

Les cartes génétiques chez les espèces fourragères pérennes des régions tempérées

B. Julier, P. Barre

INRA, Unité de Génétique et d'Amélioration des Plantes Fourragères, F-86600 Lusignan ;
julier@lusignan.inra.fr

Résumé

Les cartes génétiques, qui schématisent les chromosomes d'une espèce par la position de marqueurs, sont des outils désormais indispensables de la connaissance des génomes. Elles permettent de comparer les génomes d'espèces proches, pour repérer les régions dans lesquelles l'ordre des marqueurs est conservé (synténie), et de localiser des gènes d'intérêt. Elles sont couramment utilisées pour identifier les zones du génome intervenant dans des caractères complexes (QTL). Nous décrivons brièvement les modalités d'obtention des cartes génétiques, modalités communes à toutes les espèces, mais parfois plus complexes chez les espèces fourragères, à cause de leur allogamie et de leur polyploidie fréquentes. Nous décrivons les cartes actuellement disponibles chez ces espèces fourragères. Chez les graminées, des cartes ont été obtenues chez des ray-grass diploïdes, anglais et italien. Des cartes de plusieurs espèces de fétuques sont aussi disponibles, à différents niveaux de ploïdie. D'autres travaux sont en cours, chez des espèces à gazon, mais rien n'a encore été publié sur des espèces fourragères moins cultivées et polyploïdes (fléole, dactyles, bromes...). Chez les légumineuses fourragères, plusieurs cartes ont été publiées: sur la luzerne (diploïde et tétraploïde), le trèfle blanc et le trèfle violet, le lotier corniculé et la gesse. Des cartes ont aussi été obtenues chez les deux espèces modèles des légumineuses, *Medicago truncatula* et *Lotus japonicus*. Aucune étude n'a été rendue publique sur des espèces économiquement mineures (trèfle souterrain, sainfoin, coronille). La synténie entre les espèces, analysée par les alignements des cartes, est importante entre espèces de graminées fourragères, et aussi entre les graminées fourragères et d'autres graminées comme le blé et le riz. De même, la synténie entre légumineuses est très élevée. Ces forts niveaux de synténie permettent de transférer les connaissances acquises sur les espèces modèles (comme le riz ou *M. truncatula*) dans des programmes internationaux, vers les espèces fourragères sur lesquelles des outils de la génétique moléculaire sont progressivement développés.

Introduction

Une carte génétique est une représentation simplifiée du génome, qui consiste à jalonner l'ensemble des chromosomes de points de repère (appelés marqueurs) et à déterminer les distances qui les séparent (TAGU et MOUSSARD, 2003). La distance génétique est mesurée en centimorgans (cM), calculée d'après la fréquence de recombinaison entre chaque paire de marqueurs. Une carte génétique diffère d'une carte physique du génome dans laquelle la distance le long de la molécule d'ADN est mesurée en nombre de bases nucléotidiques.

Une carte génétique est un outil de connaissance du génome décrivant le nombre de chromosomes et leur longueur. Elle permet de localiser sur les chromosomes des gènes intervenant pour des fonctions physiologiques connues. Elle permet aussi de comparer des espèces différentes, en cherchant à aligner leurs cartes. Deux régions du génome présentant le même ordre des marqueurs sont dites synténiques. De plus, une carte permet d'analyser la génétique d'un caractère, simple ou complexe, en recherchant quelles portions du génome interviennent dans les variations de ce caractère: on parle alors de QTL pour *Quantitative Trait Locus* ou locus à effet quantitatif (voir BARRE et JULIER, article suivant).

Dans ce texte, nous expliciterons les procédures utilisées pour construire une carte génétique. Puis nous ferons le point sur les cartes déjà obtenues, tant chez les graminées que chez les légumineuses fourragères tempérées. Une brève analyse du niveau de synténie entre espèces sera présentée.

1. Réalisation d'une carte génétique

Pour établir une carte génétique, il faut disposer d'une descendance issue d'un croisement (population de cartographie) et de marqueurs polymorphes. Un marqueur (ou "locus marqueur") possède une position unique sur un chromosome et sert ainsi de repère. Pour un marqueur dominant, un individu hétérozygote ne peut pas être distingué d'un des deux homozygotes. Au contraire, pour un marqueur codominant, les trois génotypes peuvent être distingués. En cartographie, on détermine le génotype de chaque individu de la descendance pour chaque marqueur. L'analyse de cette information permet ensuite d'ordonner les marqueurs le long des chromosomes et d'estimer la distance entre ces marqueurs.

– Populations de cartographie

Les espèces fourragères sont le plus souvent allogames. Il est en général impossible d'obtenir des lignées pures. De ce fait, les populations de cartographie sont soit des F1, issues du croisement d'individus parentaux hétérozygotes, des F2 ou des back-cross. Chez les espèces autogames ou supportant la consanguinité, des populations de lignées recombinantes (RILs) ont pu être créées. Le choix des parents est crucial : ils doivent être génétiquement distincts ; et quand la population de cartographie est une F1, ils doivent être fortement hétérozygotes. Ce choix est raisonné en fonction de l'utilisation des cartes (*cf.* BARRE et JULIER, article suivant).

– Marqueurs

Historiquement, les premiers marqueurs disponibles ont été les **marqueurs morphologiques**. Chez les légumineuses, la couleur des fleurs chez la luzerne (*Medicago sativa*), le trèfle violet (*Trifolium pratense*) et le lotier corniculé (*Lotus corniculatus*), le nanisme chez la luzerne, le sens d'enroulement des gousses chez *M. truncatula*, les taches foliaires chez le trèfle violet et *M. truncatula* servent de marqueurs. Chez les graminées fourragères, il n'existe guère de marqueur morphologique utilisable au sein de chaque espèce. Cependant, la fluorescence des jeunes racines est un caractère qui différencie le ray-grass d'Italie (qui fluoresce) du ray-grass anglais (qui ne fluoresce pas). Puis, des **marqueurs biochimiques** (ou **isoenzymes**) ont été mis au point. Basés sur des différences de poids moléculaires de protéines ayant une activité enzymatique, ils ont l'avantage d'être codominants, et l'inconvénient d'être peu nombreux. Il en existe chez les graminées et les légumineuses, la méthodologie de révélation étant souvent transposable entre espèces proches.

Parmi les **marqueurs moléculaires**, on distingue les marqueurs pouvant être révélés en grand nombre et les marqueurs spécifiques de locus. Les **marqueurs révélés en grand nombre (AFLP : Amplified Fragment Length Polymorphism ; RAPD : Randomly Amplified Polymorphism DNA ; ISSR : Inter Simple Sequence Repeat)** ne requièrent pas d'information préalable sur les génomes, sont nombreux mais peu informatifs car dominants et difficilement transposables d'un croisement à un autre ou d'une espèce à une autre. Les **marqueurs spécifiques**, issus de données de séquences d'ADN (**RFLP : Restriction Fragment Length Polymorphism ; microsatellites ou SSR : Simple Sequence Repeats ; STS : Sequence Tagged Site ; SNP : Single Nucleotide Polymorphism**), sont révélés individuellement, coûteux à mettre au point mais très informatifs : ils sont généralement codominants et transposables entre croisements et espèces proches (pour plus d'informations, consulter (DE VIENNE, 1998 ; FALQUE et SANTONI, 2004).

Chez les graminées fourragères, des marqueurs codominants ont été développés essentiellement dans le complexe d'espèces *Festuca-Lolium* : une vingtaine de marqueurs isoenzymatiques (HAYWARD *et al.*, 1995) ; une centaine de marqueurs RFLP utilisant des connaissances de l'espèce étudiée ou d'espèces proches (ALM *et al.*, 2003 ; JONES *et al.*, 2002) ; 55 marqueurs STS (LEM et LALLEMAND, 2003 ; TAYLOR *et al.*, 2001) ; et 273 marqueurs microsatellites (JONES *et al.*, 2001 ; KUBIK *et al.*, 2001 ; LAVERGEAT *et al.*, 2005 ; SAHA *et al.*, 2004). Au total 328 marqueurs codominants faciles d'utilisation (microsatellites ou STS) sont publiquement disponibles. Plusieurs centaines d'autres marqueurs microsatellites ont été développés avec des financements privés et ne sont pas rendus publiques. Chez *Phleum pratense* L., 355 marqueurs microsatellites sont décrits (CAI *et al.*, 2003). Généralement, les marqueurs spécifiques sont utilisables chez plusieurs espèces de graminées fourragères (JONES *et al.*, 2001 ; LAVERGEAT *et al.*, 2005 ; LEM et LALLEMAND 2003 ; SAHA *et al.*, 2004 ; WARNKE *et al.*, 2004). Dans la majorité des cas, les marqueurs microsatellites établis sur le blé, le riz ou le maïs (espèces modèles des graminées) ne sont pas transférables sur les graminées fourragères, à cause de l'éloignement phylogénétique entre les espèces. En revanche, il est possible d'utiliser les séquences de gènes des espèces modèles pour développer des marqueurs gènes spécifiques chez les graminées fourragères.

Chez les légumineuses, des marqueurs microsatellites ont été massivement mis au point chez *Medicago truncatula* et *Lotus japonicus*, deux espèces modèles des légumineuses, en utilisant des données de séquences produites dans des programmes de séquençage d'EST (fragment de gènes exprimés) ou d'ADN génomique. Chez *Medicago truncatula*, le nombre de marqueurs microsatellites disponibles dépasse le millier (EUJAYL *et al.*, 2004 ; HUGUET *et al.*, 2004 ; BAQUERIZO-AUDIOT *et al.*, 2001 ; DIWAN *et al.*, 2000) et 288 marqueurs gènes-spécifiques sont décrits (CHOI *et al.*, 2004a). Du fait de la proximité phylogénétique entre espèces de la tribu des Trifoliées (luzernes et trèfles), entre 50 et 80% des marqueurs microsatellites développés chez *M. truncatula* et issus de séquences d'ADN exprimées donnent des amplifications et du polymorphisme chez la luzerne (JULIER *et al.*, 2003) et d'autres espèces du genre *Medicago* (EUJAYL *et al.*, 2004 ; LAOUAR 2005). Cependant, des marqueurs ont aussi été développés chez chaque espèce. Chez la luzerne diploïde, 216 marqueurs RFLP ont été décrits (KALO *et al.*, 2000 ; ECHT *et al.*, 1993 ; BRUMMER *et al.*, 1993). Chez le trèfle blanc, plus de 600 marqueurs microsatellites ont été obtenus (JONES *et al.*, 2003 ; BARRETT *et al.*, 2004 ; KÖLLIKER *et al.*, 2001), une partie seulement étant publiés. Chez *Lotus japonicus*, 107 microsatellites sont décrits, ainsi que 24 RFLP et 39 marqueurs gènes-spécifiques (SANDAL *et al.*, 2002). Sur le lotier corniculé, 23 RFLP sont décrits (FJELLSTROM *et al.*, 2003), alors que 13 marqueurs gènes-spécifiques sont publiés chez la gesse (SKIBA *et al.*, 2004). Enfin, des marqueurs gènes-spécifiques ont été testés pour un ensemble de légumineuses (CHOI *et al.*, 2004b).

Désormais, un grand nombre de marqueurs codominants sont disponibles chez les espèces fourragères. Selon la distance phylogénétique entre espèces modèles et espèces cultivées et selon le type de marqueurs, l'acquisition de nouveaux marqueurs consiste soit à transférer des marqueurs depuis les espèces modèles vers les espèces cultivées, soit à mettre au point des marqueurs directement sur les espèces cultivées.

– Obtention d'une carte génétique

Il s'agit de:

– **Réunir les marqueurs en groupes de liaison** (ou chromosomes). En effet, si deux marqueurs sont sur des chromosomes différents, leur ségrégation est indépendante : il y aura autant de gamètes

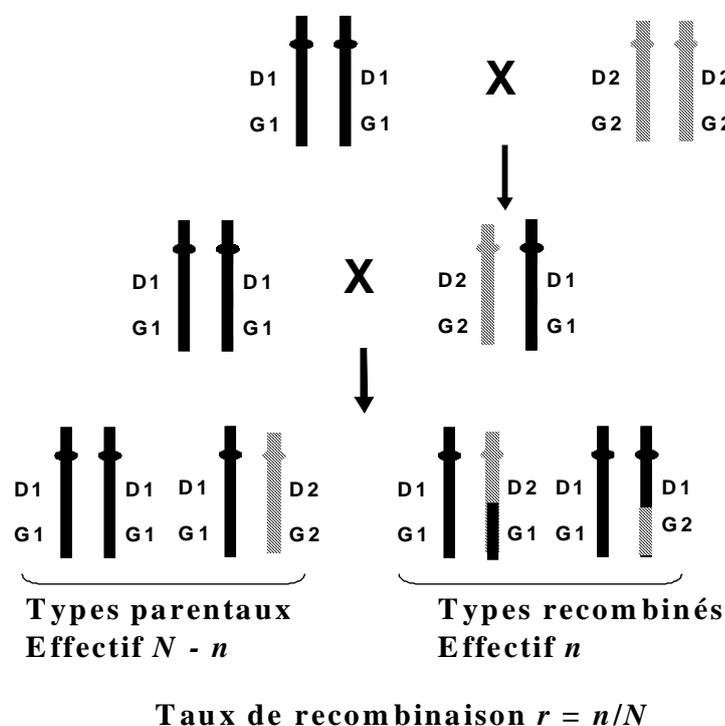
recombinés que de gamètes parentaux. S'ils sont sur le même chromosome (FIGURE 1), ils ont plus de chance d'être associés (de montrer une co-ségrégation) que d'être séparés (recombinés). **Pour avoir des recombinaisons entre deux marqueurs situés sur un chromosome, il faut un crossing-over entre eux, phénomène qui intervient proportionnellement à la distance entre les marqueurs.** Le taux de recombinaison (r) varie de 0 (marqueurs très liés) à 0,5 (marqueurs non liés). Pour tester la liaison entre deux marqueurs, deux méthodes sont utilisables: l'une consiste simplement à effectuer un test de χ^2 en comparant les effectifs phénotypiques observés aux effectifs théoriques attendus sous l'hypothèse d'indépendance. L'autre méthode utilise la notion de maximum de vraisemblance afin de calculer un rapport (LOD) entre la vraisemblance calculée avec le r observé et la vraisemblance calculée avec $r = 0,5$ et de le tester. Pour créer des cartes génétiques, l'étape de création des groupes de liaison est généralement réalisée par des tests χ^2 , effectués pour chaque paire de marqueurs. Pour l'estimation du taux de recombinaison entre marqueurs liés, la méthode du maximum de vraisemblance (LOD) est la plus précise.

– **Ordonner les marqueurs au sein des groupes.** Pour cela, à partir des taux de recombinaison entre paires de marqueurs, on évalue l'ordre des marqueurs le plus probable. Des méthodes en trois points, et en multipoints sont utilisées (LORIEUX 1994 ; DE VIENNE 1998). L'ordre est testé par un LOD.

– **Estimer les distances entre marqueurs.** Sur la carte la plus probable obtenue, on applique ensuite une fonction de cartographie, qui transforme un taux de recombinaison en une distance génétique entre deux marqueurs. Il existe deux fonctions qui prennent en compte la possibilité d'avoir deux recombinaisons entre marqueurs, celle de **Haldane**, qui suppose que la réalisation d'un crossing-over à une position est indépendante de la réalisation d'un autre crossing-over à une autre position du chromosome, même proche, et celle de **Kosambi** qui au contraire suppose une interférence entre la réalisation de deux crossing-over. Cette seconde fonction de distance est généralement préférée car plus proche de la réalité.

Toutes ces procédures sont effectuées à l'aide de logiciels spécialisés, comme JoinMap (VAN OOIJEN et VOORRIPS, 2001) ou Mapmaker (LANDER *et al.*, 1987).

FIGURE 1 – Principe de la cartographie génétique, exemple d'un back-cross



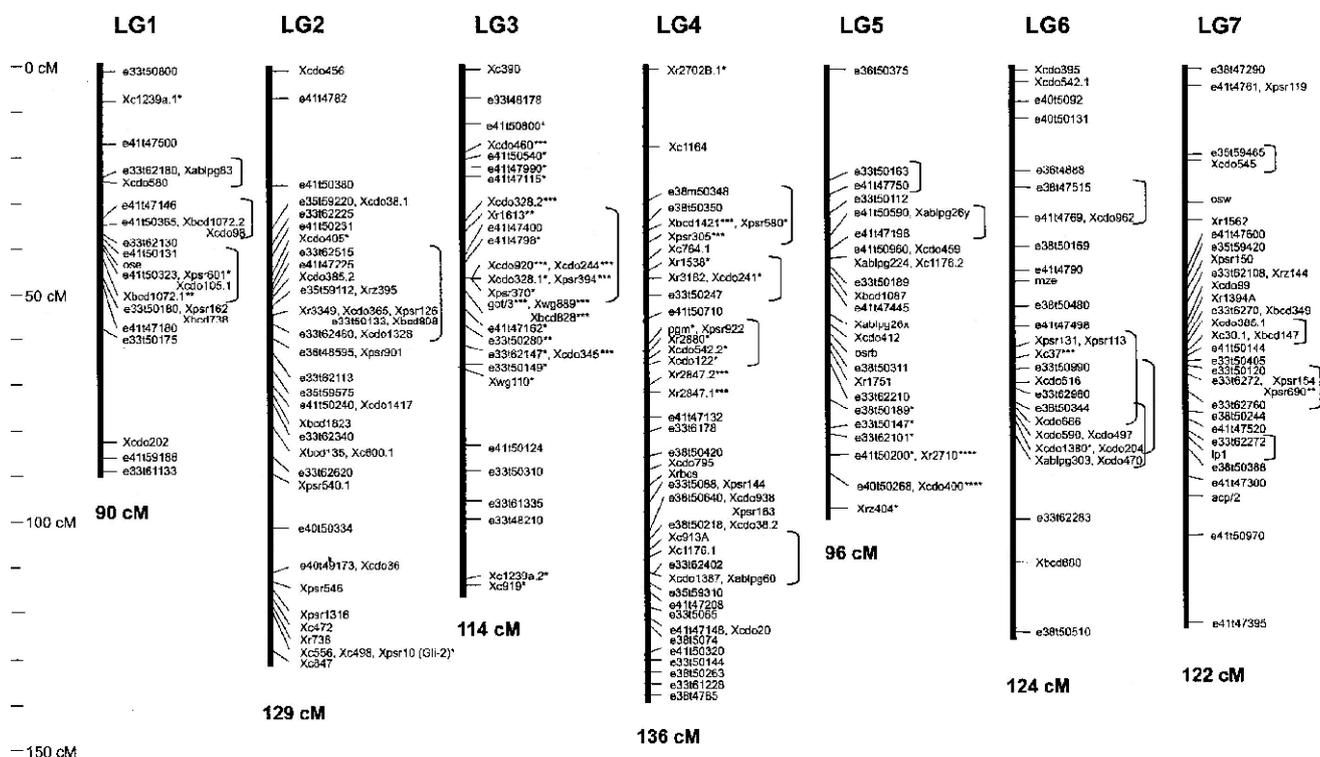
Chez les espèces fourragères, deux aspects peuvent compliquer l'analyse. D'une part, quand les parents des populations de cartographie sont hétérozygotes, les marqueurs peuvent être portés par le même chromosome (couplage) ou par les chromosomes homologues (répulsion). Il est important

de distinguer les deux cas, car les calculs sont différents. Certains logiciels effectuent ces calculs, comme JoinMap. Sinon, il est possible de traiter les données pour chaque parent d'un croisement F1 en déclarant un back-cross. D'autre part, la situation se complexifie encore pour les espèces polyploïdes. Chez les allopolyploïdes (fétuque élevée, trèfle blanc, etc.), les marqueurs vont fréquemment amplifier plusieurs locus portés par des chromosomes homéologues, mais la méiose sera de type disomique, comme chez les diploïdes. Par contre, chez les autotétraploïdes (dactyle, luzerne, lotier corniculé, etc.), la ségrégation des marqueurs conduit à des calculs différents. Des outils statistiques et informatiques sont désormais disponibles dans ce cas (HACKETT *et al.*, 1998 ; HACKETT et LUO, 2003 ; LUO *et al.*, 2004).

2. Les cartes chez les graminées fourragères

Les travaux ont concerné essentiellement le complexe *Festuca-Lolium* dont le nombre chromosomique de base est 7.

FIGURE 2 – Carte de référence chez le ray-grass anglais d'après JONES *et al.* (2002), représentant les sept groupes de liaison (LG).



– Chez les ray-grass

Chez le ray-grass anglais (*Lolium perenne* L.), espèce diploïde, une carte de référence a été élaborée (FIGURE 2) dans le cadre du consortium international ILGI (International Lolium Genome Initiative) (BERT *et al.*, 1999 ; JONES *et al.*, 2002). La population utilisée (p150/112) est issue du croisement entre une plante haploïde doublée et une plante hétérozygote résultant du croisement entre une plante roumaine et une plante italienne. Des informations sur la carte et les marqueurs peuvent être obtenues sur le site : <http://ukcrop.net/perl/ace/search/FoggDB>. Cette carte comprend des marqueurs isoenzymatiques et RFLP qui ont permis de la comparer aux cartes d'autres graminées, STS, AFLP et des microsatellites dont les amorces ne sont pas publiques. Les sept groupes de liaisons ont été numérotés en correspondance avec ceux du blé. La variabilité présente dans la population a permis de cartographier les gènes S et Z d'auto-incompatibilité sur les groupes 1 et 2, respectivement (THOROGOOD *et al.*, 2002), et d'étudier de nombreux caractères. De nombreuses autres cartes ont été publiées chez le ray-grass anglais avec dans chaque cas des parents choisis selon les caractères à étudier (voir BARRE et JULIER, *id.*). Le passage d'une carte à l'autre n'est pas

toujours facile. Jusqu'à l'année dernière, il n'était faisable qu'en utilisant des marqueurs RFLP lourds à mettre en œuvre. La publication de marqueurs codominants basés sur la PCR devrait palier à ce problème en incitant les équipes à utiliser les mêmes marqueurs. C'est dans ce sens qu'une série de marqueurs microsatellites ont été cartographiés sur quatre populations de ray-grass anglais par trois équipes différentes démontrant l'utilité de ces marqueurs pour la comparaison entre cartes génétiques (JENSEN *et al.*, 2005).

Chez le ray-grass d'Italie (*Lolium multiflorum* Lam.), espèce diploïde, une carte très dense a été réalisée à l'aide de marqueurs RFLP, AFLP et de marqueurs basés sur des séquences répétées télomériques (INOUE *et al.*, 2004).

Deux cartes génétiques ont été réalisées sur des populations issues de croisements entre un parent *Lolium perenne* et un parent *L. multiflorum* afin d'augmenter la variabilité génétique étudiée (HAYWARD *et al.*, 1998 ; WARNKE *et al.*, 2004).

– Chez les fétuques

Chez la fétuque des prés (*Festuca pratensis* Huds.), espèce diploïde, une première carte a été réalisée à l'aide de marqueurs RFLP (CHEN *et al.*, 1998), puis une carte plus dense a été réalisée avec des marqueurs RFLP, isoenzymatiques, AFLP et microsatellites (ALM *et al.*, 2003).

Chez la fétuque élevée (*Festuca arundinacea* Schreb.), espèce allo-hexaploïde, une première carte comprenant plus de sept groupes de liaison a été réalisée avec des marqueurs RFLP (XU *et al.*, 1995), puis très récemment une carte très dense vient d'être réalisée avec des marqueurs microsatellites et AFLP (SAHA *et al.*, 2004). Cette carte comprend 7 groupes de liaison avec, pour les groupes 1 à 6, les trois groupes d'homéologie attendus mais un seul groupe d'homéologie pour le groupe 7.

3. Les cartes chez les légumineuses fourragères

Les travaux ont essentiellement concerné les luzernes, les trèfles et les lotiers, ainsi que la gesse. Cependant, des espèces économiquement plus mineures comme le sainfoin ou la coronille n'ont pas encore été étudiées.

– Chez les *Medicago*

Dans un premier temps, pour contourner la difficulté de construire une carte chez la luzerne cultivée autotétraploïde, une carte génétique très dense a été réalisée sur un croisement entre sous-espèces diploïdes du complexe *Medicago sativa* (KALO *et al.*, 2000). Cette carte sert de référence aux travaux actuels sur les *Medicago* (<http://www.medicago.org/>). Des cartes très denses ont aussi été réalisées sur l'espèce modèle *M. truncatula* (diploïde, autogame). Ainsi, après une carte réalisée sur une population F2 avec surtout des marqueurs dominants (THOQUET *et al.*, 2002), une carte a été réalisée sur une population de lignées recombinantes à l'INRA-CNRS de Toulouse par T. HUGUET (http://medicago.toulouse.inra.fr/Mt/GeneticMap/LR4_MAP.html), avec un grand nombre de marqueurs microsatellites développés à partir d'EST. Une carte développée aux Etats-Unis sur une population F2 est actuellement utilisée pour ancrer la carte génétique à une carte physique issue du projet de séquençage du génome (CHOI *et al.*, 2004a).

Malgré son importance économique, la cartographie complète du génome de la luzerne cultivée est récente (JULIER *et al.*, 2003), basée sur les marqueurs microsatellites et des AFLP. Une carte uniquement formée de marqueurs microsatellites a pu être construite (FIGURE 3). L'autotétraploïdie complète de la luzerne a pu être confirmée. De plus, la réalisation de cette carte permet d'envisager la détection de QTL chez l'espèce cultivée.

Toutes les cartes du genre *Medicago* comportent un nombre de base de chromosomes de huit.

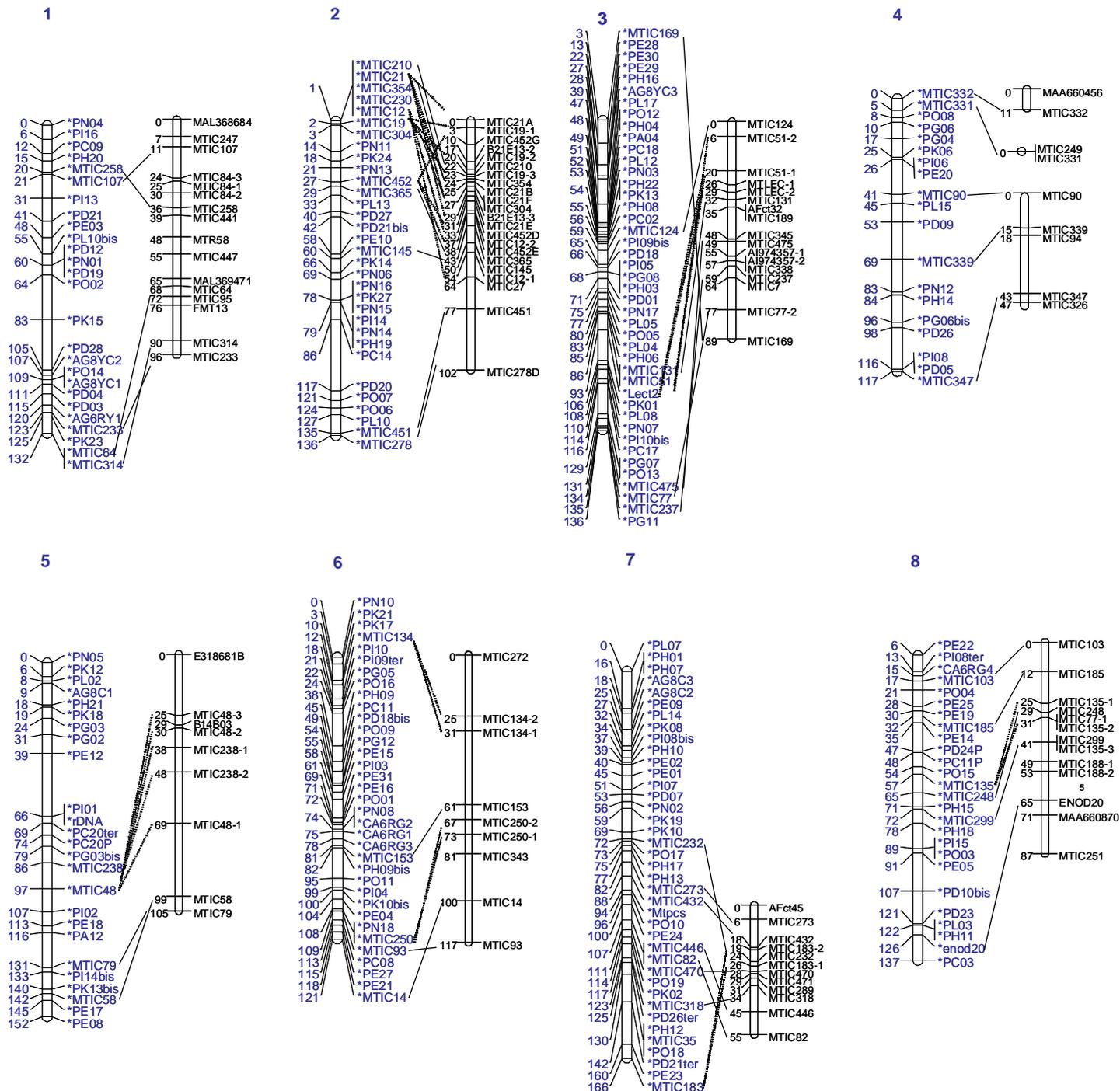
– Chez les trèfles

La première carte du genre *Trifolium* a été obtenue chez le trèfle violet (ISOBE *et al.*, 2003) avec des marqueurs RFLP dans une population en back-cross, au niveau diploïde. Les sept chromosomes ont été identifiés.

Deux cartes ont été obtenues chez le trèfle blanc, l'une à faible densité de marqueurs microsatellites et AFLP, sur une population F2 issue du croisement entre deux parents partiellement consanguins (JONES *et al.*, 2003), et l'autre à forte densité de marqueurs microsatellites, sur une population F1 entre deux parents hétérozygotes (JONES *et al.*, 2003 ; BARRETT *et al.*, 2004). Dans cette seconde carte, les 16 groupes de chromosomes homologues ont été détectés, et les paires de chromosomes homologues ont été identifiées grâce à 96 marqueurs homologues.

Chez les autres espèces du genre *Trifolium*, aucune carte n'a été publiée à ce jour.

FIGURE 3 – Carte génétique de la luzerne tétraploïde, d'après JULIER *et al.* (2003), montrant la synténie avec la carte de *M. truncatula*. Pour chaque groupe de liaison, numéroté de 1 à 8, le chromosome de gauche correspond à *M. truncatula* et celui de droite à la luzerne.



– Chez les lotiers

Une espèce de ce genre est cultivée, le lotier corniculé (*Lotus corniculatus*), autotétraploïde et principalement allogame. Une autre espèce, sauvage, pérenne, diploïde et autogame, *Lotus japonicus*, a été choisie comme espèce modèle par des équipes japonaises et européennes. D'importants programmes de génomique sont développés chez *Lotus japonicus* en particulier au Kasuza DNA Research Institute au Japon (<http://kasuza.or.jp/lotus>), et des cartes denses, riches en marqueurs codominants ont été obtenues (PEDROSA *et al.*, 2002 ; SANDAL *et al.*, 2002). Une carte du lotier corniculé autotétraploïde a aussi été développée (FJELLSTROM *et al.*, 2003) avec des marqueurs RFLP, RAPD, ISSR, STS et isozymiques. Quelques cas de double réduction ont été observés. Pour les deux espèces, le nombre de base des chromosomes est de six.

– Chez la gesse

Une première carte, comportant surtout des marqueurs RAPD a été obtenue dans un croisement F2 (CHOWDHURY et SLINKARD, 1999). Les quatorze groupes de liaison ont été obtenus. Une autre carte à faible densité a été obtenue dans une population de back-cross, avec des marqueurs microsatellites et gènes-spécifiques en plus de RAPD (SKIBA *et al.*, 2004). Seuls neuf groupes de liaison ont été identifiés.

4. Synténie entre les espèces

On l'analyse à deux niveaux : la macrosynténie correspond à la conservation de l'ordre des marqueurs et des gènes le long des chromosomes alors que la microsynténie analyse la conservation de la séquence nucléotidique, à une échelle plus courte (DELSENY, 2004).

– Chez les graminées

L'utilisation de marqueurs ancres (RFLP dont les sondes sont issues de régions conservées du génome) a révélée que le génome des graminées est constitué de grandes régions où l'ordre des marqueurs est conservé chez de nombreuses espèces (FREELING, 2001 ; MOORE *et al.*, 1995 ; MOORE *et al.*, 1997). Ceci laisse supposer que toutes les graminées proviennent d'un seul ancêtre commun. Les espèces du complexe *Festuca-Lolium* n'échappent pas à cette observation (ALM *et al.*, 2003 ; CHEN *et al.*, 1998 ; WARNKE *et al.*, 2004). Les espèces du complexe présentent un nombre de chromosomes de base de sept. Une parfaite synténie est observée entre le ray-grass anglais et le ray-grass d'Italie ainsi qu'entre la fétuque des prés et la fétuque élevée. Une synténie quasi parfaite est observée entre ray-grass anglais et fétuque des prés. Le niveau de la synténie diminue avec l'éloignement phylogénétique ; ainsi, le complexe d'espèces *Festuca-Lolium* a une synténie qui décroît progressivement avec le blé, l'avoine, le riz, le sorgho. Cependant, pour une région donnée il est possible de trouver une parfaite synténie entre le ray-grass anglais et le riz (ARMSTEAD *et al.*, 2004). Le riz étant la seule graminée dont le génome est entièrement séquencé, il est une ressource pour aller chercher la séquence d'un gène.

– Chez les légumineuses

Le niveau de synténie entre *L. japonicus* et *M. truncatula* est élevé (CHOI *et al.*, 2004b). Au niveau de la macrosynténie, des réarrangements chromosomiques impliquant des translocations de bras chromosomiques expliquent la différence de nombre de chromosomes (6 contre 8). Pour la microsynténie, environ 80% des gènes homologues sont dans le même ordre et dans la même orientation chez les deux espèces. Des différences significatives ont été observées entre les deux génomes, avec des délétions ou des insertions de gènes.

Au sein du genre *Medicago*, pour toutes les cartes portant des marqueurs communs, l'ordre des marqueurs le long des chromosomes est très conservé (FIGURE 3). Ce fort niveau de synténie a été surtout constaté entre *M. truncatula* et la luzerne (JULIER *et al.*, 2003 ; CHOI *et al.*, 2004a).

Le nombre de base de chromosomes est sept chez le trèfle violet, huit chez le trèfle blanc, mais la synténie entre trèfles, et entre *M. truncatula* et les trèfles n'a pas été analysée. On peut la supposer élevée car la distance phylogénétique est faible entre ces espèces.

Une forte synténie est favorable à un transfert des connaissances entre espèces. Ainsi, on peut imaginer cartographier de préférence les gènes (par des marqueurs gènes-spécifiques) sur une espèce modèle, et d'en déduire, sachant l'alignement des génomes entre l'espèce cultivée et l'espèce modèle, la position du gène chez l'espèce cultivée. Cependant, deux espèces proches peuvent montrer des insertions ou délétions de gènes, nécessitant alors une étude spécifique que l'espèce cible.

Conclusion

La réalisation de cartes génétiques est désormais faisable sur les espèces fourragères. Les travaux sont récents, car les moyens dévolus à ces espèces, tant pour la mise au point de marqueurs codominants que pour la réalisation des cartes, n'ont été alloués que récemment.

Chez les graminées, le travail d'équipes publiques européennes, nord-américaines, japonaises, australiennes ou néo-zélandaises, en collaboration avec des entreprises privées dans des consortiums internationaux ou des programmes européens, a permis de progresser nettement dans l'établissement de cartes chez plusieurs espèces. L'utilisation des données des espèces modèles est restreinte à cause de l'éloignement phylogénétique. L'importance économique du ray-grass anglais et sa diploïdie incitent les équipes à développer des outils de génétique sur cette espèce.

Chez les deux légumineuses fourragères les plus cultivées (la luzerne et le trèfle blanc), des marqueurs et des cartes ont été développées, malgré leur tétraploïdie. La proximité phylogénétique de ces espèces avec l'espèce modèle *M. truncatula* incite à investir sur cette dernière. En effet, les travaux menés chez *M. truncatula* dans des consortiums internationaux financés par des fonds publics produisent des connaissances divulguées dans le monde scientifique, en particulier des données de séquence du génome.

Les cartes génétiques ainsi obtenues ont permis d'établir les relations de synténie entre graminées et entre légumineuses, cadrant les possibilités de transfert d'informations entre espèces. Ces cartes permettent d'entamer des études de recherche de QTL pour des caractères d'intérêt agronomique (voir BARRE et JULIER, *id.*). Enfin, les marqueurs mis au point sont utilisables dans des analyses de la diversité génétique des variétés ou populations, pour des programmes de gestion des ressources génétiques ou des schémas de sélection, peut-être à terme comme aide à la distinction variétale.

Références bibliographiques

- ALM V., FANG C., BUSSO C.S., DEVOS K.M., VOLLAN K., GRIEG Z., ROGNLI O.A. (2003) : "A linkage map of meadow fescue (*Festuca pratensis* Huds.) and comparative mapping with other Poaceae species", *Theor.Appl.Genet.*, 108, 25-40.
- ARMSTEAD I.P., TURNER L.B., FARRELL M., SKOT L., GOMEZ P., MONTOYA T., DONNISON I.S., KING I.P., HUMPHREYS M.O. (2004) : "Synteny between a major heading-date QTL in perennial ryegrass (*Lolium perenne* L.) and the Hd3 heading-date locus in rice", *Theor.Appl.Genet.*, 108, 822-828.
- BAQUERIZO-AUDIOT E., DESPLANQUE B., PROSPERI J.M., SANTONI S. (2001) : "Characterization of microsatellite loci in the diploid legume *Medicago truncatula* (barrel medic)", *Molec.Ecol. Notes*, 1, 1-3.
- BARRETT B., GRIFFITHS A., SCHREIBER M., ELLISON N., MERCER C., BOUTON J., ONG B., FORSTER J., SAWBRIDGE T., SPANGENBERG G., BRYAN G., WOODFIELD D. (2004) : "A microsatellite map of white clover", *Theor.Appl.Genet.*, 109, 596-608.
- BERT P.F., CHARMET G., SOURDILLE P., BALFOURIER F. (1999) : "High-density molecular map for ryegrass (*Lolium perenne* L.) using AFLP markers.", *Theor.Appl.Genet.*, 99, 445-452.
- BRUMMER E.C., BOUTON J.H., KOCHERT G. (1993) : "Development of an RFLP map in diploid alfalfa", *Theor.Appl.Genet.*, 86, 329-332.
- CAI H.-W., YUYAMA N., TAMAKI H., YOSHIZAWA A. (2003) : "Isolation and characterization of simple sequence repeat markers in the hexaploid forage grass timothy (*Phleum pratense* L.)", *Theor.Appl.Genet.*, 107, 1337-1349.
- CHEN C., SLEPER D.A., JOHAL G.S. (1998) : "Comparative RFLP mapping of meadow and tall fescue.", *Theor.Appl.Genet.*, 97, 255-260.

- CHOI H.K., KIM D., UHM T., LIMPENS E., LIM H., MUN J.H., KALÓ P., PENMETSÁ R.V., SERES A., KULIKOVA O., ROE B.A., BISSELING T., KISS G.B., COOK D.R. (2004a) : "A sequence-based genetic map of *Medicago truncatula* and comparison of marker colinearity with *M. sativa*", *Genetics*, 166, 1463-1502.
- CHOI H.K., MUN J.H., KIM D.J., ZHU H., BAEK J.M., MUDGE J., ROE B., ELLIS N., DOYLE J., KISS G.B., YOUNG N.D., COOK D.R. (2004b) : "Estimating genome conservation between crop and model legume species", *Proc.Natl.Acad.Sci.USA*, 101, 15289-15294.
- CHOWDHURY M.A., SLINKARD A.E. (1999) : "Linkage of random amplified polymorphic DNA, isozyme and morphological markers in grasspea (*Lathyrus sativus*)", *J.Agric.Sci.*, 133, 389-395.
- DELSENY M. (2004) : "Re-evaluating the relevance of ancestral shared synteny as a tool for crop improvement", *Curr.Opin.Plant Biol.*, 7, 126-131.
- DE VIENNE D. (1998) : "Les marqueurs moléculaires en génétique et biotechnologies végétales", INRA Editions, Mieux comprendre, INRA, Paris.
- DIWAN N., BOUTON J.H., KOCHERT G., CREGAN P.B. (2000) : "Mapping of simple sequence repeat (SSR) DNA markers in diploid and tetraploid alfalfa", *Theor.Appl.Genet.*, 101, 165-172.
- ECHT C.S., KIDWELL K.K., KNAPP S.J., OSBORN T.C., MCCOY T.J. (1993) : "Linkage mapping in diploid alfalfa (*Medicago sativa*)", *Genome*, 37, 61-71.
- EUJAYL I., SLEDGE M.K., WANG L., MAY G.D., CHEKHOWSKIY K., ZWONITZER J.C.Z., MIAN M.A.R. (2004) : "*Medicago truncatula* EST-SSRs reveal cross-species genetic markers for *Medicago* spp.", *Theor.Appl.Genet.*, 108, 414-422.
- FALQUE M., SANTONI S. (2004) : "Les marqueurs moléculaires", INRA Editions, Science update, INRA, Paris, pp 349-375.
- FJELLSTROM R.G., STEINER J.J., BEUSELINK P.R. (2003) : "Tetrasomic linkage mapping of RFLP, PCR, and isozyme loci in *Lotus corniculatus* L.", *Crop Sci.*, 43, 1006-1020.
- FREELING M. (2001) : "Grasses as a single genetic system. Reassessment 2001", *Plant Physiol.*, 125, 1191-1197.
- HACKETT C.A., BRADSHAW J.E., MEYER R.C., MCNICOL J.W., MILBOURNE D., WAUGH R. (1998) : "Linkage analysis in tetraploid species: a simulation study", *Genet.Res. (Camb)*, 71, 143-154.
- HACKETT C.A., LUO Z.W. (2003) : "TetraploidMap: Construction of a linkage map in autotetraploid species", *J.Hered.*, 94, 358-359.
- HAYWARD M.D., DEGENAARS G.H., BALFOURIER F., EICKMEYER F. (1995) : "Isozyme procedures for the characterization of germplasm, exemplified by the collection of *Lolium perenne* L.", *Genetic Resources and Crop Evolution*, 42, 327-337.
- HAYWARD M.D., FORSTER J.W., JONES J.G., DOLSTRA O., EVANS C., MCADAM N.J., HOSSAIN K.G., STAMMERS M., WILL J., HUMPHREYS M.O., EVANS G.M. (1998) : "Genetic analysis of *Lolium*. I. Identification of linkage groups and the establishment of a genetic map", *Plant Breed.*, 117, 451-455.
- HUGUET T., THOQUET P., GHÉRARDI M., CARDINET G., PRIOUL S., LAZREK F., AOUANI M.E., LAOUAR M., ABDELGUERFI A., KURCHAK O., JACQUET C., TORREGROSA C., JULIER B., KISS E., BATUT J., PROSPERI J. (2004) : "A post-genomic approach of the natural variations of the model-legume *Medicago truncatula*", Legumes for the benefit of agriculture, nutrition and the environment: their genomics, their products, and their improvement, AEP, Dijon, pp 169-170.
- INOUE M., GAO Z., HIRATA M., FUJIMORI M., CAI H. (2004) : "Construction of a high-density linkage map of Italian ryegrass (*Lolium multiflorum* Lam.) using RFLP, AFLP and TAS markers.", *Genome*, 47, 57-65.
- ISOBE S., KLIMENKO I., IVASHUTA S., GAU M., KOZLOV N.N. (2003) : "First RFLP linkage map of red clover (*Trifolium pratense* L.) based on cDNA probes and its transferability to other red clover germplasm", *Theor.Appl.Genet.*, 108, 105-112.
- JENSEN L.B., MUYLLE H., ARENS P., ANDERSEN C.H., HOLM P.B., GHESQUIERE M., JULIER B., LÜBBERSTEDT T., NIELSEN K.K., DE RIEK J., ROLDAN-RUIZ I., ROULUND N., TAYLOR C., VOSMAN B., BARRE P. (2005) : "Development and mapping of a public reference set of SSR markers in *Lolium perenne* L.", *Molecular Ecology Notes*, sous presse.
- JONES E.S., DUPAL M.P., KÖLLIKER R., DRAYTON M.C., FORSTER J.W. (2001) : "Development and characterisation of simple sequence repeat (SSR) markers for perennial ryegrass (*Lolium perenne* L.)", *Theor.Appl.Genet.*, 102, 405-415.
- JONES E.S., MAHONEY N.L., HAYWARD M.D., ARMSTEAD I.P., JONES J., HUMPHREYS M.O., KING I.P., KISHIDA T., YAMADA T., BALFOURIER F., CHARMET G., FORSTER J.W. (2002) : "An enhanced molecular marker based genetic map of perennial ryegrass (*Lolium perenne*) reveals comparative relationships with other Poaceae genome", *Genome*, 45, 282-295.

- JONES E.S., HUGHES L.J., DRAYTON M.C., ABBERTON M.T., MICHAELSON-YEATES T.P.T., BOWEN C., FORSTER J.W. (2003) : "An SSR and AFLP molecular marker-based genetic map of white clover (*Trifolium repens* L.)", *Plant Sci.*, 165, 531-539.
- JULIER B., FLAJOULOT S., BARRE P., CARDINET G., SANTONI S., HUGUET T., HUYGHE C. (2003) : "Construction of two genetic linkage maps in cultivated tetraploid alfalfa (*Medicago sativa*) using microsatellite and AFLP markers", *BMC Plant Biol.*, 3, 9.
- KALÓ P., ENDRE G., ZIMÁNYI L., CSANÁDI G., KISS G.B. (2000) : "Construction of an improved linkage map of diploid alfalfa (*Medicago sativa*)", *Theor.Appl.Genet.*, 100, 641-657.
- KÖLLIKER R., JONES E.S., DRAYTON M.C., DUPAL M.P., FORSTER J.W. (2001) : "Development and characterisation of a simple sequence repeat (SSR) markers for white clover (*Trifolium repens* L.)", *Theor.Appl.Genet.*, 102, 416-424.
- KUBIK C., SAWKINS M., MEYER W.A., GAUT B.S. (2001) : "Genetic diversity in seven perennial ryegrass (*Lolium perenne* L.) cultivars based on SSR markers", *Crop Sci.*, 41, 1565-1572.
- LANDER E., GREEN P., ABRAHAMSON J., BARLOW A., DALY M., LINCOLN S., NEWBURG L. (1987) : "MAPMAKER: an interactive computer package for constructing primary genetic linkage maps of experimental and natural populations", *Genomics*, 1, 174-181.
- LAOUAR M. (2005) : "Diversité éco-génétique chez les Fabacées et leurs symbiotes: Cas de la section des Intertextae du genre *Medicago* L.", Thèse de l'INA d'Alger.
- LAUVERGEAT V., BARRE P., BONNET M., GHESQUIÈRE M. (2005) : "Sixty simple sequence repeats (SSR) markers for use in the *Festuca/Lolium* complex of grasses", *Molecular Ecology Note*, sous presse.
- LEM P., LALLEMAND J. (2003) : "Grass consensus STS markers: an efficient approach for detecting polymorphism in *Lolium*", *Theor Appl Genet*, 107, 1113-1122.
- LORIEUX M. (1994) : "Aspects statistiques de la cartographie des marqueurs moléculaires", CIRAD, CIRAD, Montpellier.
- LUO Z.W., ZHANG R.M., KEARSEY M.J. (2004) : "Theoretical basis for genetic linkage analysis in autotetraploid species", *Proc.Natl.Acad.Sci.USA*, 101, 7040-7045.
- MOORE G., DEVOS K.M., GALE M.D. (1995) : "Grasses, line up and form a circle", *Current Biology*, 5, 737-739.
- MOORE G., ARAGON-ALCAIDE L., ROBERTS M., READER S., MILLER T., FOOTE T. (1997) : "A rice chromosomes components of holocentric chromosome ancestor?", *Plant Mol.Biol.*, 35, 17-23.
- PEDROSA A., SANDAL N., STOUGAARD J., SCHWEIZER D., BACHMAIR A. (2002) : "Chromosomal map of the model legume *Lotus japonicus*", *Genetics*, 161, 1661-1672.
- SAHA M.C., ROUF MIAN M.A., EUJAYL I., ZWONITZER J.C., WANG L., MAY G.D. (2004) : "Tall fescue EST-SSR markers with transferability across several grass species.", *Theor.Appl.Genet.*, 109, 783-791.
- SANDAL N., KRUSELL L., RADUTOIU S., OLBRYT M., PEDROSA A., STRACKE S., SATO S., KATO T., TABATA S., PARNISKE M., BACHMAIR A., KETELSEN T., STOUGAARD J. (2002) : "A genetic linkage map of the model legume *Lotus japonicus* and strategies for fast mapping of new loci", *Genetics*, 161, 1673-1683.
- SKIBA B., FORD R., PANG E. (2004) : "Construction of a linkage map based on a *Lathyrus sativus* backcross population and preliminary investigation of QTLs associated with resistance to ascochyta blight", *Theor.Appl.Genet.*, 109, 1726-1735.
- TAGU D., MOUSSARD C. (2003) : "Principes des techniques de biologie moléculaire", INRA Editions, Mieux comprendre, INRA, Paris.
- TAYLOR C., MADSEN S., BORG S., MOLLER M.G., BOELT B., HOLM P.B. (2001) : "The development of sequence-tagged sites (STSs) in *Lolium perenne* L.: the application of primer sets derived from other genera", *Theor.Appl.Genet.*, 103, 648-658.
- THOQUET P., GHÉRARDI M., JOURNET E.P., KERESZT A., ANÉ J.M., PROSPERI J.M., HUGUET T. (2002) : "The molecular genetic linkage map of the model legume *Medicago truncatula*: an essential tool for comparative legume genomics and the isolation of agronomically important genes", *BMC Plant Biol.*, 2, 1.
- THOROGOOD D., KAISER W.J., JONES J.G., ARMSTEAD I. (2002) : "Self-incompatibility in ryegrass 12. Genotyping and mapping the S and Z loci of *Lolium perenne* L.", *Heredity*, 88, 385-390.
- VAN OOIJEN J.W., VOORRIPS R.E. (2001) : "JoinMap Version 3.0, software for the calculation of genetic linkage maps", Plant Research International, Wageningen, The Netherlands.
- WARNKE S.E., BARKER R.E., JUNG G., SIM S.-C., ROUF MIAN M.A., SAHA M.C., BRILMAN L.A., DUPAL M.P., FORSTER B.P. (2004) : "Genetic linkage mapping of an annual x perennial ryegrass population.", *Theor.Appl.Genet.*, 109, 294-304.
- XU W.W., SLEPER D.A., CHAO S. (1995) : "Genome mapping of polyploid tall fescue (*Festuca arundinacea* Schreb.) with RFLP markers", *Theor.Appl.Genet.*, 91, 947-955.

