

SYNTHESE EN FRANÇAIS

Réponse à court terme de populations de blés européens soumises à des conditions agro-climatique contrastées: analyse génétique et développement de marqueurs épigénétiques dans le gène de précocité de floraison *VRN-A1*

La diversité génétique est à l'origine de l'évolution et de l'adaptation des populations et des espèces. Dans les agrosystèmes, la diversité génétique intra-population est d'une importance majeure : d'une part, elle peut fournir un effet tampon contre les variations climatiques interannuelles et les stress biotiques, et d'autre part cette diversité peut permettre l'adaptation locale des populations, du fait de leur évolution sous l'effet des pressions sélectives locales, spécifiques de la région, particulièrement dans le cas d'une introduction dans un nouvel environnement. Par conséquent la conservation de l'agrobiodiversité, en particulier, et de la diversité intra-population plus particulièrement, est essentielle.

Deux stratégies de conservation sont utilisées: a) la conservation *ex situ* et b) la conservation *in situ*. Dans la conservation *ex situ*, les plantes ou semences sont conservées hors de leur lieu d'origine. Il s'agit d'une méthode statique dans laquelle aucune évolution face aux variations environnementales ne peut se produire. Parce qu'il y a une nécessité de remultiplier régulièrement les semences (la viabilité chute au cours de leur conservation en chambres froides), les faibles effectifs manipulés entraînent généralement une perte de diversité génétique intra-accession.

La conservation *in situ* quand à elle est définie comme la conservation plus large des écosystèmes, au travers du maintien ou du rétablissement de populations viables dans le milieu où se sont développés leurs caractères distinctifs. Pour les plantes cultivées, la conservation *in situ* correspond plus généralement à la gestion à la ferme, dans laquelle les populations hétérogènes sont cultivées dans les champs des agriculteurs, et où elles évoluent et s'adaptent aux conditions environnementales locales. Par conséquent, il s'agit d'une approche de la conservation dynamique dans laquelle les populations évoluent en permanence en fonction des conditions de l'environnement.

Traditionnellement, les agriculteurs avaient pour habitude de maintenir différentes « variétés » sur leur ferme, produisant des semences pour un certain nombre de variétés de pays (landraces), et préservant ainsi la diversité génétique à la ferme. Mais, avec la modernisation et la mécanisation de l'agriculture, au XXe siècle, en particulier dans les pays développés, les agriculteurs ont remplacé les variétés génétiquement diversifiées par des cultivars génétiquement uniformes, à haut potentiel de rendement. Les rendements de ces cultivars dépendent cependant très fortement d'une agriculture intensive, avec de gros apports d'engrais, fongicides et pesticides pour maintenir une production élevée. Mais avec l'appauvrissement des réserves de combustibles fossiles, et l'augmentation continue des prix des intrants, la durabilité de ce système conventionnel (système agricole moderne) est mise en doute. Sous l'action de différentes initiatives régionales, ou par engagement militant, de plus en plus d'agriculteurs se tournent vers une agriculture bas-intrants, ou une agriculture biologique, plus respectueuse de l'environnement. Cependant, l'absence de programmes de sélection spécialement conçus pour répondre aux besoins de l'agriculture biologique conduit à une maladaptation partielle des variétés élites à de telles réductions d'intrants. En conséquence, les agriculteurs sont de plus en plus intéressés par les anciennes variétés de pays et variétés historiques (premières variétés sélectionnées), qui ont généralement une bonne rusticité, c.à.d. une meilleure stabilité de production en situation de stress biotiques et abiotiques.

Lorsque les agriculteurs cherchent à se procurer ces variétés traditionnelles, ils s'adressent généralement aux banques de gènes, ou à d'autres agriculteurs, qui pour certains ont continué à cultiver des landraces malgré la modernisation. Lors de ces échanges de semences, les agriculteurs confrontent ces variétés à de nouveaux environnements. Par conséquent, il est important de comprendre les facteurs qui influencent la réponse de ces variétés paysannes à ces nouvelles conditions environnementales. En raison de son importance socio-économique et de son aire de culture étendue, le blé a été choisi comme espèce modèle dans cette étude, en se focalisant sur l'étude de la précocité de floraison, un caractère adaptatif majeur, qui permet au blé de croître sur une large gamme de conditions écologiques et climatiques.

Le travail de thèse avait pour objectif d'appréhender l'influence de la diversité génétique et épigénétique intra-population sur la réponse à court terme des populations soumises à des

conditions agro-climatiques contrastées. Mais en raison de l'absence de marqueurs épigénétiques disponible sur le blé au cours de la thèse, cette étude a finalement fait l'objet de deux parties.

Dans la première partie, pour étudier l'effet de la structure génétique des populations sur leur réponse à court terme à des conditions environnementales contrastées, certaines populations d'un précédent projet européen (FSO : Farm Seed Opportunities, FP6) ont été sélectionnées, car elles fournissaient un matériel très adapté pour étudier notre question principale. Ces populations correspondent à sept landraces (populations), maintenues par sept agriculteurs européens, auxquelles s'ajoute une variété moderne de référence en agriculture biologique. Ces 8 variétés ont été cultivées dans sept exploitations agricoles (répartis à travers l'Europe), pendant trois années. Dans ce projet, nous avons caractérisé la diversité phénotypique et génétique au niveau moléculaire des populations initiales, et des populations issues des trois années de culture.

Dans un premier temps, et en l'absence d'informations préliminaires sur la structure génétique de la plupart des variétés paysannes, les données moléculaires ont été analysées au moyen d'une analyse discriminante des composantes principales et d'une description des réseaux haplotypiques. Ces analyses ont révélé que l'histoire de la conservation des variétés paysannes a fortement influencé leur diversité génétique et leur structure génétique fine. Les variétés paysannes conservées *ex situ* montrent une faible diversité génétique, avec une structure génétique simple (1 seul groupe génétique et peu d'haplotypes différents). Les variétés paysannes et les mélanges conservés *in situ* révèlent une diversité génétique plus élevée, avec une structure génétique complexe. Pour compléter les analyses, les différenciations spatio-temporelles, tant au niveau des marqueurs génétiques que des caractères phénotypiques, ont été étudiées au moyen d'AFC, arbres phylogénétiques, AMOVA, différenciation temporelle par locus et par une étude d'association entre marqueurs et données phénotypiques. L'ensemble de ces résultats montre que la différenciation spatio-temporelle génétique et phénotypique est significative, même après seulement trois années de culture, mais cette différenciation est fortement dépendante du niveau de diversité initiale et de la complexité de structurelle de la variété paysanne. Les variétés traditionnelles se différencient plus nettement que les variétés modernes, ce qui plaide en faveur de leur plus forte utilisation dans des systèmes d'agriculture biologique et à bas intrants. Fait intéressant, une différenciation phénotypique significative a été observée pour les variétés qui présentaient une diversité

génétique initiale très faible, ce qui suggère un rôle éventuel de la variation épigénétique dans les adaptations mises en évidence.

Dans la deuxième partie, l'effet de vernalisation sur le profil de méthylation de l'ADN du gène *VRN-A1* chez le blé d'hiver a été étudié, ce qui constitue une première étape vers le développement de marqueurs épigénétiques dans ce gène. Le gène *VRN-1* a été choisi parce que c'est un gène central dans la cascade de régulations de la précocité de floraison, et que c'est un déterminant clé de sensibilité à la vernalisation chez les céréales. Deux génotypes d'hiver, sensibles à la vernalisation, ont été utilisés et les profils de méthylation de l'ADN de plantes non vernalisées et vernalisées ont été comparés en utilisant un traitement au bisulfite ainsi que d'autres techniques fondées sur l'utilisation d'enzymes de restriction sensibles à la méthylation. A partir de ces expériences, nous avons démontré l'existence d'une méthylation d'ADN au sein du gène *VRN-A1*. Ce gène présente des niveaux de méthylation élevés sur sa partie centrale. En outre, une partie de l'intron 1 montre une augmentation significative de méthylation de l'ADN après vernalisation. Ce changement de méthylation est positivement associé à l'expression du gène. Cette modification de méthylation est stable au cours du développement de la plante (stabilité mitotique), mais elle est réinitialisée dans la descendance. Si la compréhension du rôle de cette méthylation sur la régulation génique nécessite des analyses complémentaires, cette étude a permis d'acquérir des informations originales permettant de conduire au développement de marqueurs épigénétiques, qui peuvent être utiles par exemple pour identifier des épiallèles et suivre la variabilité épigénétique de ce gène au sein de populations.

En conclusion, cette étude apporte des connaissances utiles pour la meilleure compréhension de l'origine et l'évolution de la diversité génétique présente dans les variétés paysannes. Ces connaissances permettront de développer des méthodes de conservation et de sélection à la ferme, en tenant compte de l'importance de la diversité intra- populations, afin de répondre aux contraintes posées par l'agriculture biologique.