

les dossiers
d'AGROPOLIS
INTERNATIONAL

Compétences de la communauté scientifique

La plate-forme
de recherches avancées
Agropolis
Génomique & biotechnologie



complémentaires, où les informations obtenues sur une espèce peuvent être utilisées pour d'autres espèces (d'où un enrichissement mutuel et une convergence progressive des efforts de recherche).

La méthode mise en œuvre dans le projet Genmap a associé la cartographie génétique à une analyse au champ de la famille d'hévéas étudiée (recherche de QTLs associés aux caractères agronomiques mesurés en champ d'essai en Thaïlande).

Le projet Genmap a comporté les phases successives décrites ci-après :

• **Réalisation du croisement** « modèle », en l'an 2000, par pollinisation manuelle entre deux parents RRIM600 et PB217 qui sont deux clones cultivés représentant deux types métaboliques contrastés : le but était, d'une part, d'obtenir une large variabilité dans les 334 descendants de ce croisement afin de satisfaire l'objectif scientifique et, d'autre part, de trouver, parmi ces descendants, des clones combinant des qualités complémentaires.

• **Génotypage des 334 descendants** pour les 267 marqueurs microsatellites disponibles et utilisables ; on a ainsi identifié, pour chaque descendant, les deux allèles présents sur un même locus (technique PCR puis électrophorèse).

• **Cartographie génétique** du croisement (cf. *Carte génétique « Genmap »*), par un traitement informatique des données de génotypage des descendants (logiciel *JoinMap3*), portant sur la présence conjointe ou séparée des allèles des différents marqueurs ; les loci correspondant aux différents marqueurs se trouvaient ainsi positionnés les uns par rapport aux autres sur chacun des 18 chromosomes de l'hévéa, les distances entre deux marqueurs correspondant au pourcentage de recombinaison (*crossing-over*) observé entre eux.

• **Caractérisation en champ**, entre 2002 et 2010, des principaux caractères agronomiques de 196 descendants, notamment des caractères de croissance et de

production de latex, des caractères biochimiques associés aux types métaboliques de la production et des caractères de qualité du caoutchouc.

• **Établissement, par traitement informatique**, des classes de descendants associées à chaque allèle de chaque marqueur, calcul des valeurs des caractères agronomiques de ces classes et identification des loci déterminant une part importante de la variation pour certains caractères (QTLs).

La partie prise en charge par la plate-forme de recherches avancées a porté sur les phases 2 et 3 de ce projet. La cartographie génétique de l'hévéa a nécessité 17 mois de temps-chercheur. L'emploi des marqueurs microsatellites a représenté un progrès important, par comparaison avec les anciens marqueurs dits « RFLP » utilisés auparavant, en termes de temps de travail (efficacité de la technique PCR), de nombre d'individus génotypés, de répartition sur le génome des loci cartographiés et de polymorphisme des allèles observés.

Marqueurs génétiques moléculaires et cartographie génétique

► *Kanlaya Prapan réalisant un gel polyacrylamide pour séparer les marqueurs génétiques microsatellites issus de PCR.*



© A. Clément-Demange

Les marqueurs génétiques dits « moléculaires » concernent directement la molécule d'ADN, dans laquelle ils correspondent à des zones (loci) non codantes. Ils sont dits génétiquement « neutres » car ils n'ont pas d'influence sur l'évolution de l'espèce et l'identification de leurs allèles chez un individu ne dépend pas du tissu étudié ni des conditions de milieu. Depuis qu'il est devenu possible de disposer d'un grand nombre de ces marqueurs, la démarche de cartographie génétique dite « par déséquilibre de liaison » s'est considérablement développée. Elle repose sur l'étude, dans une

descendance, de la part de recombinaison des caractères due aux *crossing-over* (réarrangements intra-chromosomiques réalisés au cours de la méiose). Du fait de ces réarrangements, les allèles de deux loci, présents au départ sur le même chromosome, ont une certaine probabilité de se retrouver séparés dans deux gamètes différents (c'est le cas lorsqu'un *crossing-over* intervient dans l'espace qui les sépare).

Il existe des zones de l'ADN (appelées linkats) où se produisent très peu de *crossing-over* et où se retrouvent conservées les mêmes combinaisons d'allèles pour des loci voisins. La cartographie génétique consiste à analyser la fréquence d'association des allèles respectifs de deux loci, pour tous les couples de marqueurs disponibles. Cela permet de positionner les marqueurs les uns par rapport aux autres, d'identifier les linkats et de retrouver finalement les « super-linkats » correspondant aux différents chromosomes de l'espèce étudiée (l'hévéa est une plante diploïde comprenant 18 couples de chromosomes). Chaque « distance » entre deux marqueurs est exprimée en pourcentage de *crossing-over* (1 centi-Morgan = probabilité de 1% de *crossing-over* lors d'une méiose), ce qui permet de constituer des cartes.

Contact : André Clément-Demange, andre.clement-demange@cirad.fr

Le partenariat

Cirad
Montpellier

Responsables du projet (encadrement français) :
Marc Seguin et André Clément-Demange
andre.clement-demange@cirad.fr
fax : +33 (0)4 67 61 55 96

Rubber Research
Institute of Thailand (RRIT)

Department of Agriculture (Doa), Bangkok,
Thaïlande, Équipe "amélioration génétique"

Responsable du projet (encadrement thaïlandais) :
Kanikar Teerawatanasuk, kanikar2001@yahoo.com
fax : +(66) 2 579 0585

Université de Kasetsart (KU),
Thaïlande

Responsable du projet :
Poonpipope Kasemsap, agrppk@ku.ac.th
fax : +(66) 2 942 8467