



**Diversité génétique de l'*Eucalyptus robusta* estimée avec les marqueurs moléculaires dans son aire naturelle et à Madagascar.**

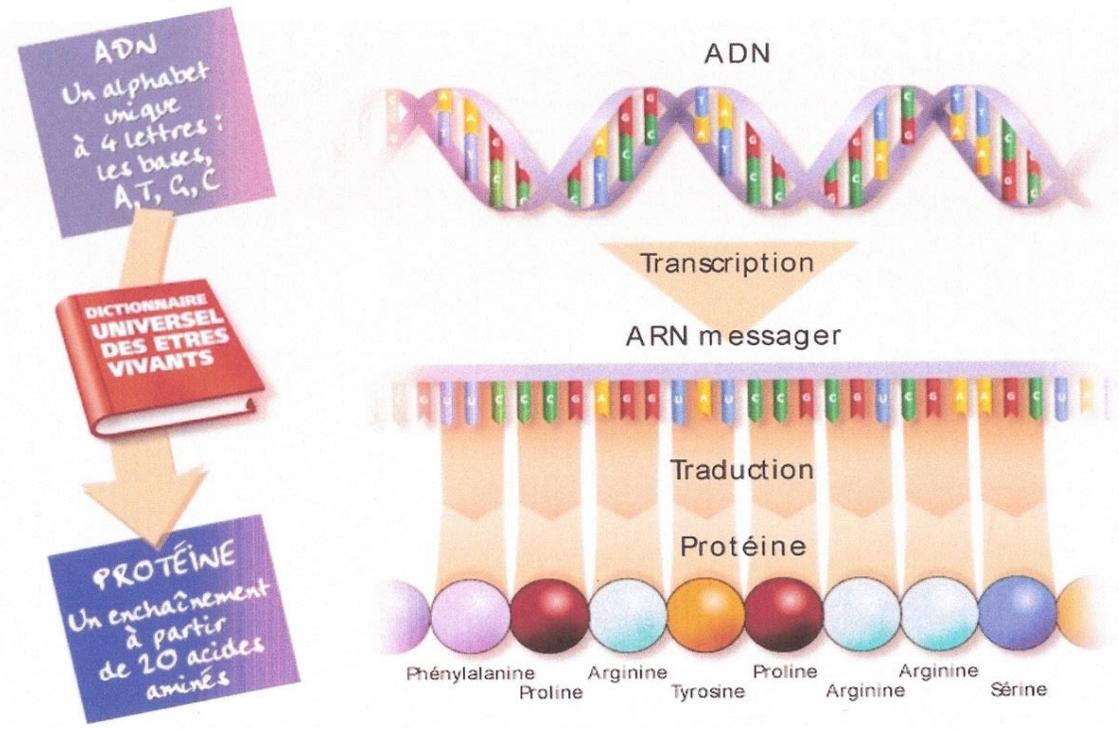


*Un partisan inconditionnel des eucalyptus*

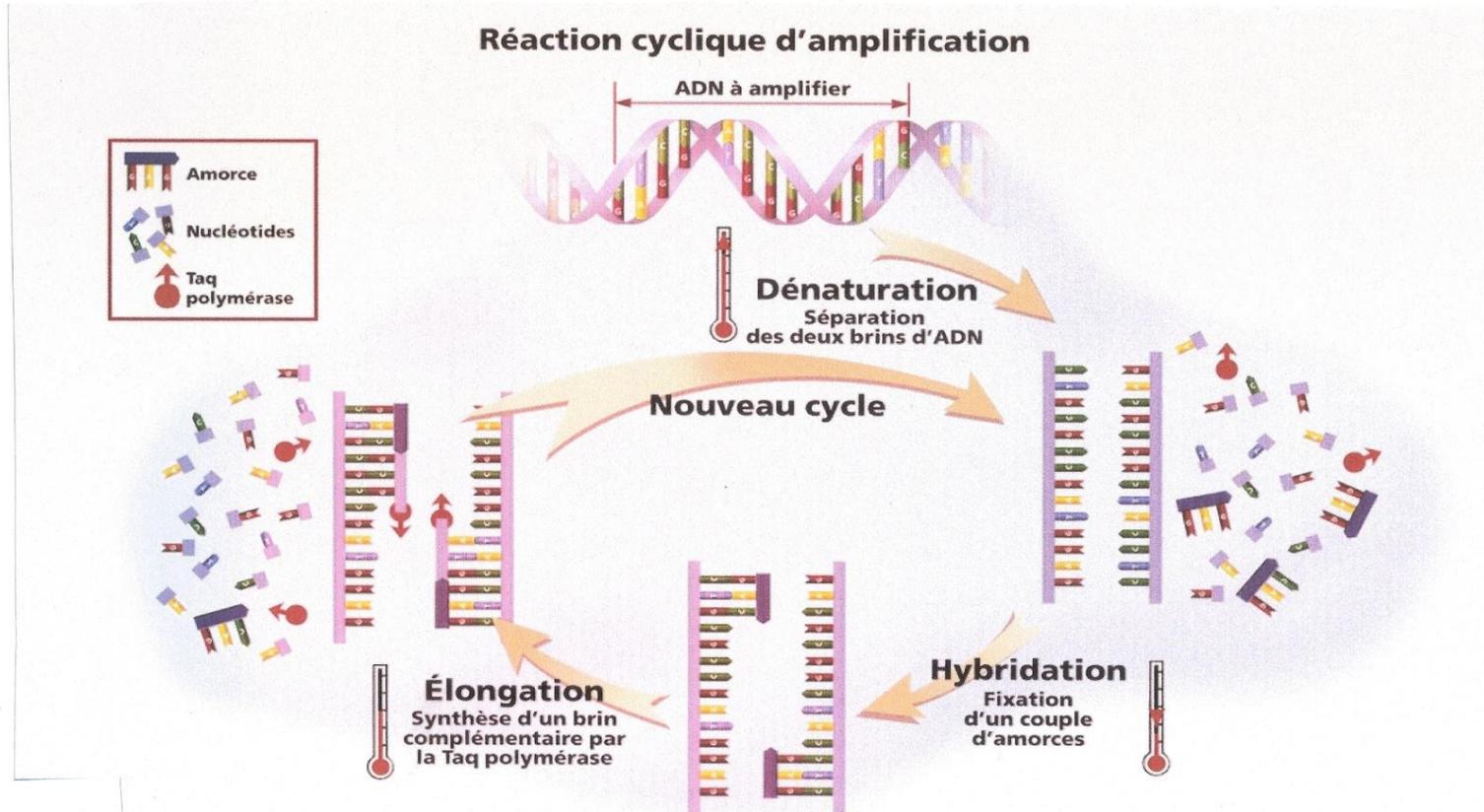


***D. Verhaegen***

# Du gène à la protéine



# La réaction de polymérisation en chaine (PCR) Amplification de l'ADN



Facteur d'amplification :  $2^n$

n nombre de cycle

30 cycles = plus de 1 000 000 000 copies d'un fragment d'ADN = locus

## 2 Notions

### - **Génétique Forestière :**

1 Les gènes constituent la base de la variation génétique et de la biodiversité dans le monde ; la génétique est une branche de la biologie qui étudie:

- ▶ la nature, la transmission et le mode d'expression des gènes.
- ▶ la variation génétique, l'héritabilité, et les relations génétiques entre individus, généalogie ou populations

2 Espèces forestières, se caractérisent par leur taille, longévité, nature biologique unique et pour les aspects socio-économiques.

L'eucalyptus est un cas particulier :

- un petit génome
- entièrement séquencé (<http://www.phytozome.net/cgi-bin/gbrowse/eucalyptus/>)

### - **Marqueurs moléculaires:**

Les marqueurs moléculaires sont des fragments d'ADN qui servent de repères pour:

- ▶ suivre la transmission d'un segment de chromosome (gène, exon, intron) d'une génération à l'autre.
- ▶ analyser le polymorphisme entre différents arbres de différentes populations.

## Génétique des populations :

*Objectifs génétique des populations :*

- + Mesurer la variation génétique dans les populations naturelles et décrire les patrons d'organisation de cette variation
- + Expliquer l'origine, le maintien et l'évolution de la variation génétique par l'effet des forces évolutives

- Information génétique est obtenue en étudiant des locus et leurs états alléliques.
- Variation génétique s'exprime par les fréquences relatives des différents allèles
- Evolution agit sur des populations d'individus susceptibles de se reproduire entre eux
- Evolution se traduit par une variation des fréquences alléliques dans les populations

### **Quelques mots clés:**

*Fréquence allélique*

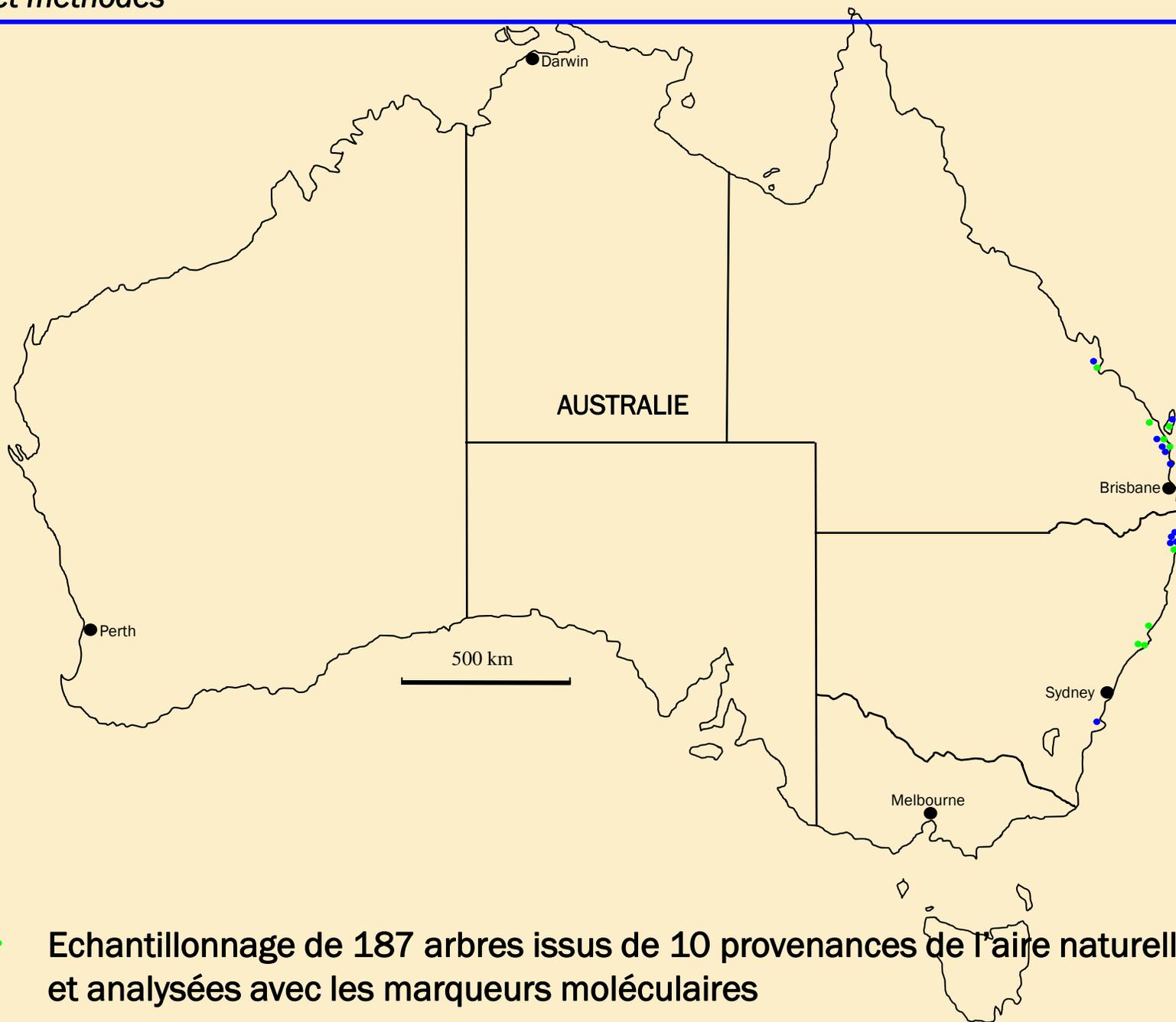
Dans une population de N individus pour un locus avec 2 allèles l'allèle A (fréquence p) et a (fréquence q)  $p+q=1$

*Taux d'hétérozygotie*

C'est la moyenne des fréquences des hétérozygotes observées à chacun des locus étudié.

*Diversité allélique ou Richesse allélique*

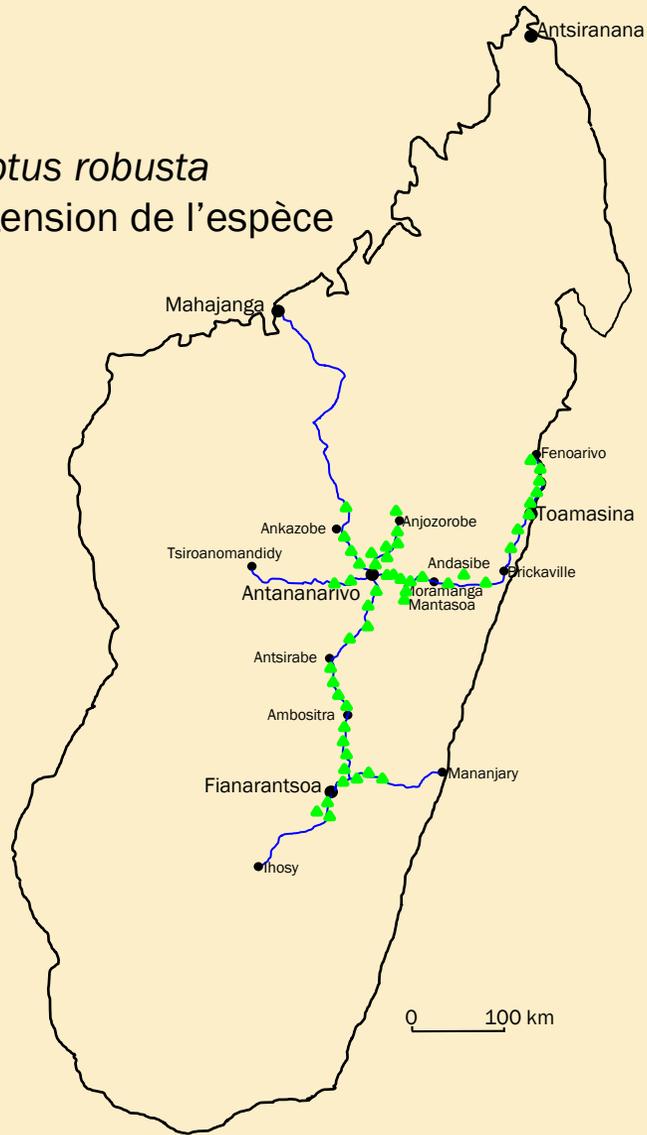
C'est la moyenne du nombre d'allèles par locus



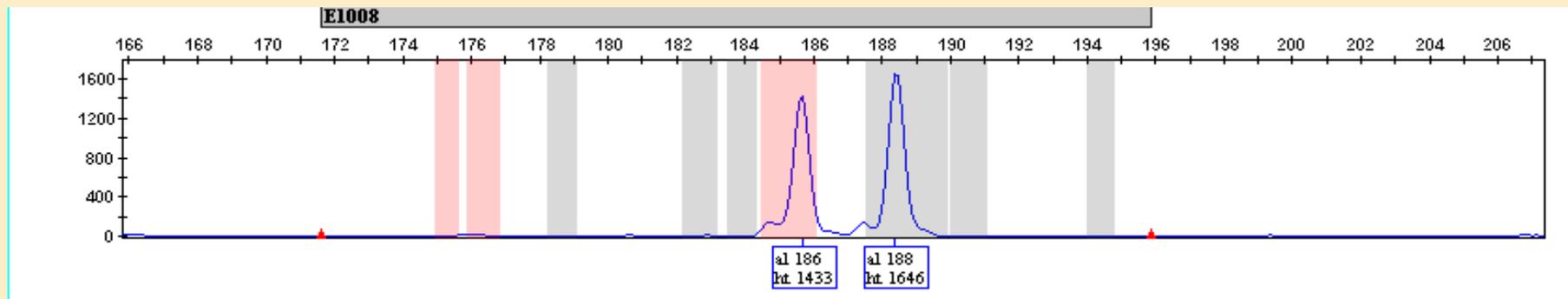
- Echantillonnage de 187 arbres issus de 10 provenances de l'aire naturelle et analysées avec les marqueurs moléculaires

## Madagascar

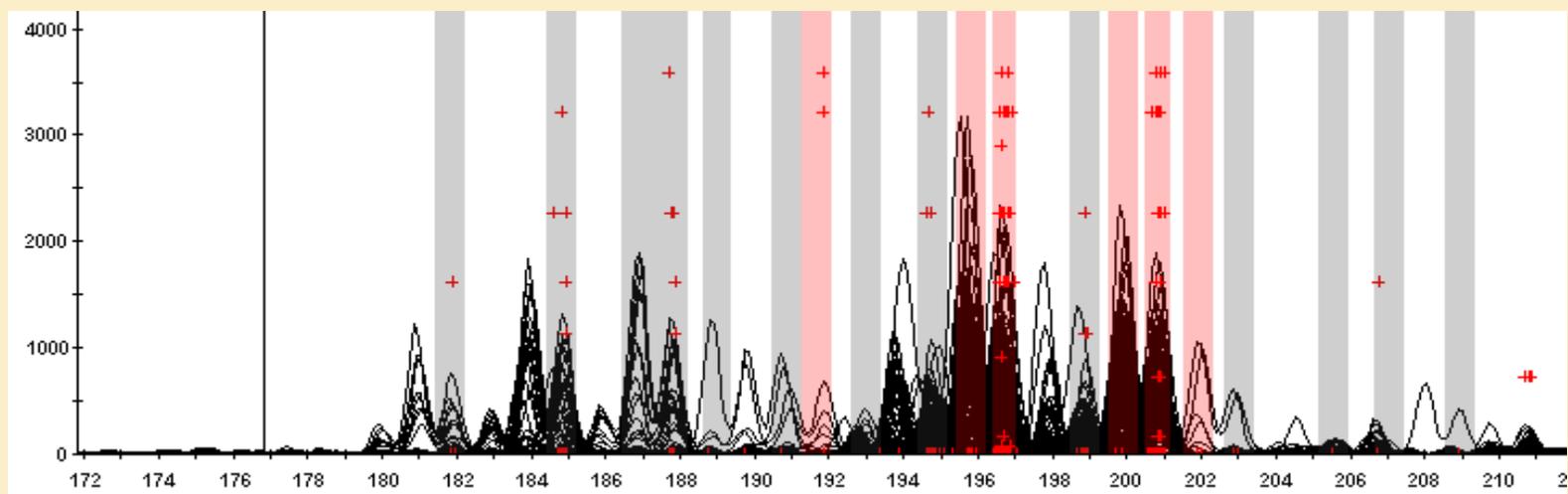
Echantillonnage de 107 *Eucalyptus robusta*  
dans les principales zones d'extension de l'espèce



## Révélation du polymorphisme par séquençage (205 individus et 18 locus SSR)



Exemple : Individu du Fofifa Toamasina hétérozygote pour le locus 1008  
2 allèles de longueur 186 et 188 paire de bases



Polymorphisme observé sur la totalité de l'échantillon (205 arbres 1 locus)  
15 allèles observés entre 181 et 209 bp.

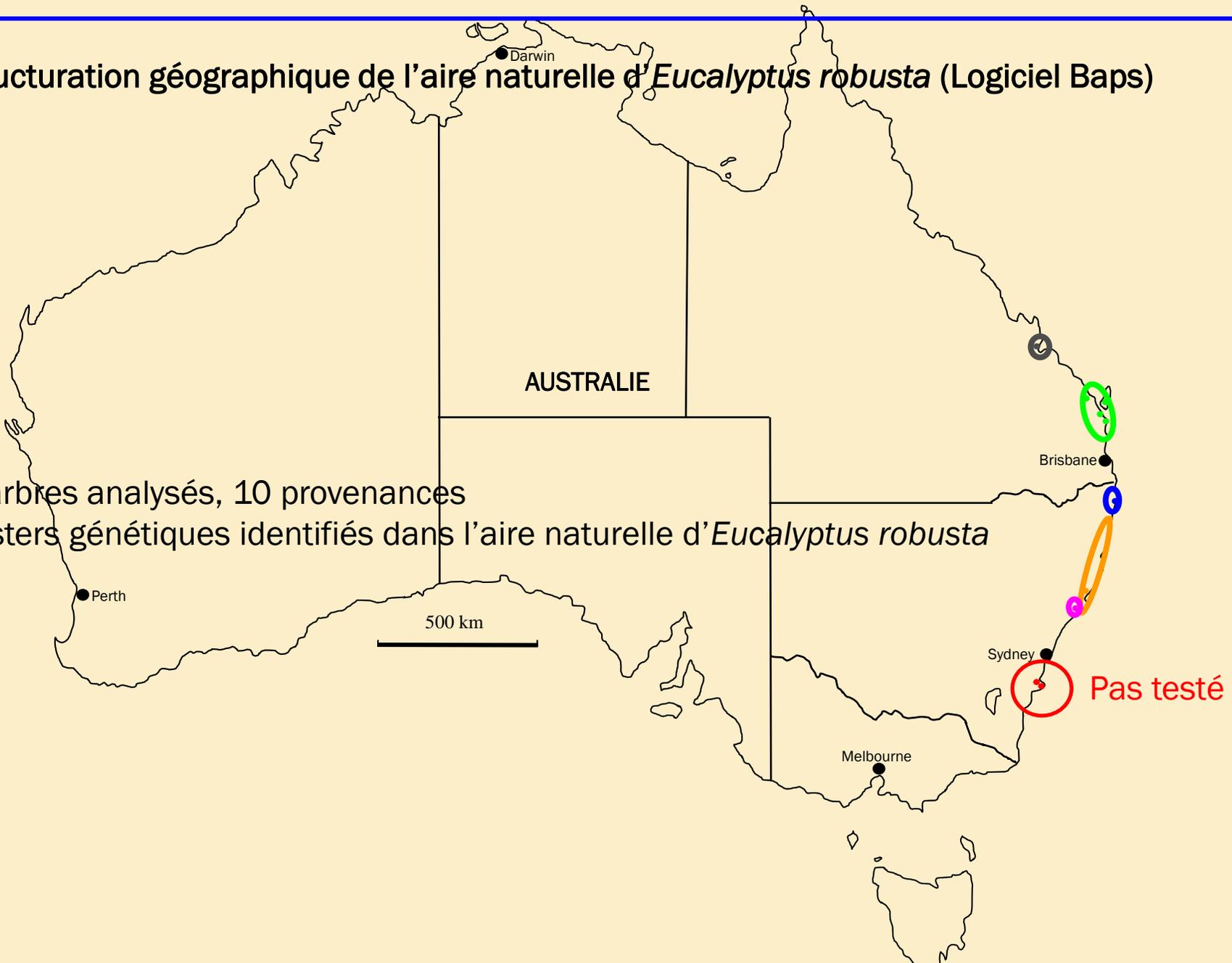
Paramètres de diversité génétique (Logiciel Fstat)

Provenances	Hétérozygotie observée	Richesse allélique	Fis < 0 : Ho excès hétérozygotes Fis = 0 : population en équilibre Fis > 0 : Ho déficit hétérozygotes
Bowenia	0.53	3.78	-0.009 <sup>NS</sup>
Elliott River	0.55	4.14	0.059 <sup>NS</sup>
Fraser	0.51	4.61	0.093*
Gympie	0.47	3.79	0.044 <sup>NS</sup>
David Low	0.46	4.56	0.123**
Grafton	0.64	5.34	0.039 <sup>NS</sup>
Nambucca	0.56	4.65	0.072*
Cooperook	0.58	4.98	0.075*
Myall Lakes	0.56	4.95	0.067*
Bulahdelah	0.50	4.27	-0.087**
Madagascar	0.59	5.11	0.011 <sup>NS</sup>
Moyenne	0.54	5.63	0.047 <sup>NS</sup>

# Structuration géographique de l'aire naturelle d'*Eucalyptus robusta* (Logiciel Baps)

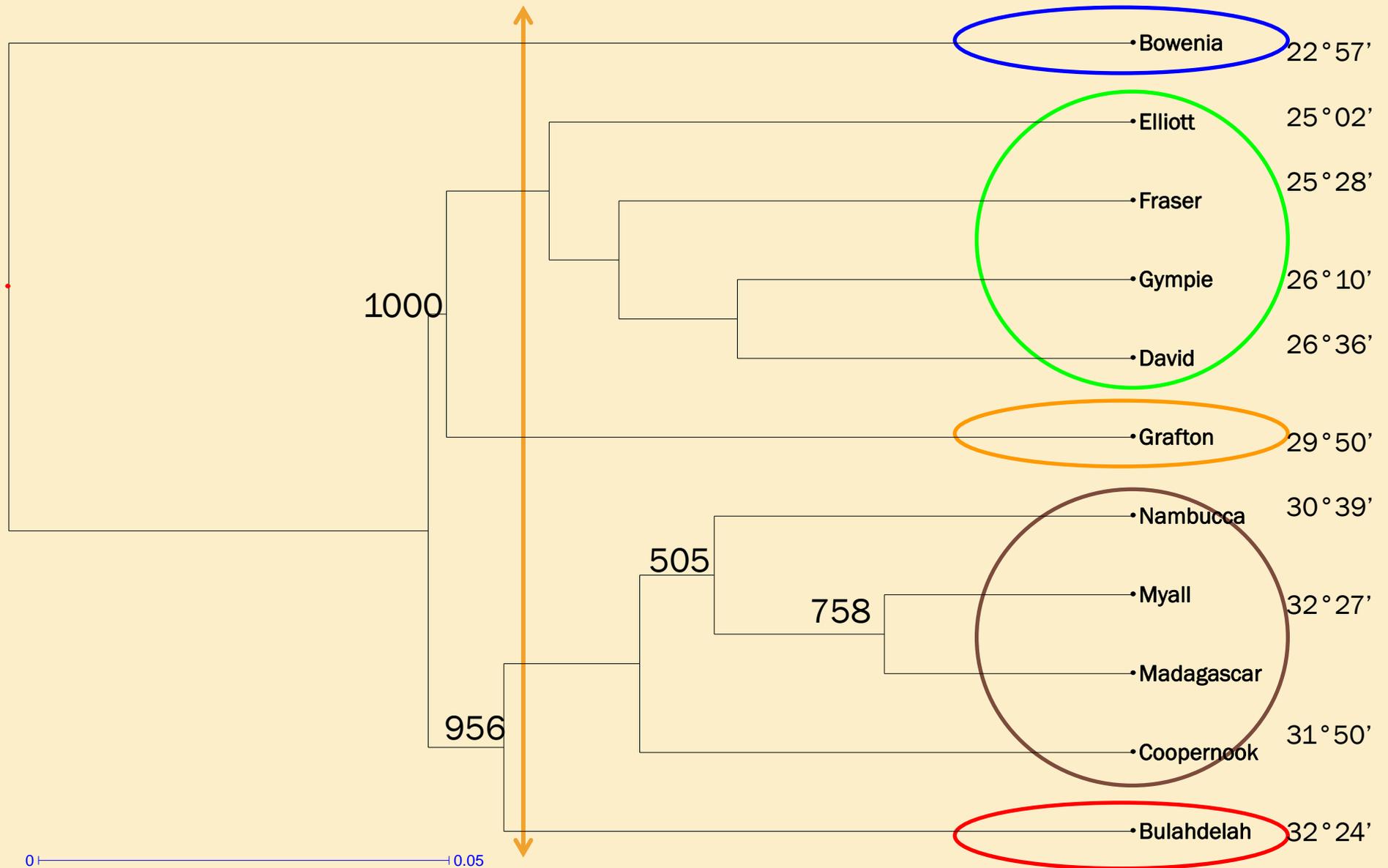
187 arbres analysés, 10 provenances

5 clusters génétiques identifiés dans l'aire naturelle d'*Eucalyptus robusta*

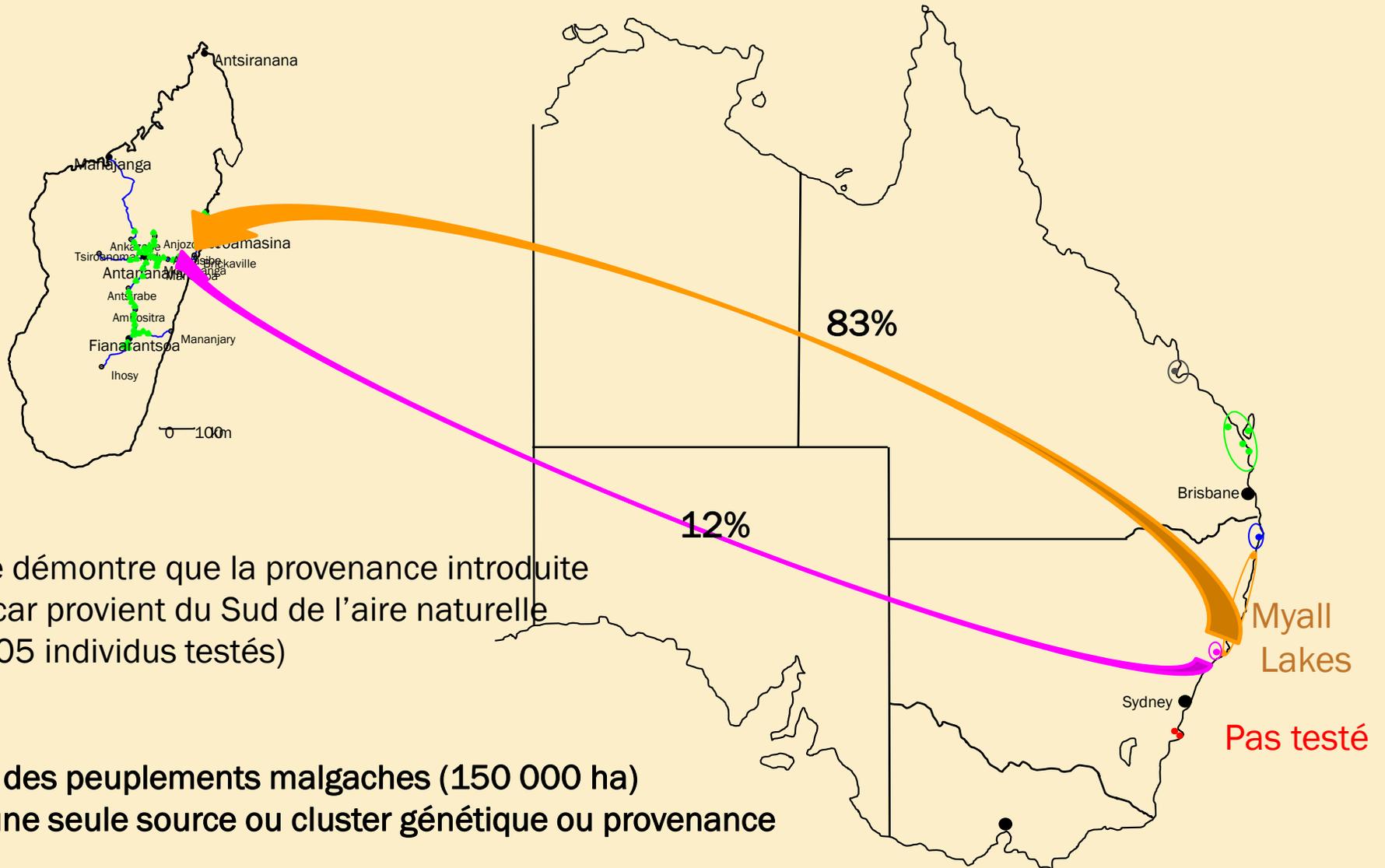


# Dendrogramme de distances génétiques 11 provenances d'*Eucalyptus robusta*

Latitude



# Origine des *Eucalyptus robusta* malgaches (Logiciel GenClass2)

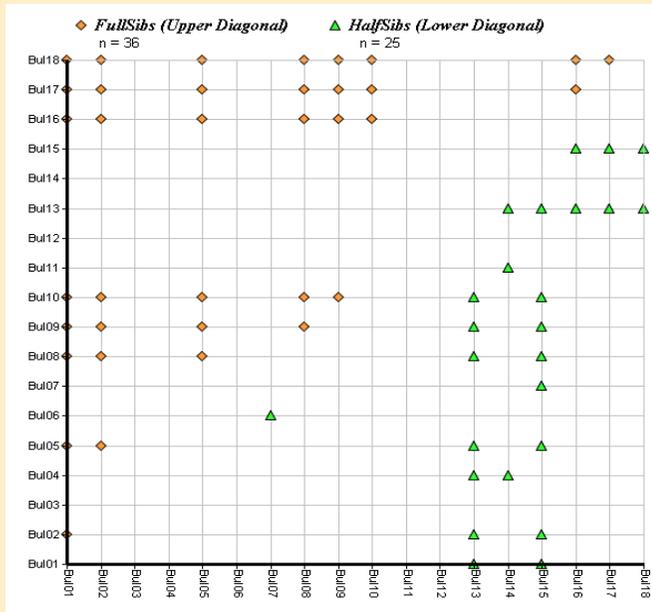


La méthode démontre que la provenance introduite à Madagascar provient du Sud de l'aire naturelle (95% des 105 individus testés)

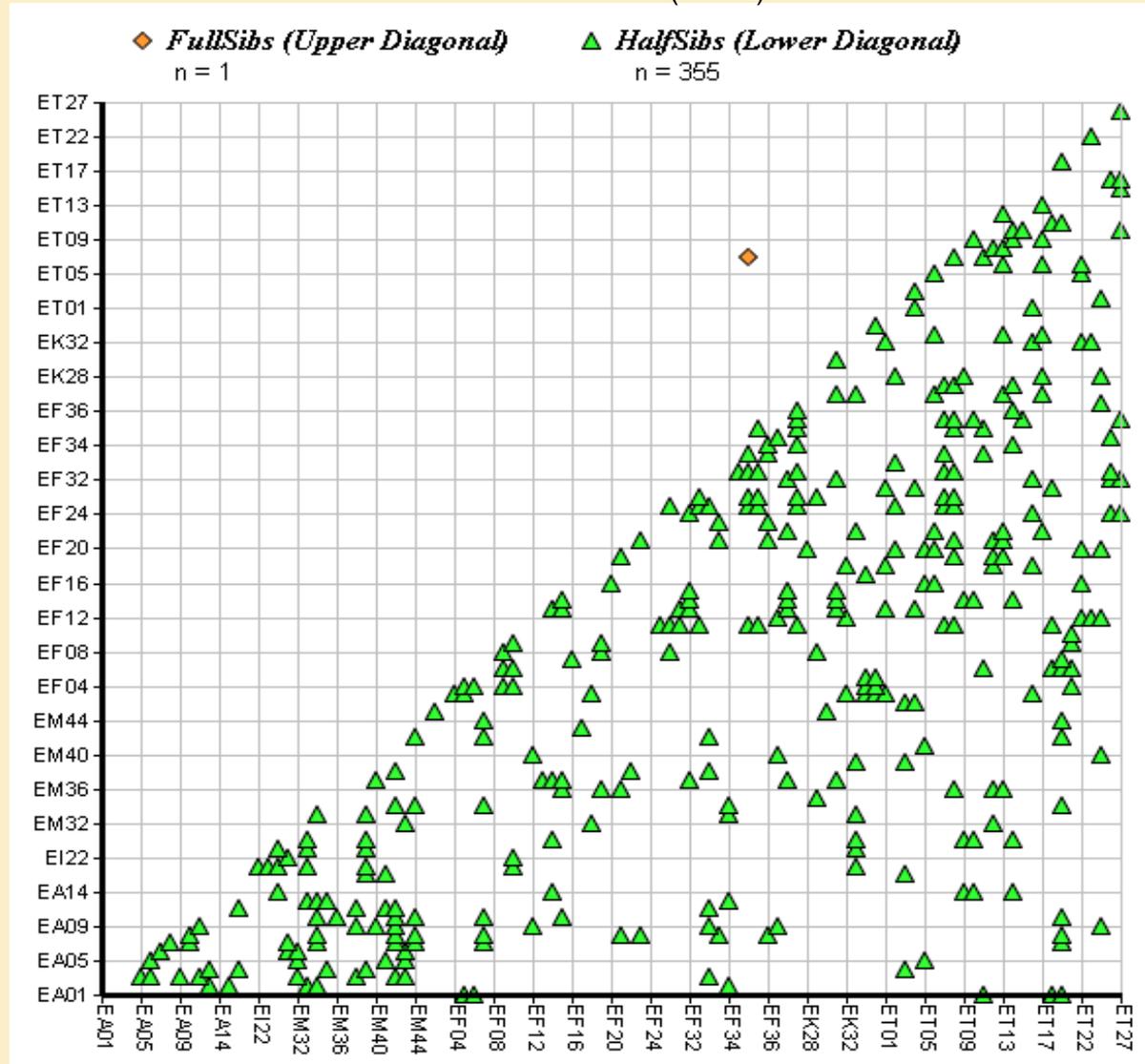
L'ensemble des peuplements malgaches (150 000 ha) provient d'une seule source ou cluster génétique ou provenance

## Recherche de parenté : Frères et demi-frères (Logiciel Colony)

Provenance Bulahdelah  
(n = 18)  
36 pleins-frères (23%)  
25 demi-frères (16%)



Provenance Madagascar  
N = 105 arbres analysés  
1 pleins-frères  
355 demi-frères (6.5%)



## Analyses d'apparentement : 105 arbres récoltés à Madagascar (Logiciel Co-Ancestry)

Paramètres Identités	Relations	Pourcentage
$\Delta 7 = \Delta 8 = r = 0$	Non apparentés	33.7
$\Delta 7$ ou $\Delta 8 > 0$ $0.05 < r < 0.25$	Faiblement apparentés	39.9
$\Delta 7$ et (ou) $\Delta 8 > 0$ $0.25 < r < 0.75$	Fortement apparentés	26.4

Exemple d'apparentement :

Parent / descendant :  $\Delta 7 = 0$  ;  $\Delta 8 = 1$  ;  $r = 0.25$

Pleins frères :  $\Delta 7 = 0.25$  ;  $\Delta 8 = 0.5$  ;  $r = 0.25$

Demi-frères :  $\Delta 7 = 0$  ;  $\Delta 8 = 0.5$  ;  $r = 0.125$

Double cousins :  $\Delta 7 = 0.062$  ;  $\Delta 8 = 0.375$  ;  $r = 0.125$

1/3 des arbres ne présentent pas d'apparentement.

1 / 4 des arbres sont fortement apparentés : parents/descendants, demi-frères, cousins,...

### Estimation du nombre de géniteurs ayant produits (logiciel Parentage):

- les provenances australiennes introduites

- la provenance malgache d'*Eucalyptus robusta*

Provenance	Données analysées	Nombre de semenciers réels	Nombre de géniteurs mères estimés (Parentage)
Bowenia	209	10	4-6
Fraser	1017	5	5-8
Elliott	1928	10	5-9
Gympie	1846	6	3-6
David Low	1551	10	6-9
Nambucca	1627	5	5-9
Cooperook	1941	11	4-8
Myall Lakes	1578	10	5-10
Bulahdelah	1263	10	4-6
Madagascar	507	Inconnu	6-9

La méthode donne une assez bonne estimation du nombre de mères constituant la provenance:

Les écarts entre estimation et réalité s'expliquent:

- + En pépinière les taux de germination variant beaucoup, certaines descendances peuvent disparaître
- + Les éclaircies des dispositifs ont sûrement déséquilibré le nombre de descendances / provenance
- + L'échantillonnage a encore accentué ce déséquilibre

**L'ensemble des peuplements malgaches (150 000 ha) est issu d'un nombre très limité de géniteurs**

● La dynamique de reboisement en *Eucalyptus robusta* reste active aux alentours de la capitale

Points forts:

- + La technicité des propriétaires reboiseurs est bonne (pépinière, repiquage, plantation)
- + Les superficies reboisées en eucalyptus sont en augmentation
- + La rentabilité financière des plantations est reconnue et est une source d'emploi
- + Les plantations sont devenues un patrimoine familial à transmettre aux enfants

Points faibles

- + Parfois source de conflit pour l'appropriation des terres
- + Compétition plantation en eucalyptus et cultures vivrières
- + Le matériel végétal planté n'est pas ou peu sélectionné
- + Ignorance ou manque de moyens pour utiliser les graines du SNGF
- + La régénération naturelle est encore très utilisée.

## Les meilleures sources de graines en *Eucalyptus robusta* sont connues

### Points forts :

- + Les provenances et descendances adaptées à différentes conditions écologiques sont connues
- + Il existe des provenances adaptées à des conditions écologiques contrastées
- + Des vergers à graines permettent une sortie variétale de départ (Génération 0).

### Points faibles:

- + Les sources de graines « malgaches » ne donnent pas la meilleure croissance
- + Les vergers à graines ne permettent pas une réelle panmixie inter-provenance
- + La sélection a porté uniquement sur des caractéristiques de vigueur et de forme
- + La variation des propriétés technologiques (densité, retrait,..) et chimiques (taux de lignine, de cellulose, ..) reste inconnue et n'a pas été prise en compte
- + La sélection phénotypique sur la vigueur est insuffisante pour la gestion des vergers à graines d'*Eucalyptus robusta* et la création variétale:
- + Un progrès génétique important reste à faire sur la base des tests de descendances (Génération 1).

- Les connaissances sur la diversité génétique d'*Eucalyptus robusta* peuvent accélérer la création variétale

Points forts :

- + L'identification des clusters permet d'enrichir et mieux sélectionner la base génétique à utiliser pour la création variétale.
- + Relation entre la vigueur des provenances et l'appartenance aux clusters génétiques est faite pour les provenances du Sud et du Nord de l'aire naturelle.
- + Le suivi de la diversité génétique des variétés diffusées est possible.
- + Les *Eucalyptus robusta* de Madagascar ont la même origine et sont tous plus ou moins fortement apparentés

Points faibles:

- + La variation liée aux changements globaux reste à définir et les traits liés aux gènes d'adaptation restent à étudier
- + L'enrichissement de la base génétique en milieu paysan reste à poursuivre.

