



UNIVERSITE DES ANTILLES ET DE LA GUYANE

MEMOIRE POUR L'OBTENTION DE L'HABILITATION A DIRIGER DES RECHERCHES

Ivan Scotti

INRA UMR 0745 "Ecologie des Forêts de Guyane" Résumé des activités de recherche et encadrement

Kourou, 19 Novembre 2008

Membres du jury :

Amadou BA, Université des Antilles et de la Guyane (rapporteur)

Antoine KREMER, INRA (rapporteur)

François LEFEVRE, INRA (rapporteur)

Rémy PETIT, INRA (examineur)

Alain ROUSTEAU, Université des Antilles et de la Guyane
(examineur)

Bernard THIBAUT, CNRS (directeur de recherche)

*"Soyez réalistes : demandez l'impossible."
E.C.G.*

À Thomas

Sommaire

Résumé.....	4
Introduction.....	6
Les échelles, les processus.....	8
Contexte scientifique.....	9
Le déroulement des activités de recherche, d’enseignement, d’animation : une vue synthétique.....	10
Orientations des recherches du Laboratoire de Génétique écologique - UMR ECOFOG...	16
Résultats.....	18
Travaux sur les conifères (1991-2001).....	18
Travaux sur les herbacées (2002-2004).....	22
Travaux sur les arbres forestiers tropicaux.....	25
Développement d’outils moléculaires et d’analyse des données.....	25
Travaux à l’échelle de la population.....	27
Travaux à l’échelle de l’aire de répartition.....	29
Travaux à l’échelle de l’espèce.....	32
Conclusion.....	35
Références.....	36
Annexes.....	40

Résumé

Mes activités de recherche ont été organisées autour de la description de la distribution de la diversité génétique dans les populations naturelles des plantes, et particulièrement des arbres forestiers.

Les démarches que j'ai adoptées réunissent des approches de génomique, de génétique des populations, de génétique quantitative, de statistique spatiale, de biologie de l'évolution et de génétique moléculaire.

Au cours des dix-sept années (1991-2008) passées dans le monde de la recherche en génétique des populations, d'abord en tant qu'étudiant, puis en tant que post-doctorant, et enfin en tant que chercheur à l'INRA, j'ai pu élaborer une vision d'ensemble des enjeux de la recherche dans ce domaine, en particulier en ce qui concerne l'interaction entre la constitution génétique des organismes et leur milieu (« génétique écologique »).

Dans un premier temps j'ai étudié la distribution de la diversité génétique chez les conifères, à la fois à l'échelle de l'aire de répartition et de la population, ce qui m'a permis de décrire les modes de dispersion et migration de ces espèces à plusieurs échelles, et de contribuer à en décrire l'histoire à l'échelle géologique pour une partie de l'aire de répartition. En même temps, j'ai contribué à décrire la structure moléculaire à large échelle du génome de ces espèces, contribuant ainsi à en déterminer l'histoire du fonctionnement du système génétique.

Après une courte parenthèse consacrée à l'étude de la génétique quantitative chez une plante modèle, et l'étude du flux de gènes dans un contexte d'hybridation entre espèces cultivées et sauvages, j'ai réuni cet ensemble de compétences pour bâtir mon programme de recherche en tant que chercheur de l'INRA, recruté pour étudier le rôle de la diversité génétique dans l'établissement de la diversité biologique des forêts tropicales. Ce programme consiste à intégrer le rôle de la démographie et de l'adaptation au milieu sur plusieurs échelles, afin de comprendre les mécanismes qui génèrent et maintiennent la diversité génétique chez les espèces d'arbres forestiers tropicaux. Ces études combinent les approches de génétique démographique (dispersion et régénération à courte échelle, flux de gènes à l'échelle régionale et continentale), d'un côté, et les approches de génétique fonctionnelle, de l'autre côté, avec l'évaluation du rôle de certaines familles de gènes dans l'adaptation (en estimant la pression de sélection et en observant la distribution géographique des variant alléliques) et l'estimation de l'héréditabilité des traits fonctionnels, de l'autre côté. Les premiers résultats de ces recherches ont permis de mettre en évidence les effets de la sélection et de la démographie historique sur les patterns de diversité génétique neutre et adaptative, de

déterminer que plusieurs caractères quantitatifs sont héréditaires et diversifiés en fonction du milieu au sein d'une espèce, et d'estimer l'impact de l'intervention de l'homme sur la démographie à courte échelle spatiotemporelle des peuplements forestiers.

Ces recherches sont menées dans une équipe de recherche composée de chercheurs, post-doctorants, doctorants, étudiants et techniciens, que j'anime et dont j'assure, en collaboration avec les autres chercheurs de l'équipe, la continuité scientifique, les liaisons de collaboration avec les autres centres de recherche (nationaux et étrangers) et le soutien financier, par le biais de la participation à des nombreuses actions collectives de recherche.

Introduction

Les processus biologiques sont caractérisés par leur variabilité intrinsèque. S'il est important de rechercher des lois de la nature qui reposent sur la stabilité des systèmes biologiques, il est impossible d'ignorer le rôle de la diversité et de la capacité à évoluer (à toutes les échelles temporelles), deux composantes primaires des êtres vivants (Mayr 1982). A la différence des objets inanimés, le moteur de l'évolution chez les organismes biologiques est basé sur la diversité elle-même, et sur la capacité de se reproduire avec des variations soumises à sélection (Dawkins, 1986), les trajectoires évolutives pouvant prendre autant de directions qu'il existe de formes de vie. Les liens entre individus de la même espèce, que ce soit dans différents lieux de l'espace ou au fil des générations, sont le produit des mécanismes de reproduction et de l'hérédité de l'information génétique (et en partie environnementale et culturelle) (Darwin, 1859). Ces apparentements plus ou moins forts entre individus constituent l'un des fondements des interactions entre organismes et variants biologiques. En parallèle les processus cellulaires, qui induisent le brassage de l'information génétique, produisent sans discontinuer de nouvelles combinaisons génétiques qui augmentent globalement la diversité biologique. Par ailleurs, les forces évolutives, telles que la migration, la mutation, la sélection, la dérive, modifient sans arrêt le niveau de diversité et sa distribution (Futuyma, 2005 ; Ridley 2003; Hedrick, 2000). Ainsi, au travers de ces forces évolutives, la diversité apparaît au centre des processus liés à la persistance et à la modification dans le temps des populations (et des espèces) d'organismes vivants. Les patrons de diversité et les processus évolutifs sont étroitement liés, puisque ces derniers peuvent être inférés à partir des premiers. Enfin, l'action des phénomènes évolutifs sur la diversité génétique est tellement puissante et directe qu'il a été possible de développer, en génétique des populations et évolutive, un cadre théorique associé à des approches expérimentales et statistiques dignes des sciences dites « dures » (Nei, 1986 ; Wright, 1984 ; Kimura, 1983 ; Huxley, 1942).

Une caractéristique supplémentaire des organismes vivants est la structure très particulière des liens entre des processus situés à des échelles dimensionnelles différentes. Si, chez les objets non vivants, il est possible de déterminer une « hiérarchie » des niveaux structurels, les structures à grande échelle étant déterminées par celle des échelles inférieures, chez les organismes biologiques cette structure hiérarchique est globalement et intrinsèquement « enchevêtrée » : les processus à l'échelle de l'espèce, de la population, de l'organisme, de la cellule et jusqu'à celui de la molécule peuvent s'influencer les uns les autres dans une étonnante complexité de relations. Pour comprendre les mécanismes de l'évolution, de

l'écologie, de la société, c'est-à-dire des domaines où les interactions entre organismes sont le sujet principal d'étude, il est primordial d'avoir une vision d'ensemble qui embrasse les différentes échelles, même si pour des raisons pratiques le chercheur est souvent obligé à limiter son champ d'investigation scientifique.

Dans ce rapport d'activités scientifiques qui présente les résultats de mon cursus de recherche, le questionnement porté sur les processus biologiques est intégratif et hiérarchique puisqu'il tient compte à la fois de l'échelle du gène, du génome, de l'individu, de la population, de l'aire de répartition de l'espèce et de la comparaison entre espèces. Cette démarche intégrée, que je considère comme indispensable à la compréhension des mécanismes qui déterminent le devenir des populations d'espèces naturelles ou cultivées par l'homme, représente l'axe autour duquel se structurent mes recherches. Celles-ci ont comme sujet d'étude le monde végétal et en particulier, avec quelques exceptions dictées par la nécessité d'apprendre et de tester des nouvelles démarches d'analyse, les arbres forestiers. Si le choix de la démarche « intégrée » précédemment décrite est le fruit d'une réflexion méthodologique, mûri avec la conscience de la complexité de la tâche, le choix de ce sujet d'étude, fait il y a désormais seize ans, répond à deux considérations qui ne retiennent pas la facilité d'exécution des travaux comme argument principal. D'autres « organismes modèles » plus performants se prêtent beaucoup mieux que les arbres forestiers à cette forme de quête scientifique : moucheron, cresson, souris, céréales, et autres puces d'eau, nématodes et bactéries qui sont le choix d'élection du généticien. En revanche, les arbres forestiers présentent certains des avantages d'autres organismes modèles, comme la taille des populations et des descendances, souvent grande, et un atout qui leur est propre, à savoir la très longue persistance, dans le temps et dans l'espace, des individus. De plus, ils représentent un véritable modèle pour l'étude des processus de spéciation et de divergence écologique, puisque beaucoup de genres d'arbres présentent des complexes d'espèces. Me concernant, le choix d'étudier les arbres forestiers est dicté d'un côté, par ces caractéristiques biologiques et par leur importance écologique dans la plupart des écosystèmes, associée à leur importance économique en tant que produits dérivés de la foresterie, et de l'autre côté, par la fascination qu'exercent ces organismes géants et fragiles, puissants et silencieux, souvent anciens mais toujours jeunes. Le sujet de ce rapport est scientifique, mais le choix de l'objet, auquel j'applique son approche rigoureuse, a été inspiré, du moins en partie, par un sentiment : le respect, et ses compagnons plus émotifs : l'amour et l'admiration. Trois signes d'attention que les forêts du monde entier méritent largement, mais dont elles sont trop souvent privées.

Les échelles, les processus

Pour appréhender la structure de la variabilité génétique dans les populations d'arbres forestiers, j'ai analysé plusieurs niveaux d'organisation. Tout d'abord le niveau moléculaire, pour lequel j'ai développé des outils (marqueurs génétiques) qui ont permis, d'une part d'étudier et comparer les caractéristiques de différents types de *loci* génétiques, puis d'étudier leur répartition dans le génome afin d'avoir une vision plus globale des propriétés du génome, de sa composition. L'obtention de ces marqueurs génétiques m'a ensuite permis d'appréhender le niveau hiérarchique supérieur, celui qui va de l'individu à la population. La maîtrise des méthodologies pour le développement d'outils s'avère être un atout majeur pour le généticien des populations, de l'écologie et de l'évolution car elle confère une grande liberté dans le choix des espèces biologiques et des sujets d'étude.

A l'échelle des individus et de la population, mes recherches s'orientent vers la détermination de l'architecture génétique des caractères (approche de génétique quantitative) et vers l'estimation des paramètres liés à la dynamique de la diversité génétique. En particulier, l'étude des processus démographiques en liaison avec les conditions écologiques permet de lier, sur une échelle spatio-temporelle courte, l'adaptation à l'environnement et le système de reproduction (Epperson, 2003 ; Rousset, 2004). Ces deux facteurs qui présentent de fortes interactions sont très importants puisqu'ils contraignent fortement le chemin évolutif des populations.

Mes études menées au niveau individuel et populationnel sont à leur tour étroitement liées à celles menées au niveau du paysage et de l'aire de répartition. En effet, à l'exception de l'échelle spatiotemporelle qui est plus grande, les processus qui déterminent la distribution de la diversité génétique entre populations (démographie, adaptation) sont les mêmes qu'au niveau de la population. Il s'agit ici d'étudier l'effet de l'histoire et des grandes variations écologiques sur le niveau, la distribution et l'évolution de la diversité génétique dans l'espace et dans le temps (Hewitt 2000 ; Petit et al. 2008).

Enfin, le lien « transversal » entre les différentes échelles repose sur les effets spécifiques subis par les différentes parties du génome en fonction des processus qui se déroulent à l'échelle supra-individuelle. La diversité dans le génome, au niveau des régions neutres ou soumises à sélection, répond de manière caractéristique et contrastée aux événements sélectifs et démographiques. Cette signature génétique permet alors de déduire, sur la base de la distribution de la diversité, les effets des processus évolutifs. L'ensemble de la démarche vise à déterminer de manière cohérente les facteurs qui ont engendré l'état actuel de la diversité

génétique, et à en prédire les changements futurs. Inversement, elle vise aussi à identifier quelles composantes de la diversité génétique (quels gènes, combien de gènes, sous-jacents à quels caractères) sont impliqués dans les mécanismes qui permettent aux populations et aux espèces de répondre aux changements de l'environnement.

Contexte scientifique

Les activités présentées dans ce mémoire s'inscrivent dans le questionnement du rôle de la diversité génétique dans la distribution observée des espèces et des populations de plantes dans leur environnement. Le cadre général est celui de la « synthèse néo-darwinienne », le système de référence qui réunit la Théorie darwinienne de l'évolution biologique et la génétique quantitative et des populations (Huxley 1942). La fusion de ces deux branches a produit un milieu fertile pour des idées novatrices associé à une méthode qui permet la formulation d'hypothèses évolutives bien définies et testables. Par ailleurs, le fusionnement de ces deux champs d'étude correspond également au rapprochement de trois programmes scientifiques : la génétique, née comme science appliquée à l'amélioration des organismes vivants, les sciences naturelles et plus récemment, l'écologie des populations. Cette dernière a, très naturellement, intégrée les sciences de l'évolution biologique, un domaine éminemment multidisciplinaire, au point que Theodosius Dobzhansky pouvait affirmer dans la première moitié du siècle dernier que « rien ne peut s'expliquer, en biologie, si ce n'est dans le cadre de l'évolution ». Les développements scientifiques de la deuxième moitié du XX siècle n'ont fait que resserrer ces liens : la découverte du rôle de l'ADN dans la détermination génétique et des modalités de son évolution ; l'affinement des méthodes analytiques et statistiques appliquées à la biologie qui ont permis d'améliorer l'évaluation du rôle relatif du déterminisme génétique et de l'environnement dans la formation des individus ; la meilleure compréhension des effets évolutifs au niveau de l'individu, du peuplement et de l'espèce ; le développement des théories neutres de l'évolution (Kimura 1983), qui ont donné un nouveau souffle à la biologie des populations et ont fourni un cadre rigoureux au test des hypothèses ; l'extraordinaire développement des moyens techniques qui permettent l'analyse génétique à haut débit. Toutes ces avancées sont autant de facteurs qui ont permis un dialogue de plus en plus précis et fertile entre les disciplines dans le domaine de l'évolution du vivant.

Ces développements ont abouti à une nouvelle spécificité de la génétique dont la branche s'étend pour entrer en contact avec l'écologie et la physiologie : la « génétique écologique ».

Cette discipline a pour but d'étudier la génétique dans le contexte des interactions entre organismes et entre organismes et leur environnement – c'est-à-dire étudier le rôle des mécanismes génétiques en écologie et en évolution. On compte parmi les pères fondateurs de cette discipline T. Dobzhansky, déjà cité, et surtout Edmund Brisco « Henry » Ford, qui publia en 1964 la première édition de son œuvre « Ecological Genetics » (Ford 1967).

La génétique écologique est nécessairement un domaine dont les outils sont diversifiés et multiples : elle fait appel à la fois à la génétique quantitative, à la génétique moléculaire, à la démographie, à l'étude de la distribution de la diversité dans le temps et dans l'espace (Hedrick 2006); enfin, elle ne peut exister qu'en présence d'une interaction avec l'écologie des populations et des communautés, l'écophysiologie, les différentes disciplines qui concernent le fonctionnement du vivant à l'échelle de l'individu : physiologie, biomécanique, botanique, sciences de la reproduction des plantes... C'est donc dans ce cadre de référence multi-échelles et multidisciplinaires que s'inscrit la démarche de la génétique écologique. Mes activités de recherche ont visé depuis toujours à l'acquisition et à la mise en œuvre de ces différentes méthodes. L'objectif de mes activités présentes est de les réunir dans un seul cadre cohérent.

Le déroulement des activités de recherche, d'enseignement, d'animation : une vue synthétique

L'axe principal de mes activités de recherche est la génétique des populations des arbres forestiers. Compte tenu de l'unité et de la continuité que cet axe confère à mon cursus scientifique, il semble pertinent, une fois n'est pas coutume, de rappeler l'ensemble de mes résultats scientifiques en commençant par leur point d'origine, le stage de Master – qui, en 1991 en Italie, avait une durée similaire à celle d'une thèse (2 ans), puis en exposant les principaux résultats de ma thèse, bâtie en cohérence avec les activités antérieures et celles qui lui succèdent (contrats de post-doctorat, poste de chargé de recherche à l'INRA).

Nous pouvons schématiquement identifier trois étapes dans l'évolution de ma carrière :

1. une première phase (1991-2001) de formation et recherche qui comprend le Master, le Doctorat et une première activité postdoctorale. Cette phase s'est concentrée sur l'étude de la génétique des populations d'un conifère, l'épicéa (*Picea abies*), abordée à la fois du point de vue de l'histoire naturelle, de la dynamique des populations, du développement d'outils analytiques (marqueurs moléculaires), de la structure du génome (cartographie génétique de liaison).

2. une deuxième phase (2002-2004) pendant laquelle, au travers de deux contrats postdoctoraux, j'ai élargi mon champ d'étude à deux thématiques importantes du point de vue de l'évolution des plantes : l'hybridation entre espèces et l'architecture génétique des caractères quantitatifs. Ces travaux ont été réalisés sur trois plantes annuelles considérées comme des systèmes modèles, (compagnon blanc (*Silene latifolia*), laitue (*Lactuca sativa*) et chicorée (*Cichorium intybus*)), me permettant ainsi de me focaliser sur le questionnement scientifique sans me préoccuper de la mise au point des outils d'analyse.
3. Une troisième phase (2005-présent), avec la prise en charge des activités de génétique écologique de l'Unité Mixte de Recherche « EcoFoG » (ECOlogie des FOrêts de Guyane). Mon intégration dans l'UMR a permis d'apporter la contribution du généticien des populations à la question de l'origine et du maintien de la diversité en forêt tropicale humide, en particulier sur le niveau de la diversité génétique et sur sa répartition dans l'espace et en relation avec l'environnement. Cette fonction implique la direction d'une équipe de recherche composée de trois chercheurs et la gestion du plateau de génétique, biologie moléculaire et microbiologie de l'UMR. Les deux années qui ont suivi mon recrutement ont vu le démarrage de nouveaux sujets de recherche, la mise en place de nouveaux dispositifs expérimentaux, la stabilisation des collaborations scientifiques déjà en cours, la mise en place de nouveaux liens et la valorisation de résultats génétiques déjà disponibles dans l'unité. En particulier, mes activités se sont orientées autour de l'étude de la démographie et de la distribution spatiale à plusieurs échelles de la diversité génétique, neutre ou ayant une signification adaptative. L'organisation de ces axes de recherche est décrite dans le chapitre suivant.

Du point de vue des approches, j'ai adapté systématiquement au cours de mes recherches les outils méthodologiques à la question posée et approfondi le questionnement sur les propriétés, atouts et limites de chaque outil. Cette démarche m'a, dans certains cas, contraint à développer des outils d'analyse *ad hoc* à la question posée.

Globalement, j'ai ainsi acquis et mis en pratique, au cours de ma carrière scientifique, les stratégies d'investigation propres à la génétique des populations et évolutive, propres à la génétique des caractères quantitatifs et propres à la génomique. Dans le déroulement des activités spécifiques à chacune de ces stratégies, j'ai appliqué, d'un côté, les démarches typiques de la biologie moléculaire pour la production des données génétiques ; et de

l'autre, les méthodes d'analyse statistique (analyse de la variance, méthodes de permutation, méthodes de maximum de vraisemblance, méthodes bayésiennes, méthodes de statistique spatiale) qui m'ont offert une grande flexibilité et la possibilité d'analyser mes résultats de façon personnalisée.

Mes activités de recherche ont été accompagnées par une activité continue et intense de formation et encadrement d'étudiants. Cette contribution à la formation des étudiants est pour moi une composante fondamentale des activités d'un chercheur, à la fois en tant que professionnel de la recherche, porteur d'une culture spécifique – celle de la science, et d'une de ses branches en particulier – mais aussi en tant qu'intellectuel porteur d'une approche méthodologique spécifique d'interprétation du réel qui repose sur l'esprit critique et rationnel typique de la science. Par ailleurs, je considère que les activités d'encadrement d'étudiants ne peuvent pas être séparées des activités d'animation scientifique et de vulgarisation. Dans le domaine de la « transmission du savoir et du savoir faire » j'applique donc une démarche analogue à celle appliquée à la recherche : la prise en compte de la dimension multi-échelle de la réalité biologique. Ainsi, je vois la nécessité pour le scientifique de former les étudiants qui l'accompagneront (et lui succéderont), d'être formé par ses pairs – et les former -, de communiquer à la société au sens large les résultats de ses recherches et de ses réflexions. Plusieurs étudiants ont été associés à mes activités (voir tableau 2). Leur participation a souvent abouti à la rédaction d'articles dans des revues internationales dans lesquels ils ont été intégrés (pour les encadrements plus récents les manuscrits sont soumis ou en préparation). Idéalement, je considère les étudiants en Master comme étant dans une phase de prise de connaissance avec le milieu de la recherche. Mon rôle est alors de les encourager à se prendre en main, éventuellement en publiant de façon autonome leurs résultats, en en les associant aux publications si leurs intérêts et les contraintes imposées par leurs études et choix professionnels ne le leur permettent pas. Au contraire, je considère les étudiants en Doctorat comme des chercheurs en formation, qui doivent se prendre entièrement en main et publier à leur compte les résultats qu'ils obtiennent, tout en acquérant progressivement une capacité autonome de réflexion et de synthèse. Le sujet d'étude d'un doctorant doit être défini, au moins en partie, par l'étudiant même, de la part de qui j'attend l'émergence d'un esprit d'initiative (rapidement) croissant au cours du programme de recherche de la formation doctorale. Mes activités d'animation sont représentées par la fondation d'une nouvelle société scientifique, la Société Italienne de Biologie Evolutive (SIBE), qui depuis

sa naissance en 2005 a déjà tenu et organisé trois colloques internationaux. Par ailleurs, j'ai pris en main et organisé en partie la mise en place des activités d'animation de l'UMR ECOFOG (club de lecture d'articles, séminaires d'invités, exposés des chercheurs). Enfin, pour ce qui concerne la vulgarisation, j'ai participé à des séminaires abordant des grandes questions scientifiques (notamment sur la théorie de l'évolution) en rappelant les connaissances et en exposant les nouveaux résultats. Par ailleurs, j'ai aussi participé à des séminaires sur les parcours professionnels propres à la carrière du chercheur (notamment dans les écoles) ainsi que sur des thèmes à l'interface entre science et société (comme le débat sur les OGM).

L'ensemble de mes activités de recherche et enseignement est schématisé dans le Tableau 1. Ce schéma permet de saisir l'ensemble des sujets abordés tout au long de mon parcours scientifique et montre l'effort déployé pour atteindre une vision unitaire et multi-échelle des mécanismes génétiques au niveau des populations. Le tableau 2 montre la liste des publications produites, et les activités d'encadrement qui ont eu lieu, pour chaque activité de recherche.

	Espèces	Génomique		Génétique des populations		Génétique de la spéciation et hybridation ⁵
		Echelle du gène ¹	Echelle du génome ²	Echelle du peuplement ³	Echelle de l'aire de répartition ⁴	
1991-2001 (Etudes + Post-doc Université de Udine)	<i>Picea abies</i> ^A	Isolement et développement de marqueurs	Cartographie génétique de liaison	Distribution spatiale de la diversité génétique d'un peuplement	Phylogéographie dans les Alpes	
	<i>Pinus pinea</i> ^B				Phylogéographie dans le bassin de la Méditerranée	
2002-2004 (Post-doc, Universités de Udine et Bloomington)	<i>Cichorium intybus</i> ^C			Distribution spatiale de la diversité génétique d'un peuplement	Distribution de la diversité à l'échelle du continent (Europe)	Etude de l'hybridation entre variétés sauvages et cultivées
	<i>Silene latifolia</i> ^D		Cartographie génétique des <i>loci</i> associés aux caractères quantitatifs			
2005-présent (CRI INRA, UMR ECOFOG, Kourou)	<i>Eperua falcata</i> ^E	Isolement de gènes et développement de marqueurs	Cartographie génétique Identification des <i>loci</i> associés aux caractères quantitatifs	Distribution spatiale de la diversité génétique en relation avec le milieu Estimation de l'héritabilité génétique	Distribution de la diversité génétique (plateau des Guyanes)	Différenciation génétique avec <i>Eperua grandiflora</i>
	<i>Carapa spp.</i> ^F	Isolement de gènes et développement de marqueurs			Distribution de la diversité génétique (Amérique du Sud)	Différenciation génétique et hybridation entre <i>C. procera</i> et <i>C. guianensis</i>
	<i>Jacaranda copaia</i> ^G	Développement de marqueurs		Distribution spatiale de la diversité génétique en relation avec le milieu	Distribution de la diversité (Amérique du Sud)	
	<i>Virola michelii</i> ^H	Isolement de gènes et développement de marqueurs		Distribution spatiale de la diversité génétique en relation avec le milieu	Distribution de la diversité génétique (plateau des Guyanes)	Différenciation génétique avec <i>V. surinamensis</i>
	<i>Tabebuia heterophylla</i> ^I		Identification des <i>loci</i> associés à l'adaptation au milieu		Distribution spatiale de la diversité en relation avec le milieu	
	<i>Sextonia rubra</i> ^J			Distribution de la variabilité génétique en relation avec milieu Estimation de l'héritabilité génétique		

Tableau 1. Activités réalisées et en cours. Les exposants (A-I et 1-5) indiquent la position de chaque activité dans le tableau et servent de référence pour les autres tableaux et dans le texte.

Tableau 2. Activités d'encadrement, publications et rapports produits en relation avec chaque activité de recherche ; financements obtenus pour subventionner les activités de recherche. M1 = Master 1 ; M2 = Master 2 ; FIF = Formation d'Ingénieur Forestier ; T = Thèse.

Activités (voir Tableau 1)	Etudiant(s) encadrés ou co-encadrés (Master) et co-encadrés (Thèse, Stage Ingénieur))	Publications et rapports (numérotation : voir Références)	Subventions de recherche obtenues (pour les activités E-J)
A1	Federica Magni (M2 ¹)	1,2,3,4,5,6	
A2	Andrea Burelli (M2 ²)	7	
A3		8,9,10	
A4	Laura Matteotti (M2 ¹) Federica Magni (T ²)	11,12,13	
B4		14	
C3	Fiorello Toneatto (M2 ²) Silvia Dellacasa (T ²)	-	
C4		15,16	
C5			
D2		17	
E1	Delphine Audigeos (T ³) Leticia calvo-Vialettes (FIF ⁴)	-	
E2		-	
E3		21	
E4		-	
E5		25	
F1		-	INCO - SEEDSOURCE
F4	Caroline Duret (M1 ⁵)	22,24	
F5			
G1	Ruppert Vimal (M2 ³) Thomas Leclerc (M2 ⁶)★	-	GIP Ecofor – Programme Biodiversité et gestion forestière
G3		19	
G4	Maxime Casalis (M2 ⁷)	22,23	INCO - SEEDSOURCE
H1		-	GIP Ecofor – Programme Biodiversité et gestion forestière
H3	Mathieu Toebosch (M2 ⁸)	20	
H4		-	ANR – BRIDGE
H5		-	
I2		22	Ministère de l'Outremer
I4			
J3	Leticia Calvo-Vialettes (FIF ⁴)	21	GIP Ecofor – Programme Ecosystèmes tropicaux

¹ Université de Milan, Italie

² Université de Udine, Italie

³ Université Antilles-Guyane

⁴ ENGREF Nancy

⁵ Université Paul Sabatier, Toulouse

⁶ Université de Rennes

⁷ Université Henri Poincaré, Nancy

⁸ Université de Wageningen, Pays-Bas

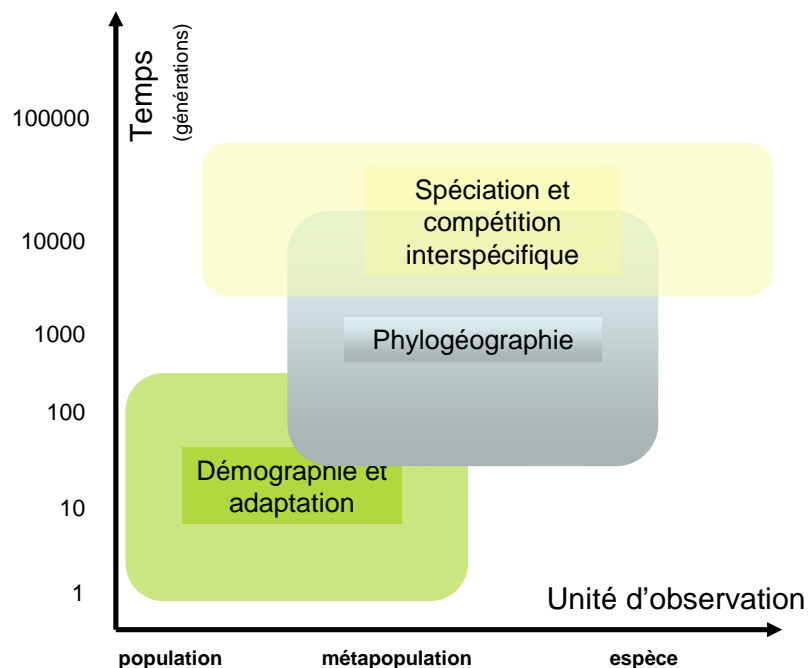
★ Thomas Leclerc a disparu tragiquement dans un accident de la route à Cayenne, lorsqu'il s'apprêtait à terminer son stage auprès de l'UMR ECOFOG.

Orientations des recherches du Laboratoire de Génétique écologique - UMR ECOFOG

Le but des recherches du Laboratoire de Génétique écologique est de déterminer le rôle des facteurs génétiques dans la constitution et le maintien de la diversité biologique typique de la forêt tropicale humide. Ces objectifs s'inscrivent dans les buts plus généraux de l'UMR EcoFoG, qui consistent à décrypter le fonctionnement de la forêt tropicale humide, à la fois du point de vue des cycles biogéochimiques, des interactions entre les espèces et l'environnement, de la dynamique des peuplements et de la composition et dynamique des communautés.

Trois axes d'action ont été déclinés, qui prennent en compte tous les aspects des thématiques propres à la génétique écologique : un premier axe centré sur les phénomènes adaptatifs et démographiques à petite échelle (le peuplement), un deuxième axe qui porte sur les relations entre histoire et adaptation à l'échelle de l'aire de répartition (échelle phylogéographique), un troisième axe sur les relations évolutives et compétitives interspécifiques (phénomènes de spéciation et compétition) (Figure 1).

Figure 1. Schématisation des échelles spatiale et temporelle d'observation choisies pour chaque axe des activités de recherche en génétique écologique



Il est nécessaire de préciser que, dans cette schématisation, les échelles affichées correspondent à l'échelle opérationnelle d'*observation* à laquelle se situent les actions de recherche, et non pas l'échelle de *déroulement* de ces phénomènes, qui est en général plus étendue.

L'organisation des recherches autour de ces trois axes répond à trois exigences : positionner les activités de génétique écologique dans les objectifs de l'UMR ; identifier des sujets d'étude ayant une cohérence dans la démarche expérimentale ; définir les compétences nécessaires et le rôle de chaque chercheur au sein du laboratoire et délimiter le rayon d'action de chaque programme de recherche. Les trois axes sont principalement organisés autour de la dimension spatio-temporelle (population/quelques générations, métapopulation jusqu'à l'aire de répartition/échelle historique, spéciation/échelle géologique), tout en considérant l'absence d'une délimitation fixe et donc la présence de liens étroits dans la formulation des conclusions tirées des résultats de chaque axe. Ainsi, l'étude de la sélection peut être abordée à la fois en termes de réponse d'une population à un stress imposé par l'environnement ou bien en termes de signature de sélection dans des séquences géniques. De la même manière, la dynamique démographique peut être analysée du point de vue de la régénération en considérant un petit nombre de générations, ou bien dans sa dimension historique par une analyse des variations de la diversité dans le temps. Les deux phénomènes pouvant aussi être associés pour l'étude des événements de spéciation et du maintien de la différenciation spécifique. L'interaction entre processus démographique et sélection est enfin une des clés pour la compréhension de la dynamique des populations dans un système complexe comme la forêt tropicale humide. Les activités présentées ici, et celles que je compte développer plus pleinement dans le futur proche, visent à la mise en place d'un cadre cohérent pour la synthèse de tous ces facteurs.

Résultats¹

Travaux sur les conifères (1991-2001)

Mes travaux sur les conifères se sont en majorité concentrés sur la structure génétique de l'épicéa (*Picea abies*) ; néanmoins ils ont été précédés d'une phase préliminaire dans laquelle j'ai développé des marqueurs génétiques spécifiques de l'espèce. Ces marqueurs se répartissent en trois classes:

1. Des marqueurs SCAR [1], dominants et dérivés de marqueurs anonymes RAPD. Une vingtaine de ces derniers, choisis sur la base de leur position dans une carte génétique de liaison, ont été convertis en marqueurs locus-spécifiques. Par ailleurs, j'ai validé leur transférabilité dans d'autres espèces du genre *Picea*. Cette démarche s'inscrit dans le domaine plus général de la « génomique comparée », qui consiste à comparer des structures génétiques homologues (gènes, chromosomes, chaînes métaboliques) dans des systèmes génétiques proches, afin d'évaluer leur degré de conservation évolutive.
2. Des marqueurs microsatellites obtenus à partir d'une banque d'ADNc [2]. Des résultats préliminaires ayant montré le degré très élevé de duplication du génome de l'épicéa, le choix d'isoler des marqueurs dans des régions géniques exprimées avait pour but de réduire la probabilité que les marqueurs fussent eux-mêmes dupliqués, ce qui aurait rendu leur utilisation difficile. Les données de séquence des clones d'ADNc m'ont par ailleurs permis d'observer que la distribution des microsatellites dans les gènes n'est pas aléatoire, probablement en raison d'une fonction régulatrice des séquences en tandem de l'expression génique.
3. Des marqueurs microsatellites isolés à partir de deux banques d'ADN génomique enrichies en ce type de séquence [3,4,5]. Deux types de microsatellites ont été isolés : des séquences trinuécléotidiques, dont la fréquence attendue est plus élevée dans les séquences codantes, et des marqueurs dinuécléotidiques, pour lesquels la banque génomique utilisée a été enrichie en séquences à nombre modéré de copies dans le génome. Au sein du même projet, j'ai aussi analysé la composition et la structure fine des séquences isolées, montrant que des séquences génomiques, qui renferment un marqueur locus-spécifique, peuvent néanmoins montrer une forte homologie avec des séquences non spécifiques répétées dans le génome. Ces observations m'ont permis de tirer une conclusion évolutive sur le génome de cette espèce : les séquences répétées,

¹ Dans le texte qui suit, les références au cadre théorique et expérimental ne sont pas explicitées. Le lecteur est invité à faire référence à la bibliographie des documents annexes pour avoir accès à ces informations.

constituées principalement de retro-éléments, sont suffisamment anciennes pour avoir accumulé des mutations et divergé les unes des autres jusqu'à se comporter comme des copies à séquence singulière. Concernant la structure des séquences des trinuécléotides, j'ai pu observer que les répétitions des unités de base, qui composent le microsatellite, constituent, avec leurs séquences bordantes, une unité plus grande à son tour répétée dans le locus (minisatellite). Sur la base des traductions *in silico*, j'ai pu aussi montrer que ces minisatellites sont potentiellement codants. Cette observation suggère une modalité d'évolution du génome basée sur l'expansion des répétitions en tandem. Ces résultats ont un intérêt pour les études de phylogéographie puisqu'une même séquence peut permettre l'étude d'échelles temporelles différentes.

Les marqueurs obtenus ont fait l'objet de deux types d'application : la cartographie génétique d'une famille de 130 pleins frères issue d'un croisement contrôlé et l'analyse de la diversité génétique dans des populations naturelles. Ils m'ont par ailleurs amené à collaborer à la rédaction d'une section d'un ouvrage consacré aux méthodes moléculaires d'analyse de la diversité des arbres forestiers [6].

J'ai abordé la cartographie génétique de *Picea abies* comme outil pour appréhender la composition et la structure du génome [7]. Pour atteindre ce but j'ai, dans un premier temps, cartographié différents types de marqueurs génétiques, appartenant à plusieurs fractions du génome (répétée et non répétée ; exprimée et non exprimée), puis j'ai appliqué des méthodes empruntées à la géographie (autocorrélation spatiale) pour étudier la structure spatiale des marqueurs génétiques dans le génome. J'ai pu ainsi montrer que les séquences à bas niveau de répétition et exprimées ont la tendance à se regrouper dans des régions des chromosomes qui sont pauvres en retrotransposons (fraction répétée du génome). Il y a donc dans le génome de l'épicéa, une structure à grande échelle composée de « continents » riches en gènes séparés par des « océans » de séquences non codantes. Je n'ai par contre pas détecté de différence de composition entre les chromosomes indiquant que les régions codantes sont également réparties entre chromosomes.

L'analyse génétique des populations naturelles de *Picea abies* a été abordée sous plusieurs angles et avec des marqueurs génétiques différents.

Un premier axe a été l'analyse de la diversité génétique en vue de tester l'effet de l'environnement sur la structuration génétique [8,9]. J'ai sélectionné des marqueurs RAPD et SCAR pour analyser génétiquement deux populations naturelles sélectionnées sur la base de

leur exposition historique à la pollution. J'ai mis en évidence une réduction sensible de la diversité dans la population soumise à forte pollution, probablement en raison d'un phénomène d'érosion génétique. Cette diminution de diversité génétique s'accompagne d'une forte réduction de la taille démographique de la population, constituée d'une fraction élevée d'individus montrant des symptômes de souffrance liés à l'exposition aux pluies acides (confirmée par les modifications chimiques du terrain).

Un deuxième axe a été l'analyse de la diversité génétique en vue de tester l'effet de la dynamique de régénération sur la structuration génétique. Cette étude a été réalisée dans une population d'épicéa densément échantillonnée (*Intensively studied plot*, ISP) et génotypée pour des marqueurs chloroplastiques et mitochondriaux [10]. Les résultats ont permis d'observer une forte structuration spatiale des lignées mitochondriales dont la distribution est déterminée par la dispersion des graines chez les conifères, associée à une quasi absence de structuration spatiale des lignées chloroplastiques, dont la distribution est déterminée par le mouvement du pollen et de l'embryon *via* la graine. Ces différences dans les modalités de dispersion des différents stades de vie se reflètent donc dans la structuration spatiale détectée par chaque marqueur, avec les marqueurs chloroplastiques marqués surtout par les effets de mélange entraînés par le mouvement du pollen et les marqueurs mitochondriaux structurés par les mouvements plus limités des graines. Par ailleurs, j'ai aussi montré que la structuration génétique pour les lignées mitochondriales diminue en lisière de forêt sans que les niveaux de diversité soient affectés.

En résumé, ces deux études montrent qu'en présence d'une forte perturbation (par exemple la pollution), les conséquences d'une réduction de la régénération se répercutent sur les niveaux de diversité et de structuration génétique qui diminuent. Au contraire, des événements localisés d'intense régénération affectent la structuration génétique sans pour autant engendrer une perte de la diversité.

Un troisième axe a été l'analyse de la distribution de la diversité génétique à l'échelle de la métapopulation et de l'aire de répartition. Cet axe a été abordé dans trois actions séparées. Dans un premier temps j'ai étudié la structuration macro-géographique de la diversité de l'épicéa au niveau régional dans les Alpes [11] dans le but d'identifier les routes de recolonisation post-glaciaire de l'épicéa. J'ai utilisé pour l'étude les marqueurs SCAR développés précédemment. Le caractère dominant des marqueurs SCAR, qui ne permet pas de différencier les individus hétérozygotes des homozygotes, a été contourné en déterminant le génotype de chaque arbre par le biais d'une analyse de ségrégation dans les

mégagamétophytes haploïdes chez les conifères: grâce à cette méthode, j'ai pu évaluer l'hétérozygoté observée et donc ne pas faire l'hypothèse de l'équilibre d'Hardy-Weinberg dans les analyses ultérieures. En effet, dans les espèces forestières, cette hypothèse est peu respectée en raison de la forte dépression de consanguinité qui favorise les hétérozygotes. J'ai confirmé que les populations d'épicéa montrent un excès systématique d'hétérozygotes, lié assez probablement, comme attendu, à une sévère sélection contre les produits d'autofécondation (Boscherini et al. 1993). Les analyses de différenciation entre populations ont révélé la présence d'allèles spécifiques à deux populations des Alpes maritimes, me permettant d'émettre l'hypothèse d'une zone de refuge glaciale pour l'espèce. Cette théorie est, par ailleurs, soutenue par la présence, dans cette sous-région, de distances génétiques entre populations plus grandes que la moyenne globale ; cette structure génétique est associée à une variabilité génétique intra populations partiellement réduite et des taux d'autofécondation plus forts. Ces résultats indiquent que les populations des Alpes maritimes sont isolées génétiquement des autres mais très probablement en raison d'une histoire différente. En effet, la présence d'allèles spécifiques indique que les populations d'Alpes maritimes n'auraient pas été affectées par le flux migratoire post-glacial et que leur origine est indépendante des autres populations. Il s'agirait donc d'une forme d'endémisme intraspécifique qui trouve une importance du point de vue de la conservation des ressources génétiques.

Dans un deuxième temps, j'ai établi la méthode permettant d'optimiser la description des profils de divergence entre populations de conifères. En effet, la grande variabilité génétique à l'intérieur des populations de conifères produit un bruit de fond dans l'estimation des distances génétiques entre populations qui rend impossible d'établir *a priori* un lien automatique entre un test de différenciation statistiquement significatif et la présence d'une « réelle » différenciation. J'ai abordé ce problème en « calibrant » les mesures de distance génétique sur une échelle absolue. Cet étalonnage des niveaux de divergence consiste à trouver des combinaisons de marqueurs et de systèmes de mesure de la différenciation qui permettent de ne pas détecter de différenciation entre échantillons tirés de la même population (qui représentent donc un « témoin négatif ») et de détecter systématiquement un niveau de différenciation supérieur à zéro pour des populations séparées par des barrières physiques qui limitent le flux de gène (et qui représentent donc des « témoins positifs »).

La calibration par rapport à l'hypothèse nulle d'absence de différenciation entre populations a donc été réalisée en utilisant une paire de populations composée deux sous-échantillons provenant même forêt. L'estimation de la différenciation génétique a ensuite été réalisée au

niveau de populations naturelles situées à des distances croissantes et séparées par des barrières orographiques d'importance croissantes.

L'analyse moléculaire a été réalisée avec des marqueurs microsatellites de types tri- di- et mononucléotide dont l'effet de la composition et du taux de mutations a été testé [12,13]. Grâce à cette méthode, j'ai montré que la meilleure combinaison entre type de marqueurs et mesure de différenciation génétique est obtenue en analysant des marqueurs modérément variables (microsatellites dinucléotidiques dans la partie inférieure de leur intervalle de variabilité ; haplotypes basés sur les microsatellites chloroplastiques) avec des mesures basées sur l' »Infinite allele model » (F_{ST}) qui attribue plus d'importance à la dérive génétique qu'à la mutation.

Dans un troisième volet, j'ai collaboré à analyser la structuration de la diversité génétique sur l'aire de répartition du pin parasol (*Pinus pinea*). Cette espèce largement répartie dans le bassin de la Mer Méditerranée est caractérisée par un très faible niveau de diversité génétique [14]. L'analyse des données obtenues, dans des populations également réparties autour de la Méditerranée, pour des marqueurs mitochondriaux et chloroplastiques a confirmé une diversité génétique chez *Pinus pinea* très fortement réduite : seules les populations du Liban et de la Péninsule ibérique présentent plusieurs variants haplotypiques, tandis que toutes les autres populations sont monomorphes pour un seul variant partagé avec les populations libanaises. Un effet fondateur, c'est à dire une forme de goulot d'étranglement génétique associé à la fondation de nouvelles populations à partir d'un nombre très limité d'individus, expliquerait cette faible diversité génétique. Cette observation est unique parmi les espèces de conifères méditerranéens dont les haplotypes ont une structuration régionale associée à une grande diversité. Cette absence presque absolue de diversité s'accompagne d'une grande capacité d'adaptation aux milieux difficiles, ce qui contraste avec la notion largement partagée que la capacité d'adaptation d'une espèce est liée à son niveau de diversité génétique. Toutefois, cette étude nous renseigne seulement sur la variabilité neutre au niveau du cytoplasme, alors que la diversité soumise à sélection par l'adaptation au milieu pourrait se retrouver dans des gènes spécifiques situés dans le génome nucléaire.

Travaux sur les herbacées (2002-2004)

Mon orientation vers des systèmes modèle de plantes herbacées m'a permis d'aborder deux branches de la génétique que je n'avais pas eu l'occasion d'étudier auparavant : tout d'abord les phénomènes d'introgession et hybridation, puis, l'étude de la base génétique des caractères quantitatifs.

La question de l'introggression a été traitée dans l'estimation des flux de gènes entre le compartiment cultivé et sauvage des Astéracées [15]. Des variétés cultivées et des populations sauvages de chicorée (*Cichorium intybus*) ont été échantillonnées dans plusieurs pays d'Europe et caractérisées avec des marqueurs AFLP (Amplified fragment length polymorphism). Les résultats montrent que, malgré un degré modéré d'introggression au niveau local caractérisé par un possible échange de gènes entre les variétés et les populations sauvages, la similarité génétique reste faible entre les variétés et les populations sauvages échantillonnées dans la même région. La plupart des variétés semblent avoir une origine commune dans l'Est du bassin de la Mer Méditerranée d'où provient l'espèce sauvage. Ceci implique le développement des principales variétés commerciales de chicorée à partir d'un ensemble de variétés en un seul lieu, probablement en Italie, plutôt que localement dans chaque région.

Une deuxième étude a porté sur l'hybridation interspécifique entre deux espèces appartenant à la famille des Cypéracées : *Schoenus ferrugineus* et *S. nigra* [16]. Leur répartition est européenne et présente une zone de contact et de chevauchement dans le nord-est de l'Italie. A l'intérieur de cette zone de sympatrie, un seul site comportant des plantes au phénotype intermédiaire, et presque entièrement stériles, a pu être localisé. L'échantillonnage de ces phénotypes hybrides complété par celui de plantes présentant le phénotype parental a été génotypé avec des marqueurs AFLP. La distribution des marqueurs dérivés de chacune des deux espèces indique que les plantes au phénotype intermédiaire sont des hybrides de première génération. Par ailleurs, des études cytogénétiques ont confirmé que ces plantes sont des hybrides diploïdes. Cependant, quelques grains de pollen viables ont été observés. Ce système nous permet d'observer, en population naturelle, un événement possible de début de spéciation hybride. Ce système très simple, qui repose sur une seule population de taille limitée, pourrait devenir intéressant du point de vue de l'évolution du processus de spéciation, si l'existence d'hybrides fertiles est confirmée.

Les réponses aux questions d'écologie évolutive ne peuvent être dissociées d'une approche de génétique quantitative. Il est en effet essentiel, dans l'estimation de la variabilité des caractères phénotypiques, de pouvoir déterminer la fraction de la variabilité qui est d'origine génétique et de savoir comment se répartissent dans le génome les gènes impliqués dans la détermination des caractères. Afin de me former et de me familiariser avec les stratégies propres à la génétique quantitative appliquée aux questions d'écologie évolutive, j'ai étudié le déterminisme génétique du dimorphisme sexuel dans une espèce dioïque, *Silene*

latifolia [17]. J'ai construit la carte génétique à partir d'une population issue d'un croisement contrôlé puis détecté et localisé des QTL impliqués dans le dimorphisme sexuel. L'analyse de la distribution des QTL sur la carte génétique se situe dans le contexte des relations entre architecture du génome, diversité génétique, diversité phénotypique, sélection. Les résultats obtenus indiquent un contrôle génétique différent des caractères de dimorphisme sexuel chez les plantes mâles et les plantes femelles. Chez le mâle, les caractères de dimorphisme sexuels sont contrôlés par quelques gènes, dont un majeur (contrôle oligogénique), liés à la partie non dégénérée des chromosomes sexuels. Au contraire, chez la femelle le déterminisme semble polygénique avec plusieurs QTL à effets mineurs localisés à différents endroits du génome. Ces résultats sont cohérents avec les attendus théoriques de l'établissement du dimorphisme sexuel chez les plantes. Cette théorie prévoit que le dimorphisme sexuel peut s'établir, en présence de sélection sexuelle et sélection naturelle, à condition que les caractères soumis à sélection ne soient pas contrôlés par les mêmes gènes dans les deux sexes. Ces résultats débouchent sur la théorie de la sélection sexuelle et naturelle ainsi que sur l'évolution des chromosomes sexuels. En particulier, nous avons démontré qu'à la différence de la situation rencontrée chez la plupart des organismes à sexes séparés, le chromosome hétérogamétique (le chromosome Y dans le cas de *S. latifolia*) joue un rôle majeur dans le déterminisme des caractères dimorphiques.

Travaux sur les arbres forestiers tropicaux

Depuis mon recrutement à l'INRA, dans l'UMR Ecofog de Kourou, j'étudie le rôle des mécanismes génétiques dans le maintien de la diversité biologique de la forêt tropicale humide, avec une attention particulière pour la forêt amazonienne. En cette nouvelle phase de ma carrière, j'ai pu mettre en pratique d'une manière épanouie la prise en compte des différents processus génétiques avec une approche multi-échelle cohérente. La compétence, la complémentarité et l'enthousiasme de l'équipe de recherche du laboratoire de génétique écologique m'a permis de rapidement mettre en place plusieurs expériences et analyses visant à couvrir tous les aspects de mes recherches. L'organigramme de l'équipe de recherche est affiché dans le tableau 3, qui montre les compétences de chacun de mes collaborateurs et leur rôle dans le cadre des activités de recherche.

Nom	Corps, Etablissement	Fonctions
Ivan SCOTTI	Chercheur INRA	Responsable du laboratoire Direction des programmes de recherche Analyses moléculaires et statistiques
Caroline SCOTTI-SAINTAGNE	Chercheur INRA	Direction des programmes de recherche Analyses moléculaires et statistiques
Valérie TROISPOUX	Technicien INRA	Analyses moléculaires Gestion plateforme de génotypage Echantillonnages
Saint-Omer CAZAL	Technicien INRA	Echantillonnages Gestion de la base de données des échantillons
Jean WEIGEL	Technicien ENGREF	Gestion des serres, Echantillonnages
Saintano DUFORT	Technicien INRA	Gestion des serres, reproduction du matériel végétal
Malia CHEVOLOT	Post-Doc INRA	Analyses moléculaires, biologie moléculaire
Delphine AUDIGEOS	Doctorant INRA	Analyses moléculaires, analyses statistiques
Maurizio CITTERIO	VCAT CIRAD	Analyses moléculaires

Tableau 3. Organigramme du laboratoire de génétique écologique de l'UMR ECOFOG.

Développement d'outils moléculaires et d'analyse des données

Une première action consiste à consolider l'ensemble des outils moléculaires disponibles pour les espèces étudiées dans le laboratoire. Ces espèces (une quinzaine) ont été sélectionnées lors de la création conjointe entre l'INRA et le CIRAD du laboratoire de génétique dans les années 1990. Le choix des espèces s'est fait de façon à représenter le mieux possible les traits de vie (stratégies de croissance, de dispersion) des arbres de la forêt tropicale humide. Mon action de recherche s'inscrit donc dans un schéma durable d'investissement de ressources sur un nombre limité et choisi d'espèces parmi les plus de 1200 essences présentes en Guyane française.

Si pour certaines de ces espèces des marqueurs génétiques spécifiques étaient déjà disponibles à mon arrivée, suite aux travaux antérieurs menés par le laboratoire ainsi qu'aux informations extraites de la littérature, d'autres espèces ont demandé le développement d'outils (marqueurs microsatellites) spécifiques. En particulier, *Eperua falcata*, *Virola michelii*, *Jacaranda copaia* font l'objet du développement de marqueurs moléculaires, en collaboration étroite avec Henri Caron, de l'UMR BIOGECO (Bordeaux). Respectivement, six, huit et sept marqueurs sont en cours de mise au point. Pour *Jacaranda copaia*, le développement d'outils est accompagné par un questionnaire sur l'identité de l'espèce présente dans les populations guyanaises. En effet, seulement 50% des marqueurs, développés pour cette espèce par l'équipe du Smithsonian Tropical Research Institute (STRI) sur la base d'échantillons panamiens (CIT), sont transférables aux populations guyanaises, laissant ainsi supposer une différenciation, au moins partielle, entre ces deux groupes de populations. Une collaboration est en cours avec Frank Jones du STRI pour l'échange d'informations et de matériels afin d'éclaircir ce point. Une doctorante (Delphine Audigeos), une technicienne (Valérie Troispoux) et un VCAT (Maurizio Citterio) sont chargés de mener ces activités.

Une activité étroitement liée au développement de marqueurs spécifiques au niveau de l'espèce est celle du développement de marqueurs universels basés sur les séquences chloroplastiques. Sur la base des informations publiées sur le polymorphisme du génome du chloroplaste, la mise au point de marqueurs spécifiques pour la caractérisation des arbres néotropicaux est en cours. Caroline Scotti-Saintagne est chargée de cette activité dans notre laboratoire, avec une attention particulière au développement de techniques permettant le séquençage de fragments d'ADN isolés d'échantillons d'herbier. Des séquences montrant un degré de conservation et de polymorphisme suffisamment élevé ont été identifiées et sont compatibles avec une utilisation sur l'ensemble des espèces étudiées [18].

Parallèlement à l'activité de développement des outils moléculaires, je mène une action de mise au point d'outils informatiques conçus pour répondre spécifiquement à deux exigences propres à notre laboratoire mais qui seront par ailleurs généralisables :

(1) la nécessité, d'organiser en chaîne, plusieurs outils d'analyse statistique des données génétiques. Pour cela, j'ai développé successivement plusieurs programmes utilisables sous LINUX qui permettent la manipulation des données, la conversion des formats, l'exécution d'un logiciel donné, et la conversion des résultats au format du logiciel suivant. J'ai ainsi permis d'enchaîner, en routine, la détermination des phases alléliques de séquences d'individus hétérozygotes et de les analyser avec un logiciel classique de génétique des

populations. Concrètement, cette chaîne convertit les séquences obtenues à partir d'un logiciel d'analyse de séquences (ici CODONCODEALIGNER) en format analysable par le programme HAPLOTYPYPER qui attribue statistiquement l'identité allélique des séquences (dans le cas d'individus diploïdes hétérozygotes). Le remplacement des sites hétérozygotes dans les séquences par l'allèle le plus probable est automatisé pour enfin pouvoir lancer les analyses de génétique des populations exécutées par le logiciel ARLEQUIN.

(2) la modélisation des processus génétiques étudiés et la mise au point d'outils d'analyse de la diversité adaptés à l'étude de la forêt tropicale humide. Le développement d'un programme, basé sur la méthode de raréfaction, est en cours pour permettre la comparaison des estimations de la diversité entre des peuplements qui présentent une taille efficace très inégale. L'utilisation des méthodes de raréfaction dans ce contexte va permettre de comparer les niveaux de diversité des cohortes issues de la régénération après perturbation, généralement très denses, avec celle du mélange de cohortes issues de la régénération sans perturbation, très dispersées dans l'espace, en effectuant des tirages aléatoires d'échantillons dans les cohortes « perturbées » et en comparant leur niveau de diversité avec celui des cohortes « naturelles » de taille démographique équivalente. Ces estimations seront accompagnées par des simulations de l'éclaircissement attendu dans les cohortes « perturbées » suivi par une nouvelle estimation de la diversité génétique dans les populations adultes qui en résultent, qui sera comparée à celle des populations adultes actuelles. D'autre part, je mets au point, en collaboration avec l'INRA Avignon, un modèle de la distribution de la diversité génétique à l'échelle du peuplement qui prendra en compte les paramètres observés de distance de dispersion des graines et de densité des tiges.

Ces actions de programmation se basent majoritairement sur l'utilisation de la plateforme « R ».

Travaux à l'échelle de la population

Comme décrit dans la figure 1, l'échelle de la population est abordée ici sous l'angle du processus démographique (génétique de la régénération, structure génétique spatiale) et sous celui des phénomènes d'adaptation (diversité génétique des traits fonctionnels, héritabilité génétique, réponse aux stress environnementaux).

Du point de vue de la régénération, mes activités se sont concentrées dans un premier temps sur la comparaison entre processus génétiques en présence et absence d'exploitation forestière. Ces activités s'inscrivent dans une collaboration étroite avec les chercheurs de

l'UMR EcoFoG spécialisés dans l'étude de la dynamique et de la démographie des peuplement forestiers : l'analyse génétique s'appuie sur l'information spatiale et temporelle de l'évolution démographique des peuplements, et l'information fournie par le génotypage permet d'explicitier les relations de parenté entre individus dans le peuplement et d'ajouter un niveau supplémentaire d'analyse de la structure spatio-temporelle des populations. En particulier, la régénération de *Jacaranda copaia* a été étudiée sur un réseau de quatre parcelles forestières ayant subi une exploitation d'intensité croissante. Les marqueurs microsatellites tirés de la littérature et obtenus localement ont été utilisés pour déterminer les patrons génétiques spatiaux. La distribution de la proximité génétique des individus a été étudiée en fonction de leur distance spatiale, en comparant les stades adulte et juvénile en fonction du niveau d'exploitation, qui détermine le degré d'ouverture du milieu forestier et donc l'opportunité d'implantation de *J. copaia*, une espèce pionnière et héliophile, ayant donc une forte tendance à s'installer dans les milieux ouverts. Les résultats montrent que la structure génétique des stades juvéniles est altérée par l'impact de l'exploitation, et que la plus forte densité de tiges observée dans les milieux ouverts est associée à une plus forte consanguinité, à une plus forte structuration spatiale de la diversité et à une tendance à une plus inégale contribution des arbres adultes à la régénération, par rapport à ce qui est observé en conditions de régénération naturelle. La structure génétique et le niveau de consanguinité des juvéniles issus de la régénération en absence d'exploitation sont, au contraire, très proches des valeurs montrées par la population adulte. En revanche, le niveau général de la diversité génétique n'est pas influencé par l'exploitation. En conclusion, nous pouvons affirmer que, chez *J. copaia*, la quantité de diversité génétique (neutre) n'est pas influencée par le changement de milieu imposé par l'ouverture de la canopée causée par l'exploitation. Néanmoins, la distribution de la diversité génétique dans l'espace et la proximité génétique des allèles d'un individu (consanguinité) subissent un écart à la situation non perturbée qui est proportionnel à l'intensité de l'exploitation [19]. Le même type d'analyse est prévu pour deux autres espèces dont la réponse à l'ouverture du couvert forestier est similaire à celle de *J. copaia*, mais dont les caractéristiques biologiques et démographiques sont différentes (*Virola michelii* et *Dicorynia guianensis*). Concernant *V. michelii*, qui a la particularité d'être une espèce dioïque (sexe séparés), une étude préliminaire a permis de déterminer la distribution des individus adultes des deux sexes à l'échelle du massif forestier [20]. Cette cartographie des adultes a ensuite été utilisée pour déterminer la position des mères et des pères potentiels des juvéniles établis. On a pu alors observer que les femelles atteignent la maturité sexuelle à un stade

ontogénique (exprimé en termes de diamètre à la hauteur de la poitrine) plus tardif que les mâles.

La deuxième thématique abordée à l'échelle de la population concerne la diversité génétique des caractères quantitatifs de croissance et liés aux propriétés écophysiologiques. Ces études font l'objet d'une étroite collaboration avec l'équipe d'écophysiologie de l'UMR ECOFOG, avec laquelle il existe une forte convergence d'intérêts scientifiques visant à estimer le rôle des composantes écologiques et génétiques dans la détermination de la variabilité des traits à la fois en intraspécifique et en interspécifique. Pour la première phase de cette activité, deux espèces (*Sextonia rubra* et *Eperua falcata*) ont fait l'objet d'études sur des familles de demi-frères élevées en conditions contrôlées et, pour une d'entre elles (*Eperua falcata*), d'une comparaison entre traits mesurés au niveau de semis élevés en serre et traits des semis issus de la régénération naturelle en forêt [21, 26]. Le but de ces études est la détermination de l'héritabilité génétique des traits qui peut être interprétée comme une mesure de la diversité associée à la base génétique des caractères. Les résultats obtenus dans ce contexte ont montré que la plupart des traits de croissance et liés à la photosynthèse présentent des valeurs d'héritabilité de l'ordre de 10 à 30%, et que, par conséquent, les effets géniques impliqués dans la détermination de ces caractères présentent un niveau important de diversité. D'un point de vue évolutif, ces résultats indiquent un certain potentiel adaptatif des populations au niveau des traits de croissance et d'acquisition des ressources. Les caractères de morphologie foliaire ont au contraire montré des niveaux d'héritabilité généralement faibles indiquant, soit le rôle dominant de l'environnement et des trajectoires ontogéniques dans l'expression des caractères, soit une base génétique de très faible diversité. La comparaison entre mesures obtenues en serre et en forêt montre une certaine convergence. Cette observation est encourageante et permet d'envisager l'étude du déterminisme génétique et des interactions génotype-environnement par le biais de dispositifs de transplantation contrôlée en pleine forêt. Une observation intéressante, et qui mérite un supplément d'étude et de réflexion, est la présence, chez *Sextonia rubra*, d'une corrélation étroite entre composante génétique additive et composante non additive (génétique et résiduelle) de la variance des traits, qui pourrait être expliquée par des mécanismes d'interaction (épistasie et dominance) [26]

Travaux à l'échelle de l'aire de répartition

Les études menées au niveau régional et de l'aire de répartition ont pour but d'identifier des patrons phylogéographiques et d'en déduire l'histoire des populations et des espèces (à l'échelle du millénaire et du million d'années). Afin de maximiser le contenu d'information

des données, ces études combinent l'utilisation des marqueurs nucléaires, caractérisés par une grande variabilité (microsatellites) qui permet de tester des événements historiques relativement récents, et des marqueurs chloroplastiques (séquences intergéniques), caractérisées par une transmission uniparentale et la possibilité d'appliquer aux données un modèle évolutif basé sur le principe de coalescence.

Les études phylogéographiques ont été menées dans cette première phase sur trois espèces typiques des milieux ouverts et dont la distribution géographique est contrastée : d'un côté, *Tabebuja heterophylla*, une espèce à distribution insulaire dans l'archipel des Antilles et qui montre une forte capacité d'adaptation à la sécheresse ; de l'autre côté, *Jacaranda copaia* et le genre *Carapa*, des espèces de pleine forêt à distribution continentale en Amérique centrale et du Sud.

Dans le cas de *T. heterophylla*, l'étude phylogéographique, menée en collaboration avec l'Office National des Forêts de Guadeloupe et basée sur des marqueurs AFLP, est associée à l'étude de la variabilité des traits de morphologie foliaire, qui, chez cette espèce, constituent un critère, bien qu'imprécis, d'identification des provenances. Les populations étudiées ont été échantillonnées soit sur le versant atlantique soit sur le versant de la mer des Caraïbes, qui diffèrent par leurs conditions écologiques (surtout par la pluviométrie). Cette information supplémentaire est prise en compte comme indicateur des conditions environnementales propres à chaque provenance et utilisée, en combinaison avec les données moléculaires, afin d'identifier des régions du génome qui seraient liées à des adaptations spécifiques à l'environnement, selon une méthode de scanning du génome et de corrélation entre fréquences alléliques et propriétés écologiques.

Les premiers résultats tirés de cette étude [22] montrent qu'il est possible d'associer des marqueurs génétiques à des traits de morphologie foliaire, indiquant ainsi la possibilité d'identifier les régions génomiques impliquées dans la détermination des caractères en population naturelle. Il reste à vérifier la possibilité d'étendre cette démarche aux liens entre variabilité des marqueurs et conditions environnementales, afin d'identifier des régions du génome qui seraient liées à des gènes impliqués dans la réponse aux stress.

La distribution de la diversité de *J. copaia* a été étudiée sur la base d'un échantillonnage dense au niveau de la Guyane française et plus dispersé sur l'ensemble de l'aire de répartition [23]. L'analyse basée sur les marqueurs de séquence chloroplastique montre une nette séparation, en termes de distance évolutive, entre populations d'Amérique centrale et d'Amazonie, ce qui

est par ailleurs confirmé par le fait que les marqueurs microsatellites développés sur des échantillons de Panama ne permettent pas d'amplifier les mêmes loci dans les échantillons guyanais. Ces deux données laissent entrevoir la possibilité qu'il s'agisse ici de deux espèces différentes ou de deux sous-espèces. Une analyse plus précise de la distribution de la diversité dans l'ensemble des populations de Guyane a permis par ailleurs de détecter une récente et rapide expansion des effectifs de cette espèce. La signature de cet événement apparaît dans les deux types de marqueurs (séquences chloroplastiques et microsatellites nucléaires) et permet de penser que cette transition démographique a eu lieu il y a entre trente et cent générations, qui correspondent à l'échelle du millénaire. Cette datation contredit donc une possible relation avec les changements climatiques de la fin de la dernière époque glaciaire, et porte plutôt sur des changements climatiques mineurs qui auraient eu lieu dans le plateau guyanais à une époque qui converge avec celle estimée pour l'expansion démographique ; ces changements climatiques sont associés à une série de grands feux de forêt, qui auraient pu être à leur tour associés à un milieu plus ouvert favorable à l'installation du *J. copaia*.

Des analyses phylogéographiques ont été également menées sur le complexe des *Carapa* [22]. Ce sujet très intéressant est en effet à l'interface entre le questionnement phylogéographique et la problématique de la spéciation : si nous avons démontré (voir plus bas) que les marqueurs moléculaires microsatellites permettent de distinguer deux des espèces (*C. procera*, *C. guianensis*), les données préliminaires obtenues sur les séquences chloroplastiques permettent de délimiter l'existence, à l'échelle continentale, de subdivisions à l'intérieur de l'espèce plus répandue, *C. guianensis*.

Enfin, une troisième espèce, *Simarouba amara*, a été soumise à l'analyse de la distribution des haplotypes chloroplastiques au niveau continental. Les résultats sur les trois espèces sont montrés graphiquement par la Figure 2.

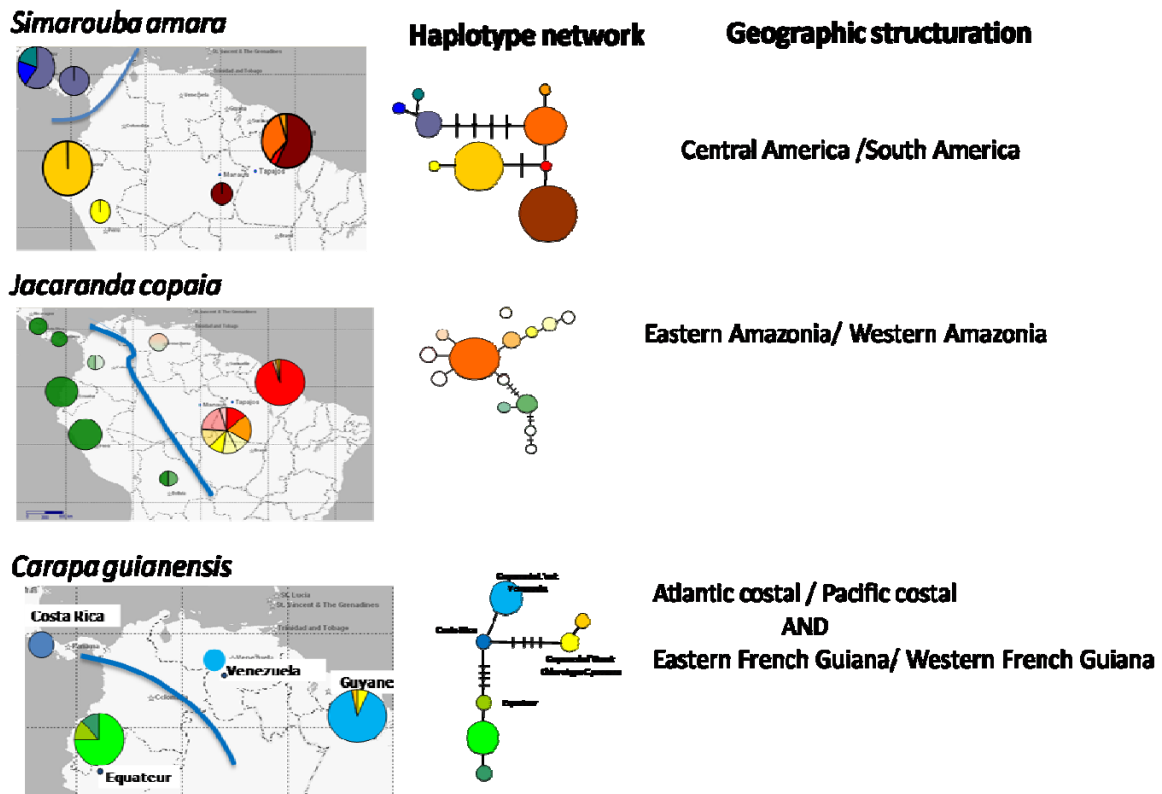


Figure 2. Distribution des haplotypes (gauche) et réseau d'haplotypes (droite) chez trois espèces au niveau continental.

Ces résultats, bien qu'incomplets, permettent déjà de mettre en évidence une tendance générale à la séparation entre une lignée occidentale et une orientale, probablement séparées par un temps de divergence élevé. Ces données seront à court terme complétées par la caractérisation génétique d'échantillons qui couvrent de façon uniforme l'ensemble de l'Amazonie.

Travaux à l'échelle de l'espèce

L'étude de la diversification entre espèces proches est un enjeu majeur pour les chercheurs de l'UMR EcoFoG. La structure des communautés forestières, et les variations de leur compositions dans l'espace et en fonction du milieu, dépend fortement du degré de différenciation des espèces proches. La compréhension des mécanismes sous-jacents à la différenciation des espèces est donc un enjeu fondamental pour l'unité, et les interactions entre les études en génétique, d'un côté, et d'écologie et écophysiologie, de l'autre côté, dans ce domaine sont donc un axe majeur de structuration entre mes activités et celles de l'ensemble des collègues de l'UMR.

Le sujet de la délimitation des espèces et de leurs relations génétiques a été abordé en premier lieu chez le complexe des *Carapa* [22, 24]. Cette étude a porté sur la possibilité d'utiliser

l'information contenue dans les marqueurs microsatellites pour assigner des individus à des groupements construits sur la base de méthodes bayésiennes d'assignation. La nouveauté de cette approche est représentée par le fait qu'elle permet de délimiter des groupes génétiques correspondant aux espèces botaniques – une fois validée la correspondance entre l'assignation génétique et l'assignation botanique – et indique également le statut des individus dont l'assignation génétique est incertaine. Dans le cas des *Carapa*, deux groupes génétiques ont été identifiés, mais certains individus ont montré une probabilité d'assignation intermédiaire à chaque groupe. Le couplage – déjà décrit plus haut – avec les marqueurs chloroplastiques a permis de fournir des indications en faveur de l'existence d'individus hybrides entre les deux espèces, avec un degré variable d'introgession dans les deux directions. Cela permet de supposer un flux de gènes entre les deux pools génétiques, qui contredit apparemment la nette distinction entre deux groupes génétiques obtenues par les méthodes d'assignation automatique. Toutefois, cette séparation très claire au niveau des marqueurs microsatellites permet de déduire une forte différenciation globale du génome de ces deux espèces. Les possibilités concrètes de flux de gènes *via* l'introgession des hybrides restent à étudier plus en profondeur.

Un deuxième volet est la comparaison interspécifique de gènes liés à l'adaptation au milieu en réponse aux stress environnementaux. La méthodologie utilisée, pour obtenir les gènes dans les arbres tropicaux, repose sur la recherche, dans des bases de données, de séquences homologues et de fonction connue chez des espèces modèles. La divergence génétique est ensuite évaluée à l'intérieur de genres constitués d'espèces aux caractéristiques écologiques contrastées pour pouvoir estimer le niveau de pression sélective exercé sur ces gènes. Deux groupes de gènes ont fait l'objet de cette démarche jusqu'à présent :

1. des gènes impliqués dans le transport de l'eau chez les plantes, les *aquaporines*, qui ont été isolés dans les genres *Eperua*, *Virola* et *Carapa* [18, 25, 27]. Les espèces qui constituent ces genres se différencient par rapport à leur réponse vis-à-vis de la disponibilité d'eau dans le sol. Elles sont donc potentiellement différenciées dans leurs capacités de transport de l'eau et dans la gestion de leur bilan hydrique. Les résultats préliminaires, obtenus dans le cadre de la thèse de Delphine Audigeos, permettent de valider la méthode d'isolement des gènes, qui consiste à concevoir des amorces de PCR dans des régions conservées des gènes pour amplifier des fragments de gènes homologues dans l'espèce cible. Dans la deuxième phase de cette démarche, des amorces spécifiques pour les gènes isolés

ont été conçues pour huit gènes d'*E. falcata*, *C. guianensis* et *V. michelii*. L'analyse moléculaire menée sur des populations d'*E. falcata* a montré, au niveau régional, une signature d'expansion de population (qui est analogue à ce que l'on observe pour *J. copaia*, voir ci-dessus). Par ailleurs, les données sur ces gènes ont mis en évidence une forte divergence génétique d'une des populations échantillonnées (Camp Caïman) par rapport aux autres populations. Ce résultat sous-entend vraisemblablement la présence d'une autre espèce d'*Eperua* dans cette population. Une autre explication, néanmoins moins probable, serait la présence d'une forte sélection divergente au sein de l'espèce.

Globalement, les résultats obtenus sur l'ensemble des espèces étudiées en comparant les signatures de sélection / transition démographique sur les gènes avec les signatures de transition démographique dans des marqueurs neutres (SSR chloroplastiques) indiquent la présence de sélection balancée associée à l'expansion récente des populations [27].

2. des gènes impliqués dans la réponse aux stress biomécaniques [26]. Cette activité, menée en collaboration avec l'UMR PIAF (Clermont-Ferrand), a permis l'isolement de neuf gènes d'*Eperua falcata* et *E. grandiflora*, qui sont en cours de caractérisation. Cette étude est à un stade moins avancé que la précédente mais elle repose sur les mêmes principes et profitera de la synergie avec la première, dans le contexte de l'analyse de la diversité des séquences au niveau intraspécifique et interspécifique.

Conclusion

Les activités présentées dans ce rapport décrivent un parcours professionnel et scientifique qui, à travers les inévitables changements de cap et d'activité qui caractérisent la vie d'un chercheur au début de sa carrière, se veut cohérent et continu. Depuis le début de mes activités scientifiques j'ai cherché à réunir l'étude de la démographie et de l'adaptation, l'analyse des marqueurs dits « neutres » et des séquences soumises à sélection, les processus qui se déroulent au niveau de l'individu avec ceux qui peuvent être observés au niveau de la population et de l'espèce. La prise en main du laboratoire de génétique écologique de l'UMR ECOFOG me donne aujourd'hui la possibilité de réunir dans un cadre cohérent les compétences acquises précédemment et d'en développer des nouvelles. Ce contexte de travail me permet également de collaborer avec des collègues écologues spécialisés dans des domaines complémentaires et ainsi d'établir une démarche qualifiée à juste titre de « biologie intégrative ». J'inscris la construction d'une équipe de recherche et la formation des nouvelles recrues de la recherche dans ce cadre multidisciplinaire. J'espère donc pouvoir apporter ma contribution de généticien et d'évolutionniste à la construction d'une vision intégrée du fonctionnement du vivant, et pouvoir accompagner les futures générations de chercheurs dans leur approche vis-à-vis de ce sujet passionnant.

Bibliographie

- Boscherini G, Vendramin GG, Giannini R (1993) Mating system analysis in two Italian populations of Norway spruce. *Journal of Genetics and Breeding* **47**, 45-49.
- Darwin C (1859) *On the Origin of Species*. Norton, London, UK.
- Dawkins (1986) *The blind watchmaker*. Norton, New York, NY.
- Epperson BK (2003) *Geographical genetics*. Princeton University Press, Princeton, NJ.
- Ford EB (1964) *Ecological Genetics*. Methuen, London, UK.
- Futuyma DJ (2005) *Evolution*. Sinauer, Sunderland, MA.
- Hedrick P (2000) *Genetics of populations*, 2nd edn. Jones and Bartlett, Sudbury, MA.
- Hedrick PW (2006) Genetic Polymorphism in Heterogeneous Environments: The Age of Genomics. *Ann. Rev. Ecol. Evol. Syst.* **37**: 67-93.
- Hewitt G (2000) The genetic legacy of the Quaternary ice ages. *Nature* **405**, 907-913.
- Huxley, J (1942) *Evolution: the Modern Synthesis*, Macmillan, London, UK.
- Kimura, M (1983) *The neutral theory of molecular evolution*, Cambridge University Press, Cambridge, UK.
- Mayr E (1982) *The Growth of Biological Thought. Diversity, Evolution, and Inheritance*. The Belknap press of Harvard University Press, Cambridge, MA.
- Nei, M (1986) *Molecular evolutionary genetics*, Sinauer. Sunderland, MA.
- Petit RJ, Hu FS, Dick CW (2008) Forests of the past: a window to future changes. *Science* **320**, 1450-1452.
- Ridley M (2003) *Evolution*. Wiley-Blackwell, Oxford, UK.
- Rousset R (2004) *Genetic Structure and Selection in Subdivided Populations*. Princeton University Press, Princeton, NJ.
- Wright, S (1984) *Evolution and the Genetics of Populations: Genetics and Biometric Foundations* (four volumes). Chicago University Press, Chicago., IL

Références du candidat²

- [1] **Scotti I.**, Troglio M., Soranzo N., Vendramin G.G., Bucci G. (1998) “A new set of PCR-based, locus-specific markers for *Picea abies* (L.) Karst.”, *Molecular Ecology* **7**: 789-792 .
- [2] **Scotti I.**, Magni F, Fink R, Powell W, Binelli G, Hedley P (2000) Microsatellite repeats are not randomly distributed within Norway spruce (*Picea abies* K.) expressed sequences. *Genome* **43**: 41-46.
- [3] **Scotti I.**, Paglia GP, Magni F, Morgante M (2002) Efficient development of dinucleotide microsatellite markers in Norway spruce (*Picea abies* Karst.) through dot-blot selection. *Theoretical and Applied Genetics* **104**: 1035-1041.
- [4] **Scotti I.**, Magni F, Paglia GP, Morgante M (2002) Trinucleotide microsatellites in Norway spruce (*Picea abies*): their features and the development of molecular markers. *Theoretical and Applied Genetics* **106**: 40-50.
- [5] Yazdani R., **Scotti I.**, Jansson G., Plomion C. and Mathur G. (2003) Inheritance and diversity of simple sequence repeat (SSR) microsatellite markers in various families of *Picea abies*. *Hereditas* **138**: 219-227.
- [6] *Vendramin GG, **Scotti I.**, Ziegenhagen B (2004) Microsatellites in forest tree species: characteristics, identification and applications. In: Genetics and Breeding of Forest Trees (S. Kumar, M. Fladung, eds), Haworth's Food Products Press, New York.
- [7] **Scotti I.**, Burelli A, Chagné D, Fuller J, Hedley PE, Jansson G, Lalanne C, Madur D, Neale D, Plomion C, Powell W, Troglio M, and Morgante M (2005) Analysis of the distribution of marker classes in a genetic linkage map: a case study in Norway spruce (*P. abies* karst). *Tree genetics and genomes* **1**: 93-102.
- [8] *Binelli G, **Scotti I.**, Fink R, Magni F, Sari-Gorla M, “Rilevamento del danno genetico negli alberi forestali”, in “Monitoraggio delle foreste sotto stress ambientale” Ballarin Denti A, Cocucci SM, Sartori F, ed., Milano 1998 (en italien).
- [9] **Scotti I.**, Soranzo N., Ferrario G., Binelli G. (1998) “Genetic variation in Norway spruce as revealed by mapped PCR-based markers”, Acts of the Congress «Plant biotechnology as a tool for the exploitation of mountain lands», Torino, May 25-27, 1997. *Acta Horticulturae* **457**: 363-369.
- [10] **Scotti I.**, M. Anzidei, F. Gugerli, R. Pastorelli, G.G. Vendramin (*en préparation*) Maternally, and paternally inherited molecular markers elucidate

² Tous les documents cités sont joints en annexe sauf ceux dont la référence est précédée par une étoile (*) et ils apparaissent dans les annexes dans l'ordre présenté ici.

- population processes on a small scale within a Norway spruce (*Picea abies* (L.) Karst.) stand.
- [11] **Scotti I.**, Vendramin GG, Matteotti LS, Scarponi C, Sari-Gorla M, Binelli G (2000) Postglacial recolonisation routes for *Picea abies* in Italy as suggested by the analysis of sequence-characterised amplified region (SCAR) markers. *Molecular Ecology* **9**: 699-708.
- [12] ***Scotti I.**, G Paglia, F Magni, M Morgante (1999) Microsatellite markers as a tool for the detection of intra- and interpopulational genetic structure. In: Which DNA Marker for Which Purpose? Final Compendium of the Research Project Development, optimisation and validation of molecular tools for assessment of biodiversity in forest trees in the European Union DGXII Biotechnology FW IV Research Programme Molecular Tools for Biodiversity. Gillet, E.M. (ed.). 1999. <http://webdoc.sub.gwdg.de/ebook/y/1999/whichmarker/index.htm>
- [13] **Scotti I.**, Paglia GP, Magni F, Morgante M (2006) Population genetics of Norway spruce (*Picea abies* Karst.) at regional scale: sensitivity of different microsatellite motif classes in detecting differentiation. *Annals of forest science* **63**: 485-491.
- [14] Vendramin GG, Fady B, Gonzalez-Martinez SC, Hu FS, **Scotti I.**, Sebastiani F, Soto A, Petit R. (2007) Accounting for the success of a genetically depauperate but widespread: tree. *Evolution*, sous presse.
- [15] Kiær LP, Felber F, Flavell A, Guadagnuolo R, Guiatti D, Hauser TP, Olivieri AM, **Scotti I.**, Syed N, Vischi M, van de Wiel C, Jørgensen RB (en préparation) Spontaneous gene flow and population structure in wild and cultivated chicory.
- [16] **Scotti I.**, Mariani A, Verona V, Candolini A, Cenci CA, and Olivieri AM (2001) AFLP markers and cytotoxic analysis reveal hybridisation in the genus *Schaenus* (Cyperaceae). *Genome* **45**: 222-228.
- [17] **Scotti I.**, Arntz M., Delph L.F. (2006) Selective trade-offs and sex-chromosome evolution in *Silene latifolia*. *Evolution* **60**: 1793-1800.
- [18] Rapport du troisième colloque de coordination, Programme INCO-SEEDSOURCE 2007.
- [19] Rapport de stage M2 encadré : Vimal R (2007) *Effet de l'exploitation sur les caractéristiques démogénétiques de la régénération chez Jacaranda copaia*, Université Antilles Guyane.

- [20] * Rapport de stage M2 encadré : Toebosch M (2005) *Gender and sexual dimorphism in Virola species*. Université de Wageningen, Pays-Bas.
- [21] Rapport de stage final de Formation d'Ingénieur Forestier (FIF) encadré : Calvo-Vialettes L (2006) Diversité, différenciation et héritabilité des caractères phénotypiques des espèces *Eperua falcata* et *Sextonia rubra* de la forêt tropicale humide guyanaise.
- [22] Rapport final du projet « Estimation et répartition géographique de la diversité génétique dans deux espèces du bassin amazonien (*Carapa sp* et *Jacaranda*) et estimation de la diversité génétique dans la collection d'Amélioration génétique du poirier pays (*Tabebuja heterophylla*) en Guadeloupe », 2007.
- [23] Rapport de stage M2 encadré : Casalis M (2007) Analyse de la diversité génétique dans l'espèce *Jacaranda copaia* (Aublet) D. Don et proposition d'un scénario historique. Université Henri Poincaré, Nancy.
- [24] Duminil J, Caron H, **Scotti I**, Cazal S-O, Petit RJ (2006) Blind population genetics survey of tropical rainforest trees. *Molecular Ecology* **15**: 3505-3513.
- [25] Rapport d'activité à six mois du programme « Dynamique de la diversité neutre et adaptative au niveau de la communauté : étude du complexe d'espèces *Eperua falcata* / *E. grandiflora* en Guyane française », 2007.
- [26] **Scotti I**, Calvo-Vialettes L, Scotti-Saintagne C, Citterio M, Degen B, Bonal D (submitted to *Tree genetics and genomes*) The role of additive genetic and non-additive variance in trait variability in a wild population of the Neotropical rainforest tree *Sextonia rubra* (Mez) van der Werff (Lauraceae).
- [27] Audigeos D, Buonamici A, Belkadi L, Rymer P, Boshier D, Scotti-Saintagne C, Vendramin GG, **Scotti I** (in preparation) Aquaporins in the wild : natural genetic diversity and selective pressure in the PIP gene family in five Neotropical trees.

Annexes