccl[which.max(ecart),][2]
spemax
#Quelle est cette valeur seuil p pour laquelle la spécificité et la sensibilité sont maximales,
c'est la valeur pour laquelle P(Y=1/X=1)=sensmax
# Au delà du seuil classez 1 en dessous classé 0
seuil<-match(sensmax,rocc)*d
seuil
Prédit<-ifelse(Fit>seuil,1,0)
.Table<-table(Genot,Prédit)
.Table
rowPercents(.Table)
colPercents(.Table)

##pseudo R2
#pseudoR2count nombre d'observations correctement classé par le modèle
R2count<-(.Table[1]+.Table[4])/sum(.Table)
R2count
R2countmodified<-((.Table[1]+.Table[4])-(.Table[1]+.Table[2]))/(sum(.Table)-(Table[1]+.Table[2]))
R2countmodified<-((.Table[1]+.Table[4])-(.Table[1]+.Table[2]))/(sum(.Table)-(Table[1]+.Table[3]))
R2countmodified

#pseudo R2r Menard(2000)=(logL0-logB)/logB part de la variation expliqué par le modèle
R2r<-(L0-LB)/LB
R2r[1]
#pseudo R2l (Cox et Snell,1989)=1-(L0/LB)^2/n (n = nb d'éléments excepté les éléments NA)
length(Dataset$Genotypage)
length(na.omit(Dataset$Genotypage))
R2l<- 1-((exp(L0-LB)^(2/length(na.omit(Dataset$Genotypage))))))
R2l<- 1-((exp(L0-LB)^(2/length(na.omit(Feloign$PourcentRec))))))
R2l[1]
#pseudoR2efron
length(Dataset$Genotypage)
GenotP<-subset(Dataset$Genotypage,Dataset$Genotypage!='NA')

```

```

GenotP<-subset(Feloign,Feloign$PourcentRec!='NA')
length(GLMfreq$fitted.values)
length(Genot)
R2effron=1-(sum((GenotP-GLMfreq$fitted.values)^2)/(sum((GenotP-mean(GenotP))^2)))
R2effron
#remplacer par le prédictueur
Dataset2<-subset(Dataset,Dataset$Genotypage!='NA')
length(Dataset2$Genotypage)
GenotP<-GLMfreq$fitted.values
Dataset3<-cbind(Dataset2,GenotP)
#prédiction/valeur réelle de p à chaque locus
t1<-tapply(Dataset3$Genotypage, list(Locus=Dataset3$Locus), mean, na.rm=TRUE)
t2<-tapply(Dataset3$GenotP, list(Locus=Dataset3$Locus), mean, na.rm=TRUE)
t3<-cbind(t1,t2)
plot(t3[,1],t3[,2],xlab='Fréquences réelles pour les locus', ylab='Fréquences prédites pour les
Locus')
identify(t3[,1],t3[,2],labels=rownames(t3))
#prédiction/valeur réelle pour chaque individu
t1<-tapply(Dataset3$Genotypage, list(Individus=Dataset3$Individus), mean, na.rm=TRUE)
t2<-tapply(Dataset3$GenotP, list(Individus=Dataset3$Individus), mean, na.rm=TRUE)
t3<-cbind(t1,t2)
plot(t3[,1],t3[,2])
#prédiction/valeur réelle pour chaque Parent
t1<-tapply(Dataset3$Genotypage, list(Parent=Dataset3$Parent), mean, na.rm=TRUE)
t2<-tapply(Dataset3$GenotP, list(Parent=Dataset3$Parent), mean, na.rm=TRUE)
t3<-cbind(t1,t2)
plot(t3[,1],t3[,2])
#prédiction/valeur réelle pour chaque GL
t1<-tapply(Dataset3$Genotypage, list(Parent=Dataset3$GL), mean, na.rm=TRUE)
t2<-tapply(Dataset3$GenotP, list(Parent=Dataset3$GL), mean, na.rm=TRUE)
t3<-cbind(t1,t2)
plot(t3[,1],t3[,2],xlab='Fréquences réelles pour les GL', ylab='Fréquences prédites pour les GL')
identify(t3[,1],t3[,2],labels=rownames(t3))
#prédiction/valeur réelle pour chaque Eloignement du Centromère
t1<-tapply(Dataset3$Genotypage, list(Parent=Dataset3$EloignCentroEchFact), mean, na.rm=TRUE)
t2<-tapply(Dataset3$GenotP, list(Parent=Dataset3$EloignCentroEchFact), mean, na.rm=TRUE)
t3<-cbind(t1,t2)
plot(t3[,1],t3[,2],xlab='Fréquences réelles pour éloignement au centromère',
ylab='Fréquences prédites pour éloignement du centromère')
identify(t3[,1],t3[,2],labels=rownames(t3))

###test de comparaison des distribution entre les données réelles et les données locus
ks.test(t3[,1],t3[,2])
###corrélation entre mes données réelles et mes données observées
kruskal.test(t3[,1],t3[,2])
cor.test(t3[,1],t3[,2])

###test de HEMESHER
#séparez la populations en 10 groupes d'égaies probabilité (nk identique) classes d'équiprobabilité
#x=runif(GLMfreq$df.null+1); a=GLMfreq$coefficients[1]; b=1
#p=1/(1+exp(-a-b*x))
#u=runif(GLMfreq$df.null+1); y = (u<p)*1
#plot(x,y)
g<-5 #nb de classe à définir pour le test
pf<-GLMfreq$fitted.values; hist(pf)
pf
q=quantile(pf,probs=seq(0,1,1/g))#to define decile of risks
q=round(q,4)
z=cut(pf, breaks=q); z # to group fitted values
Genot<-subset(Dataset$Genotypage,Dataset$Genotypage!='NA')
Genot<-cbind(Feloign$NbRec,Feloign$NbnonRec)
obs<-table(Genot,z)
pm<-tapply(pf,z,mean); round(pm,3)
#the hosmer-lemeshov statistic
observed1<-obs[,2]
observed0<-obs[,1]
expected1<-round((obs[,2]+obs[,1])*pm[1:g],0)
expected0<-round((obs[,2]+obs[,1])*(1-pm[1:g]),0)
fobserved1<-round(obs[,2]/(obs[,2]+obs[,1]),4)
fexpected1<-round(pm[1:g],4)
Hesmertable<-cbind(observed0,expected0,observed1,expected1,fobserved1,fexpected1)
Hesmertable
C<-sum((obs[,2]-((obs[,2]+obs[,1])*pm[1:g]))^2/(pm[1:g]*(obs[,2]+obs[,1])*(1-pm[1:g])))
C
p.valueHelmer <- 1-pchisq(C,8)
p.valueHelmer
plot(fobserved1,fexpected1)

```

Script pour analyser l'effet des facteurs génétiques sur la variation de la fréquence de disparition, la fréquence de point de cassure le long du génome au moyen d'une régression linéaire classique (proc GLM, SAS)

```

options ps=1000 ls=100 pageno=1 ;
/**Chargement des données**/
/**Données brutes sur la présence-absence de l'allèle du parent haploïde à un
locus donné dans un individu**/
  data geno ;
  set genot ;
/*sélection des locus codominants*/
  if DominanceLocus='Cd' ;
/*sélection de variables dans le tableau de donnée*/
  keep Genotypage Genome GL Parent Famille Locus Individus EloignCentroAbs;
  run;

/*Données brutes sur la présence-absence d'un point de cassure dans un
intervalle donné dans un individu donné*/
data geno ;
set InterCd;
/*sélection des intervalles*/
if TypeInt='t-Cd' then delete ;
if TypeInt='t-D' then delete ;
if TypeInt='t-Y' then delete ;
if TypeInt='Cd-t' then delete ;
if TypeInt='D-t' then delete ;
if TypeInt='Y-t' then delete ;
/*sélection de variables dans le tableau de donnée*/
keep CO Genome GL Parent Famille Intervalle Individus;

run;

/**Données brutes sur la présence-absence d'un réarrangement sur un groupe de
liaison donné dans un individu donné**/
data geno ;
set genot ;
keep Genotype Famille Genome GL TNRTt TNRCd Individus;
run;

/**Exemple de l'utilisation de la régression linéaire sur la fréquence de
disparition**/
/*Procédure utilisé (régression linéaire, proc GLM)*/
proc glm ;
/* Description des variables du modèle linéaire*/
class Parent Genome GL  Famille Individus Intervalle;
/* Description du modèle et déclaration des variables à expliquer et des
variables explicatives du modèle*/
model Genotypage = Genome Genome*GL Genome*GL*Locus Parent Parent*Genome
Parent*Genome*GL Parent*Genome*GL*Locus Parent*Famille Parent*Famille*Genome
Parent*Famille*Genome*GL Parent*Famille*Individus
Parent*Famille*Individus*Genome
/* Test de l'effet des facteurs avec l'erreur de type 3*/
/ ss3 ;
run;

```

Script pour analyser l'effet des facteurs génétiques sur la variation de la fréquence de disparition, la fréquence de point de cassure le long du génome au moyen d'un modèle linéaire mixte (proc Mixed, SAS)

```

/**Exemple de l'utilisation de l'analyse de variance sur la fréquence de
disparition*/
/*Procédure utilisé (modèle linéaire mixte : proc mixed, test des effets fixes
et aléatoires)*/
proc mixed COVTEST CL=WALD;
/* Description des variables du modèle linéaire mixte*/
class Parent Genome GL Parent Individus Famille Locus EloignCentroAbs;
/* Description du modèle et déclaration des variables à expliquer et des
variables explicatives fixes du modèle*/
model Genotypage = Genome Genome*GL Genome*GL*Locus Parent Parent*Genome
Parent*Genome*GL Parent*Genome*GL*Locus;
/* Déclaration des variables explicatives aléatoires du modèle*/
random Parent*Famille*Individus*Genome Parent*Famille*Genome*GL;
/* Sortie du modèle*/
/** Comparaison de moyenne entre les différents niveaux des facteurs */
lsmean Genome Genome*GL Parent Parent*Genome Parent*Genome*GL/singular=9E-1;
/* Comparaison de moyenne entre les GL et les locus le parent et le génome étant
fixé*/
lsmean Parent*Genome*GL Parent*Genome*GL*Locus/SLICE=Parent*Genome
singular=9E-1;
/* Comparaison de moyenne entre les génomes, les GL, et les locus le parent
étant fixé*/
lsmean Parent*Genome Parent*Genome*GL Parent*Genome*GL*Locus /SLICE=Parent
singular=9E-1;
/* Comparaison de moyenne entre les génomes, les GL, et les parents le génome
étant fixé*/
lsmean Parent*Genome Parent*Genome*GL Parent*Genome*GL*Locus /SLICE=Genome
singular=9E-1;
run;

```

Script pour analyser l'effet des facteurs génétiques sur la variation de la fréquence de disparition et de points de cassures le long du génome au moyen d'un modèle linéaire généralisé mixte (SAS, proc glimmix)

```

##les procédures de chargements des données sont identiques que précédemment
# Exemple de chargement des données de présence/absence de l'allèle du parent
haploïde à un locus pour un individu donné*/
data geno ;
set genot ;
DominanceLocus='Cd' ;
keep Genotypage Genome GL Parent Famille Locus Individus;
run;
/*Chargement de la macro glimmix*/
/* Define the GLIMMIX macro */
/*Chemin*/
%inc '/home/lerheu/nicolas/Analyse/Proc/glimmix.sas';
/*---logistic regression with random effects---*/
/* Description du modèle*/
%glimmix(data=geno,
stmts=%str(
/* Description des variables du modèle*/
class Parent Famille Genome GL Locus;
/* Description du modèle et déclaration des variables à expliquer et des
variables fixes explicatives du modèle*/
model Genotypage= Parent Genome Parent*Genome Genome*GL Parent*Genome*GL;
/* Déclaration des variables explicatives aléatoires du modèle*/

```

```
random Parent*Famille Parent*Famille*Genome Parent*Famille*Genome*GL;
/** Comparaison de moyenne entre les différents niveaux des facteurs */
lsmeans  Genome Genome*GL Parent Parent*Genome ;
),
/*Type d'erreur (binomial, poisson)*/
error=binomial
)
run;
```

ANNEXES N°3 : TABLEAU DE SYNTHÈSE SUR LES LOCUS

Génome	GL	Information sur les marqueurs moléculaires					Allèle du parent haploïde Yucal			Allèle du parent haploïde Darnes-Job		
		Locus	Dominance	Type	Position	Indice Position	Non-transmis	Transmis	Fréquence	Non-transmis	Transmis	Fréquence
N1		CB10081b	Cd	Microsat	0	0,00	4	95	4,0%	9	102	8,1%
		M16.580	D	RAFD	12,2	0,09	NA	NA	NA	9	99	8,3%
		CB10097	Cd	Microsat	25,4	0,19	3	80	3,6%	9	86	9,5%
		E43M64h	Y	AFLP	58,1	0,43	1	100	1,0%	NA	NA	NA
		OH2F1b	Cd	Microsat	72,1	0,54	1	91	1,1%	5	104	4,6%
		Brass084	Cd	Microsat	78	0,58	0	85	0,0%	5	87	5,4%
		Brass028	Cd	Microsat	86,2	0,64	0	41	0,0%	1	83	1,2%
		E35M70b	D	AFLP	107,4	0,80	NA	NA	NA	12	99	10,8%
		a157266	Cd	GOPO5	110,9	0,83	4	96	4,0%	13	98	11,7%
		PFM193c	Y	PFM	110,9	0,83	4	97	4,0%	NA	NA	NA
N2		Na14F11a	Y	Microsat	133,8	1,00	0	100	0,0%	NA	NA	NA
		PFM193b	Y	PFM	22,4	0,23	8	86	8,5%	NA	NA	NA
		Brass037	Cd	Microsat	27,2	0,28	6	91	6,2%	10	98	9,3%
		Na12H09c	Y	Microsat	44,7	0,47	2	92	2,1%	NA	NA	NA
		E86M42e	Y	AFLP	49,7	0,52	3	88	3,3%	0	0	0,0%
		E43M65b	Y	AFLP	55,1	0,57	1	83	1,2%	NA	NA	NA
		E43M65a	D	AFLP	57,9	0,60	NA	NA	NA	3	107	2,7%
		E86M42j	D	AFLP	83,8	0,87	NA	NA	NA	3	104	2,8%
		OH0C10c	D	Microsat	89,8	0,83	NA	NA	NA	6	95	5,8%
		OH0C10a	Y	Microsat	96,1	1,00	2	92	2,1%	NA	NA	NA
N3		E35M64c	D	AFLP	21,2	0,31	NA	NA	NA	0	103	0,0%
		E35M70a	D	AFLP	26,3	0,13	NA	NA	NA	1	110	0,9%
		PFM81	Cd	PFM	26,3	0,13	0	97	0,0%	1	107	0,9%
		E35M67g	Y	AFLP	47,5	0,24	0	101	0,0%	NA	NA	NA
		CB10415	Cd	Microsat	53,9	0,27	1	90	1,1%	1	109	0,9%
		IH08a	Cd	Eudicot	62,1	0,31	1	92	1,1%	0	59	0,0%
		E86M42c	D	AFLP	72,5	0,36	NA	NA	NA	3	104	2,8%
		T8E20b	Cd	SCAR	129,1	0,64	NA	NA	NA	4	95	4,0%
		Brass029	Cd	Microsat	145,5	0,72	0	97	0,0%	1	100	1,0%
		CB10021a	Cd	Microsat	170	0,84	4	94	4,1%	4	101	3,8%
N4		CB10347	Cd	Microsat	0	0,00	0	100	0,0%	3	104	2,8%
		E35M64i	Y	AFLP	4,7	0,06	0	99	0,0%	NA	NA	NA
		E86M42m	D	AFLP	11,5	0,14	NA	NA	NA	2	105	1,9%
		E43M70b	Y	AFLP	11,5	0,14	0	101	0,0%	NA	NA	NA
		E46M64k	Y	AFLP	12,3	0,15	0	99	0,0%	NA	NA	NA
		IC07b	Cd	Eudicot	14,4	0,17	0	100	0,0%	2	109	1,8%
		E43M64j	Y	AFLP	21,2	0,25	0	101	0,0%	NA	NA	NA
		CB10196	Cd	Microsat	44,4	0,52	0	89	0,0%	6	78	7,1%
		E35M71m	Y	AFLP	55,4	0,65	0	93	0,0%	NA	NA	NA
		CB10335	Cd	Microsat	55,4	0,65	1	97	1,0%	13	92	12,3%
N5		M16.1060	D	RAFD	57,7	0,69	NA	NA	NA	16	93	14,7%
		Brass072a	Cd	Microsat	0	0,00	0	101	0,0%	6	95	5,9%
		PFM679	Cd	PFM	17,7	0,17	0	100	0,0%	3	108	2,7%
		E35M67h	Y	AFLP	20,7	0,20	0	101	0,0%	NA	NA	NA
		Brass063a	Y	Microsat	26,9	0,26	NA	NA	NA	2	91	2,2%
		E43M66j	Y	AFLP	29,2	0,28	0	99	0,0%	NA	NA	NA
		E43M66h	D	AFLP	32,6	0,31	NA	NA	NA	0	108	0,0%
		PFM225	Cd	PFM	55	0,52	0	93	0,0%	0	82	0,0%
		E43M64f	D	AFLP	56,3	0,53	NA	NA	NA	1	100	1,0%
		E35M64f	D	AFLP	56,3	0,53	NA	NA	NA	1	98	1,0%
N6		E35M67d	Y	AFLP	56,3	0,53	0	101	0,0%	NA	NA	NA
		E81M40k	D	AFLP	63,4	0,60	NA	NA	NA	4	102	3,8%
		E35M71h	Y	AFLP	63,4	0,60	0	95	0,0%	NA	NA	NA
		E43M66m	Y	AFLP	75	0,71	0	99	0,0%	NA	NA	NA
		PFM578	Cd	PFM	0	0,00	1	99	1,0%	1	110	0,9%
		Na12D08	Cd	Microsat	12,9	0,13	1	98	1,0%	0	97	0,0%
		E35M71h	Y	AFLP	24,4	0,25	0	93	0,0%	NA	NA	NA
		Na1F06b	Cd	Microsat	27,2	0,27	0	93	0,0%	0	109	0,0%
		PFM193a	D	PFM	52,4	0,53	NA	NA	NA	1	110	0,9%
		Na12G05b	Cd	Microsat	55,2	0,56	0	99	0,0%	5	103	4,6%
N7		E86M42i	Y	AFLP	55,2	0,56	1	90	1,1%	NA	NA	NA
		Na1E02b	Cd	Microsat	65,6	0,66	0	96	0,0%	0	106	0,0%
		ScA07	Cd	SCAR	86,6	0,87	1	74	1,3%	2	74	2,6%
		CB10431b	D	Microsat	0	0,00	NA	NA	NA	4	90	4,3%
		E43M64c	D	AFLP	3,5	0,03	NA	NA	NA	2	109	1,8%
		E35M70d	D	AFLP	11,9	0,10	NA	NA	NA	5	106	4,5%
		E43M64g	Y	AFLP	14,1	0,11	0	55	0,0%	NA	NA	NA
		Brass023	Cd	Microsat	20,5	0,17	0	96	0,0%	6	92	6,1%
		CB10450	Cd	Microsat	33,5	0,27	0	88	0,0%	8	86	8,5%
		E43M64j	D	AFLP	40,8	0,33	NA	NA	NA	11	99	10,0%
N8		OH9A06b	Y	Microsat	52,7	0,43	0	76	0,0%	NA	NA	NA
		CB10439	Cd	Microsat	55,9	0,45	0	96	0,0%	9	87	9,4%
		IH68b	Y	Eudicot	67	0,55	1	97	1,0%	NA	NA	NA
		S03.CDI	Cd	RAFD	105,3	0,86	3	92	3,2%	10	85	10,5%
		Na1E02a	D	Microsat	3,7	0,10	NA	NA	NA	5	98	4,9%
		E43M64d	D	AFLP	13,2	0,14	NA	NA	NA	0	109	0,0%
		PFM227	Cd	PFM	17,8	0,19	1	97	1,0%	0	103	0,0%
		CB10028b	D	Microsat	22,5	0,23	NA	NA	NA	0	105	0,0%
		CB10475	Cd	Microsat	68,5	0,72	1	96	1,0%	2	105	1,9%
		Na14G02b	Y	Microsat	82,5	0,86	1	93	1,1%	NA	NA	NA
N9		PFM6	Cd	PFM	93,3	0,97	1	99	1,0%	1	100	1,0%
		ScA09	Cd	SCAR	95,8	1,00	3	97	3,0%	6	104	5,5%
		E43M65c	Y	AFLP	4,5	0,04	5	80	5,9%	NA	NA	NA
		E35M64g	D	AFLP	18,6	0,16	NA	NA	NA	10	91	9,9%
		E35M64b	Y	AFLP	22,1	0,18	1	99	1,0%	NA	NA	NA
		IC07a	D	Eudicot	25	0,21	NA	NA	NA	2	109	1,8%
		PFM437	Cd	PFM	25	0,21	0	98	0,0%	2	108	1,8%
		E35M71a	Y	AFLP	65,1	0,54	0	94	0,0%	NA	NA	NA
		E43M66b	D	AFLP	65,1	0,54	NA	NA	NA	1	106	0,9%
		Na10A08c	Cd	Microsat	66,3	0,55	0	101	0,0%	0	57	0,0%
N10		OH2F02b	Cd	Microsat	67	0,56	0	101	0,0%	1	110	0,9%
		MFI3	Cd	Microsat	102,4	0,85	0	98	0,0%	4	105	3,7%
		GSLalk.2	Cd	Gene	120,5	1,00	2	97	2,0%	8	83	8,8%
		E35M64h	Y	AFLP	0	0,00	1	98	1,0%	NA	NA	NA
		CB10021b	Y	Microsat	4,8	0,07	0	100	0,0%	NA	NA	NA
		Na14G02c	Y	Microsat	10,2	0,14	0	94	0,0%	NA	NA	NA
		E81M40m	Y	AFLP	46,8	0,66	0	91	0,0%	NA	NA	NA
		E35M73g	Y	AFLP	46,8	0,66	0	100	0,0%	NA	NA	NA
		E35M73f	Y	AFLP	60	0,84	0	100	0,0%	NA	NA	NA
		E35M67e	Y	AFLP	63,8	0,89	0	101	0,0%	NA	NA	NA
N10		E43M70c	D	AFLP	65,3	0,82	NA	NA	NA	6	101	5,6%
		E35M70e	Y	AFLP	68,9	0,97	0	101	0,0%	NA	NA	NA
		Ra2E07	Cd	Microsat	71,3	1,00	0	99	0,0%	2	107	1,8%
		E43M66d	D	AFLP	71,3	1,00	NA	NA	NA	4	102	3,8%
		CB10485	Cd	Microsat	71,3	1,00	4	95	4,0%	0	51	0,0%
		MFI56	Cd	Microsat	71,3	1,00	0	99	0,0%	0	110	0,0%

ANNEXES N°3 : TABLEAU DE SYNTHÈSE SUR LES LOCUS

Génome	GL	Information sur les marqueurs moléculaires					Allèle du parent haploïde <i>Vidal</i>			Allèle du parent haploïde <i>Clamoresch</i>			
		Locus	Dominance	Type	Position	Indice Position	Non-transmis	Transmis	Fréquence	Non-transmis	Transmis	Fréquence	
C	N11	Na1F11b	D	Microsat	0	0,00	NA	NA	NA	0	111	0,0%	
		PFM191b	Cd	Microsat	30,4	0,27	6	95	5,3%	13	98	11,7%	
		E35M64e	Y	AFLP	47,6	0,42	1	99	1,0%	NA	NA	NA	
		E43M65g	D	AFLP	51	0,45	NA	NA	NA	2	107	1,8%	
		E81M40l	D	AFLP	51	0,45	NA	NA	NA	2	104	1,8%	
		E35M71i	D	AFLP	51	0,45	NA	NA	NA	1	108	0,9%	
		E35M73d	D	AFLP	51	0,45	NA	NA	NA	1	109	0,9%	
		E43M66e	D	AFLP	51	0,45	NA	NA	NA	1	104	1,0%	
		Na12C08	Cd	Microsat	51	0,45	0	100	0,0%	2	108	1,8%	
		E46M64h	D	AFLP	63	0,56	NA	NA	NA	10	97	9,3%	
		012F11a	Cd	Microsat	64,4	0,57	0	93	0,0%	10	99	9,2%	
		CB10587	Cd	Microsat	82,8	0,74	0	94	0,0%	14	88	13,7%	
		CB10081a	Cd	Microsat	111,4	0,99	2	96	2,0%	17	94	15,3%	
		E46M64i	Y	AFLP	112,6	1,00	4	96	4,0%	NA	NA	NA	
		N12	Na12C03	Cd	Microsat	0	0,00	3	98	3,0%	11	97	10,1%
			010C10d	D	Microsat	12	0,01	NA	NA	NA	8	96	7,7%
			010C10b	Y	Microsat	6	0,04	2	91	2,2%	0	4	0,0%
			E43M65f	D	AFLP	12,4	0,08	NA	NA	NA	8	101	7,3%
			010H02	Cd	Microsat	26,8	0,18	2	96	2,0%	5	102	4,7%
			E35M64d	D	AFLP	39,7	0,27	NA	NA	NA	5	99	4,8%
	E43M64b		D	AFLP	40,8	0,28	NA	NA	NA	5	106	4,5%	
	Na12E07a		Y	Microsat	52,7	0,36	0	44	0,0%	NA	NA	NA	
	E46M64a		D	AFLP	57,6	0,39	NA	NA	NA	2	98	2,0%	
	E43M65d		Y	AFLP	67,9	0,46	2	85	2,3%	NA	NA	NA	
	E35M73i		D	AFLP	70	0,48	NA	NA	NA	5	105	4,5%	
	0109A06a		Cd	Microsat	73,7	0,50	3	98	3,0%	6	103	5,4%	
	CB10026a		Cd	Microsat	78,2	0,53	3	97	3,0%	6	101	5,6%	
	Na12H09b		Cd	Microsat	78,2	0,53	3	91	3,2%	6	101	5,5%	
	E35M64a		D	AFLP	86,4	0,59	NA	NA	NA	7	89	7,3%	
	E43M64a		D	AFLP	86,4	0,59	NA	NA	NA	9	101	8,2%	
	PFM519a		Cd	PFM	93,3	0,64	7	87	7,4%	12	94	11,2%	
	Q05.850		D	RAFD	132,9	0,91	NA	NA	NA	14	91	13,3%	
	E88M42d		D	AFLP	132,9	0,91	NA	NA	NA	12	95	11,2%	
	N13		E35M67i	Y	AFLP	24,3	0,13	0	101	0,0%	NA	NA	NA
		JLP01l	Cd	SINE	41,3	0,21	0	82	0,0%	4	104	3,6%	
		MF43	Cd	Microsat	51,7	0,27	0	99	0,0%	3	103	2,8%	
		E81M40e	Y	AFLP	52,7	0,27	0	91	0,0%	NA	NA	NA	
		E81M40f	D	AFLP	62,3	0,32	NA	NA	NA	3	105	2,8%	
		E81M40d	Y	AFLP	62,3	0,32	0	91	0,0%	NA	NA	NA	
		E81M40a	Y	AFLP	81,5	0,42	2	89	2,2%	NA	NA	NA	
		Brass069	Cd	Microsat	94,5	0,49	0	97	0,0%	6	101	5,6%	
		E81M40g	D	AFLP	114,3	0,59	NA	NA	NA	12	96	11,1%	
		CB10057	Cd	Microsat	115,3	0,60	1	99	1,0%	11	94	10,4%	
	N14	JLP001	Cd	SINE	129,8	0,67	5	95	5,0%	15	91	13,9%	
		010E08	Cd	Microsat	145	0,75	5	90	5,1%	19	89	17,3%	
		E81M40b	Y	AFLP	0	0,00	4	87	4,4%	NA	NA	NA	
		Brass072b	D	Microsat	0	0,00	NA	NA	NA	3	98	3,0%	
		Brass063b	Cd	Microsat	25,8	0,19	5	83	5,7%	1	93	1,1%	
		T6B20a	Cd	SCAR	46,4	0,35	3	98	3,0%	0	107	0,0%	
		Brass061	Cd	Microsat	48,3	0,36	2	97	2,0%	0	106	0,0%	
		Na12E07b	Cd	Microsat	51,3	0,39	0	35	0,0%	0	109	0,0%	
		E35M67b	D	AFLP	79	0,59	NA	NA	NA	0	111	0,0%	
		E35M67a	Y	AFLP	80,8	0,61	3	98	3,0%	NA	NA	NA	
	E46M64j	Y	AFLP	82,6	0,62	1	96	1,0%	NA	NA	NA		
	Na12D08	Cd	Microsat	94,5	0,71	4	97	4,0%	5	104	4,6%		
	010D12	Cd	Microsat	133,2	1,00	5	88	5,4%	8	102	7,3%		
	N15	M16.975	D	RAFD	0	0,00	NA	NA	NA	19	87	17,9%	
		E35M71k	D	AFLP	3,5	0,02	NA	NA	NA	12	98	10,8%	
		E46M64g	D	AFLP	32,5	0,22	NA	NA	NA	8	98	7,5%	
		E43M66n	D	AFLP	65,2	0,43	NA	NA	NA	0	110	0,0%	
		CB10027	Cd	Microsat	65,2	0,43	1	91	1,1%	0	110	0,0%	
	N16	012F02a	Cd	Microsat	68	0,45	1	100	1,0%	0	111	0,0%	
		E35M67h	Cd	AFLP	0	0,00	1	100	1,0%	0	111	0,0%	
		E35M67j	D	AFLP	14,1	0,17	NA	NA	NA	0	111	0,0%	
		CB10234	Cd	Microsat	35,4	0,43	1	97	1,0%	0	104	0,0%	
		Brass116	Cd	Microsat	52,4	0,64	1	97	1,0%	2	103	1,8%	
	N17	Na12A02	Cd	Microsat	68,8	0,84	0	97	0,0%	6	97	5,8%	
		E35M73c	Cd	AFLP	73,1	0,89	0	101	0,0%	9	101	8,2%	
		E88M42k	D	AFLP	NA	NA	NA	NA	NA	9	97	8,5%	
		E35M64k	Y	AFLP	81,7	1,00	1	97	1,0%	NA	NA	NA	
		Na10C06	Cd	Microsat	81,7	1,00	1	99	1,0%	9	99	8,3%	
		Brass047	Cd	Microsat	0	0,00	0	97	0,0%	3	90	3,2%	
		Na12E07c	Cd	Microsat	9,1	0,08	0	100	0,0%	3	106	2,8%	
		E35M70f	Y	AFLP	18	0,15	0	101	0,0%	NA	NA	NA	
		E35M67c	Y	AFLP	21,2	0,18	0	101	0,0%	NA	NA	NA	
		CB10534	Cd	Microsat	28,6	0,25	0	96	0,0%	7	91	7,1%	
	N18	CB10299	Cd	Microsat	35,4	0,30	2	84	2,3%	8	77	9,4%	
		Brass014	Cd	Microsat	60,1	0,52	5	91	5,2%	9	86	9,5%	
		E43M70e	D	AFLP	83,1	0,71	NA	NA	NA	10	96	9,4%	
		CB10431a	Y	Microsat	88,1	0,76	0	94	0,0%	NA	NA	NA	
		Na12A10	Cd	Microsat	101,5	0,87	1	98	1,0%	11	99	10,0%	
		JLP053	Cd	SINE	116,6	1,00	2	99	2,0%	11	100	9,9%	
		CB10092	Cd	Microsat	19,6	0,14	2	86	2,3%	10	71	12,2%	
	N19	E35M73b	Y	AFLP	33,2	0,24	2	99	2,0%	NA	NA	NA	
		JLP042	Cd	SINE	46,2	0,34	3	98	3,0%	8	101	7,3%	
		Q05.CD1	Cd	RAFD	64,5	0,47	2	98	2,0%	2	100	2,0%	
		E43M66i	Y	AFLP	119,9	0,88	0	98	0,0%	NA	NA	NA	
		E88M42g	D	AFLP	121,3	0,89	NA	NA	NA	0	107	0,0%	
		E43M66c	D	AFLP	121,3	0,89	NA	NA	NA	0	102	0,0%	
		Brass031	Cd	Microsat	136	1,00	0	101	0,0%	0	111	0,0%	
	N19	E43M64e	D	AFLP	53,9	0,61	NA	NA	NA	4	107	3,6%	
		NP10	Cd	SCAR	63,2	0,71	0	101	0,0%	0	111	0,0%	
		E35M71b	Cd	AFLP	65,5	0,74	NA	NA	NA	0	46	0,0%	
		E35M73a	D	AFLP	71,7	0,81	NA	NA	NA	8	94	7,8%	
		E43M64k	D	AFLP	71,7	0,81	NA	NA	NA	8	103	7,2%	
	Na10D07	Cd	Microsat	74,8	0,85	2	97	2,0%	9	100	8,3%		
	CB10288	Cd	Microsat	74,8	0,85	3	96	3,0%	8	101	7,3%		
	E43M65e	Y	AFLP	88,5	1,00	5	68	6,8%	NA	NA	NA		

ANNEXES N 4 : TABLEAU DE SYNTHÈSE SUR LES INDIVIDUS

Individus			Réarrangements					Fertilité								
Individus	Genotype	Famille	Nb TNR	Nb de CO	Nb d'allèle non-transmis	Nb d'allèle transmis	Fréquence de non-transmission	Grains de Pollen Non colorés	Grains de Pollen Colorés	Pourcent Fertilité Mâle	Nb de graines	Nb de Pistil	Nb de Sillive	Nb Gr/Sil	Nb Gr/Flé	Valeur cytométrie
D1H1	D	D1	3	3	5	127	3.8%	63	915	94%	118	21	18	6,6	5,6	74,13
D1H10	D	D1	2	2	7	138	4.8%	83	952	92%	138	18	16	8,6	7,7	73,66
D1H12	D	D1	5	6	12	130	8.5%	232	996	81%	170	17	17	10,0	10,0	74,57
D1H13	D	D1	3	4	4	134	2.9%	24	905	97%	348	22	21	16,6	15,8	74,97
D1H14	D	D1	1	1	4	133	2.9%	107	913	90%	127	16	12	10,6	7,9	74,4
D1H17	D	D1	4	4	12	120	9.1%	522	661	56%	353	23	19	18,6	15,3	75,19
D1H18	D	D1	2	4	2	135	1.5%	65	1016	94%	150	19	15	10,0	7,9	74,5
D1H19	D	D1	0	0	0	143	0.0%	129	881	87%	284	21	19	14,9	13,5	74,12
D1H2	D	D1	5	6	25	118	17.5%	464	994	68%	49	25	15	3,3	2,0	72,97
D1H22	D	D1	0	0	0	145	0.0%	96	865	90%	241	23	21	11,5	10,5	72,37
D1H23	D	D1	5	6	12	130	8.5%	138	955	87%	335	25	24	14,0	13,4	74,12
D1H25	D	D1	2	3	3	140	2.1%	224	964	81%	172	19	19	9,1	9,1	71,55
D1H28	D	D1	6	6	18	126	12.5%	94	1016	92%	262	17	17	15,4	15,4	72,33
D1H29	D	D1	4	5	9	138	6.1%	454	618	58%	208	25	24	8,7	8,3	73,85
D1H3	D	D1	1	1	1	138	0.7%	267	845	76%	240	25	22	10,9	9,6	75,01
D1H30	D	D1	2	2	2	132	1.5%	138	923	87%	232	18	15	15,5	12,9	73,81
D1H31	D	D1	4	6	8	138	5.5%	87	916	91%	187	16	14	13,4	11,7	74,25
D1H32	D	D1	4	6	4	128	3.0%	122	955	89%	165	19	17	9,7	8,7	73,3
D1H35	D	D1	3	4	6	141	4.1%	79	990	93%	163	14	13	12,5	11,6	75,43
D1H4	D	D1	3	3	6	138	4.2%	40	959	96%	215	19	18	11,9	11,3	74,16
D1H5	D	D1	5	7	11	130	7.8%	421	1048	71%	23	22	14	1,6	1,0	73,72
D1H6	D	D1	2	3	6	127	4.5%	201	1121	85%	352	27	22	16,0	13,0	74,6
D1H8	D	D1	1	1	1	138	0.7%	62	1103	95%	220	16	15	14,7	13,8	75,35
D1H9	D	D1	6	8	10	134	6.9%	171	938	85%	191	26	15	12,7	7,3	75,17
D4H1	D	D4	6	8	15	128	10.5%	168	1111	87%	165	20	17	9,7	8,3	73,05
D4H10	D	D4	6	8	16	128	11.1%	80	995	93%	271	19	19	14,3	14,3	73,02
D4H2	D	D4	2	2	2	137	1.4%	27	1055	98%	276	22	21	13,1	12,5	74,17
D4H5	D	D4	4	4	7	121	5.5%	85	1049	93%	162	18	16	10,1	9,0	73,82
D4H6	D	D4	5	6	11	130	7.8%	132	1176	90%	180	22	21	8,6	8,2	73,75
D4H7	D	D4	2	2	7	132	5.0%	414	849	67%	71	14	10	7,1	5,1	73,55
D4H8	D	D4	5	5	11	133	7.6%	344	920	73%	78	16	14	5,6	4,9	74,98
D4H9	D	D4	0	0	0	144	0.0%	22	998	98%	119	21	16	7,4	5,7	72,64
D5H1	D	D5	5	7	6	139	4.1%	591	833	58%	249	24	18	13,8	10,4	75
D5H10	D	D5	4	5	8	136	5.6%	597	788	57%	257	19	19	13,5	13,5	73,07
D5H12	D	D5	3	3	5	137	3.5%	725	643	47%	72	19	17	4,2	3,8	73,45
D5H14	D	D5	3	3	9	134	6.3%	578	797	58%	292	20	20	14,6	14,6	72,11
D5H16	D	D5	0	0	0	143	0.0%	85	997	92%	355	20	19	18,7	17,8	74,44
D5H2	D	D5	8	10	18	127	12.4%	438	663	60%	123	20	19	6,5	6,2	72,66
D5H3	D	D5	3	4	6	133	4.3%	200	950	83%	148	11	10	14,8	13,5	73,95
D5H5	D	D5	3	4	6	140	4.1%	110	960	90%	308	21	21	14,7	14,7	72,76
D5H7	D	D5	2	2	7	133	5.0%	403	1026	72%	213	17	17	12,5	12,5	75,26
D5H8	D	D5	1	2	1	144	0.7%	78	902	92%	409	20	20	20,5	20,5	74,74
D5H9	D	D5	0	0	0	138	0.0%	68	1084	94%	170	18	17	10,0	9,4	73,95
D8H1	D	D8	4	5	10	137	6.8%	358	1028	74%	234	16	16	14,6	14,6	75,26
D8H12	D	D8	1	1	7	133	5.0%	NA	NA	NA	18	10	9	2,0	1,8	73,48
D8H13	D	D8	5	6	6	137	4.2%	143	1040	88%	144	21	20	7,2	6,9	73,98
D8H14	D	D8	4	5	11	121	8.3%	85	974	92%	217	26	23	9,4	8,3	72,76
D8H17	D	D8	4	5	6	130	4.4%	366	912	71%	98	16	14	7,0	6,1	72,72
D8H19	D	D8	1	1	1	141	0.7%	174	951	85%	123	23	22	5,6	5,3	74,08
D8H20	D	D8	2	2	4	132	2.9%	57	1029	95%	123	22	17	7,2	5,6	73,38
D8H21	D	D8	2	3	10	133	7.0%	99	969	91%	114	18	16	7,1	6,3	73,85
D8H22	D	D8	2	3	5	140	3.5%	86	911	91%	220	18	16	13,8	12,2	72,41
D8H23	D	D8	1	1	3	142	2.1%	102	1001	91%	222	18	18	12,3	12,3	75,13
D8H24	D	D8	2	2	4	138	2.8%	125	812	87%	211	20	19	11,1	10,6	74,77
D8H26	D	D8	2	2	2	145	1.4%	70	1001	93%	132	22	18	7,3	6,0	72,38
D8H28	D	D8	1	1	1	144	0.7%	335	882	72%	85	21	19	4,5	4,0	73,57
D8H29	D	D8	3	3	4	126	3.1%	777	766	50%	110	22	19	5,8	5,0	75,08
D8H3	D	D8	4	4	7	140	4.8%	90	1052	92%	250	22	22	11,4	11,4	73,88
D8H31	D	D8	2	3	2	140	1.4%	46	1056	96%	74	22	12	6,2	3,4	73,6
D8H32	D	D8	2	3	4	137	2.8%	39	974	96%	135	25	20	6,8	5,4	73,82
D8H33	D	D8	5	5	10	130	7.1%	NA	NA	NA	61	21	15	4,1	2,9	75,35
D8H34	D	D8	3	4	3	138	2.1%	61	882	94%	204	21	21	9,7	9,7	74
D8H35	D	D8	4	5	6	135	4.3%	213	955	82%	172	18	16	10,8	9,6	74,32
D8H36	D	D8	1	1	2	142	1.4%	24	1148	98%	186	21	16	11,6	8,9	74,12
D8H4	D	D8	4	5	7	136	4.9%	160	1014	86%	81	10	9	9,0	8,1	74,67
D8H5	D	D8	3	3	5	139	3.5%	334	906	73%	455	22	20	22,8	20,7	73,91
D8H6	D	D8	4	5	9	137	6.2%	414	972	70%	279	24	23	12,1	11,6	73,28
D8H7	D	D8	2	3	6	137	4.2%	68	995	94%	245	25	24	10,2	9,8	72,5
D8H9	D	D8	1	1	6	137	4.2%	69	1095	94%	199	24	24	8,3	8,3	72,62
D11H1	D	D11	3	3	8	136	5.6%	163	913	85%	176	23	21	8,4	7,7	73,92
D11H10	D	D11	3	3	14	125	10.1%	104	1113	91%	77	21	15	5,1	3,7	74,3
D11H11	D	D11	5	8	11	129	7.9%	95	1067	92%	228	21	21	10,9	10,9	74,47
D11H12	D	D11	2	3	3	137	2.1%	79	996	93%	168	19	16	10,5	8,8	72,56
D11H13	D	D11	5	5	10	134	6.9%	655	784	54%	128	17	15	8,5	7,5	74,73
D11H14	D	D11	3	3	9	131	6.4%	356	850	70%	231	22	20	11,6	10,5	73,16
D11H15	D	D11	4	4	9	133	6.3%	241	837	78%	173	17	16	10,8	10,2	72,82
D11H17	D	D11	2	3	7	134	5.0%	135	944	87%	245	17	17	14,4	14,4	72,5
D11H18	D	D11	0	0	8	134	5.6%	110	916	89%	116	19	19	6,1	6,1	73,52
D11H19	D	D11	5	7	12	125	8.8%	291	798	73%	51	12	10	5,1	4,3	74,72
D11H2	D	D11	2	2	7	138	4.8%	109	1012	90%	224	18	15	14,9	12,4	73,33
D11H3	D	D11	2	3	8	137	5.5%	519	729	58%	198	20	18	11,0	9,9	72,51
D11H4	D	D11	2	2	2	132	1.5%	299	922	76%	197	24	21	9,4	8,2	73,75
D11H6	D	D11	4	5	8	134	5.6%	33	989	97%	60	5	5	12,0	12,0	75,23
D11H7	D	D11	5	6	7	136	4.9%	193	1022	84%	28	14	10	2,8	2,0	73,77
D11H9	D	D11	2	3	4	141	2.8%	474	954	67%	181	21	21	8,6	8,6	75,13
D13H10	D	D13	2	3	4	139	2.8%	36	1081	97%	168	16	15	11,2	10,5	73,7
D13H12	D	D13	1	1	1	143	0.7%	60	1208	95%	202	19	17	11,9	10,6	75,06
D13H13	D	D13	5	7	16	125	11.3%	577	865	60%	136	21	20	6,8	6,5	73,22
D13H14	D	D13	7	10	11	129	7.9%	93	889	91%	93	17	16	5,8	5,5	72,13
D13H15	D	D13	3	3	12	127	8.6%	377	887	70%	203	22	19	10,7	9,2	74,73
D13H17	D	D13	9	13	28	112	20.0%	464	1015	69%	58	11	10	5,8	5,3	72,47
D13H19	D	D13	9	10	22	116	15.9%	351	880	71%	87	18	18	4,8	4,8	72,68
D13H2																

ANNEXES N°4 : TABLEAU DE SYNTHÈSE SUR LES INDIVIDUS

Individus			Réarrangements					Fertilité								
Individus	Genotype	Famille	Nb TNR	Nb de CO	Nb d'allèle non-transmis	Nb d'allèle transmis	Fréquence de non-transmission	Grains de Pollen Non colorés	Grains de Pollen Colorés	Pourcent Fertilité Mâle	Nb de graines	Nb de Pistil	Nb de Siliquie	Nb Gr/Sil	Nb Gr/Fle	Valeur cytométrie
Y2H1	Y	Y2	1	1	1	131	0,8%	22	1010	98%	300	21	20	15,0	14,3	74,6
Y2H3	Y	Y2	0	0	0	132	0,0%	31	985	97%	187	14	10	18,7	13,4	74,4
Y2H4	Y	Y2	1	1	1	128	0,8%	29	885	97%	402	22	15	26,8	18,3	73,44
Y3H1	Y	Y3	2	3	2	132	1,5%	33	1095	97%	377	20	19	19,8	18,9	71,93
Y3H10	Y	Y3	2	2	2	137	1,4%	NA	NA	NA	288	21	17	16,9	13,7	72,39
Y3H11	Y	Y3	5	5	8	131	5,8%	54	1048	95%	386	24	18	21,4	16,1	71,19
Y3H13	Y	Y3	0	0	0	135	0,0%	19	963	98%	247	23	17	14,5	10,7	73,86
Y3H14	Y	Y3	2	3	2	135	1,5%	45	953	95%	402	27	22	18,3	14,9	74,09
Y3H15	Y	Y3	1	1	1	135	0,7%	29	984	97%	428	23	18	23,8	18,6	75,68
Y3H16	Y	Y3	1	1	1	137	0,7%	36	1063	97%	246	23	15	16,4	10,7	74,26
Y3H17	Y	Y3	0	0	0	123	0,0%	NA	NA	NA	73	8	8	9,1	9,1	72,81
Y3H18	Y	Y3	1	2	2	131	1,5%	34	1194	97%	326	19	17	19,2	17,2	74,97
Y3H2	Y	Y3	1	1	1	134	0,7%	22	1085	98%	352	22	16	22,0	16,0	73,29
Y3H3	Y	Y3	1	1	2	128	1,5%	36	996	97%	447	22	19	23,5	20,3	72,72
Y3H4	Y	Y3	0	0	0	138	0,0%	42	954	96%	100	10	5	20,0	10,0	73,03
Y3H6	Y	Y3	0	0	0	139	0,0%	18	1020	98%	216	19	10	21,6	11,4	73,36
Y3H7	Y	Y3	1	2	2	137	1,4%	43	1095	96%	433	22	17	25,5	19,7	74,01
Y3H9	Y	Y3	3	4	6	131	4,4%	32	1070	97%	264	15	14	18,9	17,6	71,83
Y5H1	Y	Y5	0	0	0	135	0,0%	27	964	97%	498	23	21	23,7	21,7	71,84
Y5H10	Y	Y5	1	1	3	130	2,3%	24	986	98%	278	17	14	19,9	16,4	73,94
Y5H2	Y	Y5	1	1	2	133	1,5%	35	1081	97%	361	25	21	17,2	14,4	72,64
Y5H3	Y	Y5	2	2	2	124	1,6%	30	1060	97%	523	24	23	22,7	21,8	73,36
Y5H4	Y	Y5	0	0	0	130	0,0%	40	1310	97%	522	26	24	21,8	20,1	74,01
Y5H5	Y	Y5	0	0	0	137	0,0%	NA	NA	NA	191	13	13	14,7	14,7	73,84
Y5H6	Y	Y5	0	0	0	129	0,0%	188	1266	87%	506	25	24	21,1	20,2	74,86
Y5H7	Y	Y5	1	1	2	133	1,5%	50	1357	96%	389	24	20	19,5	16,2	73,66
Y5H8	Y	Y5	0	0	0	137	0,0%	NA	NA	NA	390	24	22	17,7	16,3	74,25
Y5H9	Y	Y5	1	1	2	118	1,7%	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
Y6H1	Y	Y6	3	5	3	115	2,5%	NA	NA	NA	198	23	18	11,0	8,6	71,73
Y6H10	Y	Y6	0	0	0	132	0,0%	74	1014	93%	385	26	23	16,7	14,8	75,95
Y6H12	Y	Y6	1	2	1	135	0,7%	47	1218	96%	414	25	22	18,8	16,6	75,04
Y6H2	Y	Y6	2	2	7	128	5,2%	47	927	95%	413	26	23	18,0	15,9	74,8
Y6H3	Y	Y6	4	3	8	128	5,9%	41	1002	96%	454	27	27	16,8	16,8	72,8
Y6H4	Y	Y6	2	2	2	130	1,5%	26	1065	98%	540	27	26	20,8	20,0	74,16
Y6H5	Y	Y6	1	1	1	133	0,7%	35	937	96%	653	30	29	22,5	21,8	75,41
Y6H6	Y	Y6	4	6	6	130	4,4%	268	1347	83%	369	28	28	13,2	13,2	72,7
Y6H7	Y	Y6	0	0	0	135	0,0%	NA	NA	NA	322	28	22	14,6	11,5	74,54
Y6H8	Y	Y6	0	0	0	139	0,0%	25	997	98%	474	25	23	20,6	19,0	75,06
Y6H9	Y	Y6	1	1	1	136	0,7%	63	1068	94%	146	26	18	8,1	5,6	75,5
Y7H10	Y	Y7	0	0	0	129	0,0%	39	1365	97%	298	20	16	18,6	14,9	72,49
Y7H11	Y	Y7	0	0	0	131	0,0%	43	1063	96%	165	13	12	13,8	12,7	71
Y7H12	Y	Y7	1	1	2	128	1,5%	58	1408	96%	209	14	13	16,1	14,9	72,36
Y7H13	Y	Y7	0	0	0	126	0,0%	34	1013	97%	482	24	22	21,9	20,1	72,77
Y7H14	Y	Y7	0	0	0	128	0,0%	27	1094	98%	256	23	19	13,5	11,1	73,14
Y7H3	Y	Y7	0	0	0	129	0,0%	31	1123	97%	207	23	15	13,8	9,0	74,1
Y7H4	Y	Y7	1	1	1	134	0,7%	24	1057	98%	350	23	19	18,4	15,2	73,63
Y7H5	Y	Y7	1	1	2	128	1,5%	38	1004	96%	161	17	13	12,4	9,5	74,65
Y7H6	Y	Y7	1	1	1	131	0,8%	28	1152	98%	375	22	20	18,8	17,0	71,87
Y7H7	Y	Y7	2	3	4	131	3,0%	47	1182	96%	278	23	22	12,6	12,1	72,98
Y7H8	Y	Y7	2	4	3	135	2,2%	26	1118	98%	322	28	17	18,9	11,5	72,69
Y7H9	Y	Y7	0	0	0	134	0,0%	22	1017	98%	448	25	23	19,5	17,9	72,03
Y8H1	Y	Y8	1	1	1	131	0,8%	34	1010	97%	671	30	28	24,0	22,4	73,14
Y8H12	Y	Y8	1	1	1	130	0,8%	26	939	97%	438	26	23	19,0	16,8	74,13
Y8H14	Y	Y8	1	1	1	126	0,8%	34	1160	97%	395	25	23	17,2	15,8	75,34
Y8H2	Y	Y8	0	0	0	131	0,0%	24	1159	98%	570	29	28	20,4	19,7	73,67
Y8H3	Y	Y8	0	0	0	135	0,0%	43	996	96%	473	28	26	18,2	16,9	74,41
Y8H5	Y	Y8	1	1	1	130	0,8%	71	742	91%	363	21	19	19,1	17,3	74,76
Y8H7	Y	Y8	0	0	0	129	0,0%	57	980	95%	291	36	23	12,7	8,1	76,35
Y9H1	Y	Y9	1	1	4	122	3,2%	83	957	92%	447	20	50	8,9	22,4	76,08
Y9H11	Y	Y9	1	2	2	131	1,5%	19	1216	98%	325	21	17	19,1	15,5	73,85
Y9H12	Y	Y9	1	2	6	113	5,0%	367	905	71%	94	10	10	9,4	9,4	73,73
Y9H14	Y	Y9	0	0	0	136	0,0%	21	1178	98%	407	23	18	22,6	17,7	74,42
Y9H15	Y	Y9	1	1	1	131	0,8%	57	1074	95%	538	24	23	23,4	22,4	74,68
Y9H16	Y	Y9	1	1	2	129	1,5%	94	942	91%	288	22	22	13,1	13,1	73,86
Y9H17	Y	Y9	1	1	1	133	0,7%	24	1104	98%	176	18	9	19,6	9,8	74,84
Y9H18	Y	Y9	1	1	1	131	0,8%	32	1120	97%	302	22	21	14,4	13,7	72,84
Y9H19	Y	Y9	0	0	0	127	0,0%	58	1202	95%	457	22	18	25,4	20,8	75,19
Y9H2	Y	Y9	0	0	0	127	0,0%	59	1259	96%	521	22	22	23,7	23,7	74,28
Y9H20	Y	Y9	0	0	0	134	0,0%	109	1006	90%	434	32	25	17,4	13,6	74,46
Y9H21	Y	Y9	0	0	0	123	0,0%	37	1073	97%	419	24	23	18,2	17,5	74,68
Y9H3	Y	Y9	1	1	3	132	2,2%	61	1126	95%	167	22	19	8,8	7,6	75,79
Y9H4	Y	Y9	2	3	3	114	2,6%	NA	NA	NA	127	8	8	15,9	15,9	74,67
Y9H5	Y	Y9	2	2	4	127	3,1%	34	1056	97%	475	23	18	26,4	20,7	73,48
Y9H6	Y	Y9	1	1	1	134	0,7%	70	1109	94%	482	31	25	19,3	15,5	74,31
Y9H8	Y	Y9	0	0	0	131	0,0%	42	1184	97%	491	22	21	23,4	22,3	74
Y9H9	Y	Y9	0	0	0	131	0,0%	25	1012	98%	451	19	19	23,7	23,7	74,11
Y10H10	Y	Y10	1	1	1	118	0,8%	30	1179	98%	341	21	19	17,9	16,2	74,59
Y10H11	Y	Y10	1	1	2	129	1,5%	98	1010	91%	309	22	19	16,3	14,0	74,28
Y10H13	Y	Y10	3	3	8	119	6,3%	222	782	78%	385	25	24	16,0	15,4	74,37
Y10H14	Y	Y10	1	2	2	122	1,6%	21	1108	98%	447	23	23	19,4	19,4	73,73
Y10H15	Y	Y10	2	3	4	123	3,2%	91	954	91%	361	22	20	18,1	16,4	75,59
Y10H16	Y	Y10	1	1	1	129	0,8%	97	1448	94%	347	22	19	18,3	15,8	74,42
Y10H17	Y	Y10	1	1	2	124	1,6%	64	1419	96%	412	20	18	22,9	20,6	73,86
Y10H2	Y	Y10	3	4	3	128	2,3%	28	1037	97%	450	25	24	18,8	18,0	74,09
Y10H3	Y	Y10	1	1	1	134	0,7%	75	1090	94%	367	21	21	17,5	17,5	73,8
Y10H4	Y	Y10	0	0	8	124	6,1%	37	1020	96%	324	21	19	17,1	15,4	72,97
Y10H5	Y	Y10	1	1	1	133	0,7%	21	1237	98%	546	21	21	26,0	26,0	73,85
Y10H6	Y	Y10	1	1	1	129	0,8%	29	1123	97%	393	20	20	19,7	19,7	74,88
Y10H7	Y	Y10	3	5	7	122	5,4%	33	987	97%	415	23	21	19,8	18,0	73,71
Y10H8	Y	Y10	0	0	0	125	0,0%	27	1088	98%	413	20	20	20,7	20,7	72,64
Y10H9	Y	Y10	4													

ANNEXES n°5 : TABLEAU DE SYNTHÈSE SUR LE COMPORTEMENT MEIOTIQUE

Individus			Réarrangements					Fertilité								Comportement méiotique									
Individus	Genotype	Famille	Nb TNR	Nb de CO	Nb d'allèle non-transmis	Nb d'allèle transmis	Fréquence de non-transmission	Grains de Pollen Non colorés	Grains de Pollen Colorés	Pourcent Fertilité Mâle	Nb de graines	Nb de Pistil	Nb de Silique	Nb Gr/Sil	Nb Gr/Fle	Valeur cyto	Nb I	Nb II	Nb III	Nb IV	Nb cellules	Nb cellules avec multivalent	Pourcent cellules avec multivalent	Nb cellules avec 19 bivalents	Pourcent cellules avec 19 bivalents
D1H10	D	D1	2	2	7	138	4.8%	83	952	92%	138	18	16	8,6	7,7	73,7	12	387	0	3	21	3	14%	12	57%
D1H12	D	D1	5	6	12	130	8.5%	232	996	81%	170	17	17	10,0	10,0	74,6	0	188	0	1	10	1	10%	9	90%
D1H13	D	D1	3	4	4	134	2.9%	24	905	97%	348	22	21	16,6	15,8	75,0	2	379	0	0	20	0	0%	19	95%
D1H17	D	D1	4	4	12	120	9.1%	522	661	56%	353	23	19	18,6	15,3	75,2	2	320	0	1	17	1	6%	15	88%
D1H2	D	D1	5	6	25	118	17.5%	464	994	68%	49	25	15	3,3	2,0	73,0	10	183	0	1	10	1	10%	5	50%
D1H29	D	D1	4	5	9	138	6.1%	454	618	58%	208	25	24	8,7	8,3	73,9	1	148	1	1	8	2	25%	6	75%
D1H30	D	D1	2	2	2	132	1.5%	138	923	87%	232	18	15	15,5	12,9	73,8	6	261	0	1	14	1	7%	10	71%
D1H35	D	D1	3	4	6	141	4.1%	79	990	93%	163	14	13	12,5	11,6	75,4	3	388	1	4	21	5	24%	15	71%
D1H6	D	D1	2	3	6	127	4.5%	201	1121	85%	352	27	22	16,0	13,0	74,6	2	392	0	3	21	3	14%	17	81%
D1H9	D	D1	6	8	10	134	6.9%	171	938	85%	191	26	15	12,7	7,3	75,2	0	150	0	1	8	1	13%	7	88%
D4H10	D	D4	6	8	16	128	11.1%	80	995	93%	271	19	19	14,3	14,3	73,0	4	372	0	3	20	3	15%	15	75%
D4H5	D	D4	4	4	7	121	5.5%	85	1049	93%	162	18	16	10,1	9,0	73,8	13	368	1	2	20	2	10%	12	60%
D4H9	D	D4	0	0	0	144	0.0%	22	998	98%	119	21	16	7,4	5,7	72,6	0	283	0	1	15	1	7%	14	93%
D5H1	D	D5	5	7	6	139	4.1%	591	833	58%	249	24	18	13,8	10,4	75,0	5	277	1	2	15	3	20%	10	67%
D5H3	D	D5	3	4	6	133	4.3%	200	950	83%	148	11	10	14,8	13,5	74,0	0	260	0	3	14	3	21%	11	79%
D5H5	D	D5	3	4	6	140	4.1%	110	960	90%	308	21	21	14,7	14,7	72,8	5	368	1	4	20	5	25%	13	65%
D8H13	D	D8	5	6	6	137	4.2%	143	1040	88%	144	21	20	7,2	6,9	74,0	6	369	0	4	20	4	20%	13	65%
D8H14	D	D8	4	5	11	121	8.3%	85	974	92%	217	26	23	9,4	8,3	72,8	5	517	1	15	29	15	52%	13	45%
D8H21	D	D8	2	3	10	133	7.0%	99	969	91%	114	18	16	7,1	6,3	73,9	8	368	0	4	20	4	20%	13	65%
D8H23	D	D8	1	1	3	142	2.1%	102	1001	91%	222	18	18	12,3	12,3	75,1	3	362	3	6	20	9	45%	11	55%
D8H35	D	D8	4	5	6	135	4.3%	213	955	82%	172	18	16	10,8	9,6	74,3	0	95	0	0	5	0	0%	5	100%
D8H36	D	D8	1	1	2	142	1.4%	24	1148	98%	186	21	16	11,6	8,9	74,1	2	223	0	2	12	2	17%	9	75%
D8H4	D	D8	4	5	7	136	4.9%	160	1014	86%	81	10	9	9,0	8,1	74,7	4	279	0	2	15	2	13%	11	73%
D8H6	D	D8	4	5	9	137	6.2%	414	972	70%	279	24	23	12,1	11,6	73,3	2	147	0	2	8	2	25%	5	63%
D8H9	D	D8	1	1	6	137	4.2%	69	1095	94%	199	24	24	8,3	8,3	72,6	4	393	0	2	21	2	10%	17	81%
D11H11	D	D11	5	8	11	129	7.9%	95	1067	92%	228	21	21	10,9	10,9	74,5	4	201	0	3	11	3	27%	6	55%
D11H13	D	D11	5	5	10	134	6.9%	655	784	54%	128	17	15	8,5	7,5	74,7	7	295	1	2	16	3	19%	11	69%
D11H18	D	D11	0	0	8	134	5.6%	110	916	89%	116	19	19	6,1	6,1	73,5	9	348	9	7	20	15	75%	5	25%
D11H19	D	D11	5	7	12	125	8.8%	291	798	73%	51	12	10	5,1	4,3	74,7	12	436	0	7	24	5	21%	14	58%
D11H2	D	D11	2	2	7	138	4.8%	109	1012	90%	224	18	15	14,9	12,4	73,3	0	408	0	5	22	5	23%	17	77%
D13H13	D	D13	5	7	16	125	11.3%	577	865	60%	136	21	20	6,8	6,5	73,2	4	292	4	2	16	6	38%	10	63%
D13H17	D	D13	9	13	28	112	20.0%	464	1015	69%	58	11	10	5,8	5,3	72,5	4	338	0	1	18	1	6%	15	83%
D13H19	D	D13	9	10	22	116	15.9%	351	880	71%	87	18	18	4,8	4,8	72,7	2	278	0	3	15	3	20%	11	73%
Y3H13	Y	Y3	0	0	0	135	0.0%	19	963	98%	247	23	17	14,5	10,7	73,9	0	378	0	1	20	1	5%	19	95%
Y3H18	Y	Y3	1	2	2	131	1.5%	34	1194	97%	326	19	17	19,2	17,2	75,0	2	322	0	0	17	0	0%	16	94%
Y3H2	Y	Y3	1	1	1	134	0.7%	22	1085	98%	352	22	16	22,0	16,0	73,3	2	377	0	1	20	1	5%	18	90%
Y3H3	Y	Y3	1	1	2	128	1.5%	36	996	97%	447	22	19	23,5	20,3	72,0	0	431	0	3	23	3	13%	20	87%
Y3H6	Y	Y3	0	0	0	139	0.0%	18	1020	98%	216	19	10	21,6	11,4	73,4	2	282	0	1	15	1	7%	13	87%
Y3H9	Y	Y3	3	4	6	131	4.4%	32	1070	97%	264	15	14	18,9	17,6	71,8	0	319	0	2	17	2	12%	15	88%
Y6H4	Y	Y6	2	2	2	130	1.5%	26	1065	98%	540	27	26	20,8	20,0	74,2	2	339	0	1	18	1	6%	16	89%
Y6H8	Y	Y6	0	0	0	139	0.0%	25	997	98%	474	25	23	20,6	19,0	75,1	7	407	1	3	22	4	18%	15	68%
Y7H3	Y	Y7	0	0	0	129	0.0%	31	1123	97%	207	23	15	13,8	9,0	74,1	4	281	0	1	15	1	7%	12	80%
Y9H11	Y	Y9	1	2	2	131	1.5%	19	1216	98%	325	21	17	19,1	15,5	73,9	1	357	1	1	19	2	11%	17	89%
Y9H14	Y	Y9	0	0	0	136	0.0%	21	1178	98%	407	23	18	22,6	17,7	74,4	18	409	0	0	22	0	0%	13	59%
Y10H13	Y	Y10	3	3	8	119	6.3%	222	782	78%	385	25	24	16,0	15,4	74,4	28	374	0	1	20	1	5%	15	75%
Y10H14	Y	Y10	1	2	2	122	1.6%	21	1108	98%	447	23	23	19,4	19,4	73,7	9	372	1	1	20	2	10%	14	70%
Y10H5	Y	Y10	1	1	1	133	0.7%	21	1237	98%	546	21	21	26,0	26,0	73,9	2	451	0	2	24	2	8%	21	88%
Y11H11	Y	Y11	1	1	2	133	1.5%	15	950	98%	441	23	22	20,0	19,2	73,9	9	453	1	8	25	9	36%	14	56%
Y11H4	Y	Y11	2	3	2	130	1.5%	24	932	97%	293	20	20	14,7	14,7	74,9	0	207	0	1	11	1	9%	10	91%
Y11H7	Y	Y11	1	2	3	129	2.3%	22	1103	98%	230	21	17	13,5	11,0	73,0	4	338	0	1	18	1	6%	15	83%
Y11H9	Y	Y11	4	5	6	128	4.5%	71	1070	94%	204	19	19	10,7	10,7	72,5	3	377	1	0	20	1	5%	18	90%

ANNEXES n°6 : TABLEAU DE SYNTHÈSE SUR LES INTERVALLES

Génome	Lydiate	Intervalle	Nom Intervalle	Type	Renseignement Intervalle							Fréquence de point de cassure dans les intervalles											
					Taille Intervalle	Position Int Moyenne	Eloign Centro Abs locus 1	Eloign Centro Abs locus 2	Eloign Centro Abs Int moyen	Bloc Synchronisation locus 1	Bloc Synchronisation locus 2	Rupture Synchronisation	Nb Rec Damior-bzh	Nb Non Rec Damior-bzh	Fréquence homo Damior-bzh	Nb Rec Homo Yudal	Nb Non Rec Homo Yudal	Fréquence homo Yudal	Nb Rec Homo	Nb Non Rec Homo	Fréquence homo		
N1		IC39	O12F11b-Bras04	Cd	5	75	21	27	24	B4	B4	NON	6	105	5%	0	101	0%	8	134	6%		
		IC8	Bras04-Bras026	Cd	8	82	27	35	31	B4	NA	NON	3	108	3%	2	99	2%	11	132	8%		
		ID15	CB10081b-M16.580	D	12	6	51	39	45	B4	B4	NON	2	109	2%	NA	NA	NA	9	69	12%		
		ID16	M16.580-CB10097	D	13	19	39	26	32	B4	B4	NON	2	109	2%	NA	NA	NA	9	72	11%		
		ID20	Bras026-E35M70b	D	21	96	35	56	45	NA	A3	NON	10	101	9%	NA	NA	NA	18	60	23%		
		ID21	E35M70b-a157266	D	4	109	56	60	58	A3	A3	NON	5	106	5%	NA	NA	NA	3	74	4%		
		ID300	CB10097-OH12F11b	D	47	49	26	21	23	B4	B4	NON	6	105	5%	NA	NA	NA	23	58	28%		
		Y10	CB10097-E43M64h	Y	32	41	26	6	16	B4	B4	NON	NA	NA	NA	2	99	2%	12	37	24%		
		Y11	E43M64h-OH12F11b	Y	15	65	6	21	14	B4	B4	NON	NA	NA	NA	0	101	0%	10	66	13%		
		Y15	a157266-PFM191c	Y	0	111	60	60	60	A3	A3	NON	NA	NA	NA	0	101	0%	0	0	NA		
		Y16	PFM191c-Na14F11a	Y	23	122	60	83	71	A3	A3	NON	NA	NA	NA	4	97	4%	0	0	NA		
		Y304	O12F11b-Bras04	Y	5	75	21	27	24	B4	B4	NON	NA	NA	NA	1	100	1%	8	134	6%		
		N2		ID110	Bras037-E43M65a	D	31	42	23	9	15	E5	NA	NON	13	98	12%	NA	NA	NA	19	59	24%
				ID111	E43M65a-E86M42j	D	26	71	8	34	21	NA	B6	NON	0	111	0%	NA	NA	NA	0	0	NA
				ID112	E86M42j-OH10C10c	D	6	86	34	39	37	B5	F5	OUI	3	108	3%	NA	NA	NA	0	0	NA
Y100	Na12H09c-E96M42e			Y	5	48	5	0	2	E5	NA	NON	NA	NA	NA	3	98	3%	0	0	NA		
Y101	E86M42e-E43M65b			Y	5	52	0	5	2	NA	NA	NON	NA	NA	NA	2	99	2%	0	0	NA		
Y102	E43M65b-OH10C10a			Y	41	75	5	46	25	NA	F5	NON	NA	NA	NA	3	98	3%	10	22	31%		
Y98	PFM519b-Bras037			Y	5	25	28	23	26	A5	E5	OUI	NA	NA	NA	4	97	4%	6	116	5%		
Y99	Bras037-Na12H09c			Y	18	36	23	5	14	E5	E5	NON	NA	NA	NA	6	95	6%	22	111	17%		
N3				ICd17	CB10415-IH08.a	Cd	8	58	34	26	30	A3	A3	NON	1	110	1%	0	101	0%	3	38	7%
				ICd2	Bras029-CB10021a	Cd	24	156	56	80	68	E5	A5	OUI	3	108	3%	6	95	6%	21	46	31%
				ICd45	T6B20b-Bras029	Cd	16	136	40	56	48	C2	E5	OUI	3	108	3%	0	101	0%	21	113	16%
				ID308	PFM81-CB10415	D	28	40	62	34	48	B4	A3	OUI	0	111	0%	NA	NA	NA	10	42	19%
				ID50	E35M64c-E35M70a	D	4	24	66	62	64	B4	B4	NON	1	110	1%	NA	NA	NA	4	69	5%
				ID505	PFM81-CB10415	D	28	40	62	34	48	B4	A3	OUI	0	111	0%	NA	NA	NA	10	42	19%
				ID51	E35M70a-PFM81	D	0	26	62	62	62	B4	B4	NON	0	111	0%	NA	NA	NA	0	40	0%
		ID54	IH08.a-E86M42c	D	10	67	26	16	21	A3	A3	NON	3	108	3%	NA	NA	NA	0	0	NA		
		ID55	E86M42c-T6B20b	D	56	100	16	40	28	A3	C2	NON	7	104	6%	NA	NA	NA	0	0	NA		
		Y306	IH08.a-T6B20b	Y	66	95	26	40	33	A3	C2	NON	NA	NA	NA	1	100	1%	17	24	41%		
		Y40	PFM81-E35M67g	Y	22	37	62	40	51	B4	B5	OUI	NA	NA	NA	0	101	0%	4	30	12%		
		Y41	E35M67g-CB10415	Y	5	75	40	34	37	B5	A3	OUI	NA	NA	NA	1	100	1%	3	39	7%		
		Y500	IH08.a-T6B20b	Y	66	95	26	40	33	A3	C2	NON	NA	NA	NA	1	100	1%	17	24	41%		
		N4		ID133	CB10347-E86M42m	D	12	6	11	1	6	D3	NA	NON	1	110	1%	NA	NA	NA	0	0	NA
				ID134	E86M42m-IC07.b	D	3	13	1	1	2	NA	B2	NON	0	111	0%	NA	NA	NA	0	0	NA
ID137	CB10335-M16.1060			D	3	56	44	47	45	C2	C2	NON	2	109	2%	NA	NA	NA	1	49	2%		
ID138	M16.1060-OH1D12c			D	8	62	47	55	51	C2	C2	NON	2	109	2%	NA	NA	NA	0	0	NA		
ID301	CB10196-CB10335			D	11	49	33	44	38	C2	C2	NON	10	101	9%	NA	NA	NA	3	45	6%		
ID305	IC07.b-CB10196			D	30	29	3	33	18	B2	C2	OUI	4	107	4%	NA	NA	NA	6	34	15%		
ID502	IC07.b-CB10196			D	30	29	3	33	18	B2	C2	OUI	4	107	4%	NA	NA	NA	6	34	15%		
Y124	CB10347-E35M64j			Y	5	3	11	6	8	D3	D3	NON	NA	NA	NA	0	101	0%	2	38	5%		
Y125	E35M64j-E43M70b			Y	7	8	6	1	3	D3	NA	NON	NA	NA	NA	0	101	0%	5	67	7%		
Y126	E43M70b-E46M64k			Y	1	12	2	1	1	NA	NA	NON	NA	NA	NA	0	101	0%	1	128	1%		
Y127	E46M64k-IC07.b			Y	2	14	2	3	3	NA	B2	NON	NA	NA	NA	0	101	0%	1	36	3%		
Y128	IC07.b-E43M64j			Y	7	18	3	10	7	B2	C2	OUI	NA	NA	NA	0	101	0%	4	32	11%		
Y129	E43M64j-CB10196			Y	23	33	10	33	22	C2	C2	NON	NA	NA	NA	0	101	0%	2	33	6%		
Y130	CB10196-E35M71m			Y	11	49	33	44	38	C2	C2	NON	NA	NA	NA	0	101	0%	2	34	6%		
Y131	E35M71m-CB10335			Y	0	55	44	44	44	C2	C2	NON	NA	NA	NA	1	100	1%	0	36	0%		
N5		ICd7	Bras072a-PFM679	Cd	18	9	55	37	46	C2	C2	NON	3	108	3%	0	101	0%	6	35	15%		
		ID163	PFM679-E43M66h	D	15	25	37	22	30	C2	C2	NON	3	108	3%	NA	NA	NA	2	29	6%		
		ID164	E43M66h-PFM225	D	22	44	22	0	11	C2	NA	NON	0	111	0%	NA	NA	NA	19	54	26%		
		ID165	PFM225-E43M67h	D	1	55	0	1	1	NA	NA	NON	1	110	1%	NA	NA	NA	1	79	1%		
		ID166	E43M67h-E35M64f	D	0	56	1	1	1	NA	NA	NON	0	111	0%	NA	NA	NA	0	77	0%		
		ID167	E35M64f-E81M40k	D	7	59	1	8	4	NA	A3	NON	3	108	3%	NA	NA	NA	0	0	NA		
		Y156	PFM679-E35M67h	Y	3	19	37	34	36	C2	C2	NON	NA	NA	NA	0	101	0%	1	29	3%		
		Y157	E35M67h-Bras063a	Y	6	24	34	28	31	C2	C2	NON	NA	NA	NA	0	101	0%	5	65	7%		
		Y158	Bras063a-E43M66j	Y	2	28	28	26	27	C2	C2	NON	NA	NA	NA	0	101	0%	2	69	3%		
		Y159	E43M66j-PFM225	Y	25	42	26	0	13	C2	NA	NON	NA	NA	NA	0	101	0%	22	48	31%		
		Y160	PFM225-E35M67d	Y	1	55	0	1	1	NA	NA	NON	NA	NA	NA	0	101	0%	1	69	1%		
		Y161	E35M67d-E35M71h	Y	7	59	1	8	4	NA	A3	NON	NA	NA	NA	0	101	0%	4	67	6%		
		Y162	E35M71h-E35M66m	Y	12	69	8	20	14	A3	A3	NON	NA	NA	NA	0	101	0%	7	67	9%		
		N6		ICd30	Na10E02b-ScM07a	Cd	21	76	13	34	24	B5	D5	OUI	2	109	2%	1	100	1%	13	30	30%
				ICd35	Na12G05b-Na10E02b	Cd	10	61	4	13	9	NA	B5	NON	5	106	5%	3	98	3%	0	120	0%
ICd42	PFM576-Na12D08			Cd	13	6	52	39	46	A1	A1	NON	1	110	1%	0	101	0%	15	105	13%		
ID307	Na12D08-Ra1F06b			D	14	20	39	25	32	A1	A1	NON	0	111	0%	NA	NA	NA	15	92	14%		
ID504	Na12D08-Ra1F06b			D	14	20	39	25	32	A1	A1	NON	0	111	0%	NA	NA	NA	15	92	14%		
ID71	Ra1F06b-PFM191a			D	26	40	25	1	13	A1	NA	NON	1	110	1%	NA	NA	NA	25	89	22%		
ID72	PFM191a-Na12G05b			D	3	54	1	4	2	NA	NA	NON	6	105	5%	NA	NA	NA	2	130	2%		
Y308	Ra1F06b-Na12G05b			Y	29	41	25	4	14	A1	NA	NON	NA	NA	NA	0	101	0%	22	81	21%		
Y309	Ra1F06b-Na12G05b			Y	29	41	25	4	14	A1	NA	NON	NA	NA	NA	0	101	0%	22	81	21%		
Y310	Na12D08-E35M71h			Y	5	75	39	27	33	A1	A1	NON											

ANNEXES N 6 : TABLEAU DE SYNTHÈSE SUR LES INTERVALLES

Génome	Lydate	Renseignement Intervalle										Fréquence de point de cassure dans les intervalles									
		Intervalle	Nom Intervalle	Type	Taille Intervalle	Position Int Moyenne	Eloign Centre Abs locus 1	Eloign Centre Abs locus 2	Eloign Centre Abs Int moyen	Bloc Synténie locus 1	Bloc Synténie locus 2	Rupture Synténie	Nb Rec Homo Darmor-bzh	Nb Non Rec Homo Darmor-bzh	Fréquence homo Darmor-bzh	Nb Rec Homo Yudal	Nb Non Rec Homo Yudal	Fréquence homo Yudal	Nb Rec Homo	Nb Non Rec Homo	Fréquence homo
N11	ICd21	CB10587-CB10081a	Cd	28	98	2	30	16	B4	B4	NON	8	103	2%	99	2%	12	43	22%		
	ID10	E46M64h-OI12F11a	D	1	64	18	17	18	NA	B4	NON	2	109	2%	NA	NA	2	135	1%		
	ID11	OI12F11a-CB10587	D	19	74	17	2	10	B4	B4	NON	9	102	8%	NA	NA	8	47	15%		
	ID2	Na14F11b-PFM191b	D	30	15	82	51	66	A3	A3	NON	13	98	12%	NA	NA	38	99	28%		
	ID3	PFM191b-E43M65g	D	20	41	51	31	41	A3	NA	NON	13	98	12%	NA	NA	11	63	15%		
	ID4	E43M65g-E81M40l	D	0	51	31	31	31	NA	NA	NON	0	111	0%	NA	NA	0	0	NA		
	ID5	E81M40l-E35M71l	D	0	51	31	31	31	NA	NA	NON	1	110	1%	NA	NA	0	0	NA		
	ID6	E35M71l-E35M73d	D	0	51	31	31	31	NA	NA	NON	0	111	0%	NA	NA	0	74	0%		
	ID7	E35M73d-E43M66a	D	0	51	31	31	31	NA	NA	NON	0	111	0%	NA	NA	0	73	0%		
	ID8	E43M66a-Na12C08	D	0	51	31	31	31	NA	NA	NON	1	110	1%	NA	NA	0	63	0%		
	ID9	Na12C08-E46M64h	D	12	57	31	18	25	NA	NA	NON	8	103	7%	NA	NA	16	99	14%		
	IY2	PFM191b-E35M64e	Y	17	39	51	34	43	A3	NA	NON	NA	NA	NA	7	94	7%	14	60	19%	
	IY3	E35M64e-Na12C08	Y	3	49	34	31	32	NA	NA	NON	NA	NA	NA	1	100	1%	1	60	2%	
	IY307	Na12C08-CB10587	Y	33	67	31	2	16	NA	B4	NON	NA	NA	NA	0	101	0%	16	34	32%	
	IY501	Na12C08-CB10587	Y	33	67	31	2	16	NA	B4	NON	NA	NA	NA	0	101	0%	16	34	32%	
	IY6	CB10081a-E46M64l	Y	1	112	30	31	21	B4	B4	NON	NA	NA	NA	2	99	2%	1	85	1%	
	ICd10	CB10026a-Na12H09b	Cd	0	78	21	21	21	E5	E5	NON	0	111	0%	0	101	0%	0	81	0%	
	ICd37	OI09A06a-CB10029a	Cd	4	76	17	21	19	E5	E5	NON	2	109	2%	0	101	0%	2	74	3%	
	ID24	Na12C03-OI10C10d	D	1	1	57	56	56	F5	F5	NON	3	108	3%	NA	NA	1	76	1%		
	ID25	OI10C10d-E43M65f	D	10	7	56	45	50	F5	F5	NON	0	111	0%	NA	NA	1	28	3%		
ID26	E43M65f-OI10H02	D	15	19	45	31	38	F5	B5	OUI	3	108	3%	NA	NA	8	60	12%			
ID27	OI10H02-E35M64d	D	13	33	31	17	24	B5	D5	OUI	2	109	2%	NA	NA	12	62	16%			
ID28	E35M64d-E43M64b	D	1	40	17	16	17	D5	D5	NON	0	111	0%	NA	NA	1	77	1%			
ID29	E43M64b-E46M64a	D	16	49	16	0	8	D5	NA	NON	5	106	5%	NA	NA	10	61	14%			
ID30	E46M64a-E35M73i	D	13	64	0	14	7	NA	E5	NON	7	104	6%	NA	NA	0	0	NA			
ID31	E35M73i-OI09A06a	D	3	72	14	17	15	E5	E5	NON	1	110	1%	NA	NA	0	0	NA			
ID34	Na12H09b-E35M64a	D	9	82	21	30	25	E5	E5	NON	5	106	5%	NA	NA	5	72	6%			
ID35	E35M64a-E43M64a	D	0	87	30	30	30	E5	E5	NON	2	109	2%	NA	NA	0	80	0%			
ID36	E43M64a-PFM519a	D	7	90	30	37	34	E5	A5	OUI	9	102	8%	NA	NA	4	71	5%			
ID37	PFM519a-Q05 850	D	40	114	30	77	57	A5	A5	NON	12	99	11%	NA	NA	16	25	39%			
ID38	Q05 850-E86M42d	D	0	134	77	77	77	A5	A5	NON	0	111	0%	NA	NA	0	0	NA			
IY19	Na12C03-OI10C10b	Y	6	3	57	51	54	F5	F5	NON	NA	NA	NA	1	100	1%	5	72	6%		
IY20	OI10C10b-OI10H02	Y	21	16	51	31	41	F5	B5	OUI	NA	NA	NA	2	99	2%	15	59	20%		
IY21	OI10H02-Na12B07a	Y	26	40	31	4	17	B5	NA	NON	NA	NA	NA	5	96	5%	26	111	19%		
IY22	Na12B07a-E43M65d	Y	15	60	4	11	7	NA	E5	NON	NA	NA	NA	1	100	1%	7	64	10%		
IY23	E43M65d-OI09A06a	Y	6	71	11	17	14	E5	E5	NON	NA	NA	NA	1	100	1%	3	61	5%		
IY27	PFM519a-E81M40h	Y	31	110	37	68	53	A5	A5	NON	NA	NA	NA	8	93	8%	0	0	NA		
ICd12	CB10057-JLP001	Cd	13	122	23	37	30	B2	C2	OUI	9	102	8%	4	97	4%	7	41	15%		
ICd24	JLP001-OI10B08	Cd	15	137	37	52	45	C2	A5	OUI	4	107	4%	2	99	2%	7	44	14%		
ICd25	JLP001-MR49	Cd	12	46	52	40	46	B4	B4	NON	1	110	1%	0	101	0%	5	53	9%		
ID78	MR49-E81M40f	D	19	57	40	30	35	B4	B3	OUI	2	109	2%	NA	NA	0	0	NA			
ID79	E81M40f-Bras069	D	33	78	30	2	16	B3	A4	OUI	9	102	8%	NA	NA	0	0	NA			
ID80	Bras069-E81M40g	D	19	104	2	21	12	A4	B2	OUI	6	105	5%	NA	NA	0	0	NA			
ID81	E81M40g-CB10057	D	2	114	21	23	22	B2	B2	NON	0	111	0%	NA	NA	0	0	NA			
IY301	Bras069-CB10057	Y	21	105	2	23	13	A4	B2	OUI	NA	NA	NA	1	100	1%	14	57	20%		
IY66	E35M67i-JLP011	Y	15	33	67	52	59	B4	B4	NON	NA	NA	NA	0	101	0%	5	32	14%		
IY68	MR49-E81M40e	Y	0	52	40	40	40	B4	B3	OUI	NA	NA	NA	0	101	0%	0	0	NA		
IY69	E81M40e-E81M40d	Y	10	57	40	30	35	B3	A3	OUI	NA	NA	NA	0	101	0%	0	0	NA		
IY70	E81M40d-E81M40a	Y	19	71	30	11	21	A3	A3	NON	NA	NA	NA	2	99	2%	0	0	NA		
IY71	E81M40a-Bras069	Y	13	87	11	2	7	A3	A4	OUI	NA	NA	NA	2	99	2%	0	0	NA		
ICd4	Bras061-Na12B07b	Cd	4	50	3	1	2	NA	NA	NON	0	111	0%	0	101	0%	3	127	2%		
ICd44	T6B20a-Bras061	Cd	1	47	4	3	4	NA	NA	NON	0	111	0%	1	100	1%	2	135	1%		
ICd5	Bras063b-T6B20a	Cd	21	36	26	4	15	C2	NA	NON	1	110	1%	2	99	2%	25	110	19%		
ID302	Na12D09-OI11D12	D	39	114	44	82	63	C2	C2	NON	11	100	10%	NA	NA	34	79	30%			
ID41	Bras072b-Bras063b	D	25	13	51	26	38	C2	C2	NON	2	109	2%	NA	NA	25	85	23%			
ID45	Na12B07b-E35M67b	D	27	65	1	28	14	NA	NA	NON	0	111	0%	NA	NA	12	48	20%			
ID46	E35M67b-Na12D09	D	16	87	28	44	36	NA	C2	NON	5	106	5%	NA	NA	7	46	13%			
IY30	E81M40b-Bras063b	Y	25	13	51	26	38	NA	C2	NON	NA	NA	NA	1	100	1%	0	0	NA		
IY300	Bras063b-T6B20a	Y	21	36	26	4	15	C2	NA	NON	NA	NA	NA	2	99	2%	25	110	19%		
IY34	Na12B07b-E35M67a	Y	29	67	1	30	16	NA	NA	NON	NA	NA	NA	3	98	3%	12	53	18%		
IY35	E35M67a-E46M64j	Y	1	82	30	32	31	NA	NA	NON	NA	NA	NA	0	101	0%	1	68	1%		
IY36	E46M64j-Na12D09	Y	12	89	32	44	38	NA	C2	NON	NA	NA	NA	1	100	1%	11	98	10%		
ICd11	CB10027-OI12F02a	Cd	3	66	6	3	4	B1	B1	NON	0	111	0%	0	101	0%	3	70	4%		
ID155	M16 975-E35M71k	D	3	1	70	67	69	A3	A3	NON	8	103	7%	NA	NA	3	77	4%			
ID156	E35M71k-E46M64q	D	30	18	67	37	52	A3	A3	NON	4	107	4%	NA	NA	22	53	29%			
ID157	E46M64q-E43M66h	D	31	49	37	6	21	A3	B1	OUI	8	103	7%	NA	NA	22	52	30%			
ID158	E43M66h-CB10027	D	0	64	6	6	6	B1	B1	NON	0	111	0%	NA	NA	0	43	0%			
ICd15	CB10234-Bras116	Cd	17	44	0	17	9	D3	D3	NON	2	109	2%	0	101	0%	11	64	15%		
ICd31	Na12A02-E35M73c	Cd	4	71	34	38	36	E1	E1	NON	3	108	3%	0	101	0%	5	120	4%		
ICd9	Bras116-Na12A02	Cd	16	61	17	34	26	D3	E1	OUI	4	107	4%	1	100	1%	11	65	14%		
ID124	E35M67f-E35M67j	D	14	7	35	21	28	C1	C1	NON	0	111	0%	NA	NA	9	63	13%			
ID125	E35M67j-CB10234	D	21	25	21	0	11	C1	D3	OUI	0	111	0%	NA	NA	7	34	17%			
ID129	E35M73c-E86M42k	D	2	74	38	40	39	E1	E1	NON	1	110	1%	NA							

ANNEXES n°7 : TABLEAU DE SYNTHÈSE SUR LES GROUPES DE LIAISONS

Approche		Régions non-transmises				Points de cassure				Transmission de l'allèle du parent haploïde							
Marqueurs		Codominants		Codominants et dominants		Codominants		Codominants et dominants		Codominants				Codominants et dominants			
Descendants d'haploïdes		<i>Darmor-bzh</i>	<i>Yudal</i>	<i>Darmor-bzh</i>	<i>Yudal</i>	<i>Darmor-bzh</i>	<i>Yudal</i>	<i>Darmor-bzh</i>	<i>Yudal</i>	<i>Darmor-bzh</i>		<i>Yudal</i>		<i>Darmor-bzh</i>		<i>Yudal</i>	
Nombre de plantes		111	101	111	101	111	101	111	101	111		101		111		101	
Génome	GL	Nombre	Nombre	Nombre	Nombre	Nombre	Nombre	Nombre	Nombre	Absent	Present	Absent	Present	Absent	Present	Absent	Present
A	N1	26	8	28	9	30	8	34	9	42	560	12	491	63	758	17	788
	N2	10	6	16	13	0	0	16	18	17	312	5	294	37	662	10	362
	N3	8	5	11	5	11	10	18	9	10	98	6	91	22	404	22	532
	N4	16	1	18	1	15	1	23	1	7	476	10	466	15	888	10	567
	N5	6	0	10	0	4	0	10	0	24	385	1	388	58	677	1	881
	N6	8	2	9	3	13	2	15	7	9	285	0	294	15	693	0	788
	N7	14	3	19	3	10	3	30	5	8	599	3	559	9	709	4	742
	N8	7	3	12	3	8	2	14	2	33	350	3	372	55	754	4	600
	N9	12	2	21	7	14	2	24	7	9	413	6	389	14	725	7	482
	N10	2	4	8	5	2	7	10	13	15	464	2	496	28	770	8	769
C	N11	32	8	36	11	34	8	55	12	2	268	4	294	12	471	5	1079
	N12	27	13	39	13	31	15	51	18	46	388	8	385	73	1227	13	580
	N13	27	6	27	8	29	7	31	11	46	604	21	568	121	1585	25	788
	N14	13	10	15	10	17	9	19	10	58	592	11	567	73	793	13	939
	N15	0	1	20	1	0	0	20	0	14	621	19	498	17	830	29	779
	N16	10	3	10	3	11	4	11	4	0	221	2	191	39	614	2	191
	N17	14	7	15	7	14	12	21	22	26	615	4	591	35	823	5	688
	N18	14	3	14	3	16	4	16	5	52	649	10	667	62	745	10	963
	N19	9	4	14	6	9	4	15	17	20	384	7	383	20	593	9	580
Total		255	89	342	111	268	98	433	170	438	8284	134	7984	768	14721	194	13098
Génome A		109	34	152	49	107	35	194	71	174	3942	48	3840	316	7040	83	6511
Génome C		146	55	190	62	161	63	239	99	264	4342	86	4144	452	7681	111	6587

ANNEXES n°8 : TABLEAU DE SYNTHÈSE SUR LA STRUCTURE DES CHROMOSOMES

Information génétique							Morphologie du chromosome (5)										Bloc synténie Arabidopsis (5)																							
GL Rennes	GL Lydiat	Génome (2)	Position centro (3)	Précision Position centromère (3)	Taille GL CarteRef 270706 (cM)	IP centro genet (4)	longueur total (um) (5)	longueur bras court (um) (5)	longueur bras long (um) (5)	IP centro physique	Arm ratio (6)	Taille centro (5)	Type (6)	r45S (8)	r5S (8)	Sat	A1	B1	C1	D1	E1	A2	B2	C2	A3	B3	C3	D3	A4	B4	B'4	A5	B5	C5	D5	E5	F5	Nb de bloc		
GL1b	N1	A	51	Très Bonne	133,7	0,38	4,0	1,3	2,7	0,33	2,0	1,3	submedian	N	N	N	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2
GL11	N2	A	50	Bonne	96,1	0,52	5,7	2,0	3,7	0,35	1,8	1,3	submedian	N	N	N	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	1	1	7
GL4	N3	A	87,5	Mauvaise	199,4	0,44	6,7	1,0	5,7	0,15	5,7	1,0	subterminal	O	O	O	0	0	0	0	0	0	1	1	1	0	0	0	1	1	0	0	1	0	0	0	1	0	7	
GL14	N4	A	11	Bonne	84,6	0,13	5,0	2,3	2,7	0,47	1,1	1,7	median	O	O	N	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	5	
GL19	N5	A	55	Bonne	105,3	0,52	5,3	2,3	3,0	0,44	1,3	2,7	median	O	O	N	0	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4	
GL6	N6	A	52	Mauvaise	99,2	0,52	5,7	2,7	3,0	0,47	1,1	2,0	median	O	N	N	1	1	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1	9	
GL10	N7	A	6	Bonne	122,7	0,05	5,0	2,0	3,0	0,40	1,5	1,3	median	N	N	N	0	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	5	
GL9	N8	A	10	Bonne	95,7	0,10	3,7	1,0	2,7	0,27	2,7	1,3	submedian	N	N	N	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4	
GL5	N9	A	67	Bonne	120,6	0,56	8,3	4,0	4,3	0,48	1,1	3,0	median	O	O	N	1	1	0	1	0	0	1	0	0	0	0	1	2	0	0	0	1	0	1	0	0	9		
GL16	N10	A	68	Moyenne	71	0,96	3,7	1,0	2,7	0,27	2,7	1,3	submedian	N	O	N	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	3	
GL1a	N11	C	81,6	Bonne	112,9	0,72	5,7	2,7	3,0	0,47	1,1	1,5	median	N	N	N	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	2	
GL2	N12	C	57	Bonne	147,1	0,39	6,7	3,0	3,7	0,45	1,2	1,7	median	N	O	N	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1	1	0	1	1	7		
GL717	N13	C	92	Bonne	192,3	0,48	8,7	2,7	6,0	0,31	2,3	1,5	submedian	N	N	N	0	1	0	0	0	0	1	1	1	1	1	0	1	1	0	1	0	0	0	1	0	10		
GL3	N14	C	51	Très Bonne	133,2	0,38	6,7	2,5	4,2	0,38	1,7	1,7	median	N	O	N	0	0	0	1	0	0	2	2	0	0	0	1	0	0	1	0	0	1	0	0	0	8		
GL18	N15	C	70	Bonne	149,9	0,47	6,3	3,0	3,3	0,47	1,1	2,0	median	N	N	N	1	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3		
GL13	N16	C	35	Moyenne	81,8	0,43	5,7	1,0	4,7	0,18	4,7	1,3	subterminal	N	N	N	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2		
GL12	N17	C	37	Bonne	116,5	0,32	7,0	1,7	5,3	0,24	3,2	2,3	subterminal	O	N	O	0	1	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	1	0	0	1	1	1	0	0	7			
GL8	N18	C	110	Moyenne	136,1	0,81	6,0	1,3	4,7	0,22	3,5	1,5	subterminal	O	N	O	2	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	6		
GL15	N19	C	70	Bonne	88,5	0,79	7,0	3,3	3,7	0,48	1,1	2,0	median	N	N	N	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0	1	1	0	1	1	1	8			
A	10				1128,3	0,42	53	20	33	0,36	2,1	1,7	submedian	5	5	2	4	5	3	1	2	1	4	3	4	1	0	3	3	3	1	3	3	2	3	4	2	55		
C	9				1158,3	0,53	60	21	39	0,35	2,2	1,7	submedian	2	2	1	3	4	2	2	2	1	3	3	3	3	1	2	3	4	1	3	3	2	3	3	2	53		
Genome	19				2287	0,47	112,7	40,8	71,8	0,36	2,1	1,7	submedian	7	7	3	7	9	5	3	4	2	7	6	7	4	1	5	6	7	2	6	6	4	6	7	4	108		

(1) D'après Delourme et al. , 2006
(2) D'après Parkin et al. 1995
(3) D'après Parkin et al. , 2005 et Jenczewski (com pers)
(4) IP centromérique = Position centromère / Taille GL
(5) D'après Fukui et al. , 1998 pour la taille ((GL4, R2 chez Rapa) porte un satellite sur un bras chromosomique un 45S (Si on le compte = submedian (Kim et al. , 2005), Si on l'exclu = acrocentrique (Fukui et al. , 1998)
D'après Armstrong et al. , 1998 et Howell et al. , 2002 pour l'attribution des chromosomes au GL du génome C
D'après <http://www.brassica-rapa.org/> et Kim et al. , 2005 pour l'attribution des chromosomes au GL du génome A
(6) D'après Levan 1963: trois type Median (m): q/p=1-1,7, Submedian (sm) q/p=1,7-2,7, Subterminal (st): q/p>2,7, les satellites sont exclus
(7) D'après Snowdon et al. , 2002 pour le 45S et le 5S chez *Brassica napus*
NB: Le nombre de 45S et 5S varie à l'intérieur de *Brassica napus* et d'autres espèces (Cf Kulak et al. , 2002 et Hasterock et al. , 2001, 2005)

A	C	A	C	A	C	A	C	A	C	A	C	A	A	C	C	A	C	A
N1	N11	N2	N12	N3	N13	N4	N14	N5	N15	N6	N17	N7	N8	N18	N16	N9	N19	N10
B4	B4	A5	A5	A5	A5	D3	CB2	C2	AB1	C1	A2	A2	C1	C1	C1	A4	A4	A1
X	X	E5	E5	E5	E5	B'4	D1	B1	X	AB1	X	X	B4	B4	E1	B5	B5	E5
A3	A3	E1	E1	CB2	CB2	C5	D3	X	A3	EF5	B1	B1	BA1	AB1		D1	F5	A5
		X	X	A4	A4	BC2	B'4	C1		B5	D5	B2		D3		D5	D1	
		D5	D5	X	X		C5	A3		X	B3	D3		A1		A4	D5	
		B3	B3	A3	AB3		BC2			C5	C5	E1				B1	A4	
		B5	B5	B4	X					B3	X					D3	E5	
		F5	F5		C3					D5	B5					B2	A5	
					B1						B4					A1		
					B4													

Figure 152 : Représentation schématique de l’alignement des différents groupes de liaison du colza sur le génome d’*Arabidopsis thaliana* d’après Parkin *et al.* (2005). Différentes couleurs ont été utilisées pour identifier les 5 chromosomes d’*A. thaliana*. En bleu clair, le chromosome 1, en orange le chromosome 2, en bleu foncé le chromosome 3, en vert le chromosome 4, en rouge le chromosome 5. Les lettres correspondent à différentes régions non chevauchantes des chromosomes d’*A. thaliana*, la lettre A correspondant au haut du chromosome, la lettre B à une région adjacente de la région A mais plus bas sur le chromosome. Ce schéma fait apparaître clairement les relations de paralogie entre les groupes de liaison. Ainsi le haut du groupe de liaison N2 (bloc de synténie A5-E5) présente des relations de synténie avec son homologue N12 mais aussi avec le haut de N3, de N13, le bas de N19 et de N10.

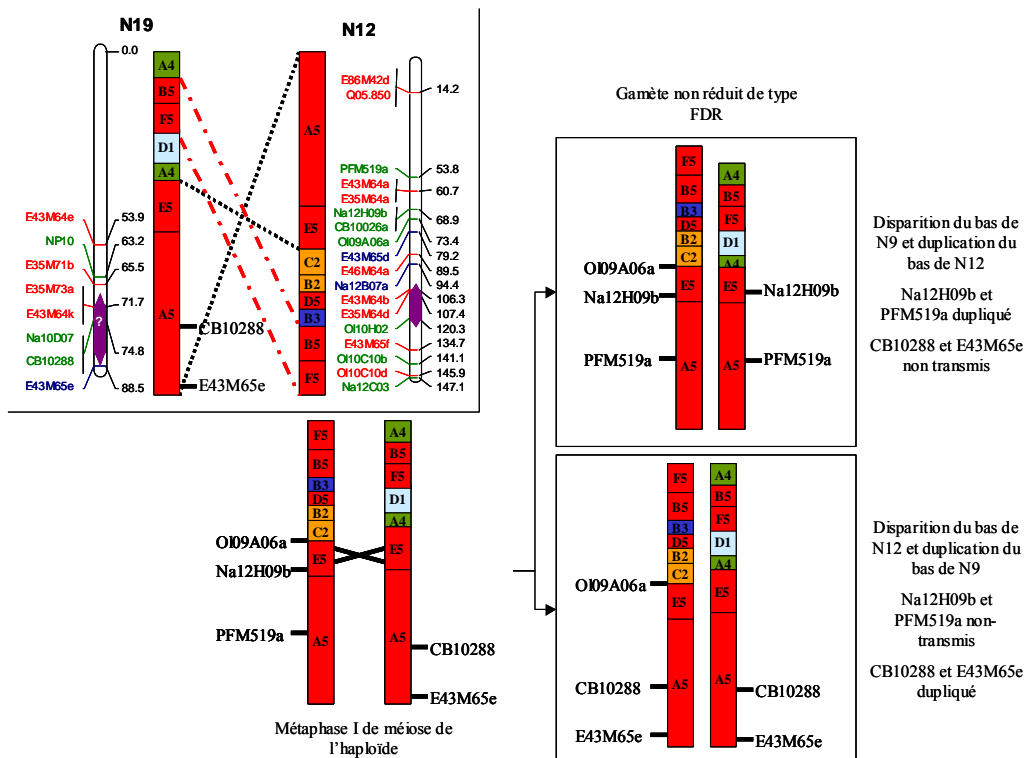
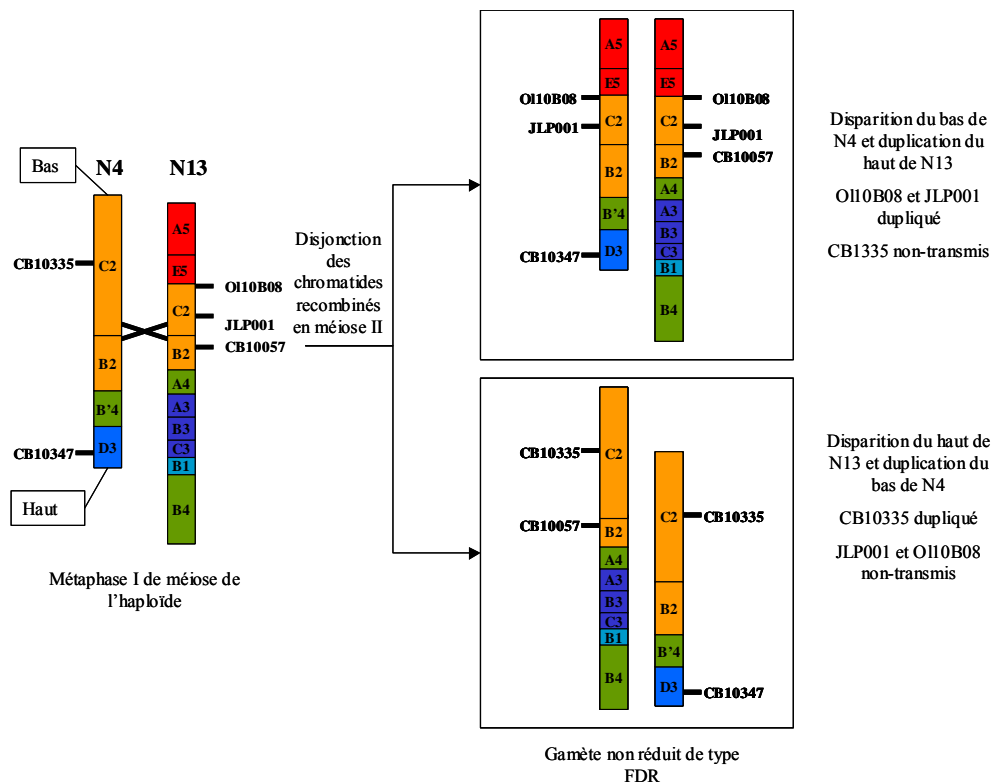


Figure 153 : Mécanisme de formation d'une translocation non-réciproque paralogue du bas de N4 sur le haut de N13 via une recombinaison paralogue et entre N9 et N12.

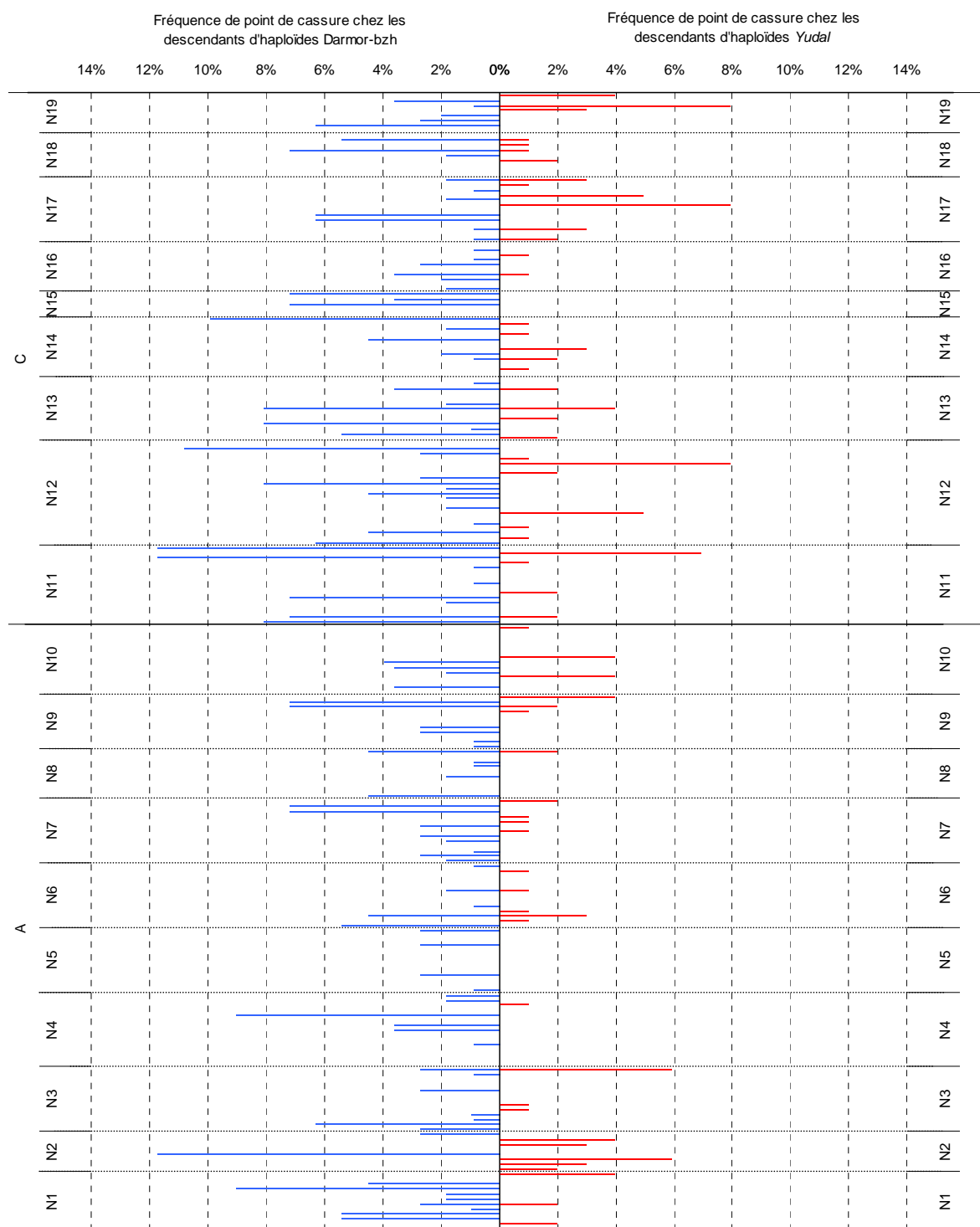


Figure 154 : Variation de la fréquence de point de cassure dans les intervalles en fonction du génotype, du groupe de liaison et du génome.

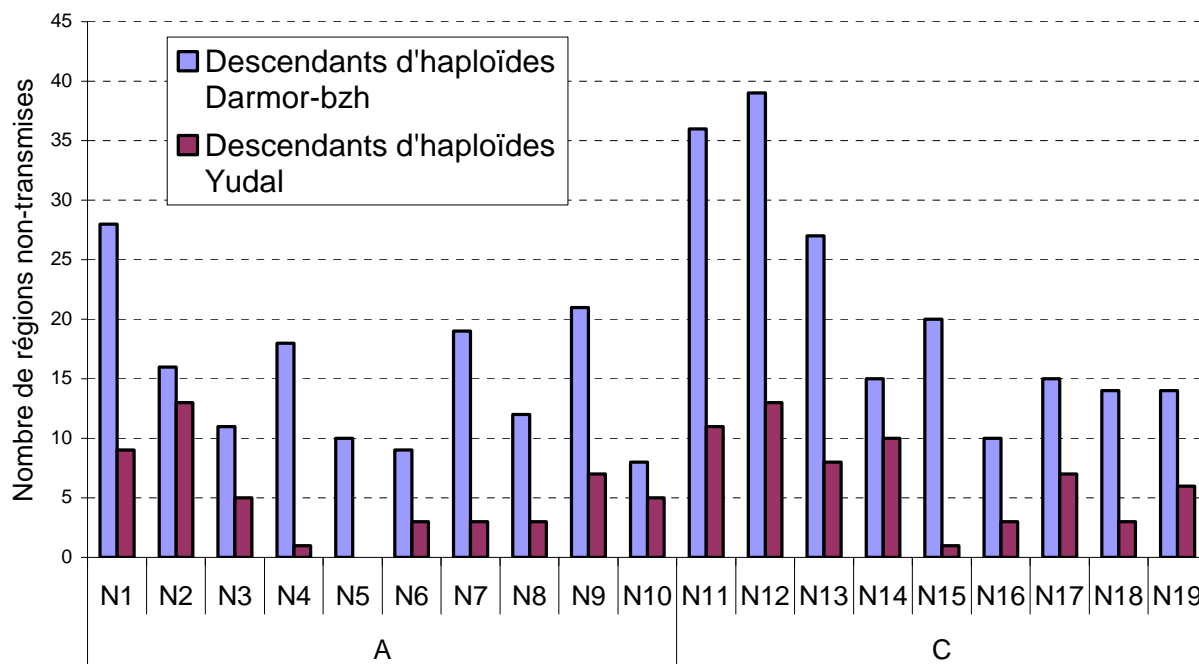


Figure 155 : Nombre total de régions non-transmises détectées chez les descendants d'haploïdes *Darmor-bzh* et *Yudal* selon le groupe de liaison pour la totalité des marqueurs.

Tableau 42 : Test de l'appariement systématique des chromosomes chez les haploïdes *Darmor-bzh* et *Yudal*

Descendants d'haploïdes <i>Darmor-bzh</i>				
Groupe de liaison	Pourcentage d'individus réarrangés (%)	Test de l'hypothèse H_0 = groupe de liaison systématiquement appariés en métaphase I de méiose		
		χ^2	ddl	p (%)
N12	31,5	2,53	1	11
N11	28,8	0,87	1	35
N13	23,4	0,15	1	70
N1	22,5	0,36	1	55
N9	18,9	2,19	1	14
N15	18	2,89	1	9
N4	16,2	4,57	1	3
N7	14,4	6,63	1	1
N2	13,5	7,81	1	1
N14	13,5	7,81	1	1
N18	12,6	9,08	1	0
N17	11,7	10,45	1	0
N8	10,8	11,92	1	0
N19	10,8	11,92	1	0
N3	9,9	13,48	1	0
N5	9	15,13	1	0
N16	9	15,13	1	0
N6	8,1	16,88	1	0
N10	6,3	20,67	1	0

Descendants d'haploïdes <i>Yudal</i>				
Groupe de liaison	Pourcentage d'individus réarrangés (%)	Test de l'hypothèse H_0 = groupe de liaison systématiquement appariés en métaphase I de méiose		
		χ^2	ddl	p (%)
N12	12,9	7,92	1	0,5
N11	9,9	12,28	1	0
N13	7,9	15,71	1	0
N1	6,9	17,61	1	0
N9	6,9	17,61	1	0
N15	1	Inf	1	0
N4	1	Inf	1	0
N7	3	28,23	1	0
N2	11,9	9,27	1	0,2
N14	6,9	17,61	1	0
N18	3	28,23	1	0
N17	6,9	17,61	1	0
N8	2	Inf	1	0
N19	5,9	19,56	1	0
N3	5	21,79	1	0
N5	0	Inf	1	0
N16	3	28,23	1	0
N6	3	28,23	1	0
N10	5	21,79	1	0

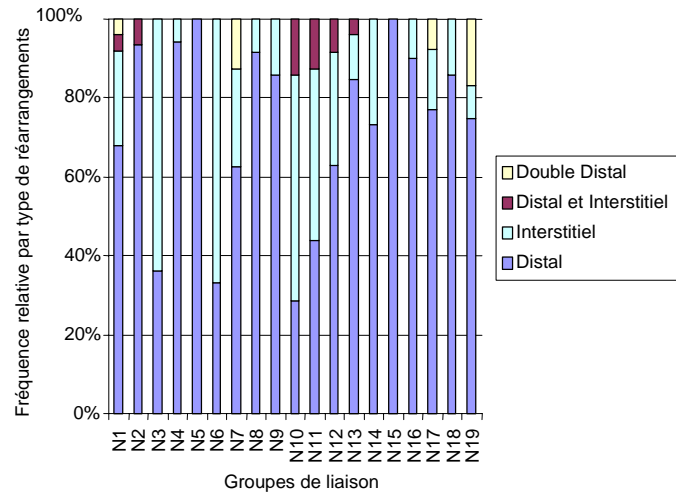


Figure 156 : Variabilité de la fréquence relative des différents types de réarrangements chez les descendants d'haploïdes *Darmor-bzh*.

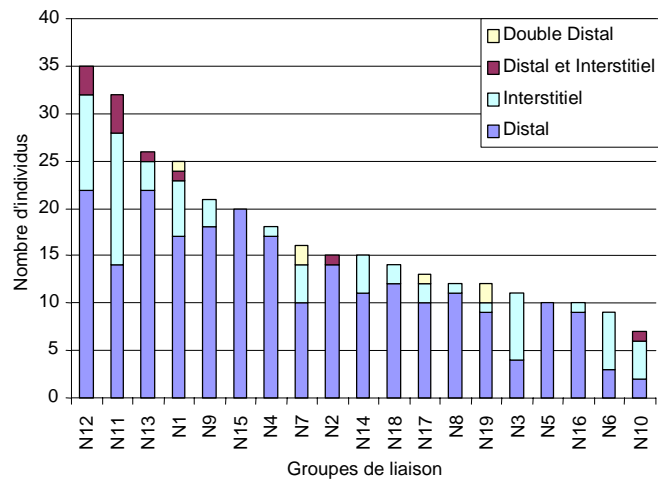


Figure 157 : Variation du nombre d'individus réarrangés en fonction du groupe de liaison et du type des réarrangements détectés chez les descendants d'haploïdes *Darmor-bzh*.

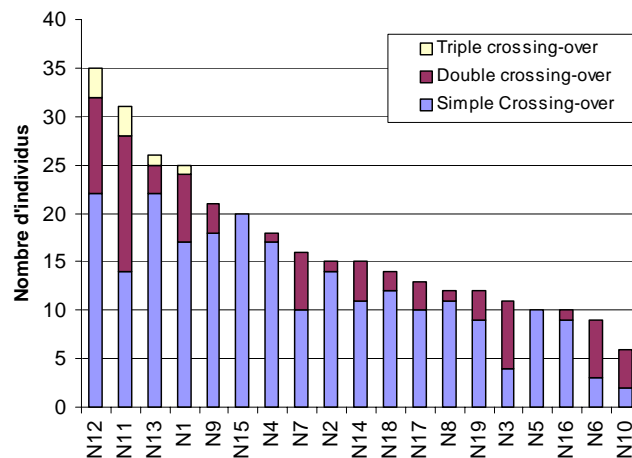


Figure 158 : Variation du nombre de réarrangements générés par simples doubles et triples crossing-overs chez les descendants d'haploïdes *Darmor-bzh*.

Tableau 43: Résumé du modèle linéaire généralisé sur l'influence du nombre de translocations non-réciproques (TNR) et de la taille de génome réarrangée sur la régularité du comportement méiotique chez les descendants d'haploïdes *Darmor-bzh*.

	Coefficients du modèle	Erreur standard	z	p (%)
Interception de la courbe à l'origine	1,822	0,47	3,8	<0,01
Nombre de TNR	-0,172	0,13	-1,2	19
Taille totale de génome réarrangé	-0,093	0,005	-1,7	7
Interaction entre le nombre et la taille totale de génome réarrangé	0,002	0,001	1,6	10,8

Tableau 44: Résumé du modèle linéaire généralisé sur l'influence du nombre de TNR et de la taille de génome réarrangée sur la régularité du comportement méiotique chez les descendants d'haploïdes *Yudal*

	Coefficients du modèle	Erreur standard	z	p (%)
Interception de la courbe à l'origine	1,2041	0,23	5	<0,01
Nombre de TNR	0,6871	0,31	2,2	2
Taille totale de génome réarrangé	-0,0142	0,01	-1,3	18
Interaction entre le nombre et la taille totale de génome réarrangé	0,0006	0,003	0,2	83

Tableau 45: Résumé du modèle sur l'effet du nombre et de la taille des translocations non-réciproques (TNR) sur la fertité mâle.

Descendants d'haploïdes <i>Darmor-bzh</i>				
	Coefficients du modèle	Erreur standard	z	p (%)
Interception de la courbe à l'origine	2,6	2.773e-02	95	<0,01
Nombre de TNR	-0,2	9.750e-03	-21	<0,01
Taille totale de génome réarrangé	-0,1	2.886e-04	-35	<0,01
Interaction entre le nombre et la taille totale de génome réarrangé	0,001	5.954e-05	25	<0,01
Descendants d'haploïdes <i>Yudal</i>				
	Coefficients du modèle	Erreur standard	z	p (%)
Interception de la courbe à l'origine	3.3618742	0.0276548	121.566	<0,01
Nombre de TNR	-0.0579356	0.0256264	-2.261	2
Taille totale de génome réarrangé	-0.0054586	0.0008103	-6.737	<0,01
Interaction entre le nombre et la taille totale de génome réarrangé	0.0002271	0.0002270	1.000	31

CONTROLE GENETIQUE DE LA RECOMBINAISON HOMEOLOGUE CHEZ DES HAPLOÏDES DE COLZA (*BRASSICA NAPUS L*)

Mot clés : polyploïdie, recombinaison intergénomique, réarrangements structuraux, colza, *PrBn*

Valoriser les gènes d'intérêt présents au sein des espèces sauvages apparentées aux espèces cultivées et/ou exploiter le polymorphisme structural susceptible d'exister au sein des génomes polyploïdes implique de mieux comprendre quels sont les facteurs génétiques et structuraux contrôlant les échanges entre des génomes apparentés (homéologues) et comment ils (inter-)agissent. Pour répondre à ces questions, j'ai développé une stratégie originale permettant d'analyser la fréquence et la nature des remaniements structuraux qui surviennent au cours de la méiose de plantes haploïdes (AC, n=19) de colza (*Brassica napus*) présentant des comportements méiotiques très contrastés. J'ai d'abord montré que les gamètes fonctionnels produit par un haploïde de colza sont très majoritairement des gamètes non-réduits de type FDR, que ces gamètes transmettent pratiquement l'intégralité des réarrangements structuraux générés au cours de la méiose et que la plupart de ces remaniements résultent de crossing-overs qui se réalisent de façon privilégiée entre les régions homéologues, mais qui peuvent également se former entre des régions para(homéo)logues. J'ai alors montré que les différences de comportement méiotique observées entre génotypes haploïdes en Metaphase I reflètent des différences de fréquence de recombinaison. J'ai observé que les remaniements affectent différemment les génomes A et C, ce qui suggère qu'il pourrait y avoir une sélection contre certains d'entre eux. J'ai enfin montré que la fréquence de remaniements varie d'un groupe de liaison à l'autre (cela dépend du génotype haploïde) et en fonction de la position sur les groupes de liaison. Mes travaux amènent à s'interroger plus largement sur le rôle (i) de la recombinaison dans la production des remaniements chromosomiques chez les haploïdes et plus largement les hybrides interspécifiques (ii) des gamètes non réduits et des haploïdes dans la dynamique des génomes polyploïdes, (iii) des remaniements chromosomiques dans l'adaptation des plantes et dans les programmes d'amélioration.

GENETIC CONTROL OF HOMEOLOGOUS RECOMBINATION IN OILSEED RAPE (*BRASSICA NAPUS*)

Key words: polyploidy, intergenomic recombination, structural rearrangements, canola, *PrBn*

Natural biodiversity and beneficial chromosome rearrangements are an underexploited sustainable resource that can be used to enrich the genetic basis of cultivated plants. A lot is still to be done to make a more efficient use of these vast reservoirs of variation. This process is related to meiosis and recombination between related but divergent genomes. In this study, I have genotyped progenies of haploid \times euploid *B. napus* with molecular markers and analyzed the rate and nature of chromosomal rearrangements originating at meiosis in two haploid genotypes (n=19) that display very different meiotic behavior at metaphase I. I show that a high number of chromosomal rearrangements occur during meiosis of *B. napus* haploid and are transmitted by FDR-like unreduced gametes to their progeny; most of these rearrangements are produced by crossing-overs that occur preferentially between regions of primary homeology(Muller), but may also take place between other duplicated regions showing intragenomic or intergenomic homology. I show that the two haploid genotypes display sharp differences of meiotic "homeologous" recombination and that the two genomes of *B. napus* are differentially affected by rearrangements, which suggests that some rearrangements are counter-selected. Finally I show that the rate of chromosomal reshuffling varies within and among chromosomes. All my results echo to broader questions that include the role of: (i) crossing-overs in generating chromosomal rearrangements in (poly-)haploids and interspecific hybrids, (ii) unreduced gametes and (poly-)haploids to foster evolution of polyploid genomes and (iii) chromosomal rearrangements to improve adaptability and breeding.