

Variation de la taille du génome nucléaire dans le genre *Citrus*

P. OLLITRAULT¹, D. DAMBIER¹, F. LURO² ET C. DUPERRAY³

(1) CIRAD-FLHOR, BP 5035, 34032 Montpellier cedex 01, France.

(2) SRA San Giuliano, CIRAD-FLHOR/INRA, 20230 San Nicolao, France.

(3) INSERM, U291, 99 rue Puech Villa, 34090 Montpellier, France.



L'étude systématique de la taille du génome dans le genre Citrus est la première étape dans les programmes de cartographie du génome et dans ceux d'amélioration variétale par voie sexuée.

introduction

Les études de taxonomie numérique (BARRETT et RHODES, 1976) et de marquage moléculaire (GREEN *et al.*, 1986 ; OLLITRAULT et FAURÉ, 1992 ; YAMAMOTO *et al.*, 1993) ont montré que la diversité des espèces cultivées du genre *Citrus* est fortement structurée autour de trois taxons. *Citrus medica* (cédratiers), *Citrus reticulata* (mandariniers) et *Citrus grandis* (pamplemoussiers) sont ainsi généralement considérés comme les 3 espèces ancestrales des agrumes cultivés. Un tel niveau de structuration, malgré de nombreuses zones de sympatrie, suggère l'existence de facteurs limitant la recombinaison au niveau interspécifique. Comme l'indique les hétérozygoties structurelles (translocations, inversions, etc.) observées chez les hybrides interspécifiques (RAGHUVANSHI, 1969 ; GMITTER *et al.*, 1992), certaines de ces limitations sont d'ordre génomique. Dans cette étude, l'existence d'une composante quantitative dans la différenciation structurelle entre les génomes nucléaires des différentes espèces du genre *Citrus* a été recherchée.

matériel et méthodes

Les tailles relatives du génome nucléaire de 4 à 5 cultivars diploïdes de chacune des 8 principales espèces cultivées d'agrumes ont été estimées (tableau 1). Pour chaque cultivar, 3 évaluations ont été réalisées par rapport au génome d'un cultivar triploïde, celui de la lime

Tahiti utilisée comme témoin interne. Des morceaux de feuilles de l'échantillon et du témoin ont été hachés finement dans un tampon PBS additionné de dithiothreitol (1 mg/ml), de triton X100 (0,3 %) et de RNAase (10^{-3} U/ml). Après filtration, 0,3 ml de la suspension nucléaire ont été mélangés à 0,3 ml du tampon d'extraction additionné d'iodure de propidium (200 mg/ml). Deux mille noyaux par échantillon ont ensuite été analysés par un cytomètre en flux Fascal couplé à un système informatique Lysis 2. La taille du génome de la lime Tahiti a été évaluée par rapport à des érythrocytes de poulet (2,33 pg/2C) afin de proposer une estimation de la taille absolue du génome de chaque cultivar diploïde analysé. Les résultats ont été traités par une analyse de variance hiérarchisée permettant, d'une part, de tester une éventuelle diversité de taille au sein de chaque espèce et, d'autre part, d'analyser la diversité interspécifique.

résultats

La taille absolue du génome nucléaire de la lime Tahiti est évaluée à 1,17 pg/2C pour $2N=3X=27$ chromosomes. Les coefficients de variation des pics G0-G1 des différents échantillons diploïdes oscillent pour la majorité des cultivars entre 2,5 et 3 % (figure 1) ; cependant, certains cultivars d'orangers (*C. sinensis*), de limettiers (*C. aurantifolia*) et de mandariniers présentent systématiquement de moins bons résultats, qui se traduisent également par

une plus grande variance sur l'estimation des tailles de génome (tableau 1). Des variations significatives de la taille du génome (ne dépassant pas 3 %) entre cultivars d'une même espèce sont mises en évidence pour 6 d'entre elles (tableau 1).

Par ailleurs, la variabilité interspécifique est très marquée et atteint 10 % entre les mandariniers et les cédratiers (figures 1 et 2) qui présentent respectivement les plus petits et les plus grands génomes du genre *Citrus*. Les autres espèces se répartissent en 2 autres groupes de tailles intermédiaires. Le premier associe les orangers et les bigaradiers (*C. aurantium*) tandis que le second regroupe les citronniers (*C. lemon*), les limettiers, les pamplemoussiers et les pomélos (*C. paradisi*). Cette scission en 4 groupes, mise en évidence par le test de Newman-Keuls au niveau interspécifique, est confortée par la distribution quadrimodale des observations individuelles (figure 3).

discussion

Ce travail constitue la première étude systématique de la taille du génome dans le genre *Citrus*. Pour *C. sinensis*, la valeur observée de 0,76 pg/2C avait été proposée par ARUMUGANATHAN et EARLE (1991) par comparaison avec des érythrocytes de poulet ; les autres espèces n'avaient pas fait l'objet d'étude préalable. La taille du génome des cultivars diploïdes paraît relativement faible (de 0,73 à 0,82 pg/2C). ARUMUGANATHAN et EARLE (1991) ont trouvé des résultats équivalents pour de nombreux autres arbres

fruitiers comme l'abricotier (0,61 pg/2C), le pêcher (0,54 pg/2C), le mangoier (0,91 pg/2C) ou le poirier (1,03 pg/2C).

Pour les agrumes, une diversité intraspécifique significative est observée, aussi bien au sein d'espèces ayant évolué uniquement par mutations (*C. lemon* et *C. paradisi*) que chez celles dont la diversification a combiné sexualité et mutations (*C. grandis*, *C. aurantifolia*, *C. medica* et *C. reticulata*). Il faut noter que le pomélo Star Ruby qui présente une taille plus faible que les autres pomélos est issu d'un programme d'irradiation gamma (HENSZ, 1960).

La diversité interspécifique est relativement élevée et les variations de taille observées sont cohérentes avec les hypothèses phylogéniques. Les valeurs extrêmes présentées par *C. medica* et *C. reticulata* confortent leurs rôles d'ancêtres des agrumes cultivés, tandis que les tailles de génomes estimées pour les espèces secondaires sont en accord avec leur origine hybride présumée (OLLITRAULT et FAURE, 1992). La différenciation quantitative des 3 génomes de base témoigne d'une évolution avancée vers une réelle spéciation. Elle a contribué, sans aucun doute, au maintien de forts déséquilibres gamétiques dans le genre *Citrus* et pourrait expliquer certaines ségrégations non mendéliennes observées dans les descendance d'hybrides interspécifiques (OLLITRAULT et FAURE, 1992). Cette différenciation et ses conséquences devront être prises en compte par les programmes de cartographie du génome et d'amélioration variétale par voie sexuée. ●

.....
Bibliographie, illustrations, voir version anglaise p. 390-393