

Cultures – 2ème partie

La compréhension de l'hybridation



« De l'agriculture » - Columelle

Des espèces de semences.

VI.

Aussi, entre autres choses que Virgile a si bien dites, il s'exprime ainsi sur les semences : **« J'ai remarqué que les semences choisies avec attention et considérées par un long examen, dégénèrent cependant, si tous les ans la sagesse humaine ne fait pas à la main un choix des plus développées : c'est la destinée de toutes choses, de finir par se détériorer et de retourner au néant d'où elles sont sorties. »** Si le grain roux, fendu en deux, offre à l'intérieur la même couleur, il n'y a aucun doute qu'il ne soit excellent. Celui qui est blanc extérieurement et dont l'intérieur est blanc aussi, doit être considéré comme léger et vide. Que le siligo ne nous induise pas en erreur, en raison de l'empressement que mettent les agriculteurs à le rechercher : car ce froment pèche par le poids, quoiqu'il excelle en blancheur ; mais par une température humide il vient très bien, et convient, par conséquent, aux lieux arrosés par les cours d'eau. Nous n'avons pas besoin, au reste, d'en chercher au loin ni de nous tourmenter pour en trouver ; car toute espèce de froment, après avoir été semée trois fois dans une terre humide, se convertit en siligo.



Les hybrides au XIXème siècle

- **J.-G. KOLREUTER (1733-1806)**, *Vorläufige Nachricht von einigen das Geschlecht der Pflanzen betreffenden Versuchen und Beobachtungen*, Fortsetzungen 1, 2 und 3. Lipsiae. Reprinted in *Ostwald 's Klassiker der exkten Wissenschaften*, Leipzig, No. 41, 1893.
- **Karl F. von GAERTNER (1772-1850)**, *Versuche und Beobachtungen über die Bastarderzeugung im Pflanzenreiche*, Stuttgart, 1849.
- **William HERBERT (1778-1847)**, *On Hybridization Amongst Vegetable*, Journal of the Horticultural Society of London, 2, 1847, pp. 81-107
- **Max Ernst WICHURA (1817-1866)**, *Die Bastardbefruchtung im Pflanzenreich*, Breslau, 1865.
- **G. MENDEL (1822-1884)**, *Versuche über Pflanzen-Hybriden*, Verhandlungen des naturforschenden Vereins in Brünn, t. IV, 1866, pp. 3-47,

Versuche

über

Pflanzen-Hybriden,

VON

Gregor Mendel.

(Separatdruck aus dem IV. Bande der Verhandlungen des naturforschenden Vereines.)

Im Verlage des Vereines.



Brünn, 1866.

Aus Georg Bestl's Buchdruckerei, Postgasse Nr. 446.



Mendel's design

Parents
– lignée pure:
P

fécondation croisée

Hybrides de
première génération:
F1

autofécondation

Hybrides de
deuxième génération:
F2

autofécondation



FIG. 31.—Peas showing Mendel's Law.

A, Pod of yellow-seeded (dominant) parent; B, Pod of green-seeded (recessive) parent; C, Pod of hybrid offspring—all with yellow seeds (F^1); D, Pod showing the splitting up of the next self-fertilised generation (F^2) into yellow-seeded and green-seeded.

Hybrides F2 de deux lignés pures

- 7e expérience. — *Longueur de l'axe.*
 - Sur 1 064 plantes 787 avaient l'axe long, 277 l'axe court : d'où le rapport 2,84 à 1. Dans cette expérience, les plantes naines furent enlevées avec soin et transportées dans une planche spéciale. Cette précaution était indispensable, car sans cela elles auraient pu dépérir au milieu de leurs soeurs à haute tige. On peut les distinguer facilement, dès les premiers temps du développement, à leur port trapu, à leur feuilles épaisses et vert sombre.



Les lois de Mendel 1

- Le rapport 3 à 1, suivant lequel se répartissent les caractères dominant et récessif dans la première génération, se résout donc, pour l'ensemble des expériences, dans le rapport 2 : 1 : 1 si l'on considère le caractère dominant à la fois dans sa signification de caractère hybride et dans celle de caractère souche. Comme les individus de la première génération proviennent directement des graines des hybrides, il est maintenant évident que les hybrides de chaque couple de caractères différentiels produisent des graines dont une moitié reproduit la forme hybride, tandis que l'autre donne des plantes qui restent constantes et prennent, par parties égales les unes le caractère dominant, les autres le caractère récessif.

Loi de ségrégation

$A+2Aa+a$ (soit phénotypiquement 3 A et 1 a)

$2^{n-1} / 2 / 2^{n-1}$ à chaque génération n



Les lois de Mendel 2

- On fit en outre plusieurs expériences avec un plus petit nombre de plantes d'essai, chez lesquelles les autres caractères étaient réunis par deux et par trois par l'hybridation ; toute sont donné, à peu de chose près, les mêmes résultats. Il n'est par conséquent pas douteux que l'on puisse appliquer à tous les caractères admis en expérience le principe suivant: les descendants des hybrides chez lesquels sont réunis plusieurs caractères essentiellement différents, représentent les différents termes d'une série de combinaisons dans lesquelles sont groupées les séries de formes de chaque couple de caractères différents. Il est en même temps prouvé par là que la façon dont se comporte en combinaison hybride chaque couple de caractères différents est indépendante des autres différences que présentent les deux plantes

Loi des combinaisons

*ABC+ABc+AbC+Abc+aBC+aBc+abC+abc+2ABCc+2AbCc+2aBCc
+2abCc+2ABbC+2ABbc+2aBbC+2aBbc+2AaBC+2AaBc+2AabC
+2Aabc+4ABbCc+4aBbCc+4AaBCc+4AabCc+4AaBbC
+4AaBbc+8AaBbCc*



It is not difficult to prove, however, that such an expectation would be quite groundless. Suppose that Aa is a pair of Mendelian characters, A being dominant, and that in any given generation the numbers of pure dominants (AA), heterozygotes (Aa), and pure recessives (aa) are as $p:2q:r$. Finally, suppose that the numbers are fairly large, so that the mating may be regarded as random, that the sexes are evenly distributed among the three varieties, and that all are equally fertile. A little mathematics of the multiplication-table type is enough to show that in the next generation the numbers will be as

$$(p + q)^2 : 2(p + q)(q + r) : (q + r)^2,$$

or as $p_1:2q_1:r_1$, say.

G. H. Hardy
Trinity College, Cambridge,
April 5, 1908



Généralisation de la combinatoire de Mendel 1

- n = nombre de locus indépendants [*ex. : considérons un individu AaBb : donc 2 loci.*]
- 2^n = nombre de types de gamètes formés dans l'hybride F1 [$2^2 = 4$ (*AB, Ab, aB, ab*)]
- 2^n = nombre de phénotypes F2 si il y a **dominance complète** à chaque locus; ce nombre donne aussi le nombre de phénotypes et de génotypes dans un croisement test en retour [$2^2 = 4$ classes phénotypiques (*ex: 9:3:3:1*) & (*AaBb, Aabb, aaBb, aabb*)]



Généralisation de la combinatoire de Mendel 2

- 3^n = nombre de génotypes F2, ou, nombre de phénotypes F2 si il y a **dominance incomplète** à chaque locus. [$3^2 = 9$ *génotypes (ex: AABB: AABb, AAbb, AaBB, AaBb, Aabb, aaBB, aaBb, aabb)*]
- 4^n = nombre de combinaisons possibles de gamètes F1, ou, nombre de combinaisons génotypiques possibles en F2 [$4^2 = 16$ (*par ex. nombre de cases dans le carré F2 de Punnett*)]
- n peut varier de 1'000 à 10'000 (nombre de locus indépendants dans un organisme contenant environ 40'000 loci) donc le nombre de combinaisons génotypiques peut varier de $4^{1'000}$ à $4^{10'000}$ (nombres incalculables sur un PC).



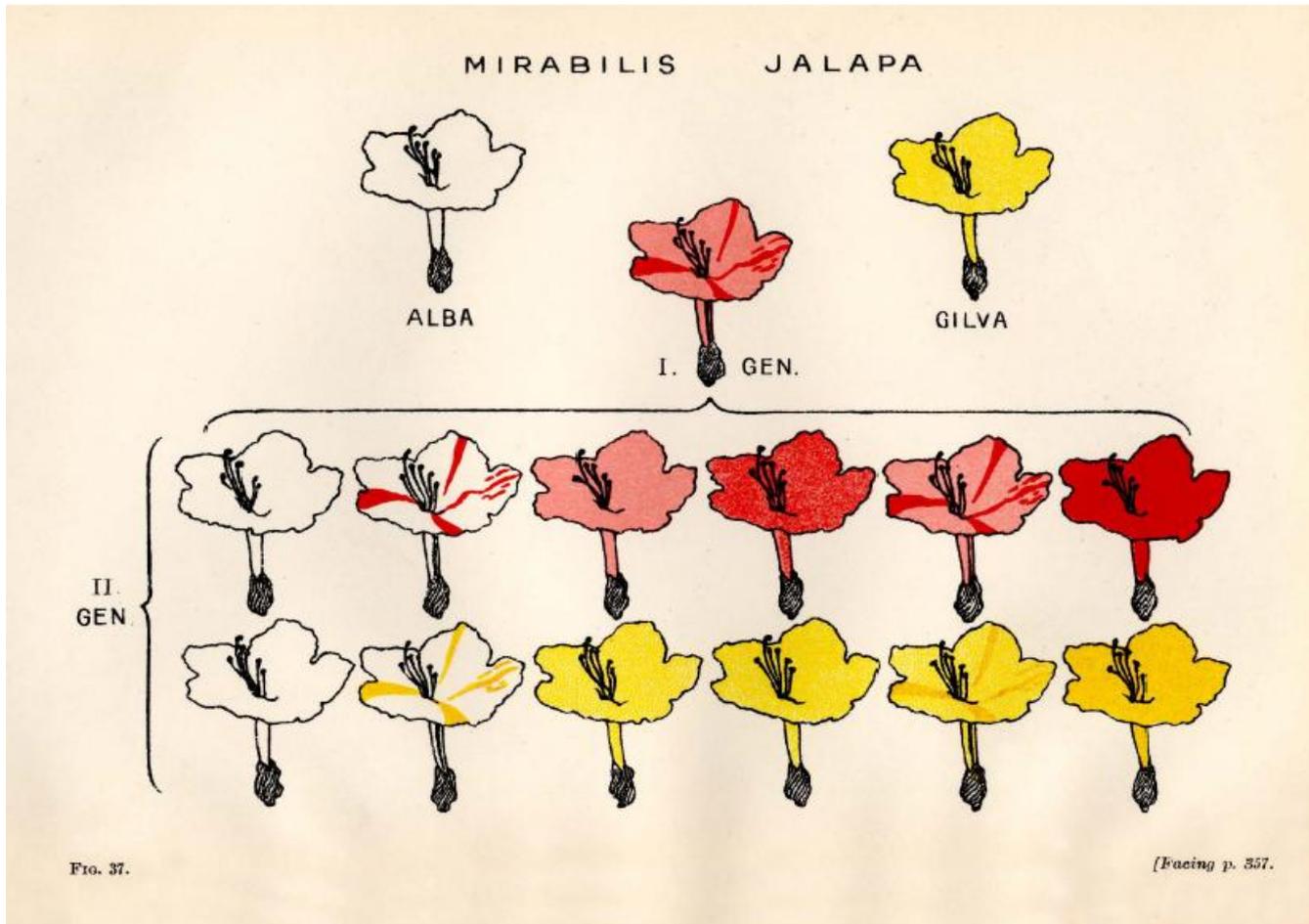
L'hybride F1 croisé avec le parent récessif



Type de ségrégation test – en retour de type
1:1 ici pour le caractère « maïs sucré »



Complexe mais néanmoins mendélien

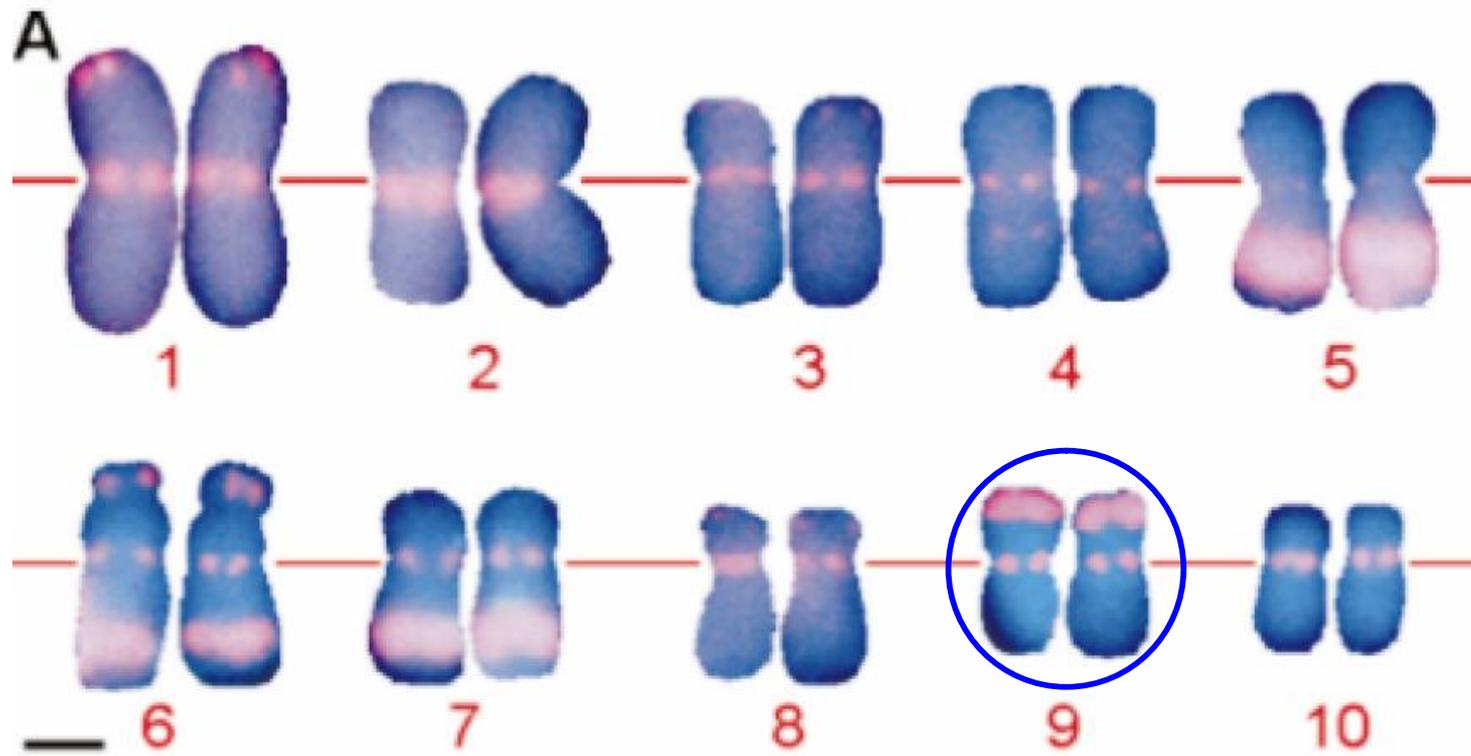


La notion de linkage

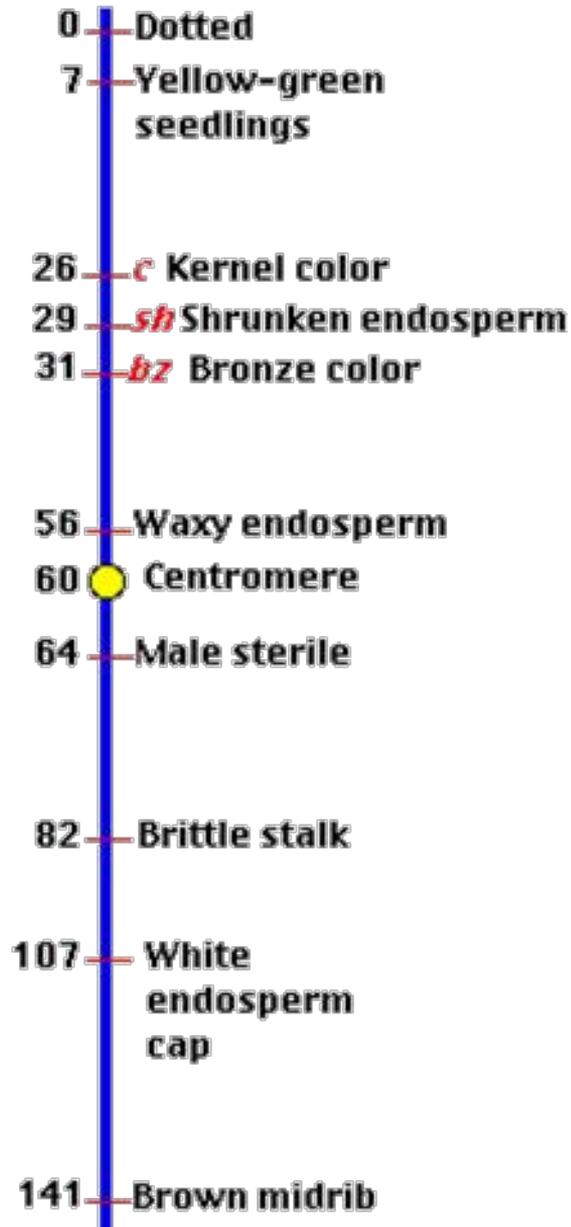
- W. Bateson (1902) remarque que, dans une ségrégation mendélienne, certains traits restent liés; autrement dit ils se comportent comme une seule unité de ségrégation (liaison \equiv linkage).
- W.S. Sutton (1903) identifie le comportement des **chromosomes** comme en faisant des supports probables des unités mendéliennes.
- T. H. Morgan (1911) identifie 4 groupes de liaisons chez la mouche du vinaigre. La cytologie montre que cette mouche possède 4 paires de chromosomes. En outre chaque paires de chromosomes peut subir des **recombinaisons**. Les groupes de liaisons peuvent donc être identifiés à des groupes de recombinaison.
- M. Creighton & B. McClintock (1931) prouvent qu'un caractère mendélien est situé physiquement sur une portion définie d'un chromosome et que cette région peut être échangée avec le une région identique d'un même chromosome de la même paire.



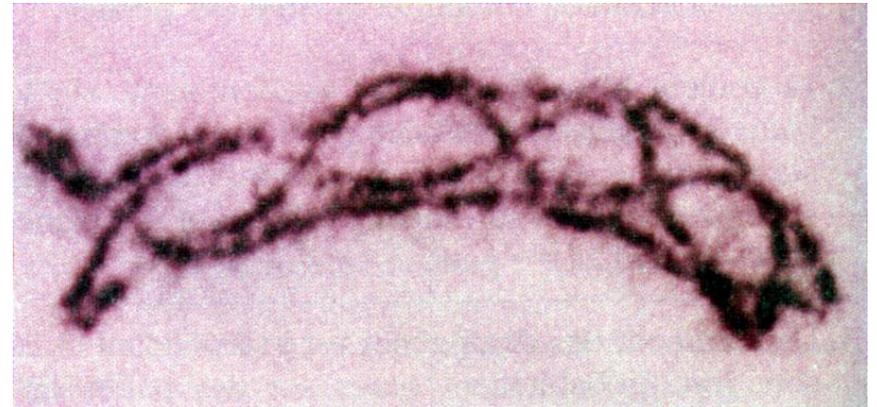
- Les chromosomes sont découverts à la fin du XIX^{ème} siècle
- Il sera démontré que
 - ils sont porteurs des loci mendéliens
 - ils sont responsables de la liaison (linkage) et de la co-ségrégation des caractères



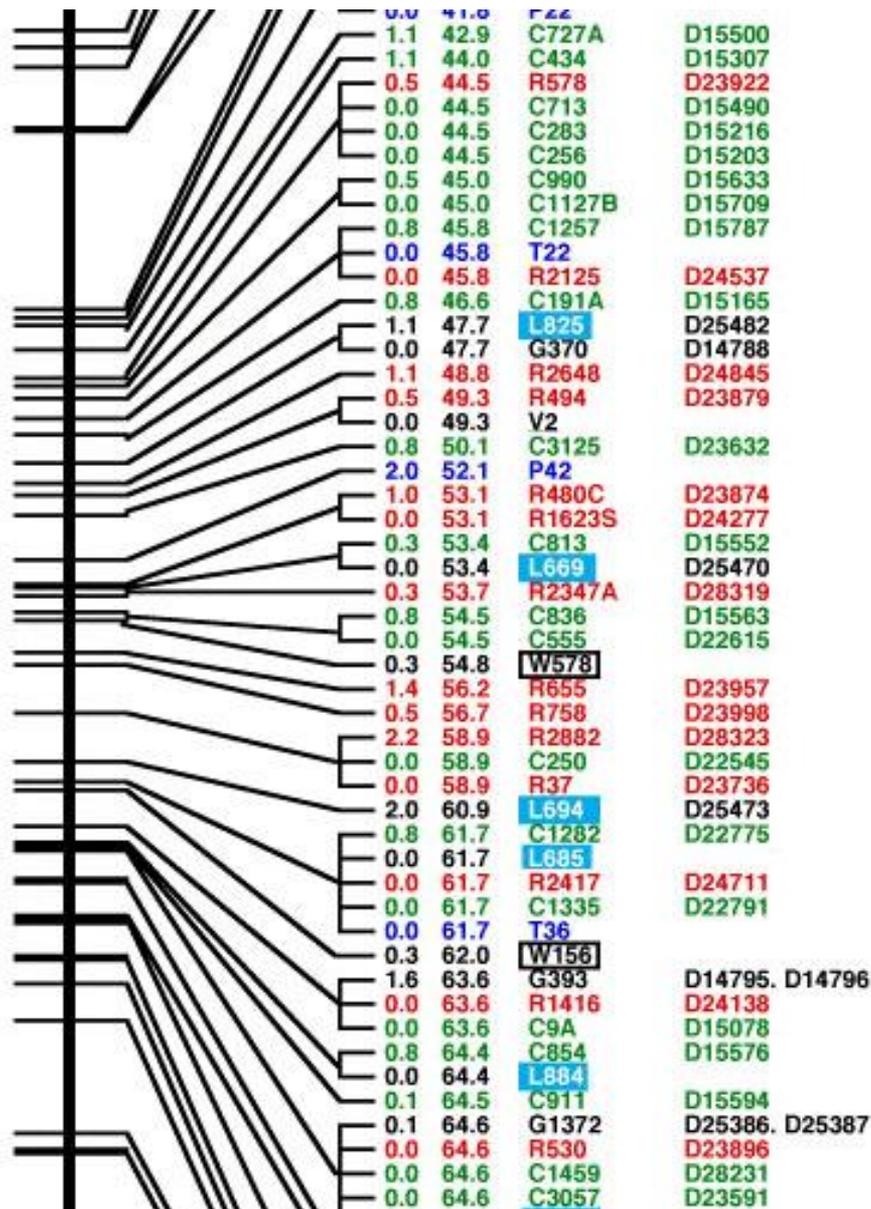
Chromosome 9



Carte de liaison
du chromosome
9 du maïs



Carte chromosomique



Concepts fondamentaux

- Le **locus** est une région spécifique d'un chromosome; la séquence d'ADN à cet endroit constitue un **allèle**; donc un individu diploïde (une paire de chromosome homologues) possède deux allèles par locus.
- Dans une population d'individus diploïdes, de nombreux allèles sont possibles, mais un individu donné possède seulement deux allèles par locus.
- Pour étudier l'héritabilité d'un caractère donné (d'un phénotype), il doit y avoir **polymorphisme** pour ce trait. Chez les plantes cultivées, les études d'héritabilité sont basées sur des croisements entre variétés.
- Le degré d'**homozygosité** des parents, la génération étudiée (F1, F2, ... Fn), le **degré de dominance** des allèles déterminant le phénotype, et le **nombre de loci** déterminants le phénotype sont des facteurs importants pour l'interprétation des données génétiques.

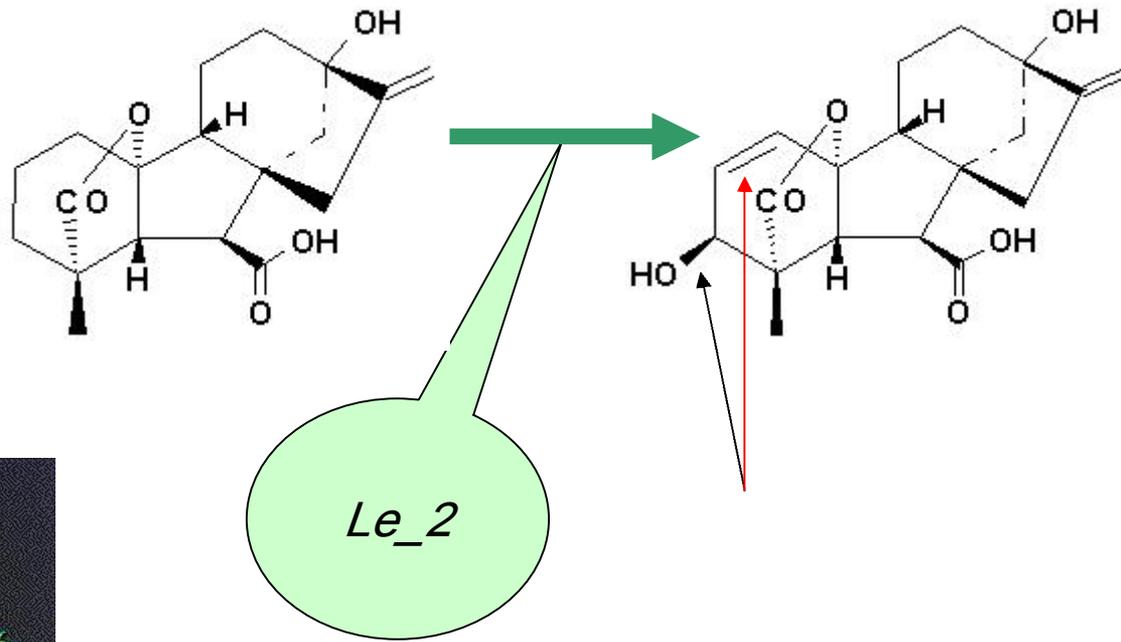


131 ans après ...

- En 1997, deux groupes de recherche réussirent l'identification d'un des gènes de Mendel. Ce gène appelé *Le* contrôle la longueur des entrenoeuds du pois. Les plantes possédants deux copies défectueuses de *Le* sont plus petite que normal (naines).
- *Le* code pour une enzyme appelée gibbérelline 3-hydroxylase (chez le pois et chez *Arabidopsis*) dont la fonction est de catalyser le précurseur gibbérelline A20 en deux formes actives les gibbérellines A1 et A2.
- Le gène pour le caractère ridé avait été isolé en 1990 déjà (enzyme de branchement de l'amidon) .
- 1. D.R. Lester et al., "Mendel's stem length gene (*Le*) encodes a gibberellin 3b-hydroxylase," *Plant Cell*, 9:1435-43, 1997.
2. M.K. Bhattacharyya et al., "The wrinkled-seed character of pea described by Mendel is caused by a transposon-like insertion in a gene encoding starch-branching enzyme," *Cell*, 60:115-22, 1990.



Les causes du nanisme



Activation
de la croissance



La mutation du caractère 7 de Mendel (nanisme) concerne l'enzyme gibbérelline-3-hydroxylase.



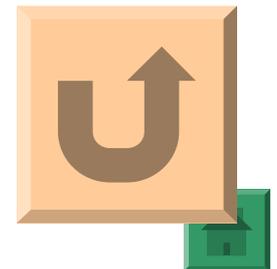
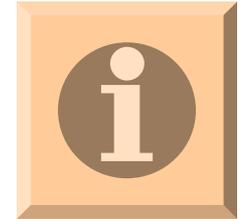
Pois de Mendel caractère 7 (nanisme) : séquences en format FASTA de l'allèle sauvage (Le) et de l'allèle nain (le)

>Le gi|2316035|gb|AF001219.1|AF001219 Pisum sativum gibberellin 3 beta-hydroxylase (Le) mRNA, complete cds

```
ATGCCTTCACTCTCCGAAGCCTAT
AGAGCACACCCCGTGCACGTTAACCACAAGCACCCCTGATTTCAACTCACTTCAAGAACTACCTGAATCTT
ACAATTGGACTCACCTTGATGATCACACCCTTATTGATTCCAATAATATTATGAAGGAGAGTACTACTAC
TGTCCCCGTTATTGATCTCAATGACCCTAATGCTTCAAAGCTAATAGGACTTGCATGCAAAACATGGGGG
GTGTATCAAGTAATGAACCATGGCATCCCCTTAAGCCTTCTTGAGGATATTCAATGGCTTGGACAAACAC
TTTTCTCTTCTTCTCACCAAAAAACATAAAGCAACTCGTCCCCCGACGGTGTTCGGGATATGGCAT
CGCTCGTATCTTCTTCTTCTTCCCCAAACTCATGTGGTATGAGGGATTACTATCGTCGGATCACCTCTC
GACCATTTTCGAGAACTCTGGCCTCAAGATTATAACCAGATTCTGTGATATTGTCGTGCAATATGATGAAA
CCATGAAAAAGTTAGCAGGAACATTAATGTGTCTAATGTTGGACTCTCTTGGTATTACAAAGGAAGATAT
CAAATGGGCCGGGTCAAAGCCCAATTTGAAAAAGCTTGTGCGGCCCTCCAATTAACCTACCCTAGT
TGCCCGGATCCGGATCACGCGATGGGTCTCGCCCCGCACACAGACTCAACATTTTAAACCATCCTATCTC
AAAACGACATAAGCGGGTTACAGGTTAACC GCGAGGGTCTGGGTGGATCACGGTTCACCGCTCCAAGG
AGGTCTGGTCGTCAACGTGGGCGACCTCTTTCATATTTGTGCAACGGGTATATCCTAGCGTACTCCAT
CGAGTTTTAGTGAACCGGACCCGTCAGAGATTTTCCGTTGCCTATTTATATGGCCCCCTTCCAATGTAG
AGATTTGTCCACATGCAAAATTAATAGGCCCAACAAAACCCCCTCTCTATAGGTCAGTGACATGGAATGA
GTACCTTGGCACAAAAGCAAAACATTTCAACAAAGCACTCTCATCTGTTAGACTTTGTACACCTATTAAT
GGTTTGTGTTGATGTAAACGATTCTAACAAAAATAGTGTCCAAGTGGGCTAA
```

>le-2 gi|2291077|gb|AF007765.1|AF007765 Pisum sativum truncated gibberellin 3B-hydroxylase (Le) mRNA, severe dwarf mutant allele le-2, complete cds

```
ATGCCTTCACTCTCCGAAGCCTATAGAGCACACCCCGTGCACGTTAACCACAAGCACCCCTGATTTCAACT
CACTTCAAGAACTACCTGAATCTTACAATTGGACTCACCTTGATGATCACACCCTTATTGATTCCAATAA
TATTATGAAGGAGAGTACTACTACTGTCCCCGTTATTGATCTCAATGACCCTAATGCTTCAAAGCTAATA
GGACTTGCATGCAAAACATGGGGGGTGTATCAAGTAATGAACCATGGCATCCCCTTAAGCCTTCTTGAGG
ATATTCAATGGCTTGGACAAACACTTTTCTCTCTTCTTCTCACCAAAAAACATAAAGCAACTCGTCCCC
CGACGGTGTTCGGGATATGGCATCCTCGTATCTTCTTCTTCTTCCCCAAACTCATGTGGTATGAGGGAT
TACTATCGTCGGATCACCTCTCGACCATTTTCGAGAACTCTGGCCTCAAGATTATAACCAGATTCTGTGA
TATTGTCGTGCAATATGATGAAACCATGAAAAAGTTAGCAGGAACATTAATGTGTCTAATGTTGGACTCT
CTTGGTATTACAAAGGAAGATATCAAATGGGCCGGGTCAAAGCCCAATTTGAAAAAGCTTGTGCGGCC
TCCAATTAACCTACCCTAGTTGCCCGGATCCGGATCACGCGATGGGTCTCACCCCGCACACAGACTC
AACATTTTAAACCATCCTATCTCAAAACGACATAAGCGGGTTACAGGTTAACC GCGAGGGTCTGGGTGG
ATCACGTTCCACCGCTCCAAGGAGGTCTGGTCGTCAACGTGGGCGACCTCTTTCATATTTTGTGCAACG
GGTTATATCCTAGCGTACTCCATCGAGTTTTAGTGAACCGGACCCGTCAGAGATTTTCCGTTGCCTATTT
ATATGGCCCCCTTCCAATGTAGAGATTTGTCCACATGCAAAATTAATAGGCCCAACAAAACCCCCTCTC
TATAGGTCAGTGACATGGAATGAGTACCTTGGCACAAAAGCAAAACATTTCAACAAAGCACTCTCATCTG
TTAGACTTTGTACACCTATTAATGGTTTGTGTTGATGTAAACGATTCTAACAAAAATAGTGTCCAAGTGGG
CTAA
```



Variations discrètes et variations continues - 1

- Le conflit entre la théorie Mendélienne d'une hérédité discrète et la mise en évidence du fait que de nombreux traits naturels montrent une variabilité continue a été résolue dès le début du 20ème siècle par le développement de la notion de trait quantitatif.
- Ces traits résultent de la ségrégation de gènes multiples dont l'expression globale et complexe est modifiée par l'environnement
- Un grand nombre de méthode très complexes ont été développés qui ont permis dans certains cas la détection de loci impliqués dans des QTL. Cependant les marqueurs génétiques traditionnels se sont révélés insuffisants pour permettre une identification précise et systématique des QTL



Variations discrètes et variations continues - 2

- L'utilisation de marqueurs moléculaires (en particulier les RFLP "*restriction fragment length polymorphism*") a rendu ces recherches possibles, tout au moins en principe.
- Il faut bien entendu disposer d'un organisme pour lequel les cartes de "linkage" sont suffisamment détaillées et couvrent tout le génome de manière systématique. Alors il est possible d'identifier au sein d'un QTL les facteurs Mendéliens discrets dans des croisement interspécifiques.
- Cette approche accompagnée au besoin et si possible de tests de complémentation par transgénèse permet alors une dissection génétique des traits quantitatifs physiologiques, morphologiques et comportementaux.



RFLP (Polymorphisme de fragment de restriction)

5' - GAATTC - 3'
3' - CTTAAG - 5'

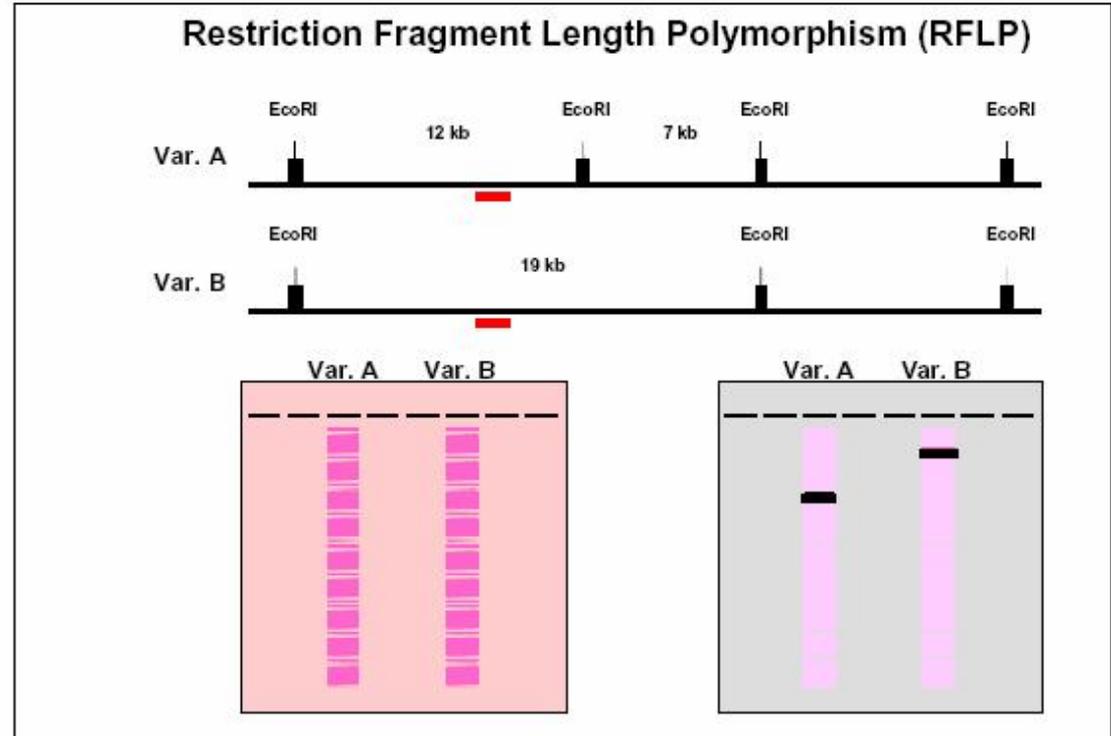
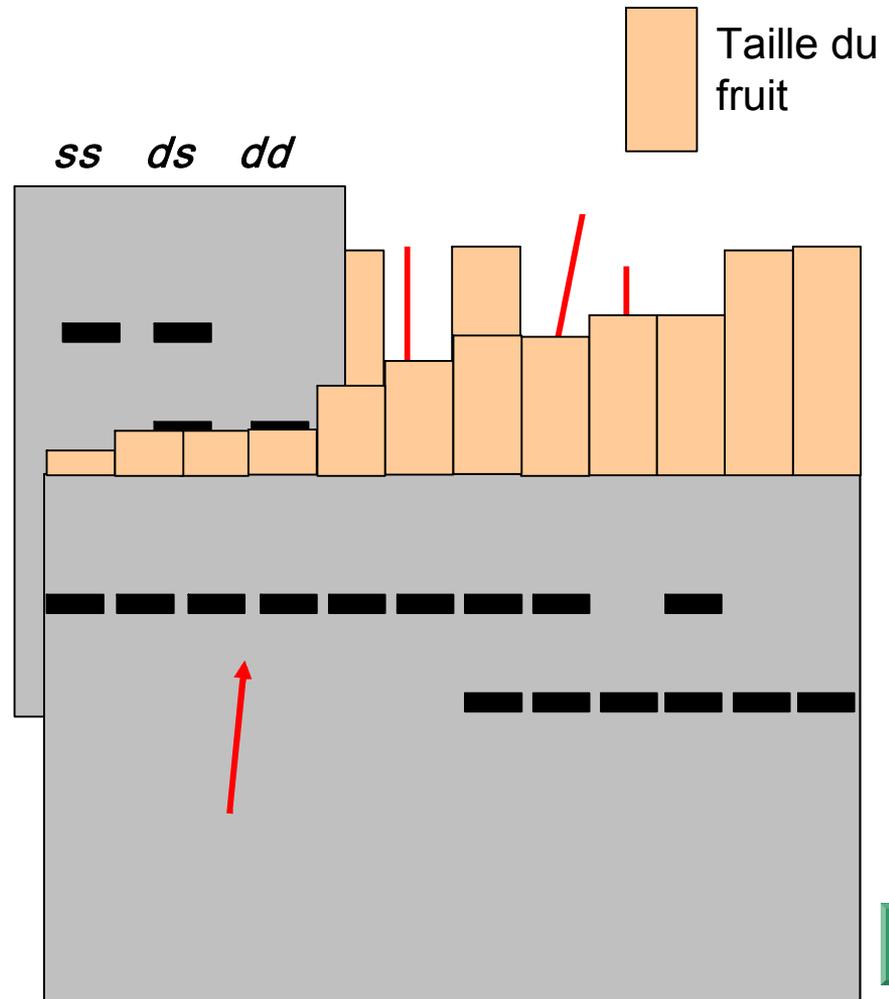


Figure 4.1. The scheme depicts enzyme digestion of DNA into fragments and their subsequent gel separation and the detection of allelic variation in varieties A and B (With permission, K. Devos).

RFLP (suite) – exemple des fruits de la tomate..

1. s : allèle sauvage & d : allèle domestique
2. croiser les deux parents sauvage (ss) & domestiqué (dd).
3. on obtient une F1 (sd) puis une F2 par autopollinisation avec une variation continue du trait (par exemple la taille des fruits).
4. Pour chaque marqueur réparti au sein du génome on aura soit (ss) soit (sd), soit (dd).
5. Si un QTL pour la taille se trouve très proche d'un marqueur alors on aura, en moyenne des plantes avec des petits fruits avec (ss) et des plantes avec des grands fruits avec (dd)



QTL tomate - suite

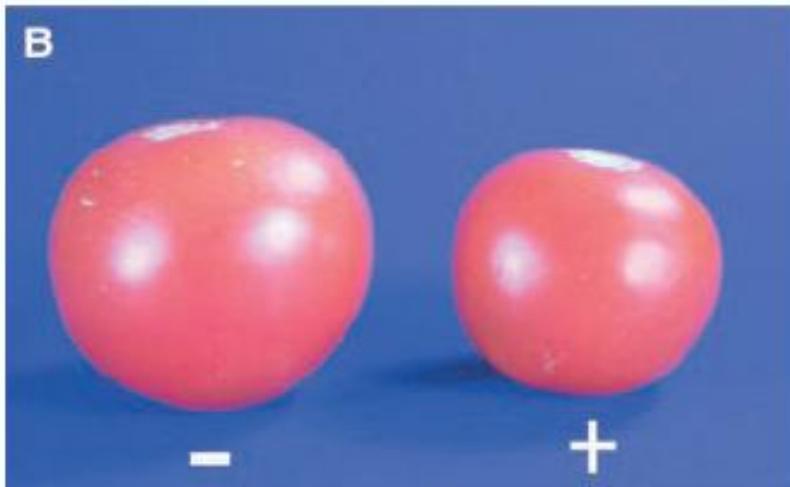


simple avec des marqueurs
génétique

ôlant la taille des fruits.

ur une portion très précise d'un
ome 2)

rmant une plante domestique avec le
ur la photo



delian factors by using a complete linkage map
isms. Paterson AH, Lander ES, Hewitt JD,
ire. 1988 Oct 20; 335 (6192):721-6



